



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0002785

(51) **G01N 33/48; G01N 33/543**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00560

(22) 01/06/2017

(67) 1-2017-02069

(45) 25/01/2022 406

(43) 25/12/2018 369A

(73) Trung tâm Nghiên cứu triển khai khu Công nghệ cao (VN)

Lô I3 đường N2 khu Công nghệ cao, phường Tân Phú, quận 9, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Nguyễn Đăng Giang (VN); Ngô Võ Kế Thành (VN); Huỳnh Trọng Phát (VN); Trần Thị Lệ Khanh (VN).

(54) **QUY TRÌNH TỔNG HỢP MÀNG MỎNG POLYME NHẠY KHÁNG NGUYÊN LÊN BỀ MẶT ĐIỆN CỰC VÀNG**

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng, trong đó quy trình này kết hợp giữa phương pháp đơn lớp phân tử tự lắp ghép (self-assembled monolayers: SAM) và polyme in phân tử (molecularly imprinted polymer: MIP) để tạo ra điện cực có lớp màng polyme nhạy kháng nguyên. Màng polyme tổng hợp theo giải pháp hữu ích có thời gian tổng hợp nhanh, thời gian bảo quản lâu, ổn định và bền với điều kiện môi trường. Quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép ứng dụng chế tạo cảm biến sinh học để kiểm tra dư lượng kháng sinh oxytetracyclin trong thủy hải sản.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực sinh học và vật lý, cụ thể giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình tổng hợp màng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng, cụ thể hơn là bằng phương pháp kết hợp giữa đơn lớp phân tử tự lắp ghép (self assembled monolayers: SAM) và polyme in phân tử (molecularly imprinted polymer: MIP) để phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng để ứng dụng trong phân tích dư lượng kháng sinh trong thủy, hải sản.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trong phân tích, thông thường để tạo màng mỏng polyme in phân tử (MIP) thì các mẫu được trộn chung với polyme sau đó mới được phủ lên trên bề mặt điện cực, tuy nhiên phương pháp này có độ nhạy rất thấp. Hiện nay polyme in phân tử (MIP) tạo ra bằng phương pháp polyme điện hóa được sử dụng phổ biến ở châu Âu. Đây là một kỹ thuật mới đơn giản và có độ chính xác cao. Việc các mẫu (template) được gắn trên bề mặt điện cực bằng phương pháp đơn lớp phân tử tự lắp ghép (SAM) là một bước quan trọng để polyme in phân tử có thể xác định được nồng độ của chất cần phát hiện. Lớp polyme được tạo ra bằng phương pháp polyme điện hóa có thể kiểm soát được độ dày sao cho có thể dễ dàng loại bỏ tối đa các mẫu. Sau khi lớp polyme hình thành, các mẫu được loại bỏ bằng phương pháp điện hóa.

Đã có một số tài liệu đề cập đến phương pháp lắp ghép và in dấu phân tử nhằm tăng hiệu quả của điện cực, ví dụ (Nguyen Hoang Phuong Uyen, Investigation of immobilizing antigens on gold surface by potentiometric measurements and fluorescence microscopic, Communication in physic, Vol.25, No.2 (2015), pp.173-181) đã đề cập đến kỹ thuật tổng hợp lớp màng mỏng polyme lên trên điện cực vàng, trong đó điện cực vàng được rửa bằng dung dịch H_2SO_4 và quét vòng tuần hoàn điện áp từ 0 đến 1,5V với vận tốc quét 200mV/s với 30 vòng quét để hoạt hóa bề mặt, điện cực này được ủ với axit lipoic qua đêm để gắn lên bề mặt điện cực. Sau đó điện cực được rửa bằng etanol và hoạt hóa bằng dung dịch dicyclohexyl carbodiimide/N-hydroxysuccinimide (DCC/NHS) trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng rồi ủ với progesteron qua đêm. Sau khi rửa

sạch bằng nước cất, etanol và sấy bằng khí nitơ, vật liệu không gắn kết được loại bỏ bằng dung dịch đệm Tween20 trong dung dịch đệm. Tài liệu D1 cũng đề cập đến việc sử dụng dung dịch chứa $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ để kiểm tra sự hiện diện lớp vật liệu được gắn kết trên bề mặt điện cực bằng phương pháp quét thế tuần hoàn với tốc độ quét 100 mV/s từ -0,2V đến 0,5V với 3 vòng quét.

Kỹ thuật gắn màng polytyramin lên điện cực cũng được Manihar Situmorang và cộng sự phát triển (Manihar Situmorang et al., Electrodeposited polytyramine as an immobilisation matrix for enzyme biosensor, Biosensor & Bioelectronics (1998) 953-962) đã đề cập đến quy trình gắn màng polytyramin lên trên điện cực bằng kỹ thuật quét thế vòng tuần hoàn (cyclic voltametry), trong đó điện cực được rửa sạch bằng nước, sau đó đưa vào dung dịch chứa 0,1M tyramin để tạo lớp polyme gắn lên bề mặt điện cực bằng cách quét điện thế tuần hoàn trong khoảng từ -0,01 đến +1,6V với các tốc độ quét khác nhau. Sau khi rửa điện cực bằng dung dịch đệm phosphat trong 30 phút để loại bỏ monome không gắn bám, sau đó gắn enzym gluco oxydaza lên bề mặt điện cực đã được phủ lớp polytyramin bằng cách chuyển vào dung dịch chứa 0,015M EDV, 0,03 M NBHS và enzym glucoza oxidaza. Để tạo liên kết giữa lớp màng polytyramin với enzym, tiến hành ủ điện cực đã được gắn sử dụng chu kỳ quét đơn vòng, kết quả cho phép gắn enzym gluco oxydaza lên bề mặt điện cực thông qua liên kết amin tự do. Kháng thể không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa trong dung dịch đệm phosphat. Kỹ thuật quét thế vòng tuần hoàn này cho phép gắn tới 28 mM glucoza trên điện cực với giới hạn phát hiện lên tới 0,01mM.

