

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék



Bővített funkciókészletű mikrofluidikai chippek fejlesztése ICP-MS ultranyomelemanalitikai célokra

OTDK dolgozat

Kajner Gyula
II. Vegyész MSc

Témavezető:
Prof. Dr. Galbács Gábor

Szeged

2023

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	2
2. Irodalmi áttekintés.....	3
2.1. Az egyrészecske ICP-MS (spICP-MS) technika.....	3
2.2. Mikrofluidikai eszközök	7
2.3. Nagyhatékonyságú porlasztók és ködkamrák	11
2.4. Nanorészecske extrakciós módszerek	13
2.4.1. Diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció (DLLME)	13
2.4.2. Mágnesezhető nanorészecskék elválasztásának lehetőségei.....	15
2.4.3. Nanorészecske szeparáció membránfilterek alkalmazásával	16
3. Célkitűzés.....	17
4. Felhasznált eszközök, anyagok, szoftverek.....	18
4.1. Műszerek és eszközök.....	18
4.2. Vegyszerek, anyagok	19
4.3. Szoftverek.....	19
5. Kísérleti eredmények.....	20
5.1. Nanorészecske elválasztási előkísérletek	20
5.1.1. Diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció (DLLME)	20
5.1.2. Mágneses nanorészecskék manipulálása elektromágnessel	22
5.1.3. Nanorészecske szeparáció membránszűrők alkalmazásával	25
5.2. Nagyhatékonyságú porlasztók és ködkamrák	33
5.2.1. Porlasztó és ködkamra tervezése és optimalizálása szimulációk segítségével.....	34
5.2.2. A 3D nyomtatott porlasztóval generált primer és szekunder aeroszol karakterizálása	38
5.3. ICP-MS mérési feladatok szelepekkel ellátott mikrofluidikai chippek segítségével	40
5.3.1. Hígítási lépéseken alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása	41
5.3.2. Injektálási lépéseken alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása	43
5.3.3. Recirkuláltatáson alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása	44
6. Összefoglalás.....	45
7. Irodalomjegyzék.....	47
8. Köszönetnyilvánítás	49

1. Bevezetés

A nagy teljesítőképességű induktív csatolású plazma tömegspektrometria (ICP-MS) az utóbbi évtizedekben egy elterjedt, sokoldalú és népszerű méréstechnikává vált, amelyet számos természettudományos területen elterjedten alkalmaznak (ultra)nyomelemanalitikai célokra és stabil izotópok meghatározására. Jellemző kimutatási határai a ng/L tartományban mozognak és a periódusos rendszer legtöbb elemének (de elsősorban a fémek) érzékeny és szelektív mérésére alkalmas. Elsősorban folyadékminták feldolgozására alkalmazzák, de alternatív mintabeviteli rendszerekkel a műszer gázok, aeroszolok vagy szuszpenziók feldolgozására is alkalmassá tehető. Az utóbbi két évtizedben az egyre elterjedtebb egyrészezske ICP-MS (spICP-MS) technika igen eredményesen alkalmazható nanorészezske vagy sejt szuszpenziók karakterizálási feladataira, így gyakran szolgál alapjául anyag-, élettudományi és környezetvédelmi vizsgálatoknak. Kutatócsoportunk immáron 7-8 éve aktív tudományos tevékenységet folytat az spICP-MS módszert alkalmazva, ez idő alatt két doktori disszertáció és számos publikáció is született [1, 2, 3].

A mikrofluidikai chippek kis térfogatú (nL) folyadékminták, szuszpenziók kezelésére alkalmas eszközök, melyeket már évtizedek óta eredményesen alkalmaznak a legkülönbözőbb analitikai feladatok során. Használatuk előnyös kis holttérfogatuk, nagyfokú személyre szabhatóságuk, viszonylag alacsony árak és automatizálhatóságuk miatt [4]. Számos előnyüket felismerve, az utóbbi években elkezdtek megjelenni olyan közlemények, melyek ICP-MS műszerhez kapcsolva alkalmaznak különböző mintaelőkészítési (főként mikroextrakciós) lépéseket megvalósítani képes mikrofluidikai chippeket [5]. Egy frissen megjelent cikkben a kutatócsoportunk is beszámolt olyan ICP-MS műszerhez kapcsolt, on-line mintaelőkészítési lépéseket és egyéb feladatokat (hígítás, injektálás, kalibrálás, háttérsökkentés) végző mikrofluidikai eszközökről, melyek eredményesen voltak képesek spICP-MS mérések minta- és időigényét csökkenteni, valamint a módszer teljesítőképességét javítani [6].

Ugyan az említett chippek többféle nanorészezske karakterizálási feladat kivitelezése során is hasznosnak bizonyultak, teljes potenciáljukat még közel sem sikerült kiaknáznunk, így továbbfejlesztésük mellett döntöttünk, melynek három fő irányát jelöltük ki. (1) Nanorészezske elválasztási feladatok megvalósítása a chipen, mellyel zavaró részezskek kiszűrése, és megfelelő kialakítás mellett az analit prekoncentrációja is elképzelhető. (2) A mikrofluidikai eszközökkel kompatibilis, alacsony mintabeviteli sebességű és holttérfogatú,

illetve nagy mintabeviteli hatékonysággal rendelkező mintabeviteli rendszer fejlesztése, mellyel az spICP-MS módszer teljesítményjellemzői tovább javíthatók. (3) A chippek működésének automatizálása, melynek feltétele elektromosan vezérelhető szelepek beépítése és bonyolultabb csatornahálózatok alkalmazása. A jelen munka során célul tűztük ki a chippek továbbfejlesztési lehetőségeinek felmérését, megvalósítását az említett három irányban.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az egyrészcseke ICP-MS (spICP-MS) technika

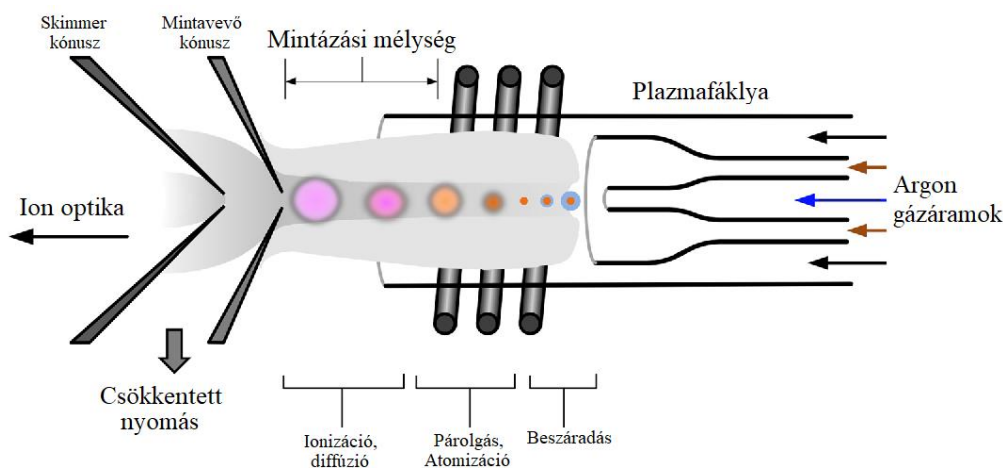
Az induktív csatolású plazma tömegspektrométer egy széleskörben alkalmazott, kiemelkedő analitikai teljesítőképességgel rendelkező (ultra)nyomelemanalitikai, atomspektrometriás műszer. Csaknem az összes elem kvantitatív, kvalitatív vagy izotóp analízisére alkalmas, átlagosan ng/L nagyságrendű kimutatási határokkal [7], kiemelkedő szelektivitás és akár 8-9 nagyságrendnyi dinamikus tartomány mellett.

Az egyrészcseke ICP-MS (spICP-MS) mérési technika, melynek alkalmazásáról 2003-ban számoltak be első ízben Degueldre és társai, az utóbbi tíz évben jelentősen felfuttatta az ICP-MS-sel történő anyagtudományi vizsgálatokról szóló publikációk számát [1]. Ennek oka, hogy ezen technikával lehetőség nyílik nanorészecskék, sejtek, illetve egyéb nano/mikro mérettartományba eső partikulumok diszperzióinak karakterizálására, melyre az utóbbi időben egyre növekvő igény mutatkozik számos kutatási területen [8].

A technika lényege, hogy a vizsgált szuszpenziót nagy hígításban (10^4 mL^{-1} nagyságrendű részecskeszám-koncentráció) porlasztjuk a műszerbe, nagy időfelbontású (jellemzően pár ms integrációs idő) mérési üzemmódban (TRA), így lehetőség nyílik a részecskék individuális detektálására. Egy részecske detektálása során keletkezett jelcsúcs nagysága a részecske méretével, a detektálási események gyakorisága pedig a diszperzió számkoncentrációjával lesz arányos. A módszer nagy előnye, hogy percenként akár 1200-1500 részecske detektálására képes, így kiválóan alkalmas a vizsgált diszperzió statisztikus jellemzőinek feltérképezésére, mint a részecskék méreteloszlása, izotópösszetétele vagy számkoncentrációja [9].

A minta plazmába juttatását ezen technika esetében is többnyire pneumatikus porlasztók végzik, melyek hatékonysága standard készülékek esetében jellemzően nem haladják meg az 5% értéket [7]. Ezen az arányon pedig csak ront a nanorészecskék jelenlétéből adódó inhomogén tömegeloszlása a képződő cseppeknek [2]. Ebből kifolyólag

minél kisebb, monodiszperz cseppek képzésére alkalmas porlasztók alkalmazásával a módszer mintaigénye és hatékonysága jelentősen növelhető, ezek a paraméterek persze a ködkamra geometriai kialakításának és a benne folyó gázáramok függvényei is. A plazmába érkezést követően először a nanorészecskét magába foglaló csepp párolog el, ezt követi a dehidratált nanorészecske atomizálása, ionizálása (1. ábra).



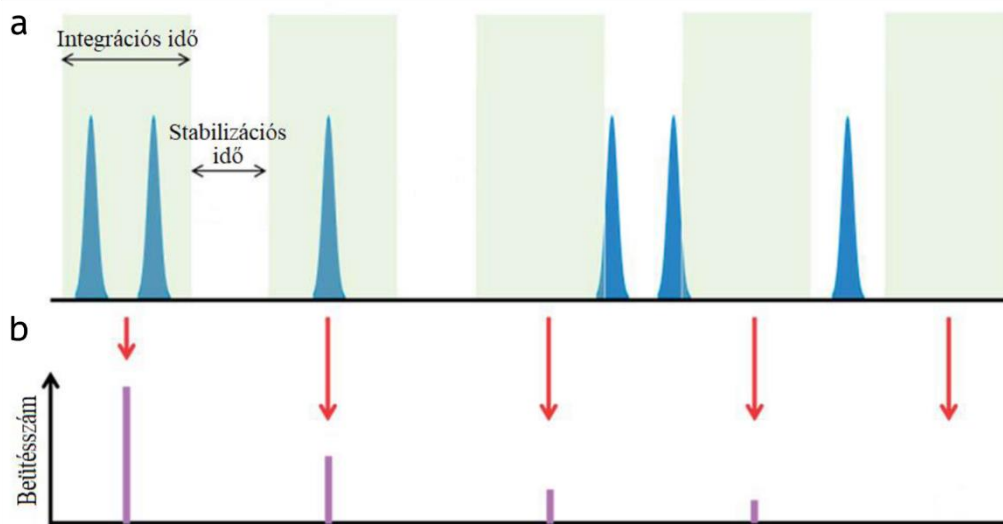
1. ábra. A cseppekben foglalt nanorészecskékkal a plazmán belül lejátszódó folyamatok [10]

A cseppek tartózkodási ideje a plazmában legfeljebb ms körüli, ezért a nagyobb (több száz nm átmérőjű) nanorészecskék teljes ionizálása gondot tud jelenteni. Mivel a részecskékből keletkezett ionfelhők detektálásából nyert jelcsúcsok gyakorisága, mérete szolgáltat analitikai információt, a közel teljes ionizáció és az állandó, ismert mintabeviteli-hatékonyság feltétele a spICP-MS módszerrel végzett kvantitatív analízisnek. A mintabeviteli-hatékonyság egy ismert számkoncentrációjú sztenderd nanorészecske diszperzió mérésével meghatározható; az időegység alatt detektált és az időegység alatt a mintabeviteli rendszerbe juttatott részecskék számának hányadosaként.

$$\eta = \frac{N_d}{N_v},$$

Ahol η a mintabeviteli hatékonyság, N_d az időegység alatt detektált, míg N_v a mintabeviteli rendszerbe juttatott nanorészecskék száma. Ezen összefüggést felhasználva a mintabeviteli hatékonyság meghatározását követően ismeretlen összetételű nanorészecske diszperzió számkoncentrációja is meghatározható. Mindehhez persze feltételeznünk kell, hogy minden plazmába jutott részecske detektálásra kerül, és kellően nagy jelcsúcsot generál ahhoz, hogy az ne vesszen bele a háttérbe, illetve, hogy minden detektorra jutó részecske külön integrációsidő ablakban kerül detektálásra. Ezen feltételek megfelelő méretű és

számkoncentrációjú részecskeszterdek megválasztásával biztosítható, a mintabeviteli hatékonyság pedig igen nagy pontossággal meghatározható [11]. A megfelelő számkoncentráció és integrációs idő megválasztása a részecskék jeleinek átlapolódásának vagy feldarabolásának elkerülése miatt fontos, hiszen ezek meghamisítják a mérési eredményeket, ahogy azt a 2. ábra szemlélteti.



2. ábra. A nanorészecskék ionfelhőinek darabolódásának és szimultán detektálásának hatása a rögzített beütésszámba. a: nanorészecskék jeleinek valós időbeli lefutása, b: rögzített beütésszámok [1]

Több részecske jelének egy integrációs időablakban történő rögzítésének valószínűsége ugyan a nanodiszperzió hígításával elméletileg akármeddig csökkenthető, a gyakorlatban azonban ez jelentősen megnöveli a mérési időt és a feldolgozandó mintatérfogatot. A szakirodalom szerint az optimális működés akkor valósul meg, ha a gyűjtött adatok nagyjából 5%-a felel meg nanorészecske detektálási eseménynek [11]. Az integrációs idő jellemzően 1-10 ms tartományban optimális, túl magas és alacsony értéke is kerülendő, mivel előbbi több részecskék egyszerre történő detektálásához, utóbbi pedig nanorészecskék jelének darabolásához vezet. Az ionfelhők áthaladási ideje jellemzően párszáz μ s, amelynek teljes egészében az integrációs időablakba kell esnie; ez is a ms körüli hosszúságú időablakok alkalmazását sugallja [3, 12]. A szakirodalom szerint az optimális integrációs idő 5 ms körül van, de ezt persze számos műszerparaméter befolyásolhatja [2].

Az egyes részecskék által generált jelintenzitások (beütésszám) a részecskékben foglalt anyagmennyiséggel függenek össze, így tehát az átmérő harmadik hatványával lesznek arányosak. Az összefüggést a következő képlet írja le:

$$I = S \rho w_{analit} \eta \frac{d^3 \pi}{6}$$

ahol I a mért jelintenzitás, S a műszer érzékenysége, ρ a nanorészecske sűrűsége, w_{analit} az analit atomaránya a nanorészecskén belül, η a relatív izotópgyakoriság, d pedig a nanorészecske átmérője. Ismeretlen nanorészecskék méretének meghatározásához méretkalibrációs görbe előzetes felvétele szükséges, amely megteremti az összefüggést a detektált beütésszám és a részecske tömege (térfogata) között. A méretkalibráció megvalósítható többféle méretű, megfelelő anyagi minőségű, monodiszperz sztenderd nanorészecske diszperzió segítségével [13]. Az ilyen jellegű kalibráció kivitelezhetőségét segíti a kereskedelmi forgalomban lévő nanorészecske sztenderdek évről évre növekvő kínálata, azonban sajnos a kínálat még távolról sem teljes, ráadásul a sztenderdek beszerzése is költséges [12]. Egy olcsó, és nagyjából univerzálisan alkalmazható alternatíva az oldat sztenderdekkel történő kalibrálás, melyet az tesz lehetővé, hogy ismert mintabeviteli hatékonyság, mintabeviteli sebesség és oldatkoncentráció mellett kiszámolható, hogy az integrációs időn belül mekkora anyagmennyiségű ion éri el a detektort, mely anyagmennyiség megfeleltethető egy bizonyos méretű, tömbi nanorészecskének [11]. Így egy oldatsorozat segítségével az egész kalibrációs görbe felvehető.

Ha a kalibrációs egyenes ($I = a \cdot x + b$) felvételre került, egy adott nanorészecske által keltett jelintenzitásból (I) a következőképpen határozható meg a vizsgált elem részecskében foglalt tömege (m):

$$m = \eta \frac{(I - I_h) - b}{a},$$

ahol η a vizsgált izotóp relatív gyakorisága a részecskén belül az adott elemre vonatkozóan, I_h pedig az ugyanolyan mérési körülmények között mért átlagos háttérintenzitás [2].

Az spICP-MS technikával történő nanorészecske méretmeghatározás azonban csak bizonyos, a részecske anyagától függő mérettartományban lehetséges. A mérettartomány alsó korlátja a méret szerinti kimutatási határból következik, melyet a műszer érzékenységén felül a vizsgált izotóp relatív gyakorisága, az elem ionizálhatósága, valamint a háttérjel nagysága is befolyásol. Több tanulmány is született, mely egyes elemek kimutatási határainak meghatározását tűzte ki célul. Lee és társai 40 különböző elem nanorészecskéinek átmérőben kifejezett kimutatási határára adtak becslést- az értékek a legtöbb vizsgált elemre 10-50 nm közé estek [14].

A meghatározható nanorészecske méret felső határa a részecske plazmában tartózkodásának limitált, (jellemzően néhány ms) idejéből következik. Túl nagy méretű

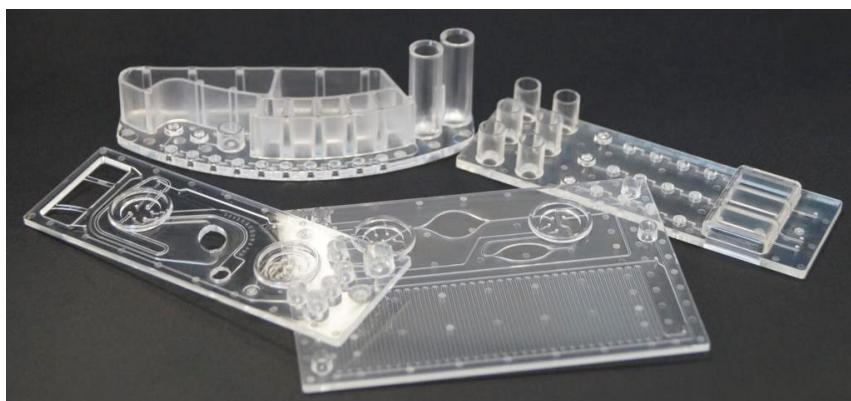
részecskék teljes ionizációja nem képes lezajlani az „áthaladási idő” alatt a plazmában, ami jelentős negatív hibát okozhat a mérési eredményben [15]. A méretküszöb persze a nanorészecske anyagától, annak sűrűségétől, fajhőjétől, olvadáspontjától, ionizációs energiájától, valamint a plazma teljesítményétől és a mintázási mélységtől is függ. A felső kimutatási határ jellemzően 1-2 μm körüli érték [11].

Egy nanodiszperzió spICP-MS méréséből származó nyers adatsor idő-beütésszám adatpárokból áll. A rögzített beütésszám értékek jelentős része – optimális esetben nagyjából 95%-a – nem rendelhető nanorészecske detektáláshoz, értéke a háttérrel jellemzi. A fennmaradó néhány százalék viszont egy-egy nanorészecske detektálási eseményhez köthető, kiugróan magas beütésszám lesz, melynek értéke az egyes nanorészecskék méretével arányos. Ennek megfelelően a nyers beütésszám adatokat hisztogramon ábrázolva két csúcs fog kirajzolódni: A háttértől származó csúcs, mely egy normál eloszlást mutató igen magas csúcs, mely kis beütésszámoknál jelenik meg a hisztogramon. A csúcs szélessége a mért jel szórásával, móduszának értéke pedig a háttér nagyságával és az adott elem nanodiszperzióban oldott koncentrációjával arányos. A másik csúcs a részecskecsúcs, amely nagyobb intenzitásoknál jelenik meg, magassága jelentősen kisebb. Ez a csúcs hordozza az analitikai információt a nanodiszperzióról. A csúcs alatti terület a detektált nanorészecskék számával, így a mért nanodiszperzió számkoncentrációjával arányos. A nanodiszperzióban jelenlévő részecskék átlagos méretére vonatkozóan a csúcs módusza hordoz információt, míg a csúcs szélessége, lefutása – ami rendszerint lognormális eloszlást követ – pedig a nanodiszperzió méreteloszlásáról ad számot [11, 16]. A két csúcs szeparációja lehetőséget ad az oldott és részecskében kötött analit formák jelének elkülönítésére, de előfordul, hogy túl magas oldottanyag-tartalommal rendelkező nanodiszperzió esetén a mérés eredményeképpen kapott hisztogramon a háttér- és a részecskecsúcs nem válnak el egymástól. Emellett egyéb, erős mátrixhatást mutató közegű (ipari, környezeti minták) nanodiszperziók meghatározása is kihívást jelent a területen. Az ilyen, nehézkesen mérhető minták kezelésére megoldást nyújthat a nanorészecskék extrakciója az eredeti közegből, melynek lehetőségeit a 2.4. fejezetben tárgyalom.

2.2. Mikrofluidikai eszközök

A mikrofluidikai chippek olyan kis keresztmetszetű csatornákból felépülő csatornarendszerek, melyek méretükből kifolyólag hatékonyan alkalmazhatóak kis (nL, vagy akár fL) térfogatú

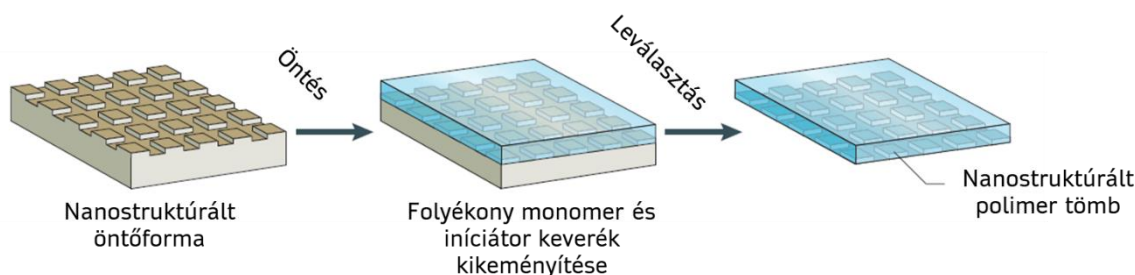
folyadékminták kezelésére, illetve azokon végrehajtott számos mintaelőkészítési feladat elvégzésére. Megfelelő kialakítás mellett biológiai, kémiai, analitikai funkciókat akár automatikusan, szimultán vagy egymást követően lehet végrehajtani rajtuk, mindezt tenyérnyi méretű eszközök segítségével [4]. Az elnevezésbéli hasonlóság nem véletlen, a mikroelektronikai chippek, melyeket (például mobiltelefonban) mindennap használunk, szintén képesek kompakt kialakításuk és nagyon nagy alkatrész sűrűségük miatt számtalan funkció ellátására. Ezzel analóg módon a Micro-total-analysis (μ TAS), vagy más néven lab-on-a-chip (LOC) rendszerek hasonló előnyökkel szolgálnak, csak nem elektronikai, hanem fluidikai vonatkozásban. Belátható, hogy nagy potenciállal rendelkező tudományterületről van szó az analitikai kémián belül, azonban a mikrofluidikai eszközök alkalmazásának széleskörű elterjedése nem történt meg. Ennek oka az egyáltalán nem, vagy csak igen drágán elérhető kész chippek és chip tartozékok.



3. ábra. Különböző kialakítású és funkciójú mikrofluidikai chippek

Gázkromatográfias felhasználás céljából már a 70-es években születtek kutatások mikrofluidikai chippek felhasználásával [17], nagyobb figyelmet azonban csak a 90-es évektől kezdődően kezdtek kapni ezek az eszközök. Ennek az oka leginkább a gyártástechnológia jelentős fejlődése (pl.: forró dombornyomás, fröccsöntés, soft, és röntgen fotolitográfia, lézeres abláció, 3D nyomtatás és egyéb mikromegmunkálási technikák) [18]. Korábban zömmel szilícium és üveg alapanyagokból készítették szubtraktív eljárással a mikrofluidikai eszközöket, csak később kezdtek elterjedni a polimer alapú chippek. A polidimetil-sziloxánt (PDMS) a 90-es évek végétől kezdték szubsztrátként használni, mely gyorsan a leggyakrabban használt alapanyaggá vált mikrofluidikai chippek készítésére, többek között alacsony ára, jó optikai transzmissziója, kémiai inertsége, rugalmassága, gyors, és egyszerű előállíthatósága miatt [4, 19]. Az PDMS anyagú chippeket a másolatöntés technikájával készítik (4. ábra). Ez egy jól működő, bevett gyártási technológia, mely ahogy elterjedtsége is

mutatja, olyan chipok előállítására képes, melyek kielégítő tulajdonságokkal rendelkeznek [20]. A gyártástechnikáról első ízben 1998-ban számolt be Xia és Whitesides [21], azóta felhasználása évről évre nő, így mára ez vált a sztenderd technikává a mikrofluidikai eszközök készítésére [20]. Az öntőformát, amely többféle módon készülhet, a kutatólaborokban leggyakrabban szilícium lapra felvitt SU-8 fotolakk UV kezelésével állítják elő. Ez a chipen kialakítandó csatornarendszer negatívját tartalmazza [20]. Az öntőforma felületét használat előtt gyakran szilanizálják, hogy az öntvény kevésbé tapadjon az öntőforma felületéhez. Ebből a célból például (tridekafluoro-1,1,2,2-tetrahidrooktil)-trikloroszilán gőzökkel szokták kezelni az öntőformákat, csökkentett nyomáson [22].



4. ábra. A másolatöntés lépései

Az öntés PDMS monomer és iniciátor 10:1-hez arányú elegyével történik, melyet előzetesen buborékmentesítettek vákuumbúra alatt [23]. Az öntést követően a PDMS-t enyhén emelt hőmérsékleten (65-90°C) 0,5-1 óra alatt megszilárdítják, majd lehűtik. Ezt követően leválasztják az öntőformáról, ami így ismételten használatra kész. Az elkészült öntvény gyakorlatilag egy PDMS tömb, az alján a csatornarendszerrel, ami árokként jelenik meg. A chip úgy nyeri el végső formáját (az árkok úgy záródnak csatornákká), hogy az öntvény aljához tapasztjuk a hordozót (üveg vagy szilícium), végül a portoknak való furatokat elkészítjük [24]. A felületre ragasztás történhet vékony, még meg nem kötött PDMS réteggel, amit melegítéssel megkötnék az üveg és a PDMS felület között [24, 25], vagy oxigénplazmás kezeléssel [26]. Az oxigénplazmás kezelés mind az üveg, mind a polimer felületén szilanol (-Si-OH) csoportokat hoz létre, melyek a két felület találkozásakor kondenzálnak, ezzel -Si-O-Si- kötésekkel létrehozva. Ez egy igen erős, irreverzibilis kötést eredményez a két anyag között, jelentősen megnövelve a csatornák nyomással szembeni ellenállását a másik módszerrel készült chipkéhez képest [26].

A mikrofluidikai chipok alkalmazásának számos előnye ismert. Egyfelől a chip és csatornáinak térbeli kiterjedéséből adódóan a minden folyamat, reakció miniaturizált, zárt környezetben, igen kis anyagmennyiségek felhasználásával mehet végbe. Ezek kedvező

körülmények a levegő oxigénjére érzékeny, veszélyes, toxikus anyagok kezelésére, emellett általánosságban csökkenti az egyes folyamatok minta és vegyszerigényét, ami környezetvédelmi és költséghatékonysági szempontok szerint is igen kedvező. Egy másik nagy előnye a miniatürizált környezetnek, hogy a diffúzió által kialakított egyensúlyig eltelt idő a rendszer lineáris dimenziójának negyedik hatványával arányos, így tehát a mikrométeres mérettartomány több nagyságrendnyi csökkenést okoz. Ez a hagyományos méretek között órákba kerülő folyamatokat másodpercekre rövidítheti, mely a diffúzió túl az elválasztási eljárások, biológiai, kémiai reakciók sebességére is hasonló hatással van [4, 18, 27]. Ezen felül a viszonylag olcsó alapanyagok és a mára elérhető árú, fejlett mikromegmunkálási eljárásoknak köszönhetően célzottan adott feladatra optimalizált mikrofluidikai chippek előállítása lehetséges. Végül, kompaktságuknak köszönhetően terepen történő, *in situ* mérésekre is igen alkalmasak ezek az eszközök, így általános ipari, környezeti, biológiai vizsgálatok mellett akár űrkutatásra is alkalmazhatóak ezen eszközök [4].

A felsorolt előnyökből következően a chippek felhasználása igen sokrétű, kialakításuktól függően szinte bármilyen fizikai, kémiai, biológiai folyamatot lehet követni vagy végrehajtani rajtuk. A gyakorlatban a biológiai területen történő alkalmazásuk a legelterjedtebb, de analitikában is több felhasználásuk ismert. Ezek közül a legjellemzőbb a kapilláris elektroforézis, de emellett kromatográfiás eljárások vagy részecskék, sejtek méretszelektív elválasztása is viszonylag gyakran megvalósított feladat rajtuk. Kémiai reakciók lejátszására, követésére is gyakran használják a chipket, például on-chip jelölésre, PCR és DNS analízisre, különböző immunológiai vizsgálatokra (drog- és hormontesztek) [4, 27]. Emellett környezeti minták *in situ* vizsgálatára szintén alkalmasak, talaj, levegő és vízminták analízisére is, azonban itt – ahogy a klinikai minták esetében is – igen nagy mátrix hatások mellett kell dolgozni, ráadásul igen alacsony koncentrációkban. Emiatt gyakran alkalmaznak chipen belüli dúsítási eljárásokat is, melyek alapulhatnak a részecskék töltésén, mozgékonyágán, méretén vagy kémiai, fizikai affinitásán [4]. Analitikai műszerekkel való összekapcsolása a chipeknek egyelőre csak a kutató szektorban van jelen, de egyre több biztató eredményű publikáció jelenik meg. 2016-ban kutatócsoportunk is készített egy tanulmányt, mely beszámolt a mikrofluidikai chippek eredményes használatáról LIBS (lézer indukált plazma spektroszkópia) mérések kivitelezése során [28]. Mikrofluidikai eszközök és az ICP-MS összekapcsolására is több ízben került már sor az irodalomban, az ezen a téren született eredményekről 2019-ben He és munkatársai számoltak be egy összefoglaló cikkben

[5]. 2022-ben saját közleményünk is jelent meg a területen, amelyben on-line egyrészecske ICP-MS analízisre alkalmas chipek készítéséről számoltam be [6].

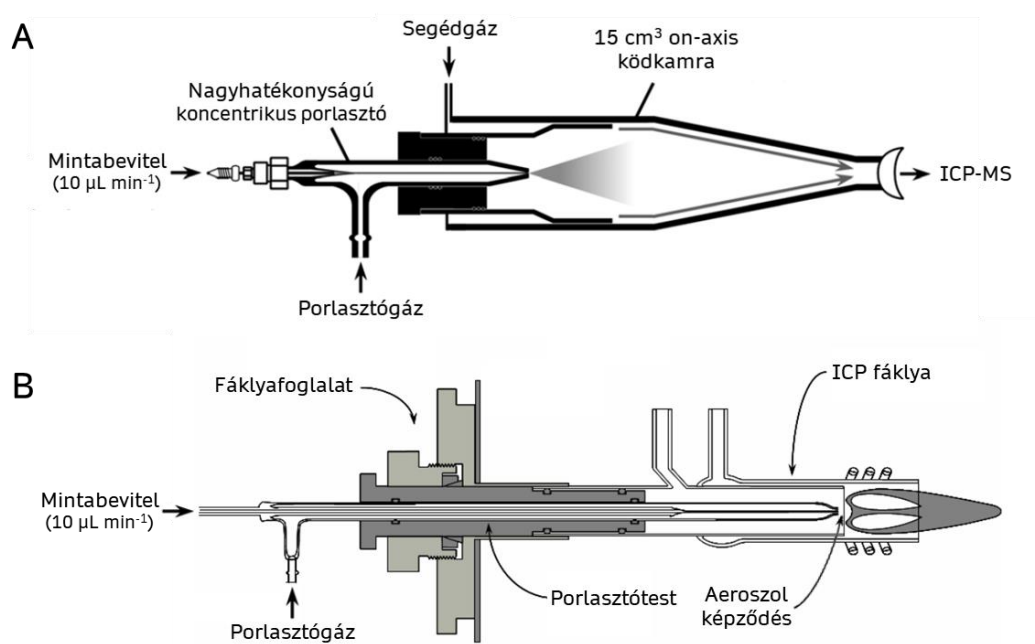
2.3. Nagyhatékonyságú porlasztók és ködkamrák

Az ICP-MS műszerekben alkalmazott mintabeviteli rendszer többnyire egy valamilyen pneumatikus porlasztóból – mely a folyadékmintából finom eloszlású aeroszolt képez –, illetve általában egy ciklonszerű vagy Scott-féle kétutas ködkamrából áll, amelynek feladata, hogy a képződött aeroszol cseppek közül a kisebb méretűeket kiszelektálja és ezek transzportját szelektíven segítse. Ez azért fontos, mert a túl nagy cseppek és egyenletlen aeroszol-terheltség destabilizálják a plazma állapotát, így a műszer jelét is [29]. Az ilyen felépítésű porlasztók és ködkamrák használatának bizonyos esetekben azonban komoly hátráltatói vannak, így használatuk nem minden mintatípus esetében tanácsos. Például az ilyen rendszer nagy holttérfogata és a porlasztó működéséhez szükséges viszonylag nagy mintafelszívási sebessége (0,1-1 mL/min) miatt, valamint igen kis mintabeviteli hatékonyságukból adódóan – mely általában nem éri el az 5%-ot –, nem alkalmasak kistérfogató minták kezelésére [30, 31]. Emellett további hátráltatója az ezekhez hasonló, viszonylag nagy térfogatú ködkamráknak, hogy a mért jel zajosságát és a mátrixhatások érvényesülését is elősegítheti [29].

Ezek alapján nem csoda, hogy az egyre nagyobb precizitást igénylő ICP-MS alapú mérési technikák (egysejt-, egyrészecske ICP-MS) és feladatok (pl. kis mintatérfogató minták analízise komplex mátrixban) elterjedésével párhuzamosan igény formálódott olyan alternatív nagy hatékonyságú, kis mintafelszívási sebességű mintabeviteli rendszerekre, melyeket nem sújtanak a fent említett hátráltatók. Többféle ilyen rendszert kidolgoztak, általánosságban két kategóriába sorolhatók.

A teljes mintafeldolgozó (total consumption, TC) rendszerek, melyek módosított méretű, és geometriájú porlasztókból és ködkamrákból állnak [29]. A porlasztás legtöbbször ezen rendszerek esetében is pneumatikus módon (mikrokoncentrikus, keresztáramlásos porlasztókkal) történik, bár vannak más alternatívák is. Az ilyen porlasztók jelentősen kisebb furatméretük (50-150 μm átmérő) és mintafelszívási sebességük (5-30 $\mu\text{L}/\text{min}$) miatt sokkal szűkebb méreteloszlású és kisebb méretű cseppek előállítására képesek. Ezen felül a kisebb tömegáramú aeroszol növeli a cseppek párolgásának mértékét és csökkenti ütközésük valószínűségét is, melyek mind a nagyobb hatékonyságot segítik elő [30]. A ködkamrák

konstrukciójukat tekintve változatosak, térfogatuk jellemzően 4-20 mL közé esik [32]. Van példa kisebb méretben kivitelezett ciklonszerű ködkamrákra is, de elterjedtebb az akadályokat nem tartalmazó „on-axis” (vagy „single-pass”) típusú ködkamra, mely geometriáját tekintve egy szűkülő csőszakasz, melynek vége beletorkollik a plazmába (5. ábra a). Az ilyen típusú ködkamrákat nem ritkán az aeroszol cseppek terelésére szolgáló segédgázáramlással látják el, amely falak mentén, nagy sebességgel haladva magával rántja a fallal ütközni készülő aeroszol cseppeket, ezzel növelve a transzport hatékonyságot. Ilyen rendszerekkel számos publikáció foglalkozott már, és közülük nem is egy közel 100% mintabeviteli hatékonyságról számolt be [31, 32].



5. ábra. A (A) TC és (B) DIHEN típusú mintabeviteli rendszerek [31]

A másik kategória a nagyhatékonyságú közvetlen porlasztók (direct injection high-efficiency nebulizer, DIHEN), melyekben nem alkalmaznak ködkamrát. Az alkalmazott porlasztók tulajdonságai nagyvonalakban megegyeznek a TC rendszerekben használtakéval, annyi különbséggel, hogy ezek jellemzően hosszabbak, annak érdekében, hogy a lehető legkisebb úton lehessen a mintaaeroszolt a plazmába juttatni (5. ábra b). A közvetlen porlasztás ellenére ezek a konstrukciók sem biztosítanak 100%-os mintabeviteli hatékonyságot a legtöbb esetben, de nemritkán közelítik azt [30]. A szelektálatlan aeroszol azonban nem tökéletes porlasztási kondíciók mellett jelentősen ronthatja a plazma és a mért jel stabilitását [32].

Az irodalomban nemritkán az egyrészecske ICP-MS mérési technika teljesítőképességének növelése végett alkalmaznak/fejlesztnek nagyhatékonyságú mintabeviteli rendszereket. A konvencionális mintabeviteli rendszer ugyanis a mérés hatékonyságát és megbízhatóságát is nagyban ronthatja [33]. A nagyobb mintabeviteli hatékonyság növeli a nanorészecskék kimutatásának megbízhatóságát, csökkenti a méréshez szükséges mintamennyiséget és a méréssel járó költségeket is. 100%-os mintabeviteli hatékonyság esetén a technika nanorészecske szttenderdek használata nélkül is képes lehetne nanorészecske számlálási feladatok végrehajtására [30].

2.4. Nanorészecske extrakciós módszerek

A nanorészecskék jelenlétének környezeti mintákban való kimutatása, és karakterizálása egy releváns, ám gyakran nagy kihívást jelentő feladat, a gyakran igen erős mátrixnak, a nanorészecskék természetes állapotváltozásainak (oldódás, aprózódás) és igen alacsony számkoncentrációjuknak következménye képpen. Ennek ellenére megfelelő mintavételi módszerekkel és mintaelőkészítési lépések felhasználásával legtöbb esetben képesek vagyunk olyan laboratóriumi minták előállítására, melyek képesek megfelelni a használni kívánt analitikai módszerek által támasztott elvárásoknak. Ez részben annak is köszönhető, hogy az utóbbi években a nanorészecskék karakterizálását lehetővé tevő analitikai módszerek is jelentős fejlődésen mentek keresztül a nanorészecskék vizsgálatára irányuló fokozódó igény miatt. Így viszonylag robosztus, érzékeny módszerek állnak már a rendelkezésünkre (pl.: transmisszió elektron mikroszkópia - TEM, scanning electron microscopy - SEM, spICP-MS, dynamic light scattering DLS stb.) [35]. Az érzékeny műszerek mellett persze a megfelelő mintaelőkészítés is nagyban segíti az analízist, viszonylag gyakori feladat például a nanorészecskék folyadékmintából való kinyerése. Ezen extrakciós folyamatok célja legtöbbször az oldószer lecserélése, a mátrixhatás csökkentése vagy prekoncentráció. Számos elválasztási módszert alkalmaztak már sikeresen fém nanorészecskék szeparálására környezeti mintákból (pl.: field flow fractionation - FFF, size exclusion chromatography - SEC), azonban ezen módszerek hatékonysága gyakran nem volt kielégítő [36].

2.4.1. Diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció (DLLME)

Az egyik egyre szélesebb körben alkalmazott, ígéretes extrakciós módszer a diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció (DLLME). Ez elsősorban oldat extrakciós technikának

számít, azonban nanorészecskék sikeres extrakciójáról is beszámolták már több kéziratban az utóbbi években. Konceptióját első ízben Rezaee és társai ismertették egy 2006-ban megjelent cikkükben [37].

Az eljárás lényege, hogy a nanorészecskéket tartalmazó vizes közegű szuszpenzióba fecskendezzük a kistérfogatú, apoláris (pár mL szuszpenzióhoz pl. pár 10 μ L-nyi) extraktor folyadékot, melyet opcionálisan egy harmadik, amfifil vegyület közreműködésével (diszpergens) nagyon finoman cseppek formájában eloszlatunk a vizes fázisban. Az extraktor folyadék – melyben az analit jobb oldhatósággal bír, mint a vizes fázisban – finom eloszlása miatt áttetsző, felhőszerű zavarosságot képez a vizes közegben. A nagyon finom eloszlás miatt igen nagy felület áll rendelkezésre az átoldódás folyamatához, ezzel segítve, hogy az extrakció hatékonyságú és nagy sebességű legyen. Általában a befecskendezést a már korábban összekevert diszpergens-extraktor eleggyel végzik, mert így hatékonyabb a diszperzió. Az extrakciós idő elteltével az apoláris fázis ülepítését általában centrifugálással oldják meg, melyet követően a vizes fázist egyszerűen leöntik fölülre. A módszer hatékonysága az extrakciós idő, valamint diszpergens és az extraktor folyadék minőségének és mennyiségének helyes megválasztásában rejlik [38]. Az általánosan használt extraktor folyadékok nagyobb sűrűségük miatt jellemzően klórtartalmú szerves vegyületek (pl.: klórbenzol, szén-tetraklorid, tetraklóretilén), míg a diszpergensnek egyszerű poláris, szerves vegyületek (pl.: aceton, metil-alkohol, acetonitril) [39]. Több cikkben is beszámoltak már a diszpergens folyadék szerepének kiválthatóságáról tenzidekkel (surfactant assisted-DLLME), mely az amfipatikus tulajdonságuknak köszönhetően lehetséges [40].

Az extrakció hatékonyságát főként két paraméterrel jellemzik, melyek a prekoncentrációs faktor (PF) és az extrakciós hatékonyság (ER). Ezek definícióját és kapcsolatát a következő egyenletek írják le,

$$PF = \frac{c_{sed}}{c_0}$$

$$ER = 100 \frac{c_{sed}V_{sed}}{c_0V_{aq}} = 100 \left(\frac{V_{sed}}{V_{aq}} \right) PF$$

ahol c_0 az extrakció előtti analit koncentráció a vizes fázisban, c_{sed} a szerves fázisban oldott analit koncentráció az extrakció után, V_{sed} a szerves fázis térfogata, V_{aq} pedig a vizes fázis térfogata [37]. Ezen két paraméter értékeit nagyban meghatározza az alkalmazott extraktor

térfogata, például kis térfogatot alkalmazva a *PF* igen nagy lehet, de a teljes kinyert anyagmennyiség százalékosan (*ER*) alacsony lesz [38].

Alapvetően viszonylag újkeletű a diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció felhasználása nanorészecske-extrakciós célra, így a szakirodalomban fellelhető cikkek száma igencsak limitált. A már megjelent cikkek azonban sikeres alkalmazásokról számolnak be. Liu és társai például a SA-DLLME eljárás optimalizálását végezték vízmintákból való arany nanorészecskék kinyeréséhez, mely eredményeként 5 mL vízmintában 70 μ L 1,2-diklóretán extraktor és 50 μ L Triton X-114 diszpergens felhasználásával képesek voltak 152-szeres töményedést elérni [41]. Illetve Chen és társai is komoly eredményeket mutattak fel cikkükben, melyben első ízben számoltak be ionos folyadékok használatáról nanorészecskék diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakciója során extraktor folyadékként. Apparátusukkal 90%-os extrakciós hatékonyságot és 90-szeres töményedést értek el [42].

2.4.2. Mágnesezhető nanorészecskék elválasztásának lehetőségei

Mágneses tulajdonságokkal rendelkező nanorészecskék alkalmazásáról számos publikáció számolt már be, több tudományterületen. Nagyszámú eljárás épül külső mágneses térrel történő manipulálhatóságukra folyadékközegű diszperziójukon belül [43, 44]. Alkalmazhatóságukat nagyban segíti, hogy a makroszkopikus mágneses anyagokkal szemben kis méretű mágneses nanorészecskék méretükből adódóan kis számú mágneses doménnel rendelkeznek, melyek orientációját a termikus fluktuációk képesek megváltoztatni. Emiatt a külső mágneses tér megszűnte után szinte azonnal minden mágneses jellegük elvész (tehát nem mutatnak mágneses hiszterézist), ezzel csökkentve az aggregáció veszélyét. jellemzően mágneses szuszeptibilitásuk is nagyobb, mint a makroszkopikus részecskéké. Ezen tulajdonságegyüttest mutató anyagokat összefoglalóan szuperparamágnesesnek nevezzük [44].

A mágneses nanorészecskék felhasználása elsősorban orvosbiológiai kutatásokban elterjedt, ahol funkcionizált felületű mágneses nanorészecskék segítségével valósítják meg biomolekulák elválasztását, biomarkerek, vírusok kimutatásának elősegítését, illetve egysejt analízist [44, 45]. A legtöbb ilyen eljárás lényege, hogy a megfelelően funkcionizált felületű részecskék szelektíven megkötik az analitot, majd mágneses tér segítségével az analit molekuláit hordozó nanorészecskéket dúsítják bizonyos térrészekben [44]. Nemritkán mikrofluidikai chippek segítségével valósítják meg ezen folyamatokat, hiszen az ilyen

eszközök megfelelő közeget biztosítanak kis térfogatú minták manipulálására [46]. Emellett egyéb területen is beszámoltak már mágneses nanorészecskék alkalmazásáról, ahol többek között folyadékminták kevertetését biztosították velük, vagy víztisztítási funkciót láttak el [43].

Elválasztási feladatokra tehát igen alkalmasak a mágneses nanorészecskék, azonban legtöbbször a hozzájuk kapcsolt analit képzi az érdeklődés tárgyát, míg a részecske csak hordozóként funkcionál. Számos technika megtalálható az irodalomban, mellyel a mágneses nanorészecskék mozgása szabályozható. Egyes módszerek igen kifinomultak, és akár individuális nanorészecskék mozgatására is képesek miniatűr mágnesekből vagy tekercsekből álló mátrixok segítségével [44]. Mások kevésbé összetett, fizikai folyamatokat kihasználva, mint pl. a mágneses alapú field-flow fractionation (FFF), képesek mágneses nanorészecskék szelektálására méretük szerint [47]. Gyakran azonban egy egyszerű elektro- vagy permanens mágnes elhelyezése a nanodiszperziótól megfelelő távolságra is elegendő lehet, hiszen az esetek döntő többségében csupán a mágneses nanorészecskékhez kapcsolt analit prekoncentrációja a cél [44].

2.4.3. Nanorészecske szeparáció membránfilterek alkalmazásával

Nanorészecskék folyadékközegből történő eltávolítására, prekoncentrálására, méretszerinti frakcionálására több módszer is ismeretes az irodalomban, ilyenek a méretkizárásos kromatográfia, gél elektroforézis, ultracentrifugálás vagy a diafiltráció [48]. A nagyszámú technika meglétét egyrészt a kutatászektor egyre nagyobb igénye indokolja olyan jól meghatározott tulajdonságokkal rendelkező nanorészecske sztenderdekre, melyek ismert, monodiszperz méreteloszlással rendelkeznek. A részecskék azon tulajdonságai, amelyeken a felhasználásuk alapszik, sok esetben jelentős méretfüggést mutatnak (pl. katalitikus sajátságok, citotoxicitás, optikai és elektrooptikai tulajdonságok stb.). Ugyan a gyártási folyamatok során a szintetizált nanorészecskék monodiszperzítését igyekeznek különböző módszerekkel (stabilizáló polimerek, fordított micellák, különböző hőbomláson alapuló technikák stb.) biztosítani, mégis legtöbbször szükség van valamilyen szintézist követő tisztítási lépésre, hogy igazán tiszta monodiszperz részecskehalmazhoz jussanak [49]. Másrészt az ipari, környezeti minták feldolgozásához is számos ilyen jellegű műveletre mutatkozik igény pl. nanorészecskék, vírusok eltávolítása ivóvízből, szennyvízből vagy nanorészecskék prekoncentrációja, méretszelektív elválasztása egymástól, kinyerése komplex

mátrixú közegből [50]. Így tehát igény formálódik olyan nano mérettartományban alkalmazható, méretszelektív elválasztásra képes módszerekre, melyek a korábban említetteknél költség és időtakarékosabban képesek nagy mennyiségű minta feldolgozására.

A membránfilterekkel való szűrés ezen kritériumoknak megfelelő technika. Előnyei közé tartozik a viszonylag egyszerű felszerelés igény, az idő és energia takarékoság, a jó skálázhatóság (laboratóriumi és ipari léptékben is jól használható) és hogy a legtöbb nanorészecske elválasztására alkalmazható [48, 50, 51]. Alkalmazásuk mellett szól az is, hogy kereskedelmi forgalomban elérhető membránszűrők viszonylag széles tartományban elérhetőek alapanyagukat, gyártási technológiájukat és pórusátmérőjüket tekintve.

Az utóbbi években egyre több kézirat jelenik meg, amely vizes közegű, polidiszperz nanodiszperziók részecskéinek méretszerinti frakcionálásának lehetőségeit vizsgálja különböző nanopórusos membránok segítségével [49, 52]. A legtöbb ilyen membrán polimer vagy kerámia alapanyagú, de egzotikusabb, szén nanoszálakból álló, vagy szupramolekuláris, önszerveződő membránok eredményes alkalmazásáról is számolnak be publikációk [48, 51].

3. Célkitűzés

Célul tűztük ki olyan bővített funkciókészletű mikrofluidikai chippek tervezését, melyek nanorészecske szeparációs feladatok és kis mintaigényű mérések hatékony automatizált elvégzésére képesek. Emellett cél volt azon chipbe építendő vagy kiegészítő alkatrészek elkészítéséhez szükséges tervrajzok elkészítése, előkísérletek elvégzése, melyek elengedhetetlenek a chippek megfelelő, tervezett működéséhez és/vagy legyártásához. Ehhez szükséges (1) Több nanorészecske elválasztási módszer hatékonyságának, analitikai feladatok elvégzésére való alkalmasságának felmérése, melyek által chipre történő integrálásuk létjogosultsága megítélhető. (2) Olyan nagyhatékonyságú, kis holttérfogatú, és így csekély memóriahatással rendelkező mintabeviteli rendszer tervezése, mely a chippel együttműködve képes annak kis mintamennyiségek kezelésére való alkalmasságát valóban hasznosítani. (3) Az első két pontban említett eszközök és chipre integrált épített szelepek segítségével automatizált analitikai feladatok és azokhoz szükséges chipgeometriák megtervezése.

4. Felhasznált eszközök, anyagok, szoftverek

4.1. Műszerek és eszközök

A méréseket egy Agilent 7700X típusú, kvadrupólus tömeganalizátorral rendelkező induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) végeztük, melynek mintabeviteli rendszere egy pneumatikus elven működő mikrokonzentrikus porlasztóból (MicroMist) és Scott-féle ködkamrából állt. A bruttó mintafelszívási sebesség 600 $\mu\text{L}/\text{perc}$ volt. A nanodiszperziók aggregációjának megszüntetését és homogenizálását Branson 300 típusú ultrahangos kád (Ney, Danbury, CT, USA) segítségével végeztük el.

A folyadékminták felszívásához Gilson Miniplus 3 perisztaltikus pumpát (Gilson Inc. Middleton, WI, USA) és Ismatec S3 E-LFL 1,14 mm belső átmérőjű Tygon anyagú perisztaltikus pumpacsöveket (IDEX Health & Science GmbH, Wertheim, Németország) használtunk.

A mágneses nanorészecskék viselkedésének optikai vizsgálataira egy Ti600-FL típusú, digitális kamerával ellátott mikroszkóp (Optika S.r.l., Ponteranica, Italy) került felhasználásra. Az extrakciós kísérletek során egy Costar Model 10 típusú asztali centrifugával végeztük az ülepítést. Az elektromágnes működtetéséhez egy GW GPS-1850D típusú tápegységet alkalmaztunk (GW Instek, Taipei, Taiwan).

A mintabeviteli rendszer komponenseihez egy ProJet MJP 3600 típusú professzionális 3D nyomtatót és VisiJet M3-X típusú gyantát felhasználva jutottunk (3D systems, Rock Hill, SC, USA).

A membránszűrős kísérletekhez 100 nm pórusátmérőjű PTFE, PA és PES fecskendőszűrőket használtunk fel (Nantong FilterBio Membrane Co., Nantong, Kína).

A porlasztók működésének vizsgálata során egy 1.109 típusú optical particle counter műszert (OPC, Grimm Aerosol Technik, Németország) használtunk a cseppméreteloszlás meghatározására. Az argongáz áramlási sebességét egy tömegáramszabályzóval (Aalborg, Dánia), buborékos térfogatáram mérővel és rotaméterrel mértük és szabályoztuk.

4.2. Vegyszerek, anyagok

A porlasztó hatékonyság felméréséhez IV-ICPMS-71A típusú (Inorganic Ventures, Christiansburg, UK), multieleemes sztenderd került felhasználásra. Méréseinkhez ultranyomanalitikai minőségű salétromsavat használtunk (VWR Chemicals, PA, USA). Az egyrészecske ICP-MS-, membránszűrési, és DLLME kísérletek során, PEG-, illetve citrát-stabilizált arany és ezüst nanorészecske sztenderdeket (nanoComposix Inc., San Diego, CA, USA) alkalmaztunk. Méréseinkhez MilliPore Elix 10 Synergy víztisztító készülékből (Merck GmbH, Darmstadt, Németország) származó nagy tisztaságú ioncserélt vizet használtunk. Az extrakciós kísérletek során analitikai tisztaságú kloroform, etanol és metanol került felhasználásra (VWR Chemicals, PA, USA)

4.3. Szoftverek

A kísérleteket megelőző fizikai szimulációkat COMSOL Multiphysics, fizikai modellező program (COMSOL Inc., Burlington, MA, USA) segítségével végeztük.

A mintabeviteli rendszer elemeinek tervezése AutoCAD 2022 (Autodesk Inc., San Rafael, CA, USA) vektorgrafikus 3D modellező programokat alkalmaztuk.

Az ICP-MS-mérések során a műszer kezelését és a mért adatok feldolgozását az Agilent MassHunter programban (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) végeztük. Az adatok kiértékelésére Microsoft Excel táblázatkezelő program (Microsoft, Redmond, WA, USA), és Origin, adatkiértékelő, ábrázoló szoftver (OriginLab Corp., Northampton, MA, USA) került felhasználásra.

5. Kísérleti eredmények

5.1. Nanorészecske elválasztási előkísérletek

Nanorészecskék extrakciójának kivitelezésére az irodalomban mára nagyszámú alternatíva fellelhető (lásd 2.4. alfejezet), melyeknek mind megvannak az előnyei és hátrányai, illetve mikrofluidikai chipre integrálhatóságukat tekintve is igen nagy különbségek mutatkoznak közöttük. Ebben az alfejezetben három igen különböző, más-más szempontok alapján ígéretes nanorészecskék extrakciójára alkalmas módszer hatékonyságát mértük fel kísérleti úton. A következő követelményeknek kell teljesülnie, ahhoz, hogy egy vizsgált módszert mikrofluidikai chipre történő integrálásra érdemesnek találjunk: kielégítő reprodukálhatóságot és megfelelő hatékonyságot produkál, ezzel lehetővé téve legalább félkvantitatív jellegű meghatározását az extrahált minta alapvető jellemzőinek (koncentráció és méreteloszlás).

5.1.1. Diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció (DLLME)

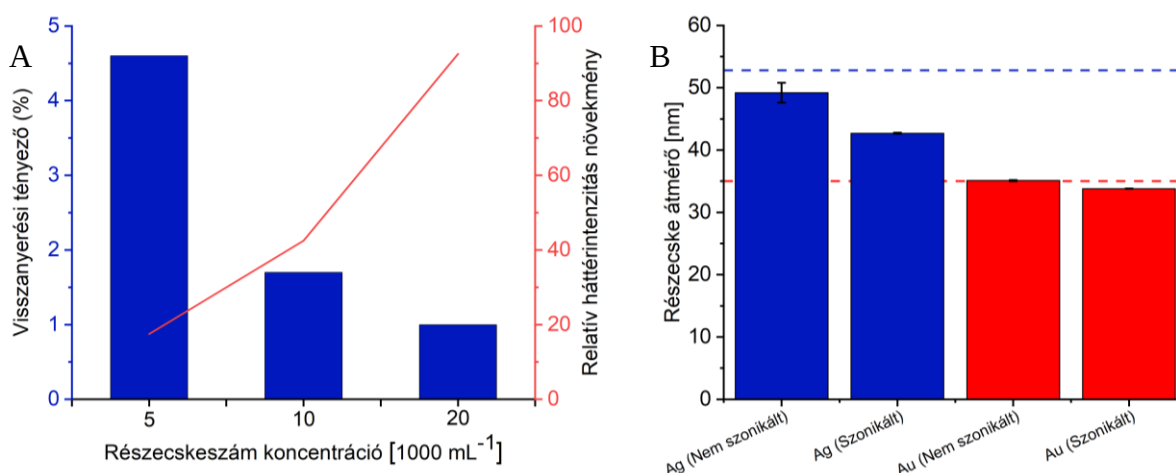
A diszperzív folyadék-folyadék mikroextrakció hatékonyságának felmérése mellett – a nyilvánvalóan nehézkes chipre integrálhatóság ellenére – azért döntöttünk, mivel az irodalom alapján ez bizonyult a legnagyobb hatásfokkal elvégezhető, két, nem elegyedő folyadékon alapuló módszernek, amely kellően kis térfogatokban (μL) is kivitelezhető. Emellett nagy előnye, hogy a diszperzió közegének lecserélése és az analit koncentrációja is kivitelezhető lehet nagy kinyerési tényező mellett.

Mivel mind a mikrofluidikai chip, mind az ICP-MS pneumatikus porlasztójának működését jelentősen rontaná tenzid típusú diszpergens használata (buborék-, habképződés), ezek használatát kizártuk, és metanolt alkalmaztunk erre a célra, extrahálószerként pedig kloroformot használtunk.

A kísérletek során 4 mL, ismert koncentrációjú, különböző stabilizálószerrel (polietilén-glikol - PEG, citrát) ellátott arany és ezüst nanorészecske diszperzióból történt az extrakció 1 mL metanol és 0,75 kloroform keverékének felhasználásával. A diszpergáló- és extrahálószer keverékét injekcióstű segítségével került elosztatásra a vizes fázisban, majd az így képződött emulzió 15 perces ultrahangos kezelésnek lett alávétve (sonication assisted DLLME), amellyel az extrahálószer cseppjeinek finom elosztatását, és a nanorészecskék folyadékfázisok közötti transzportját lehet elősegíteni. Ezt követően centrifugával ülepítettük a szerves fázist, amelyet a centrifugacső aljáról az injekcióstűvel begyűjtöttünk, majd egy üres

centrifugacsőben beszárítottunk. A beszáradt nanorészecskék (4 mL) ioncserélt vízben újra diszpergálásra kerültek, melyet ultrahangos rázatással segítettünk elő, majd az így előállt nanorészecske diszperziók spICP-MS technikával karakterizálásra kerültek.

Az elvégzett kísérletek során vizsgáltuk az extrakciós hatékonyság függését a kiindulási nanodiszperzió számkoncentrációjától, a részecskék és azok stabilizálószerének anyagi minőségétől, illetve az extrakciós folyamat precizitását. A tapasztalatok szerint az ultrahangos kezelés időtartamának és a kiindulási számkoncentráció növelésével csökken a visszanyerési tényező, ami a legkedvezőbb esetben sem haladja meg az 50%-ot, de jellemzően 5-10% körül marad $5 \cdot 10^3$ és $2 \cdot 10^4$ mL⁻¹ közötti számkoncentráció tartományban (6. ábra, a). Minden extrakció során megfigyelhető volt, hogy az extraktumban kimutatott részecskék átlagos mérete valamelyest csökkent a kiindulási diszperzióban mérthez képest, illetve ezzel párhuzamosan az extraktum oldott fémtartalma is megnőtt a kiindulási nanodiszperzióban észlelhetőhöz képest.



6. ábra. A) PEG-stabilizált ezüst részecskék extrakciója során kimutatott visszanyerési tényezők és az eljárással párhuzamosan keletkező oldottanyag-tartalom, B) Citráttal stabilizált arany és ezüst nanorészecskék átlagos detektált átmérője az extrakció után szonikálást alkalmazva, és anélkül, a részecskék eredeti méretéhez (szaggatott vonalak) képest.

A relatív növekmény minden kipróbált részecske esetében arányos volt a kiindulási számkoncentrációval, amely arra utal, hogy az említett jelenségekért a részecskék részleges oldódása a felelős. A parciális oldódás mértéke azonban eltért a különböző anyagú és stabilizálószerrel rendelkező részecskék esetében. Az eredmények alapján a részleges oldódásnak az ezüst részecskék kitettebbek az aranyokhoz képest stabilizálószerrel függetlenül (6. ábra b), illetve a citrát-stabilizált részecskék, függetlenül anyagi minőségüktől nagyobb hajlamot mutattak az oldódásra, mint PEG-stabilizáltak. Emellett megfigyelhető, hogy a szonikálás is igen jelentős, kedvezőtlen hatással van az extrakció utáni részecskeméretre. A

jelentős oldódás nem csak a kinyert részecskék méreteloszlását hamisítja meg, de túlzott mértékű oldottanyag tartalom növekedéséhez is vezethet, ami ellehetetlenítheti a kinyert részecskék kimutatását. A viszonylag kis és változékony visszanyerési tényezők, precizitás értékek, illetve az igen jelentős feloldási hajlam miatt (amely vélhetően ennél is komolyabb lenne valós minták esetében, ahol a számos jelenlévő szennyező és a stabilizálószer hiánya mind az oldódási folyamatot erősítené) összességében az US-DLLME nem teljesítette az elválasztási módszerekkel szemben támasztott elvárásainkat, így chipre történő implementálása elvetésre került.

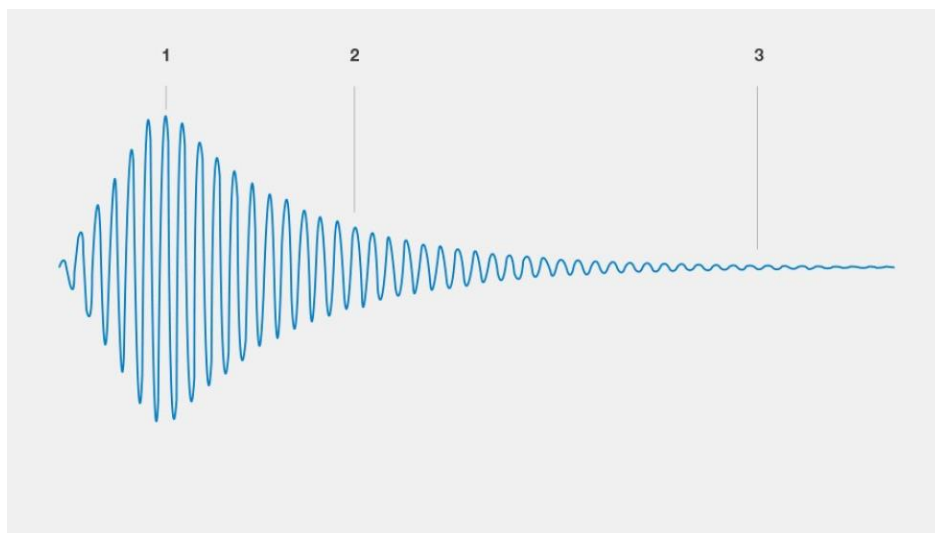
5.1.2. Mágneses nanorészecskék manipulálása elektromágnessel

Kísérleteket terveztünk és hajtottunk végre annak felderítése céljából, hogy milyen műszaki megoldásokkal, milyen hatékonyan lehet mágneses nanorészecskéket szeparálni áramló folyadék mintákból.

A mikrofluidikai analitikai alkalmazások (spICP-MS mérések) szempontjából a mágneses nanorészecskék visszatartása többféle lehetőséget, de egyúttal számos kihívást is jelent. A lehetőségek közé sorolható például, hogy a szeparáció révén a nanorészecskék és az oldottanyag tartalom is jól megkülönböztethetővé válik (még a zavaró hatások jelentette komplikált esetekben is), a minta nanodiszperziók kontrollált dúsítása valósítható meg, illetve a különböző anyagi minőségű (mágneses és nem mágneses) nanorészecskék is elválaszthatók. A műszaki kihívások közé tartozik, hogy bár egy chipbe integrált kisméretű, de erőteljes elektromágnes vezérlésével a mágneses részecskék visszatartása elvben viszonylag könnyen megoldható, azonban olyan esetekben, amikor a részecskék később analízisre kell kerüljenek, arról is gondoskodni kell, hogy a csapda elengedje, demagnetizálja (mágneses dipólusokat randomizálja), illetve aggregációjukat megszüntesse. Mindezt ráadásul gyorsan kell megvalósítani a nagy mintafeldolgozási sebesség érdekében.

Mágneses anyagok demagnetizálására többféle mechanikai és elektromos megoldás létezik [53], azonban áramló folyadékközeg (szuszpenzió) esetén az egyetlen realisztikus utat a nagyfrekvenciás tekercs alkalmazása jelenti. Emiatt egy réztekercsnek (vagy tekercseknek) a csapda alatti csatorna szakaszon való elhelyezését tervezzük. A szakirodalom szerint annál nagyobb frekvenciájú elektromágneses demagnetizálást kell alkalmazni, minél kisebbek a mágnesek, ezért 10-100 kHz nagyságú frekvencia tartományt tervezünk alkalmazni. Az áramot oszcilláló, gyorsan növekvő, majd lassabban csökkenő amplitúdójú (burkológörbéjű)

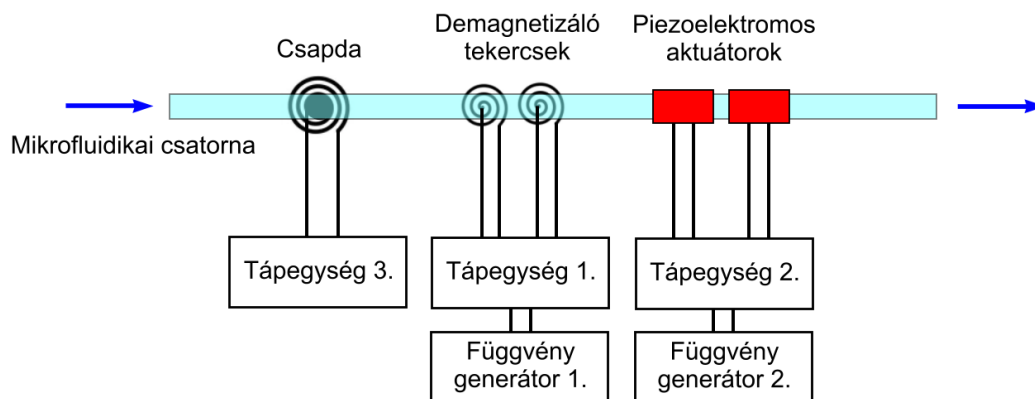
jelelak mentén kell alkalmazni a hatékony demagnetizáláshoz (7. ábra) [53]. Terveink szerint a tekercs meghajtásához programozható tápegységet és függvénygenerátort alkalmazunk majd. A tekercsek párhuzamosan kapcsolhatók.



7. ábra. Áramerősség burkológörbe elektromágneses demagnetizáláshoz. 1) Magas, maximum térerősség 2) monoton csökkenő amplitúdó 3) elnyúló, kis amplitúdójú lecsengés.

Felvethető, hogy a mágneses részecskék csapdázására szolgáló, alapvetően egyenárammal vezérelt, a csatorna keresztmetszeti méretére optimált magmértű elektromágnes önmagában is alkalmazható lehet a demagnetizálásra, a részecskék elengedése pillanatában. Bár az elektromágnes ön-demágnesezése indokolt lehet, azonban a nanorészecskék lemágnesezése a mikrofluidikai csatornában áramló folyadékközeg miatt ezen az úton kis hatékonyságú lenne. Sokkal eredményesebb lehet az önálló tekercs vagy tekercsek alkalmazása, amelyek hosszabb interakciós időt biztosítanak.

A részecskék aggregációjának megszüntetését a demagnetizálás is elkezd, de annak teljessé tételére piezoelektromos aktuátort kívánunk alkalmazni, a mikrofluidikai csatornában a tekercsek után. Aktuátorral mechanikai energiát (rezgő mozgás) közlünk a folyadékkal. A chipbe integrálásra alkalmas eszköz lehet egy olyan aktuátor is, amelyet egy későbbi fejezetben szelepként mutatunk be. Az eszköz méretezése ebben az esetben olyan kell legyen, hogy az aktuátor szabadon mozogjon a „tokjában”, ezáltal megvalósítva az oszcilláló mozgást. Itt is 10-100 kHz, vagyis az ultrahang tartományba eső frekvenciával tervezzük a meghajtást. Szükség esetén több ilyen kis holtterfogatú „ultrahang generátort” is be lehet építeni chipbe. A fenti eszközök elvi elrendezését az alábbi sematikus ábra mutatja be.



8. ábra. A mágneses nanorészecskék csapdázására és újra diszpergálására szolgáló mikrofluidikai elrendezés vázlatos rajza

A fenti eszközök működésének optimalizálása szükséges. Meg kell határozni azokat az áram jelalakokat (áramerősség burkológörbe, frekvencia), amelyekkel a csapdázó, demagnetizáló és aggregációt megszüntető eszközök egy adott működési folyadék áramlási sebesség mellett pár cm úthosszon gömb és rúd alakú nanorészecskék esetén is megbízhatóan elvégzik a feladatukat. Ezen kívül meghatározandó még a mágneses részecskecsapda hatékonysága és kapacitása is, adott csatorna méretek és elektromágnes adatok mellett. Ehhez többféle, különböző alakú, méretű és mágneses tulajdonságú nanorészecskéket szintetizáltak együttműködő partnereink kísérleteink céljára (pl. hematit, magnetit, gömb és rúd stb.). Ezen kívül acél mikrorészecskéket (DED technológiájú 3D nyomtatás alapanyaga, 50-90 μm átmérőjű gömbök) is használtunk egyes kísérletekben. A nanorészecskék detektálására spICP-MS módszert alkalmazunk és a csapda működését a detektálási események számának monitorozásával tudjuk elvégezni. A detektált jelek hisztogramja a demagnetizáció és az aggregáció megszüntetésének hatékonyságára utaló információkat tartalmaz és optimalást tesz lehetővé.

A fenti kísérletek elvégzése előtt előkísérleteket hajtottunk végre statikus és áramló folyadék közegben, optikai fénymikroszkóp segítségével. Az individuális nanorészecskék ilyenkor ugyan nem detektálhatók, azonban a mágneses csapda működése tesztelhető, mivel az aggregálódott részecskehalmoz mérete már elegendően nagy a megfigyeléshez. Hasonlóan, kvalitatív vizuális megfigyeléseket lehetett tenni a demagnetizáló és aggregációt megszüntető eszközök hatásosságára vonatkozóan is.

5.1.3. Nanorészecske szeparáció membránszűrők alkalmazásával

Ultrafiltrációs membránok pórusátmérőjüket, kivitelüket, és alapanyagukat tekintve is viszonylag széles választékban elérhetőek kereskedelmi forgalomban. Alkalmazásuk nanorészecskék méretszelektív elválasztására nem ismeretlen az irodalomban, és előnyeik közé tartozik, hogy chipre való integrálhatóságuk viszonylag egyszerűen kivitelezhető, illetve, hogy felhasználásukkor elméletben lehetőség adódik nanorészecskék diszperzióból történő eltávolításuk mellett dúsításra is, amennyiben a membrán anyagának szorpciós tulajdonságai azt engedik. Hátrányuk viszont, hogy a kommerciálisan kapható membránok pórusainak méreteloszlása és annak változékonysága ismeretlen, illetve, hogy az igazán kis pórusátmérőkkel rendelkező membránok esetében igen nagy differenciális nyomásra is lehet szükség a megfelelő áramlási sebesség biztosításához, ami a chipre integrálhatóságukat limitálja. Ebben a fejezetben többféle, membránok karakterizálására irányuló kísérletünk kerül bemutatásra, amelyekkel a vizsgált membránok analitikai alkalmazási lehetőségeinek és azok hatékonyságának feltérképezése volt a cél, azzal a reménnyel, hogy akár több, különböző feladatra is bizonyítottan alkalmas membránt tudunk kiválasztani.

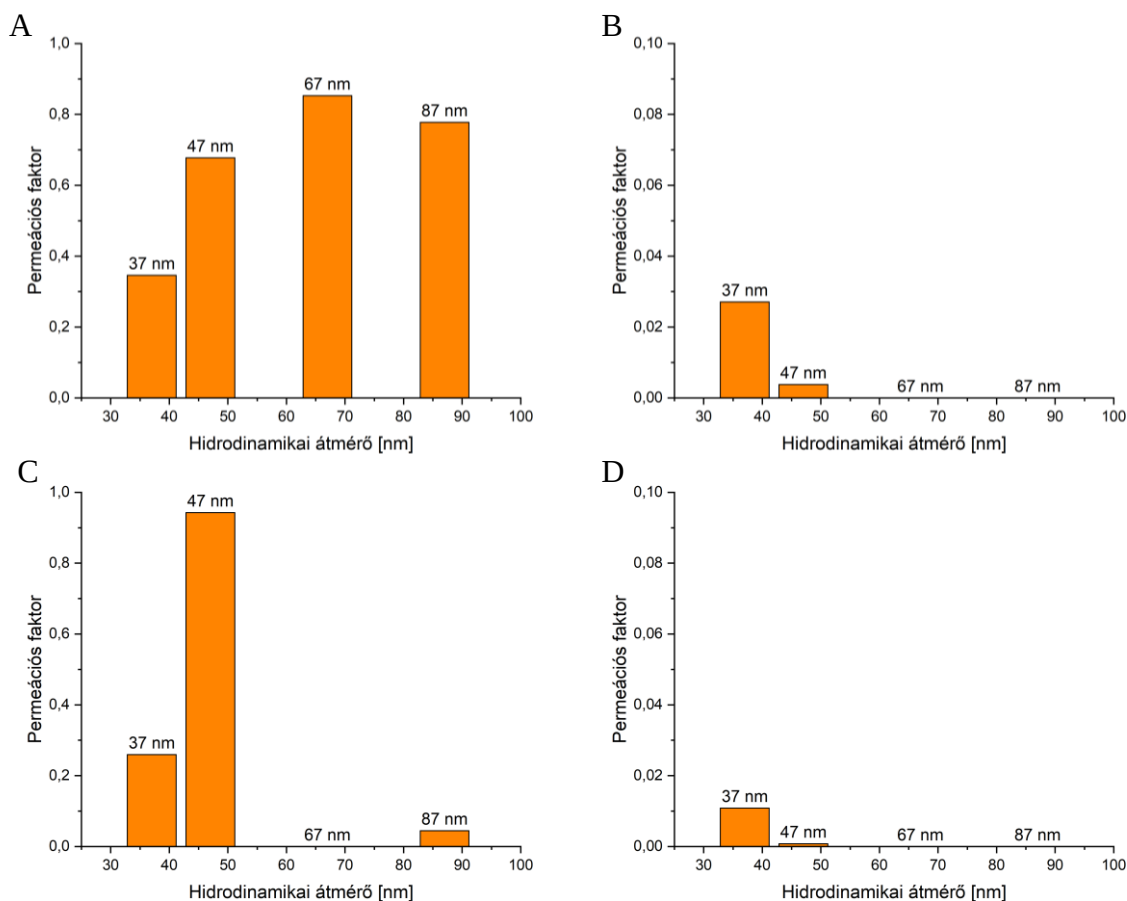
5.1.3.1. Különböző membránok permeációs karakterisztikáinak vizsgálata

A membránok felülete, pórusai és a nanorészecskék anyaga, illetve a felületükhöz kapcsolt stabilizálószer közötti kölcsönhatások mértéke, és ezek permeációs készségre kifejtett hatása nem jelezhetők előre megbízhatóan. Ebből kifolyólag a használatra szánt membránok permeációs tulajdonságainak empirikus felmérése mellett döntöttünk. Tesztelésre a membránokat az alapanyaguk és névleges pórusátmérőjük alapján választottuk ki. Előbbi szempont az inertség, duzzadási jellemzők, illetve a sérülékenység elkerülése végett fontos, utóbbi pedig azért, mert az elérhető nanorészecske szétterjedék méretükből adódóan felülről, kimutatási határaink pedig alulról korlátozzák a nanorészecskékkel történő permeációs vizsgálatát a membránoknak.

Ezek alapján több membrán is alkalmas jelöltnek látszott a chipre való integrációhoz, így összesen három (poliszulfon - PES, poli(tetrafluoroetilén) - PTFE és poliamid – PA) polimeralapú, 100 nm névleges pórusátmérőjű membrán permeációs görbéjét (áteresztőképesség% vs részecskeméret) vizsgáltuk meg. A PTFE membrán esetében, annak erős hidrofób jellege miatt, igen nagy differenciális nyomásokat kellett alkalmaznunk a szűrlet előállításához (ez chipen nem kivitelezhető), ennek elkerülése végett etil-alkohollal

kezelt PTFE (hidrofilizált) membránokkal is folytattunk kísérleteket, amelyeknél jelentősen alacsonyabb nyomások is elegendők voltak a szűrletképzéshez. Meg kell jegyezni, hogy a permeáció szempontjából valószínűleg nem a primer nanorészecske átmérő a meghatározó, hanem a nanorészecskék hidrodinamikai átmérője, mely a stabilizálószerrel is függ. Így a permeációs kísérletekhez elsősorban egy citrát-stabilizált, 37, 47, 67, 87 nm hidrodinamikai átmérőjű, arany nanorészecskékből álló diszperziósorozatot alkalmaztunk: (1) az összehasonlíthatóság végett, (2) a citrát vékonyabb réteget képez a részecske felszínén, így a részecskeátmérő kevésbé változik tőle, mint a népszerű PEG-stabilizált részecskék esetében. Ennek megfelelően ábrákon is a (amelyet a nanorészecske-sztenderdek bizonylatai alapján megadott) hidrodinamikai átmérőket tüntettük fel.

A kísérletsorozatot végeztünk a négy különböző membránnal (PES, PA, PTFE és etanollal kezelt PTFE), melyben azok permeációs karakterisztikáját és nanorészecskék megkötésére való hajlamukat vizsgáltuk. A kísérletben fecskendőszűrő-kivitelű membránok kerültek felhasználásra. Minden egyes szűréshez új membránt alkalmaztunk. A fecskendőszűrőre erősített fecskendőbe 20 mL ismert számkoncentrációjú (kb. $4 \cdot 10^4 \text{ mL}^{-1}$) és méreteloszlású nanodiszperziót (továbbiakban feed) mértünk be, majd pár csepp szűrlet távozása után 5 mL permeátum került begyűjtésre, amit lezárt edényben tároltunk a mérésig. A szűrés (gyűjtés nélkül) addig folytatódott, ameddig a fecskendőben 5 mL diszperzió maradt, ekkor a szűrő felületén maradt folyadékot visszaszívtuk a fecskendőbe, majd az így előállított diszperzió (továbbiakban felülúszó) begyűjtésre került. A permeátum és a felülúszó minták részecskeszám-koncentrációja (PNC) meghatározásra került, ezen értékek hányadosa a feed számkoncentrációjával megadják a permeációs és a prekoncentrációs faktort (9. ábra). Meg kell jegyezni, hogy bár a 9. ábrán látszólag csupán a pórusméretnél kisebb hidrodinamikai átmérőjű részecskékkel végeztük a kísérletet, a 87 nm átmérőjű részecske méreteloszlásából adódóan valójában 100 nm feletti méretű nanorészecskék is szűrésre kerültek a sorozatban. Nagyobb, 112 nm hidrodinamikai átmérőjű, de eltérő stabilizálószerrel rendelkező sztenderd részecskével is folytattunk hasonló kísérletet, de a permeációs faktor azon részecskék esetén sem lett minden membrán esetén nulla.



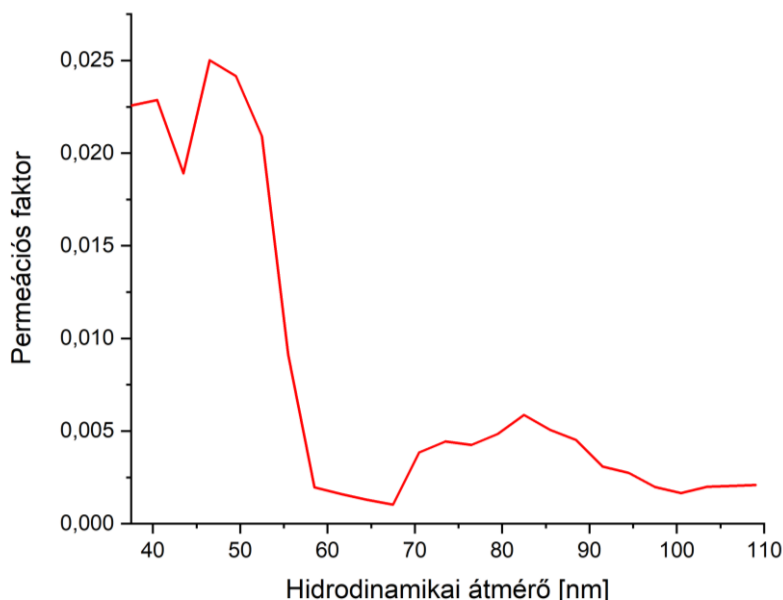
9. ábra. A A) PTFE, B) Etanollal kezelt PTFE C) PES és D) PA anyagú, 100 nm pórusátmérőjű membránok 37, 47, 67 és 87 nm hidrodinamikai átmérőjű arany nanorészecskék segítségével felvett permeációs grafikonjai.

A kísérlet során kapott prekoncentrációs faktorok viszonylag kis szórással minden membrán és nanorészecske átmérő esetében 1 körül alakultak, tehát a membrán által kiszűrt nanorészecskék (1) lerakódhattak a membrán pórusain belül, (2) a fecskendőszűrő holtterefogatában maradtak. Ahogy az a 7. ábrán látható, a PTFE membrán esetében jelentősen eltérő mértékű áteresztőképességbeli különbség mutatkozott attól függően, hogy az etanolos előkezelés megtörtént-e. A kezeletlen membrán esetében a nagy áteresztőképességet valószínűleg a nagy differenciális nyomás miatt keletkezett kisebb sérülések, szakadások okozhatták, emiatt nem mutatott az elvárthoz hasonló lefutást a permeációs grafikon. A PES filter esetében membránsérülés valószínűleg nem állt elő, azonban a grafikon alapján nem mutatott következetes méretszelekciót, így használatát elvetettük. Az etanollal kezelt PTFE membrán esetében a tendencia követi az elvárt fordított arányosságot a permeációs faktor és a részecskeméret között, ami igaz a PA anyagú membránra is így ezek a membránok – igen kis áteresztőképességük ellenére – alkalmasak lehetnek méretdiszkriminációs elválasztási

feladatok kivitelezésére, hiszen magasabb számkoncentrációjú nanodiszperzió szűrésével feltehetően az átjutott részecskék száma is arányosan magasabb lesz.

Ezt egy következő kísérletsorozatban, szintén a citrát-stabilizált részecskék felhasználásával vizsgáltuk PA és etanollal kezelt PTFE membránok permeációs görbéjének lefutásának felmérésével, azonban magasabb, kb. $4,7 \cdot 10^7 \text{ mL}^{-1}$ részecskeszám-koncentrációjú feed nanodiszperziók felhasználásával. A magasabb koncentráció jelentősen csökkentette a PA anyagú membrán permeációs képességét, és így a szűrletben már a kisebb átmérőjű részecskék (37, 47 nm) sem voltak jelen kimutatható koncentrációban. Ez alapján a membrán permeációs faktora az egész tartományon nem haladja meg a $2,78 \cdot 10^{-8}$ értéket, ami igen alkalmassá teszi a PA membránt a nagy koncentrációban jelenlévő nanopartikulumok kvantitatív eltávolítására.

A hidrofizált PTFE esetében a megnövelt koncentrációnak köszönhetően már a nagyobb, 67 és 87 nm-es részecskék is méréshez elégséges számban voltak jelen a szűrletben, így a permeációs görbe jobban felvehető volt (10. ábra). Ahogy az az ábrán is látszik, viszonylag nagy (97,5-99,9%) hatékonysággal valósul meg a szűrés a vizsgált tartományban, a névleges pórusátmérőnél (100 nm) lényegesen kisebb részecskék esetében is. A monodiszperz pórusedoszlásnak köszönhetően a görbén várható volt egy letörési (cut-off) tartomány, ahol ugrásszerű változás figyelhető meg a permeációs faktor értékében.

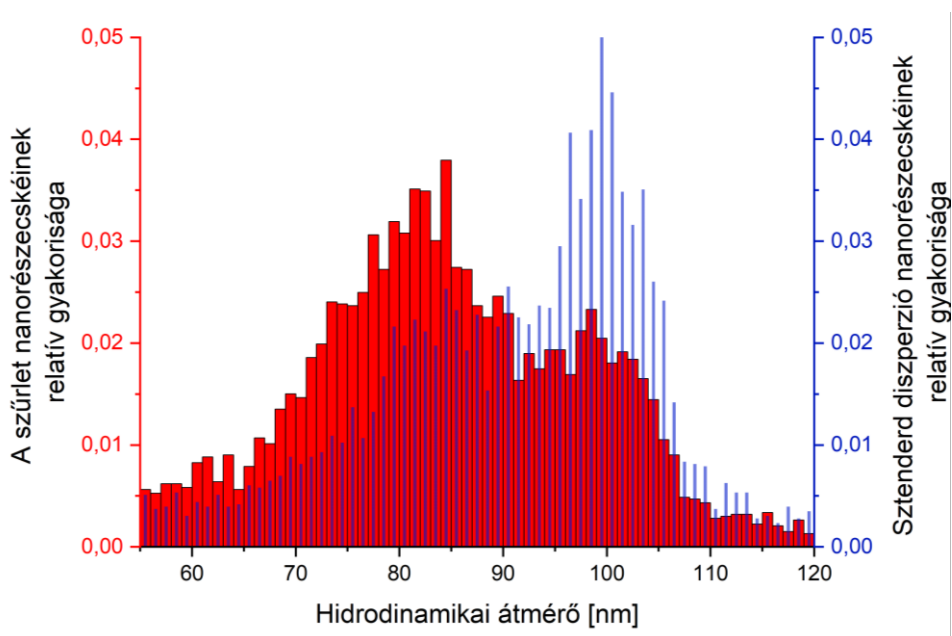


10. ábra. Etanollal kezelt PTFE membrán permeációs görbéje a 37-109 nm közötti hidrodinamikai átmérő tartományban, három nanométeres felbontással.

Ez valóban felfedezhető, azonban a várttal ellentétben a 53 és 57 nm közötti tartományban, tehát jelentősen a 100 nanométeres elvi határ alatt. Ennek több oka is lehet,

mindenesetre a felvett permeációs görbe ismeretével jó közelítéssel becsülhető a membránnak az egyes mérettartományba eső részecskékre vonatkozó áteresztőképessége, így felhasználásával megvalósíthatók lehetnek olyan feladatok, melyek különböző méretű nanorészecskék relatív prekoncentrációját lehetővé teszik.

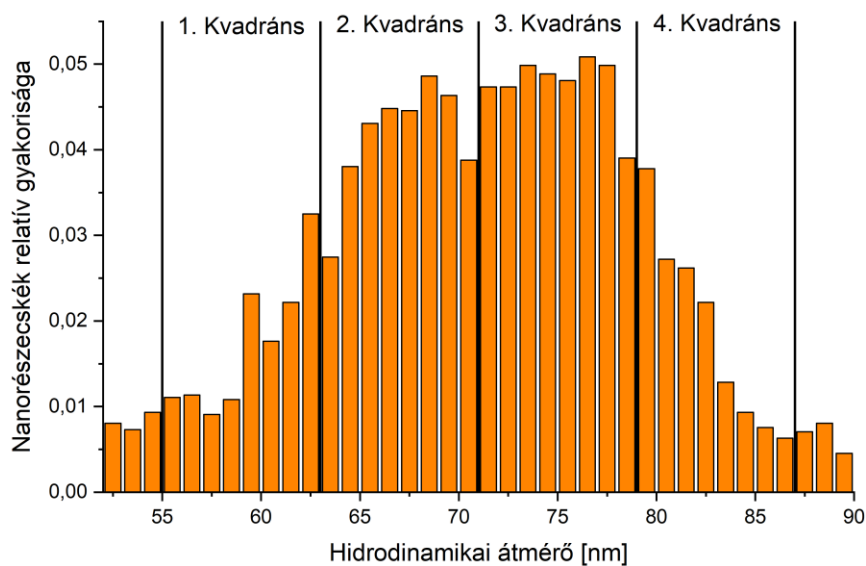
Ezen jelenséget demonstráltuk a hidrofilizált PTFE membrán alkalmazásával egy két részecskecsúccsal rendelkező, 83,8 nm átmérőjű arany nanorészecske sztenderd szűrésével. A 11. ábrán látható a szűrés előtti és a szűrést követő méreteloszlás. Megfigyelhető, hogy a jobboldali, nagyobb részecskéket tartalmazó csúcs tartalmazza a diszperzió részecskéinek jelentős hányadát, míg a szűrlet esetében már a másik, baloldali, kisebb részecskékből álló csúcs a domináns. Kihasználva tehát a membrán méretdiszkriminációját, adott mintában jobban kimutathatóvá tehetők olyan kisméretű nanorészecskék, amelyek detektálása nagyobb méretű és koncentrációban jelenlévő részecskék miatt nehézkes. Ez egy olyan analitikailag hasznos eljárás, mely alapján az etanollal hidrofilizált PTFE membrán chipre történő integrálásra érdemes lehet.



11. ábra. Az etanollal kezelt PTFE membrán méretszelektivitásának hatása két különböző méretű részecskehalmaz relatív gyakoriságára.

5.1.3.2. Membránok permeációs tulajdonságainak szórása és változásai

Az előző alfejezetben chipbe építésre kiválasztott, etil-alkohollal kezelt PTFE membrán permeációs tulajdonságainak gyártási reprodukálhatóságát kíséreltük meg felmérni ebben a kísérletsorozatban. A szűrésekhez a 67 nanométeres közepes hidrodinamikai átmérővel rendelkező, citrát-stabilizált arany nanorészecske diszperziót használtuk. Reprodukálhatósággal arányos, számszerűsíthető mennyiség a szűrés előtt és után detektálható részecskecsúcsok lefutásának változásából nyerhető, azonban az eloszlásgörbék torzulásának számszerűsítése azonban nem triviális feladat. Ebben a kísérletben megoldásként az eloszlásgörbék méretszerinti kvadránsokra bontása, pontosabban az egyes kvadránsokba eső részecskeméretekhez tartozó relatív gyakoriság összegek összehasonlítása szolgált. A relatív gyakoriságok használata itt azért előnyös, ugyanis így valóban csak az eloszlásról kapunk információt míg, ha a detektált részecskék száma, vagy a mért koncentráció szerepelne az y-tengelyen, akkor a mintabevitel kisebb ingadozásából és a mérési módszer statisztikus jellegéből adódó bizonytalanság is megjelenne az adatokban. A kvadránsok felosztása az alább látható módon történt, egy felhasznált (szűretlen) nanodiszperzió eloszlásgörbéjén szemléltetve (12. ábra).



12. ábra. A 67 nanométeres közepes hidrodinamikai átmérővel rendelkező arany nanodiszperzió csúcsának kvadránsokra bontása.

A kísérlethez referenciaként háromszor rögzítésre került a szűretlen diszperzió részecskecsúcsa, az eloszlásuk alapvető változékonyságának felmérése céljából. Ezt követően 5 minta, egymástól függetlenül, korábban használatlan szűrők alkalmazásával szűrésre került. Így a referencia mintákban és a szűrtben mért csúcsok kvadránsbeli eloszlásainak

összevetésével, a szűrési folyamat méretszelektivitásának változékonyságáról kaptunk információt (1. táblázat).

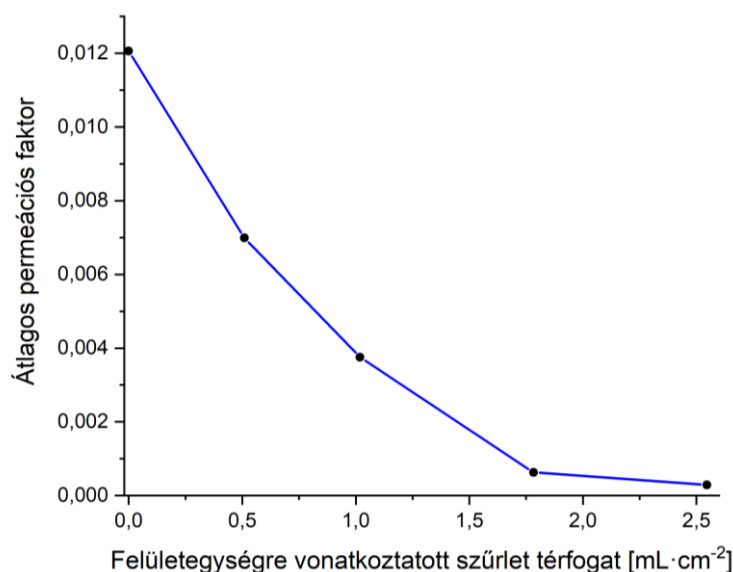
	Kvadránsokba eső részecskehányadok				Kvadránsokba eső részecskehányadok szűrésből adódó eltérése			
	1. Kvadráns	2. Kvadráns	3. Kvadráns	4. Kvadráns	1. Kvadráns	2. Kvadráns	3. Kvadráns	4. Kvadráns
1. Referencia	13,77%	33,17%	38,13%	14,93%	-	-	-	-
2. Referencia	13,72%	35,48%	37,04%	13,75%	-	-	-	-
3. Referencia	14,08%	34,31%	38,15%	13,46%	-	-	-	-
Referencia átlag	13,86%	34,32%	37,77%	14,05%	-	-	-	-
Referencia sztenderd deviáció	1,15%	2,76%	1,37%	4,55%	-	-	-	-
1. Szűrlet	14,17%	34,51%	38,25%	13,07%	0,30%	0,20%	0,48%	-0,98%
2. Szűrlet	14,76%	33,80%	38,40%	13,04%	0,90%	-0,52%	0,62%	-1,01%
3. Szűrlet	15,45%	34,75%	38,21%	11,60%	1,59%	0,43%	0,43%	-2,45%
4. Szűrlet	15,09%	34,96%	37,83%	12,11%	1,23%	0,64%	0,06%	-1,94%
5. Szűrlet	15,19%	34,67%	38,27%	11,87%	1,33%	0,35%	0,50%	-2,18%
Szűrlet átlag	14,93%	34,54%	38,19%	12,34%	1,07%	0,22%	0,42%	-1,71%
Szűrlet sztenderd deviáció	2,96%	1,15%	0,50%	4,92%	41,24%	179,92%	45,42%	35,51%

1. táblázat. A membrán méretszelektivitásának változékonyságát jellemző adatok.

Ahogy az látszik, a kvadránsokba eső részecskehányadok változékonysága alapvetően igen kicsi (pár százalékos) maradt a szűrletek esetében is, így a szűrlet és referencia eloszlások között szignifikáns különbség nem mutatható ki. Az átlagos kvadránsokba eső részecskehányadok alakulásából a referencia és a szűrlet átlagot nézve látható a tendencia (főleg a szélső kvadránsok esetében), miszerint a membrán áteresztőképessége kisebb a nagyobb méretű részecskékre nézve. A szűrésből adódó eltérése a kvadránsokba eső részecskehányadnak (amit az az adott szűrlet adott kvadránsában lévő részecskehányadának és az azzal megegyező kvadránsban lévő átlagos referencia részecskehányad hányadosaként definiáltunk) elég alacsonyan maradt, melynek oka, hogy a kísérlethez felhasznált részecskesztenderd méreteloszlása nem a legnagyobb meredekségű szakaszára esik a permeációs görbének. Éppen az ebből adódó kis eloszlástorzító hatás miatt, a vizsgált tartományon ezen mennyiség relatív sztenderd deviációjára igencsak magas értékek adódtak. Ezt, valamint hogy a számkoncentráció meghatározás bizonytalansága nemritkán a 10-15%, a membránok reprodukálhatóságát elégségesnek tekinthetjük.

A következő kísérletsorozatban a hidrofilizált PTFE membrán (25 mm dia. fecskendőszűrő) permeációs tulajdonságának változását térképeztük fel a membránon áthaladt, egységnyi szűrőfelületre vonatkoztatott folyadék térfogatának függvényében. A

kísérlet során a 67 nanométeres közepes hidrodinamikai átmérővel rendelkező, citrát-stabilizált arany nanorészecske diszperziót alkalmaztuk $5,4 \cdot 10^7 \text{ mL}^{-1}$ részecskeszám-koncentrációban. Egyazon membránt felhasználva szűrletmintákat vettünk különböző (0, 10, 20, 35 és 50 mL) leszűrt térfogatok után kezdve a mintagyűjtést. Az így készült nanodiszperziók eloszlását vizsgáltuk spICP-MS módszerrel. Ami a permeációs görbe lefutását illeti, nem látszott jelentős változás a méretszelektivitásban a különböző szűrletek esetében, azonban a permeációs faktor egyértelmű csökkenő tendenciát mutatott a vizsgált mérettartomány teljes szélétében (13. ábra).



13. ábra. Az etanollal kezelt PTFE membrán átlagos permeációs faktorának alakulása különböző térfogatú, 67 nm hidrodinamikai átmérőjű, $5,4 \cdot 10^7 \text{ mL}^{-1}$ részecskeszám-koncentrációjú sztenderd nanodiszperzió leszűrését követően. (A permeációs faktor a vizsgált részecskecsúcs által lefedett mérettartományra lett átlagolva)

A tendencia jó eséllyel a membrán pórusainak és felületének nanorészecskékkel történő telítődése miatt figyelhető meg, tehát a változás valójában a leszűrt térfogatban lévő részecskék számával arányos, mintsem egyszerűen a térfogattal. Így bár az ábrán látható lefutás alapján viszonylag kis membránon leszűrt mintamennyiség hatására is jelentős áteresztőképességbeli különbség figyelhető meg, hozzá kell tenni, hogy a kísérlet során alkalmazott nanodiszperzió jóval (nagyjából 3 nagyságrenddel) nagyobb részecskeszám-koncentrációban lett alkalmazva, mint ami az spICP-MS módszer számára ideális mérési szempontból.

5.1.3.3. *Dúsítási folyamatok kivitelezhetőségének felmérése*

Kísérletsorozatban vizsgáltuk a hidrofilizált PTFE membrán alkalmasságát nanorészecske-dúsítási feladatok kivitelezésére. Ehhez a korábban használt, citrát-stabilizált arany nanorészecske méretsorozatot alkalmaztuk $5,4 \cdot 10^4 \text{ mL}^{-1}$ koncentrációkban. A kísérlet során 15 mL nanodiszperzió leszűrését követően folyamatos szonikálás mellett, ioncserélt víz-ellenáramban (a szűrés eredeti irányához képest) igyekeztünk visszanyerni a membrán felületén felhalmozódott részecskéket. Elvben a leszűrt, és az ellenáramban átvezetett folyadék térfogatainak aránya határozza meg az ezzel a módszerrel elérhető prekoncentrációs faktor maximumát. A gyakorlatban minden így előállított mintában kimutatási határ alatti részecskeszám-koncentrációt detektáltunk, függetlenül az ellenáramban bevezetett ioncserélt víz térfogatától, mely arra utal, hogy igen erős kölcsönhatások alakulnak ki a nanorészecskék és a membrán felülete között, mely szonikálás hatására – amelyet sikerrel alkalmaznak pl. részecskék aggregációjának megszüntetésére is – sem szüntethető meg. Ez egyrészt azt jelenti, hogy egyéb, hatékonyabb lemosási módszer hiányában nem elképzelhető dúsítási feladat elvégzése ilyen anyagú membrán alkalmazásával. Azonban egyben azt is, hogy ezt a membránt alkalmazva nanorészecskék folyadékból történő eltávolítására és/vagy méretszerinti relatív dúsítására, egymást követő használatok során kizárható a jelentős keresztszennyezés lehetősége.

5.2. Nagyhatékonyságú porlasztók és ködkamrák

Mivel a különböző 3D nyomtatási technológiák jelentős fejlődésen mentek keresztül az elmúlt években, azok mára már nem ritkán pár tíz mikronos laterális felbontás mellett is képesek dolgozni, mely alkalmassá teszi őket olyan precíziós alkatrészek nyomtatására is mint egy fűvókafej. Emellett természetesen az additív megmunkálással és azon belül a 3D nyomtatási technológiával járó előnyök, mint a nehezen hozzáférhető, zárt terek, szűk csatornák kialakíthatósága, csökkentett alapanyag felhasználás és a viszonylag gyors, automatizált gyártási folyamat, amely sűrű prototípus készítést is lehetővé tesz, mind kívánatosá teszi ezen technológia alkalmazását. Az irodalomban 3D nyomtatással mintabeviteli rendszereket még csak elvétve készítettek. A felsorolt okok miatt mi úgy döntöttünk, hogy a megtervezett mintabeviteli rendszer elemeit 3D nyomtatással fogjuk elkészíteni.

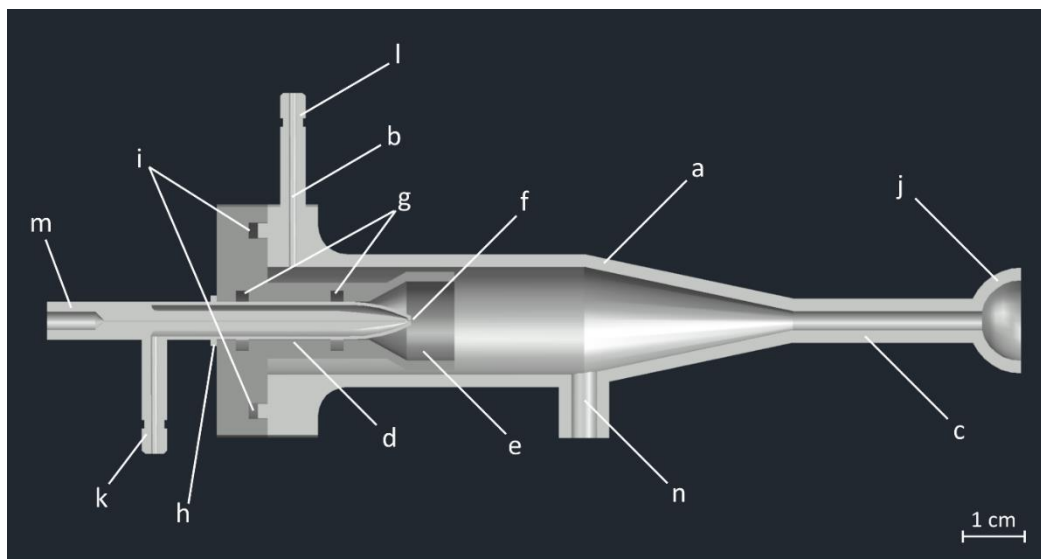
5.2.1. Porlasztó és ködkamra tervezése és optimalizálása szimulációk segítségével

Nagyhatékonyságú porlasztókra és kis holttérfogattal, jó transzporthatékonysággal rendelkező ködkamrákra vonatkozó tanulmányok megtalálhatók már az irodalomban [29, 31, 32]. Az elkészítendő mintabeviteli rendszer (porlasztó és ködkamra) komponenseinek a következő kritériumoknak kellett megfelelnie, azokon végrehajtott jelentősebb geometriai vagy működési elvbeli változtatások nélkül: (1) A porlasztást és a cseppszelekciót (ködkamra) végző alkatrészek kompatibilisek legyenek a legtöbb spICP-MS mérések során előforduló minta közegével. (2) Az üzemeltetésükhöz szükséges gáz vagy folyadékáramlások minősége, mértéke kompatibilis legyen az ICP-MS műszer működésével. (3) A mintabeviteli rendszer közvetlenül az ICP fáklyához legyen illeszthető, ezzel minimalizálva az aeroszol veszteséget az őket összekötő csőszakaszokban. (4) Geometriai megoldásaik nem tartalmazzanak olyan apró részleteket (a porlasztó kapillárisain, fűvókáján kívül, melyek elkerülhetetlenül a 3D nyomtatás felbontóképességének határait feszegetik), és így jelentős kihívást okozhatnak a gyártási folyamat során. (5) A mintabeviteli rendszer teljes hatékonysága jobb, mint a sztenderd mintabeviteli rendszereké.

A felsorolt szempontokat szem előtt tartva egy mikrokonzentrikus porlasztóból és egy „on-axis” típusú ködkamrából álló mintabeviteli rendszer megtervezését tűztük ki célul. Erre a porlasztó dizájnról azért esett a választás, mert alakja nagyban hasonlíthat az eredeti porlasztójára az ICP-MS-nek, így annak csövezésével a kísérletek céljaira könnyen kompatibilissé tehető, míg a fűvókafeje méretei, geometriája szabadon alakítható marad a legkedvezőbb aeroszol tulajdonságok érdekében. A ködkamra dizájn esetében pedig a (1) viszonylag egyszerű, tengelyszimmetrikus felépítés, amely lehetővé teszi, hogy a ködkamra közvetlenül kapcsolódjon az ICP fáklyához, (2) illetve a kamra falai mentén bevezetett köpenygáz használatával elérhető igen nagy transzport hatékonyság voltak a döntő érvek [31].

A porlasztó és a ködkamra egymáshoz, illetve az ICP fáklyához való illesztéshez több gyakorlati problémára kellett figyelmet fordítani, ezek tárgyalásához a mintabeviteli rendszer háromdimenziós tervéből készült keresztmetszeti ábra szolgál segítségül (14. ábra, a-n). (1) Egyrészt a 3D nyomtatási technika (MultiJet Printing – MJP), amellyel az alkatrészek gyártását tervezzük kivitelezni, működéséből adódóan minden zárt üreget kitölt a nyomtatáshoz elengedhetetlen segédgyantával (support resin). Gyakorlati tapasztalat azonban, hogy azokon a részekben, amelyekben munkadarab érintkezik a segédgyantával, valamivel érdekesebb, jobban nedvesedő felületek képződnek. Mivel az alkatrészek több mikrométeres mérettartományba eső szűkületet, kapillárist is tartalmaznak, azok felületének érdekességét

igyekeztük kerülni. Másrésről a műanyag fokozott nedvesedése elősegítené a kiküszöbölni kívánt memóriahatások érvényesülését, így a ködkamra belső falainak segédgyantával való érintkezését mindenképpen igyekeztünk minimalizálni.



14. ábra. A tervezett mintabevitelrendszer háromdimenziós modellének keresztmetszeti ábrája.

Ebből kifolyólag úgy döntöttünk, hogy a ködkamrát két alkatrészből kívánjuk megalkotni, ezzel elkerülve a modell „megtámasztása” miatt adódó problémákat. Az egyik darab a ködkamra külső falait (a) és a köpenygáz bevezetéséért (b), illetve aeroszol elvezetéséért (c) felelős csatornákat, míg a másik a porlasztó foglalatát (d) és az aeroszol cseppek falba történő ütközését elkerülni hivatott köpenygáz megfelelő, nagy falmenti áramlási sebességének biztosításáért felelős kelyhet (e) tartalmazza. (2) A három alkatrész határain reprodukálható módon biztosítanunk kell az alkatrészek relatív pozícióit (pl. a porlasztófej (f) helyzetét a ködkamrán belül), illetve a csatlakozások gáztömörségét. Ezt a pneumatikus porlasztó és a ködkamra határán egy pár megfelelően pozícionált o-gyűrűvel (g) oldottuk meg, illetve egy, a porlasztó testen körbefutó gallér (h) segítségével, mely pontosan képes felfeküdni a ködkamra porlasztóval érintkező elemének falára. A ködkamra két alkatrészének összeillesztéséhez M3-as csavarokat, gáztömörségük érdekében pedig o-gyűrűt használunk, amelynek foglalata (i) egyúttal a két elem pontos centrálását is biztosítja.

Ami a ködkamra és az ICP fáklya összekötését illeti, azt a műszerben is alkalmazott, félgömb alakú üvegcsiszolatos csatlakozókkal kompatibilisre tervezett foglalat (j) biztosítja. (3) A porlasztó és a ködkamra működéséhez folyadék és gázáramlásokat kell biztosítanunk, melyhez megfelelő csatlakozók kialakítása szükséges. Mivel a porlasztás és a köpenygáz-

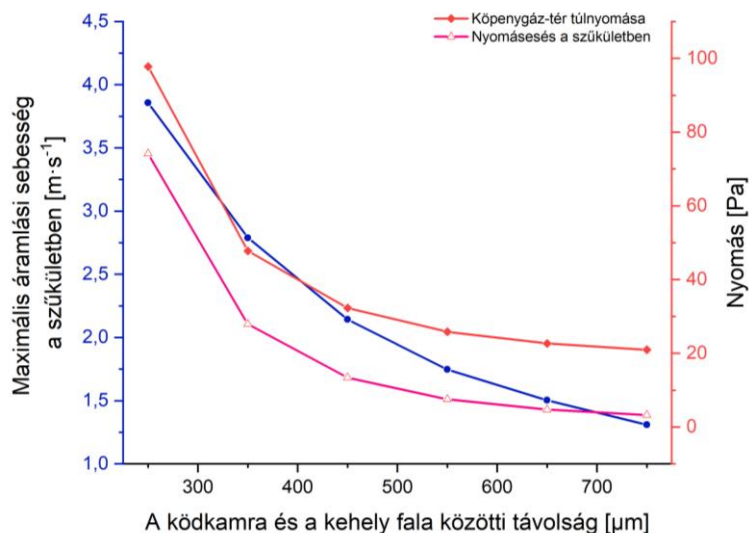
áramlás egyedül argon felhasználásával biztosítható a plazma tulajdonságainak jelentős változtatása nélkül, így a gáz bevezetésére a műszer működéséhez alkalmazott csőrendszerrel kompatibilis (pneumatikus push-in) csatlakozót helyeztünk el a porlasztón (k) és a ködkamrán (l) is. A folyadékminta porlasztóba történő bevezetésére az ICP-MS eredeti mintabeviteli rendszerében is alkalmazott csatlakozó típussal kompatibilis bemenetet (m) helyeztünk el a porlasztó végén. (4) Minthogy a tervezett mintabeviteli rendszer egyik elsődleges célja a nagy transzporthatékonyságok elérése, az aeroszolt a plazmába vezető csőszakaszok – melyben az aeroszol cseppek a falba ütközhetnek, ezzel veszteséget okozva – minimalizálása előnyös. Emiatt döntöttünk a ködkamra fáklyához való közvetlen csatlakoztatása mellett. Azonban így nincs olyan közbülső elem, amely esetlegesen felhalmozódó folyadékcseppeket el tudna vezetni, s így azok egyedül a fáklyába távozhatnak, mely a műszer leállítását/meghibásodását eredményezné. Így – bár az eredeti on-axis ködkamrákban jellemzően nincs – egy folyadékvezetésre szolgáló kimeneti csövet (n) helyeztünk el a ködkamra legmélyebb pontján, melyen keresztül a lecsapódott folyadékot eltávolíthatjuk a porlasztó testéből a műszer beépített perisztaltikus pumpáját felhasználva.

A plazma megfelelő működéséhez az azt tápláló gáz mennyisége csak bizonyos határokon belül mozoghat. A köpenygáz áramlási sebessége tehát szűkös határokon belül elképzelhető, ha a plazma stabil működését biztosítani kívánjuk. Nem beszélve arról, hogy a megnövekedett gázáramlás az analit tartózkodási idejét is csökkenti a plazmában, mely annak az ionizációs képességét is csökkenti. A műszer műszaki leírása alapján a jelenleg használt (kb. $15,4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) térfogatáram maximum valamivel kevesebb, mint $2,5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ -el növelhető, így a köpenygázhoz maximálisan felhasznált gázáram mértékét $2,0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ -ben határoztuk meg.

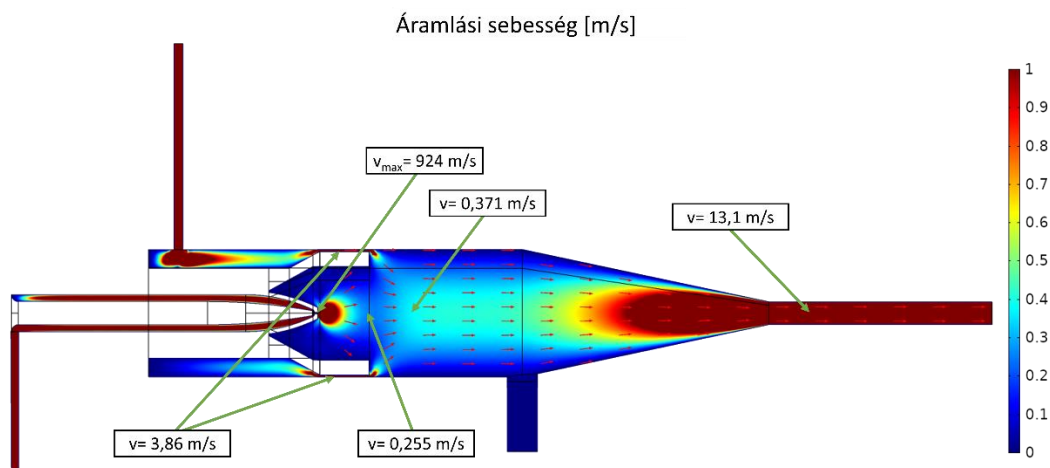
A mintabeviteli rendszer optimalizálásának céljából a COMSOL Multiphysics fizikai modellező program segítségével fluid dinamikai szimulációkat végeztünk a belső gáztér áramlási és nyomásviszonyainak felmérésére. A túlnyomások, és relatív áramlási sebességek becslésével lehetőségünk nyílik geometriai megoldások finomhangolására, mint például a ködkamra a kehely (14. ábra, e) falai között lévő távolság, mely a limitált köpenygáz áramlás mértéke miatt fontos. Emellett pedig a nyomás értékekből a nyomtatásra használt gyanta tulajdonságainak ismeretében a szükséges falvastagság is becsülhető.

Egy szimuláció sorozatban felmértük a ködkamra- és kehelyfal távolságának hatását a szűkület előtti gáztérben kialakuló túlnyomásra, illetve a szűkületben történő nyomásesésre, és az ott létrejövő maximális áramlási sebességre. A szimulációban a köpenygáznak $2,0$, a

porlasztógáznak pedig $0,8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ argon térfogatáram értéket adtunk, illetve peremfeltétel volt a ködkamra kivezető nyílásán a nulla túlnyomás. A szűkület méretét 250 és $750 \mu\text{m}$ között lett változtatva $100 \mu\text{m}$ -es lépésközökkel (15. ábra). A szimulációs eredmények alapján az áramlás jellege – a porlasztó csúcsának szűk környékét leszámítva – lamináris a teljes mintabeviteli rendszeren belül.



15. ábra. Szimulációs eredmények a szűkületben létrejövő áramlási sebességre és nyomásviszonyokra különböző ködkamra- és kehelyfal közötti távolság esetén.



16. ábra. A végleges geometriájú mintabeviteli rendszer gázterére lefuttatott szimuláció eredményeként kapott sebességeloszlás a modell felezősíkjában.

Ahogy az a 15. ábrán is látszik, jelentős változások mutatkoznak minden monitorozott jellemzőre a vizsgált tartományban. A nyomásértékek a legkisebb szűkületben is bőven a szilárd gyanta nyomástűrésén belül vannak a tervezett, 2 mm falvastagság mellett, amelyet eredetileg használni terveztünk a ködkamra esetén. Mivel a nagyobb köpeny-gáz áramlási sebességek mellett jobb esély van az aeroszol cseppek eltérítésére, a legkisebb ($250 \mu\text{m}$) szűkületérték mellett döntöttünk. Ennél kisebb távolság használata mellett valószínűleg már

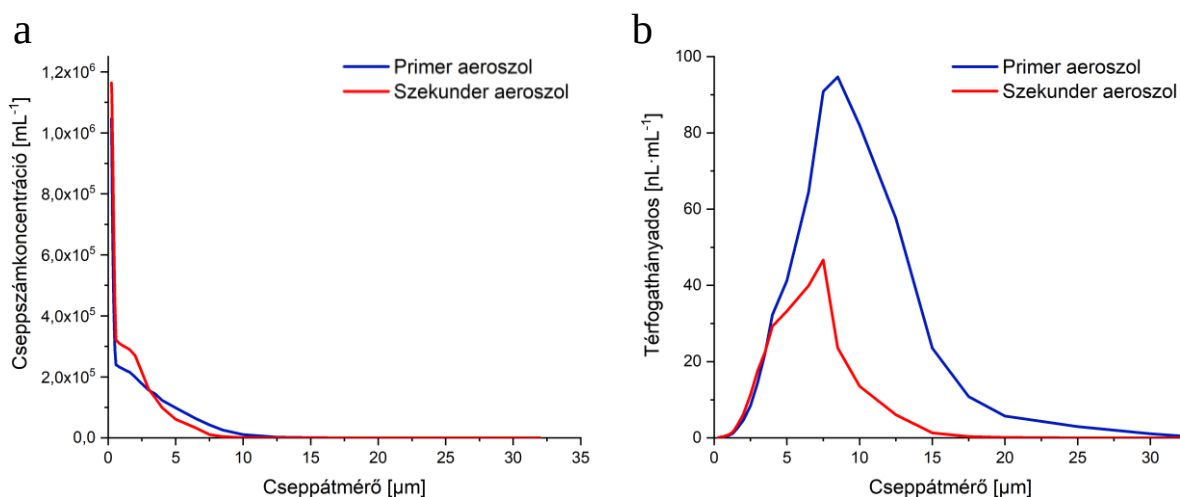
jelentős áramlásbeli aszimmetriát okozna a ködkamra két elemének – akár minimális – pontatlan illeszkedése is.

A 16. ábrán látható piros nyilak – melyek az egyes pontok sebességvektorainak irányát jelölik ki – jól mutatják, ahogy a köpenygáz a szűkületen keresztülhaladást követően kiterjedésével a kehely belsejében még széttartó gázáramlást fókuszálni képes.

5.2.2. A 3D nyomtatott porlasztóval generált primer és szekunder aeroszol karakterizálása

Meghatároztuk a 3D nyomtatott porlasztó által generált primer és a szekunder aeroszol cseppméreteloszlását. A kísérletek során a standard $600 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ felszívási sebesség és $1,0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ porlasztógáz-áramlás mellett került porlasztásra ioncserélt víz. A primer aeroszol részecskeméret-eloszlásának vizsgálatát a porlasztófejtől számított, vízszintesen 115 mm távolságra, akadálymentesen elhelyezett optikai részecskeszámláló (OPC) készülék végezte. Szekunder aeroszol vizsgálatokor a porlasztás az ICP-MS Scott-féle ködkamrájába történt úgy, hogy a ködkamrát elhagyó aeroszol közvetlenül az OPC készülékbe jutott. Ahogy a 17. a) ábrán látható, a primer aeroszolban legnagyobb számkoncentrációban jelenlévő részecskék a szubmikronos átmérőűek, ami természetesen kis méretükből és tömegükből adódóan – melynek köszönhetően kevésbé hajlamosak lecsapódni a ködkamra falára – a szekunder aeroszol méreteloszlására is jellemző lesz. Érdekes módon azonban a $2,5 \mu\text{m}$ átmérő alatti részecskék számkoncentrációja a szekunder aeroszolban még magasabb is, mint a primerben, ennek valószínűleg a ködkamrán belül lejátszódó, cseppek aprózódását elősegítő folyamatok lehetnek az okai. Ezt mutatja az is, hogy a nagyobb, 3 mikron feletti részecskék száma csökkent. Összességében a 17. a) ábra alapján a ködkamra használata csaknem 30%-kal megnövelte az aeroszol cseppek számát, amelyek pedig átmérőjüket tekintve kisebbek lettek. A 17. b) ábra az y-tengelyen az aeroszol egy milliliterében jelenlévő, adott átmérőtartományba eső részecskék halmazában foglalt folyadéktérfogatot (térfogathányados/térfogatkonzentráció) adja meg. Ezen ábrázolást alkalmazva világossá válik, hogy a hatalmas koncentrációban jelenlévő szubmikronos folyadékcseppek gyakorlatilag alig járulnak hozzá a folyadéktranszporthoz, és láthatóvá válik az igen jelentős veszteség is, mely a ködkamra alkalmazásával jár. Mindez természetesen összességében az analitikai jel érdekében történik. A térfogathányados maximuma a primer aeroszol esetében nagyjából $7,5 \mu\text{m}$ -nél található (átmérő), és az eloszlást leíró görbe egészen szimmetrikus, lefutását tekintve. A ködkamra méretszelekciójának hatására azonban a szekunder

méreteloszlást leíró görbe alakja torzult, maximuma a kisebb részecskeátmérők felé tolódott, egészen $6,5\ \mu\text{m}$ -ig. Meg kell jegyezni, hogy az ábra a ködkamrára vonatkozóan is tartalmaz hasznos információt. Például az a részecskeméret, amelynél a két görbe egymásba simul/metszi egymást megadja azt a cseppátmérőt (jelen esetben kb. $3\ \mu\text{m}$), amelynél kisebb méretű cseppek az adott geometria és áramlási sebesség mellett veszteség nélkül képesek átjutni a ködkamrán.



17. ábra. A 3D nyomtatott porlasztó cseppméreteloszlása a) cseppszámkoncentráció és b) csepptérfogatkoncentrációban megadva.



18. ábra. A 3D nyomtatott mintabevitelrendszer darabjai.

A porlasztás hatékonyságának felmérését is elvégeztük, indirekt mérések segítségével. Ehhez az ICP-MS eredeti, Scott típusú ködkamrája került felhasználásra, melybe a 3D nyomtatott porlasztót csatlakoztattuk. A porlasztógáz áramlása $1,0\ \text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, míg a folyadékfelszívás sebessége $600\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ volt. A kísérlet során multielemes ICP-MS

sztenderdből készült, ismert (elemenként 2,5 ppm) koncentrációjú, és ismert térfogatú (1000 μL) folyadékminta került porlasztásra. Az aeroszol cseppek azon része, amely lecsapódott a ködkamra falára, begyűjtésre került a porlasztás folyamán, illetve ezt követően a ködkamra salétromsavas atmoszája során. A jelre töltött gyűjtőlombikokban lévő oldat legjobban mérhető izotópjainak pontos koncentrációját meghatároztuk az ICP-MS-sel, átlagoltuk, majd különbségképzéssel a rendszer a hatékonysága számolható volt. Az átlagos hatékonyság 8,1%-nak adódott. Összehasonlító mérések során a gyári, üveg koncentrikus porlasztóval hasonló, valamivel kisebb hatékonyság értékeket mértünk (kb. 5%).

5.3. ICP-MS mérési feladatok szelepekkel ellátott mikrofluidikai chippek segítségével

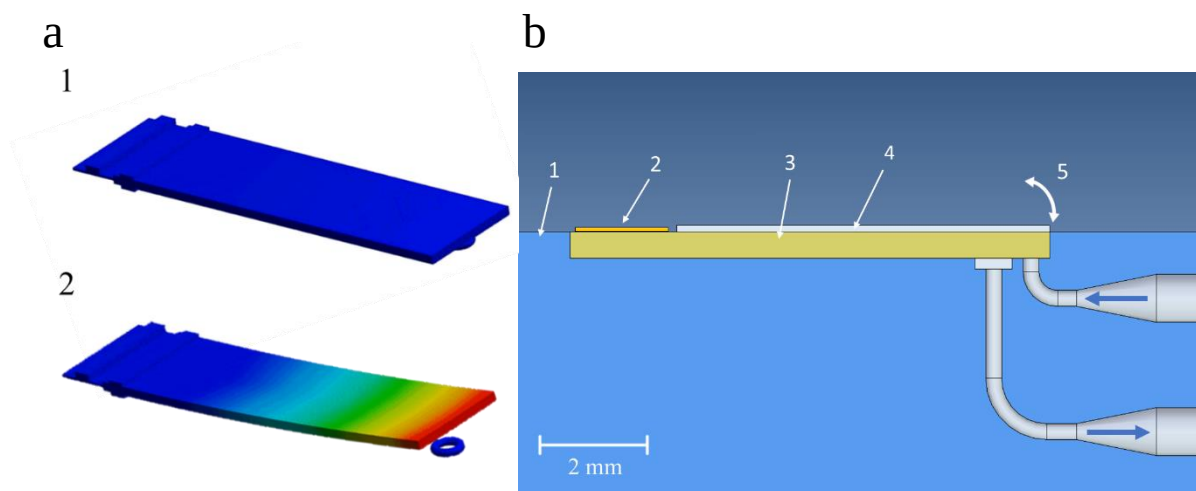
Egy korábbi publikációban már demonstráltuk a nagyszámú analitikai előnyt és lehetőséget, amellyel az on-line mintaelőkészítési feladatokat ellátó mikrofluidikai chippek és az ICP-MS-re épülő analitikai eljárások együttes alkalmazása jár [6]. Mikrofluidikai chipre integrált, elektromosan vezérelhető szelepek beépítésével azonban a cikkben bemutatott analitikai feladatok lényegesen gyorsabb és hatékonyabb módon kivitelezhetővé válnának, illetve számos új alkalmazásra is lehetőség nyílna. Többek között egyes analitikai eljárások automatikus kivitelezésére.

Ebben a fejezetben a néhány korábban bemutatott, illetve új, analitikai célokra hasznosítható eljárás elméleti megvalósításának koncepcióját mutatjuk be mikrofluidikai chipre integrált szelepek segítségével, melyek azok megvalósítását jelentős mértékben egyszerűsítik, automatizálhatóvá teszik, és melyek megvalósításán jelenleg is dolgozunk.

Egy általunk megvalósítani tervezett szeleptípus egy deformálódó piezoelektromos aktuátort alkalmaz a csatornák közötti áramlás ki/be kapcsolására (19. ábra b). Geometriáját tekintve maga az aktuátor egy rugalmas, $9 \times 1 \times 0,5$ (hossz, szélesség, vastagság) mm méretű hordozóra erősített, kerámiából készült piezoelektromos lap, mely feszültség okozta kontrakciója során a hordozólappal együtt meghajlik (19. ábra a). Az aktuátorok beszerzése már megtörtént, jelenleg a 3D nyomtatással kialakítandó szelepház megvalósításán dolgozunk.

Az ehhez hasonló piezo lapkák előnyei közé tartozik, hogy igen kompakt kialakításuk mellett fajlagosan nagy erő kifejtésére képesek, így hatékonyan zárnak, emellett hosszú

élettartamuk és rövid reakcióidejük is előnyös. A tárgyalt geometriájú piezo aktuátor egy viszonylag nagy, 500 μm átmérőjű csatorna lezárását 6,6 bar túlnyomásig képes biztosítani.



19. ábra. a) A piezoelektromos aktuátor 1: zárt és 2: nyitott állásának sematikus rajza (a kéktől pirosig terjedő színskála az elmozdulás mértékét szemlélteti). b) A chipbe épített aktuátor működését szemléltető ábra, ahol 1: A chip anyaga (PDMS), 2: az eszköz elektronikus csatlakozói, 3: hordozó, 4: piezokerámia, 5: a piezoaktuátor mozgásának pályája (a kék vonalak a nyitott állásban átfolyó folyadék haladási irányát jelölik ki).

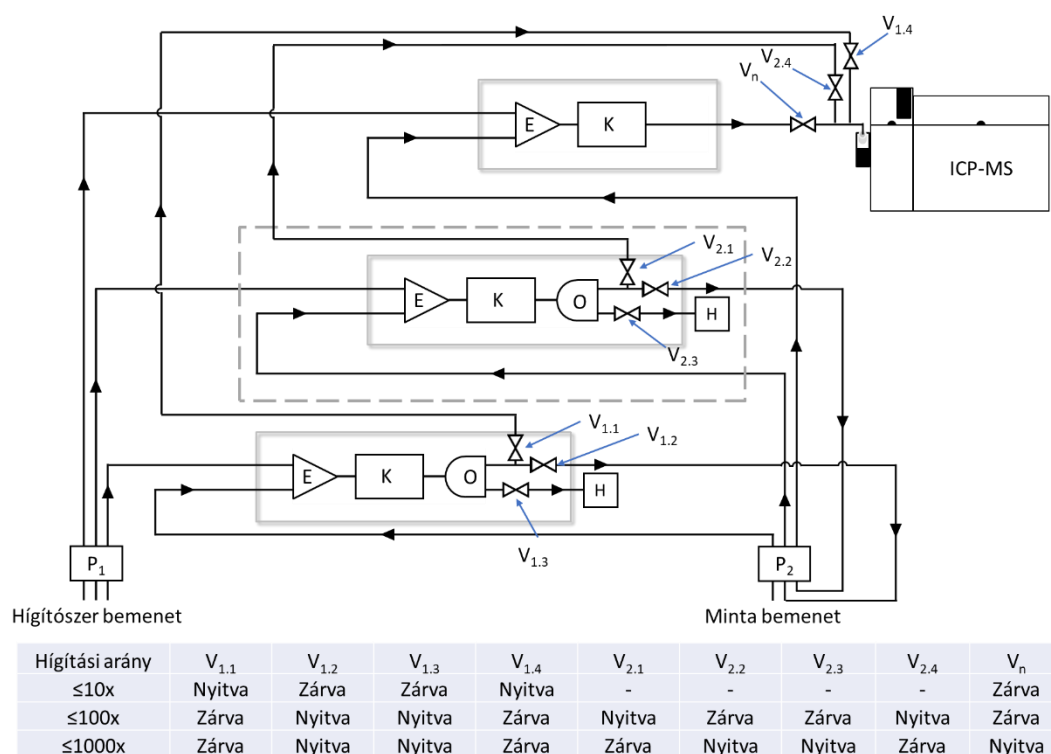
5.3.1. Hígítási lépéseken alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása

Az említett cikkben beszámoltunk olyan egymás után kapcsolható chippek on-line alkalmazásáról, melyek meghatározott arányú, pontos, ismételt hígítási lépések segítségével képesek több nagyságrendnyi hígítást folyamatos üzemben, valós időben kivitelezni [6]. Ehhez chipenként három műveleti egység felhasználására volt szükség, egy folyadékkegyesítést végző összefolyásra (E), amely a hígítószert és a mintát egyesíti, egy keverő egységre (K), amely az egyesített áramlás homogenizálásáért felelős, illetve a chipen belüli folyadékáram pontos arányú szétválasztására képes osztóelemre (O), amely az adott chip kimenő áramlásának leförlözéséért volt felelős, hogy az betáplálható legyen a soron következő chipbe. Ezzel az elrendezéssel chipenként valamivel több, mint egy nagyságrendnyi hígítás érhető el megfelelő pontossággal.

Az on-line hígítás kivitelezhetősége nagy könnyebbség olyan analitikai feladatok elvégzése során, amelyben a minta megmérése csak egy, viszonylag szűk koncentrációtartományban kivitelezhető hatékonyan. Ebbe a kategóriába elsősorban a nanorészecskék és sejtek detektálására/karakterizálására szolgáló egyrészecske és egysejt ICP-MS mérési feladatok tartoznak, melyek során ismételt hígítási lépések nélkül nem elképzelhető ismeretlen minta analízise. Az on-line oldathígítási feladatok a műszer

kalibrációjára is hatékonyan alkalmazhatók, hiszen egyetlen törzsoldat segítségével, változó on-line hígítási arányokat beállítva a teljes kalibrációk felvehetők (hagyományos és egyrészes ICP-MS mérési feladatok során is).

Mivel azonban egy több nagyságrendnyi hígítási feladat elvégzése során változó számú chipen kell átvezetni a hígítandó mintát, a gyakorlatban szelepek nélkül – amelyek képesek folyadékutak közötti váltásra – a chipek összekötésének manuális variálása jelentős idővesztéssel járt. Azonban, ahogy az a 20. ábrán látható, chipenként három szelep beépítésével lehetőség nyílik elektronikus úton vezérelni az adott hígítási arányhoz felhasznált chipek számát, ezzel jelentősen megkönnyítve a mérés menetét.



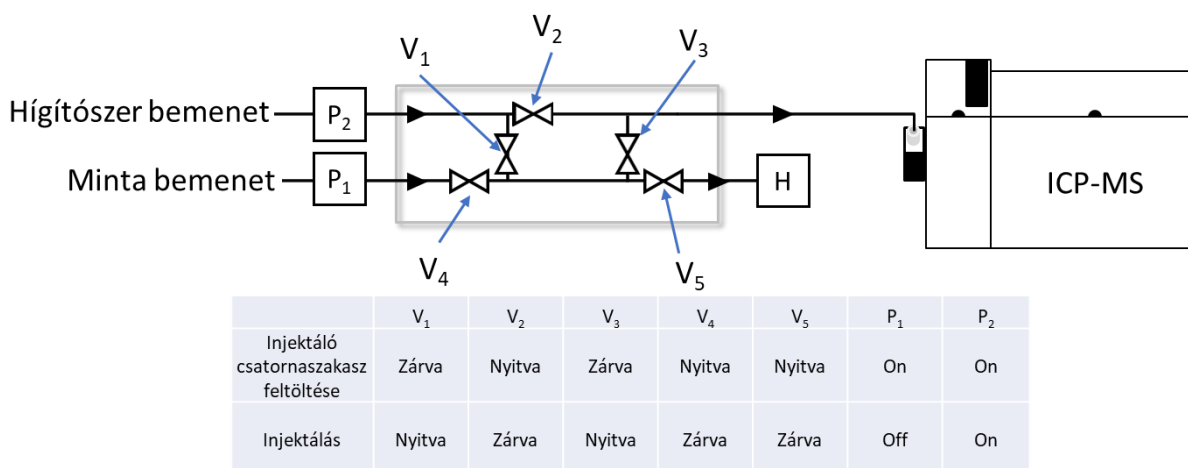
20. ábra. Az on-line hígítási arálynak megfelelő chip használatát lehetővé tévő kapcsolási séma és a szelepállásokat összefoglaló táblázat különböző hígítási arányok esetén. Ahol V: szelep, E: folyadékkeverítő, K: keverő, O: folyadékosztó, H: hulladékgyűjtő, P: perisztaltikus pumpa, illetve ahol a halványszürke keret a chipek kontúrjait, míg a szaggatott szürke keret a kapcsolási sémába korlátlan számban beépíthető egységet jelöli ki.

Egy, a szelepek és az áramlás előállítását végző perisztaltikus pumpák vezérlésére alkalmas program segítségével kalibrációs feladatok automatikus kivitelezése is elérhetővé válik. A 20. ábrán szaggatott vonallal körbekerített egység elméletileg korlátlan számban a kapcsolásba építhető, azonban gyakorlati nehézségek (túl nagy holttérfogat és kimosási idő, illetve a nagyszámú pumpált csatorna) miatt a 3-4 darab chip összekötése felett már jelentős hátránya is van a technikának. Valamivel fejlettebb automatizálás érhető el, ha a program a mérés lefutása után (akár viszonylag kezdetleges) adatkiértékelést is végez. Ezzel kiegészítve a

rendszer az egyrészcseke és egysejt ICP-MS mérések esetében a méréshez szükséges optimális részecske-, sejtszámkoncentráció megtalálására is képes lehet.

5.3.2. Injektálási lépéseken alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása

A mikrofluidikai chipok természetükből adódóan igen eredményesen alkalmazhatók kis térfogatú folyadékok injektálására, ezen képességük kihasználását analitikai célokra on-line, ICP-MS műszerhez kapcsolva szintén eredményesen demonstráltuk [6]. Szelepek alkalmazása nélkül azonban az injektált térfogatok pontossága és precizitása nagyban függ a chipen belüli áramlást előállító eszköz jellemzőitől, melyek többnyire nem képesek felvenni a versenyt a chipen elérhető pontossággal térfogatadagolás terén. Ez elkerülhető megfelelő geometriájú chipok felhasználásával, melyek a szelepműködést kihasználva reprodukálható, pontos térfogatok dugószerű beinjektálására képesek egy vivőközeg-áramlásába (21. ábra).



21. ábra. A nagy pontosságú injektálásra képes chipkonstrukció kapcsolási sémája az egyes lépések szeleppállásait és pumpaműködtetését összefoglaló táblázattal. Ahol V: szelep, P: perisztaltikus pumpa, H: hulladékgyűjtő.

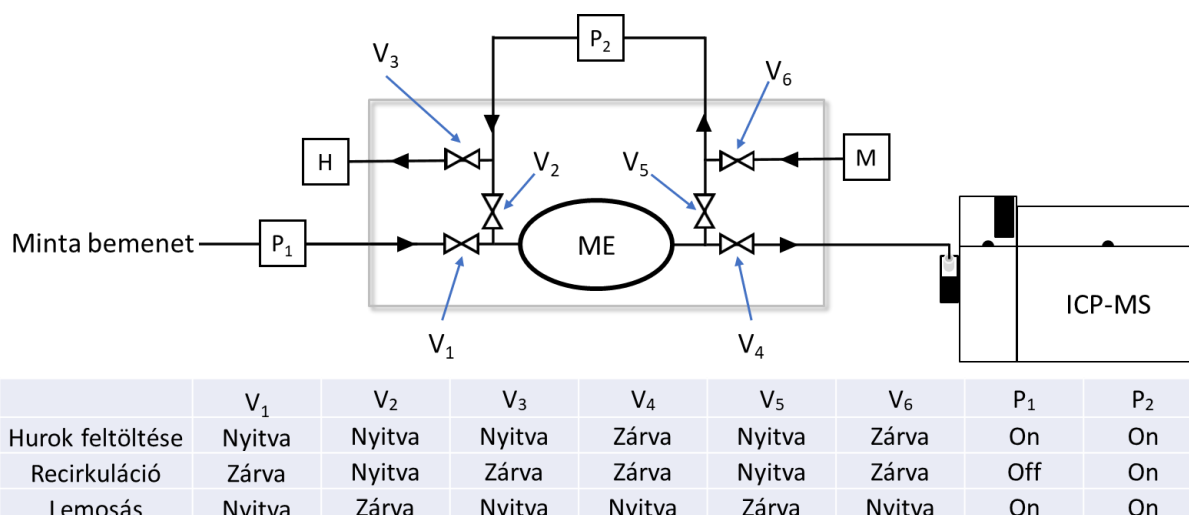
Ahogy az ábrán is látszik, a diszkrét térfogattal rendelkező, injektálásra használt (V₄ és V₅ közötti) csatornaszakasz az azzal párhuzamos csatornában áramló hígítófolyadéktól függetlenül átöblíthető mosófolyadékkal, majd az injektálni kívánt mintával a táblázat felső sora szerinti szeleppállás mellett. Majd a piezoaktuátorok nagy sebességét kihasználva szinkronban megváltoztatjuk a szeleppállásokat úgy, hogy a hígítófolyadék-áramlás kimossa a diszkrét térfogattal rendelkező injektáló csatornaszakaszt, a műszerbe juttatva ezzel a mintát. A kérdéses csatornaszakasz térfogatát tekintve elég széles skálán variálható, korábbi kísérletek alapján úgy tapasztaltuk, hogy 10-20 μL körül van a minimum injektálható térfogat, melynek hatására a műszer jelének megfelelő szintű felfutása biztosítható. A gyakorlatban

persze az injektálásra érdemes minimum térfogatot befolyásolni fogja több tényező is, mint a szelepek holttérfogata, illetve a mérendő minta jellege. Az injektálással történő mintabevitel – melyre az ICP-MS műszer mintabeviteli rendszere az on-line kapcsolt mikrofluidikai chippek nélkül nem képes – elsősorban egyrészecske vagy egysejt ICP-MS mérési feladatoknál nagyon előnyösek, amelyeknél gyakran csak igen limitált mintamennyiségből tudunk dolgozni. Ismételt injektálási lépések egyszerűen programozhatók a szelepek segítségével, azonban különböző minták között automatikus váltás egyelőre nem megoldott probléma.

5.3.3. Recirkuláltatáson alapuló ICP-MS mérési feladatok kivitelezése, automatizálása

Az 5.1. fejezetben tárgyalt új funkciók megvalósítására alkalmas, de még chipre való integrálásra váró elválasztási technikák, kiváltképp a nanorészecskék mágneses csapdázása az előkísérletek alapján viszonylag lassú áramlási sebességeket, és hosszú tartózkodási időt igényel a hatékony elválasztás megvalósításához. Ezt nehézkes biztosítani olyan chippek esetén melyek on-line mintabevitelt végeznek, ami miatt folyamatosan biztosítaniuk kell a $600 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ -es áramlási sebességet, amelyet a műszer igényel. A 22. ábrán szemléltetett elrendezés azonban lehetőséget ad a minta bizonyos – chipgeometriától függő – térfogatú részletének, tetszőleges sebességű recirkuláltatására. Egy minta feldolgozását végző ciklus a hurok feltöltésével kezdődik, mely során a felesleg elvezetésre kerül a hulladékgyűjtőbe. Majd megkezdődik a recirkuláció a hurokba zárt térfogatban, eközben pedig a hurok részét képező műveleti egység összegyűjti vagy kiszűri a részecskéket (funkciótól függően). Például mágneses nanorészecskék dúsítása esetén a műveleti egység egy spirális geometriájú csőszakasz, amelynek közepén egy elektromágnes működik. Végző lépésként pedig a műveleti egység tartalmát on-line a műszerbe juttatjuk, miközben a recirkulációs hurok atmoszféra kerül tetszőleges (M) mosófolyadékkal.

A recirkulációs hurok térfogata, a benne történő áramlás sebessége, illetve az ábrán jelölt műveleti egység geometriája nagyban függ a megvalósítani kívánt analitikai feladattól, és mind optimalizálásra szorul, a hatékony elválasztás érdekében. Szelep- és pumpairányítást végző program segítségével ez a folyamat is egyszerűen automatizálható. A rendszer akár maga az optimalizációhoz szükséges kísérletsorozat elvégzésére is képes a paraméterek szisztematikus változtatását végző program segítségével.



22. ábra. Recirkulációra képes mikrofluidikai eszköz kapcsolási sémája a recirkuláció lépéseire tartozó szeleppállásait és pumpaműködését összefoglaló táblázattal. Ahol V: szelep, ME: az elválasztási feladatot végző műveleti egység, M: mosófolyadék tároló, H: hulladékgyűjtő, P: perisztaltikus pumpa.

6. Összefoglalás

Szerteágazó tervezési, szimulációs és kísérleti munkát végeztünk mikrofluidikai chipjeink továbbfejlesztése céljából, amelyeket ICP-MS-hez közvetlenül kapcsolva, egyrészecske és egysejt mérések mintaelőkészítési feladatainak elvégzésére szánunk.

A chipen megvalósítható nanorészecske elválasztási funkció kialakítása érdekében részletesen foglalkoztunk a folyadék-folyadék mikroextrakcióval, a nanopórusokat tartalmazó membránokkal való szűréssel, és mágneses nanorészecskék elektromágneses csapdázásával. Vizsgáltuk ezen módszerek hatékonyságát, működési karakterisztikáját, majd a tapasztalatokat összegezve felmértük azok potenciális alkalmazásának és chipre integrálásának előnyeit és hátrányait.

A nanorészecske és sejt diszperziók hatékony méréséhez szükséges nagyhatékonyságú mintabeviteli rendszert terveztünk, mely egy mikrokoncentrikus pneumatikus porlasztóból és segéd vivőgázáramlást is biztosító ködkamrából áll. Fluid dinamikai szimulációsorozat elvégzésével felmértük a rendszerben kialakuló áramlásviszonyokat, illetve azok alakulását különböző geometriai megoldások esetén, ezzel segítve a ködkamra áramlásviszonyainak optimalizálását. A porlasztóból és ködkamrából álló mintabeviteli rendszert 3D nyomtatási technológiával meg is valósítottuk és a porlasztó hatékonyságát, valamint annak primer és szekunder aeroszol cseppméreteloszlását kísérletileg meghatároztuk.

Végül piezoelektromos aktuátorokkal megvalósítható mikroszelepek tervezését végeztük el, és többféle, ezek használatával lehetséges alkalmazás számára dolgoztunk ki koncepciókat a chippek automatizált működtetésére.

Noha a tervezett, szerteágazó tervezési, szimulációs és kísérleti feladatok túlnyomó többségét sikeresen elvégeztük, a technikai kihívások jelentős volta és a szükséges sokrétű kooperáció miatt egyes feladatok megvalósítása még folyamatban van.

7. Irodalomjegyzék

- [1] Kéri A., ICP-MS alapú mérési módszerek fejlesztése összetett nanorészecskék vizsgálatára, SZTE, PhD értekezés, 2020.
- [2] Kálomista I., Az egyrészecskés ICP-MS analitikai módszer jelképzése és paramétereinek optimalása, SZTE, PhD értekezés, 2018.
- [3] A. Sági, A Kéri, I. Kálomista, D.G. Dobó, Á. Szamosvölgyi, K.L. Juhász, Á. Kukovecz, Z. Kónya, G. Galbács, *J. Anal. At. Spectrom.* 2017, **32**, 996-1003.
- [4] P.N. Nge, C.I. Rogers, A.T. Woolley, *Chem. Rev.* 2013, **113**, 2550–2583.
- [5] M. He, B. Chen, H. Wang, B. Hu, *Appl. Spectrosc. Rev.* 2019, **54**, 250-263.
- [6] Gy. Kajner, A. Kéri, Á. Béltéki, S. Valkai, A. Dér, Zs. Geretovszky, G. Galbács, *Lab Chip* 2022, **22**, 2766-2776.
- [7] D. Beauchemin, *Anal. Chem.* 2008, **80**, 4455–4486.
- [8] D. Mozhayeva, C. Engelhard, *J. Anal. At. Spectrom.* 2020, **35**, 1740-1783.
- [9] G. Galbács, A. Kéri, A. Kohut, M. Veres, Zs. Geretovszky, *J. Anal. Spectrom.* 2021, **36**, 1826-1872.
- [10] M.D. Montano, J.W. Olesik, A.G. Barber, K. Challis, J.F. Ranville, *Anal. Bioanal. Chem.* 2016, **408**, 5053-5074.
- [11] H.E. Pace, N.J. Rogers, C. Jarolimek, V.A. Coleman, C.P. Higgins, J.F. Ranville, *Anal. Chem.* 2011, **83**, 9361-9369.
- [12] T. Nomizu, H. Hayashi, N. Hoshino, T. Tanaka, H. Kawaguchi, K. Kitagawa, S. Kaneco, *J. Anal. At. Spectrom.* 2002, **17**, 592-595.
- [13] F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-Lamana, *Trends Env. Anal. Chem.* 2016, **9**, 15-23.
- [14] S. Lee, X. Bi, R.B. Reed, J.F. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff, *Environ. Sci. Technol.* 2014, **48**, 10291-10300.
- [15] J.W. Olesik, P.J. Gray, *J. Anal. At. Spectrom.* 2012, **27**, 1143-1155.
- [16] F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-Lamana, *Anal. Chem.* 2014, **86**, 2270-2278.
- [17] S.C. Terry, J. H. Jerman, J.B. Angell, *IEEE Trans. Electron Devices*, 1979, **26**, 1880–1886.
- [18] H. Becker, *Talanta* 2002, **56**, 267–287.
- [19] K. Pilnam, K.K. Woo, P.M. Cheol, L.S. Hoon, K.S. Min, S.K. Yang, *Biochip J.* 2008, **2**, 1-11.
- [20] B. Gale, A. Jafek, C. Lambert, B. Goenner, H. Moghimifam, U. Nze, U. Kamarapu, *Inventions*, 2018, **3**, 60-84.
- [21] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Annu. Rev. Mater. Sci.* 1998, **28**, 153–184.
- [22] H. Jönsson, *Microfluidics for lab-on-a-chip applications*, University of Lund, Svédország, PhD értekezés, 2004.
- [23] B. Giri, *Laboratory Methods in Microfluidics*, Elsevier Inc., 2017, 27–32.
- [24] R.W.R.L. Gajasinghe, S.U. Senveli, S. Rawal, A. Williams, A. Zheng, R.H. Datar, O. Tigli, *J. Micromech. Microeng.* 2014, **24**, 075010.
- [25] S. Satyanarayana, R.N. Karnik, A. Majumdar, *Journal of MEMS*. 2005, **14**, 392–399.
- [26] S. Bhattacharya, A. Datta, J. M. Berg, S. Gangopadhyay, *Journal of MEMS*. 2005, **14**, 590–597.
- [27] K. Ohno, K. Tachikawa, A. Manz, *Electrophoresis*. 2008, **29**, 4443–4453.

- [28] A. Metzinger, A. Nagy, A. Gáspár, Z. Márton, É. Kovács-Széles, G. Galbács, *Spectrochim. Acta B*. 2016, **126**, 23–30.
- [29] J.-L. Todolí, J.-M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.* 2001, **16**, 514-520.
- [30] M. Tharaud, P. Louvat, M. F. Benetti, *Anal. Bioanal. Chem.* 2021, **413**, 923-933.
- [31] S. Miyashita, A. S. Groombridge, S. Fujii, A. Minoda, A. Takatsu, A. Hioki, K. Chiba, K. Inagaki, *J. Anal. At. Spectrom.* 2014, **29**, 1598-1606.
- [32] K. Inagaki, S. Fujii, A. Takatsu, K. Chiba, *J. Anal. At. Spectrom.* 2011, **26**, 623-630.
- [33] F. Lin, S. Miyashita, K. Inagaki, Y.-H. Liu, I.-H. Hsu, *J. Anal. At. Spectrom.* 2019, **34**, 401-406.
- [34] L. Torrent, F. Laborda, E. Marguá, M. Hidalgo, M. Iglesias, *Anal. and Bioanal. Chem.* 2019, **411**, 5317-5329.
- [35] A. M. Ealias, M. P. Saravanakumar, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. and Eng.* 2017, **263**, 032019.
- [36] Y. Yang, L. Luo, H.-P. Li, Q. Wang, Z.-G. Yang, Ch.-L. Long, *Talanta* 2016, **161**, 342-349.
- [37] M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. M. Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, *J. Chrom. A* 2006, **1116**, 1-9.
- [38] M. Cruz-Vera, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd., 2006, 1-28.
- [39] C. B. Ojeda; F. S. Rojas, *Chromatographia* 2009, **69**, 1149-1159.
- [40] M. Moretza, Y. Yadollah, E. Ali, S. Shahram, *Talanta* 2010, **82**, 1864-1869.
- [41] Y. Liu, M. He, B. Chen, B. Hu, *Spectrochim. Acta B: At. Spectr.* 2016, **122**, 94-102.
- [42] S. Chen, Y. Sun, J. Chao, L. Cheng, Y. Chen, J. Liu, *J. Environ. Sci.* 2015, **41**, 211-217.
- [43] K. Mandel, F. Hutter, *Nanotoday* 2012, **7**, 485-487.
- [44] R. Abendini-Nassab, M. P. Miandoab, M. Şaşmaz, *Micromachines* 2021, **12**, 768.
- [45] J. He, M. Huang, D. Wang, Z. Zhang, G. Li, *J. Pharma. Biomed. Anal.* 2014, **101**, 84-101.
- [46] Y. Kim, A. T. Abafogi, B. M. Tran, J. Kim, J. Lee, Z. Chen, P. K. Bae, K. Park, Y.-B. Shin, D. Noort, N. Y. Lee, S. Park, *Micromachines* 2020, **11**, 203.
- [47] J. Wu, Q. Yan, S. Xuan, X. Gong, *Microfl. Nanofl.* 2017, **21**, 47.
- [48] E. Krieg, H. Weissman, E. Shirman, E. Shimoni, B. Rybtchinski, *Nat. Nanotech.* 2011, **6**, 141-146.
- [49] B. Kowalczyk, I. Lagzi, B. A. Grzybowski, *Curr. Op. Coll. Interf. Sci.* 2011, **16**, 135-148.
- [50] P. Terejászky, I. Makra, A. Lukács, R. E. Gyurcsányi, *Electroanal.* 2015, **27**, 595-601.
- [51] H.-W. Liang, L. Wang, P.-Y. Chen, H.-T. Lin, L.-F. Chen, D. He, S.-H. Yu, *Adv. Mat.* 2010, **22**, 4691-4695.
- [52] S. F. Sweeney, G. H. Woehrle, J. E. Hutchison, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 3190-3197.
- [53] <https://maurermagnetic.com/en/demagnetizing/technology/demagnetisation-technology/> (2022.11.)

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Galbács Gábornak, hogy lehetőséget biztosított arra, hogy munkámat a Lézer és plazmaspektroszkópiai kutatócsoportban végezhessem és hogy azt minden eszközzel támogatta. A jelen TDK dolgozathoz vezető kutatómunka során, ahogy eddig minden közös projekt keretén belül, rengeteget tanultam tőle és a kutatócsoport többi tagjától.

A csoport tagjai közül külön köszönet illeti Bélteki Ádámot, akitől a műszaki feladatok megvalósításával kapcsolatban kaptam rengeteg segítséget.

A tervezett mintabeviteli rendszer elemei nem jöhettek volna létre, ha a Dr. Geretovszky Zsolt (Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék) által irányított egyetemi SZTE 3D Nyomtatóközpont munkatársai, Cseh Martin és Vajda Balázs nem nyújtottak volna ebben segítséget, amit ezúton is hálásan köszönök.

Köszönet jár továbbá Dr. Csapó Editnek (Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék), amiért rendelkezésünkre bocsátotta a mágneses nanorészecskéket, valamint Dr. Ajtai Tibornak (Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék), amiért használhattuk az aeroszolok vizsgálatához szükséges optikai mérőműszert.

A jelen munka a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-21-2 és ÚNKP-22-2 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott pénzügyi támogatásával készült. A támogatást ezúton is köszönöm!