Ngoài ra, tài liệu (Teresa Luczak, New self-assembled layers composed with gold nanoparticles, cystamine and dihydrolipoic acid deposited on bare gold electrode for highly sensitive and selective simultaneous sensing of dopamine in presence of interfering ascorbic and uric acids, J Solid State Electrochem, (2017) 21:747-758, public online 13/11/2016) đã đề cập đến kỹ thuật tạo lớp màng tự lắp ghép trên cơ sở cystamine và axit dihydrolipoic trên bề mặt điện cực vàng. Theo đó, lớp màng trên bề mặt điện cực vàng được tổng hợp trên cơ sở gắn với axit dihydrolipoic bằng liên kết thiol, tiếp đó axit dihydrolipoic này được liên kết với cystamin bằng liên kết amin tạo lớp liên kết trung gian tự lắp ghép bằng kỹ thuật quét thế vòng tuần hoàn. Trên cơ sở nhóm thiol tự do của cystamin, lớp màng này có thể gắn kết với phân tử cần phân tích.

Tuy nhiên, các kỹ thuật trên khá phức tạp và vẫn cần cải tiến nhằm tăng hiệu suất, đơn giản hóa trong việc thực hiện và dễ dàng phát triển cho phép phát hiện được các kháng nguyên khác nhau. Các kỹ thuật lắp ghép polyme và in dấu phân tử dựa trên nhóm thiol và kỹ thuật quét thế tuần hoàn và dòng-thời gian vẫn cần được cải tiến nhằm tăng hiệu quả phân tích cũng như đơn giản hóa quá trình thực hiện.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề xuất quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng dựa trên phương pháp đơn lớp phân tử tự lắp ghép (self-assembled monolayers: SAM) để thực hiện biến tính (gắn kết thiol) bề mặt điện cực vàng, sau đó kháng nguyên liên hợp được gắn kết lên trên lớp biến tính để in phân tử (molecularly imprinted polymer: MIP) bằng điện hóa để tạo ra điện cực có lớp màng polyme nhạy kháng nguyên.

Quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

a) hoạt hóa bề mặt điện cực bằng cách rửa điện cực vàng bằng etanol 3 lần và làm sạch trong plasma oxi, tiếp đó hoạt hóa bằng dung dịch H_2SO_4 trong điều kiện quét thế tuần hoàn với dãy điện áp từ 0 đến 1,5V, vận tốc quét là 100mV/s với 10 vòng quét, sau khi ngâm điện cực trong dung dịch cystamin dihydrochlorit và ủ trong khoảng từ 12 đến 14 giờ rồi rửa bằng etanol 3 lần, thu được điện cực hoạt hóa bề mặt;

b) hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch dicyclohexyl carbodiimite (DCC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng để hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực, sau đó rửa bề mặt điện cực bằng etanol;

c) liên hợp với kháng nguyên lên bề mặt điện cực bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch kháng nguyên liên hợp trong khoảng từ 1 đến 3 giờ, kiểm tra sự hiện diện của lớp cystamin – dicyclohexyl carbodiimite (DCC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) – kháng nguyên trên bề mặt điện cực vàng bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ và quét thế vòng tuần hoàn với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận

tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét, sau đó rửa bằng nước cất, etanol và sấy điện cực trong khí nitơ;

d) biến tính điện cực bằng cách ngâm và quét điện cực lần lượt trong dung dịch monome scopoletin chứa NaCl bằng phương pháp dòng-thời gian (chronoamperometry) với dãy điện áp từ 0 đến 1V, trong khoảng từ 30 đến 60 giây, tiếp đó ngâm và quét điện cực trong dung dịch poly(sodium 4-styrenesulfonat) (PSS) với đệm MES (axit 2-morpholino-etan sulfonic), pH=6,4 bằng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,6V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét, cuối cùng kiểm tra lại bằng cách quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét là 50 - 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ thu được điện cực biến tính;

e) loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp trên bề mặt điện cực biến tính bằng cách chuyển điện cực vào dung dịch polyvinyl ancol (PVA) trong đệm PBS, tiến hành quét điện cực bằng phương pháp dòng-thời gian (chronoamperometry) với dãy điện áp từ 0 đến 1,0V, trong khoảng từ 15 đến 30 giây để loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp bề mặt điện cực;

f) thu điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bằng cách quét thế vòng tuần hoàn để kiểm tra điện cực với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$, sau khi rửa lần lượt bằng nước cất, etanol, sấy khô trong khí nitơ thu được điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bề mặt.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả chi tiết với các phương án và các ví dụ thực hiện cụ thể. Tuy nhiên, các phương án và các ví dụ thực hiện cụ thể này chỉ nhằm làm rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước: a) hoạt hóa bề mặt điện cực vàng; b) hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực; c) liên hợp với kháng nguyên lên bề mặt

điện cực; d) biến tính điện cực; e) loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp trên bề mặt điện cực biến tính; và f) thu điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên.

Trong bước hoạt hóa bề mặt điện cực, điện cực được sử dụng để tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên là điện cực trơ, cụ thể là điện cực vàng. Trong đó, điện cực vàng được rửa điện cực vàng bằng etanol 3 lần và làm sạch trong plasma oxi để loại bỏ hoàn toàn tạp chất trên bề mặt điện cực. Tiếp đó hoạt hóa bề mặt điện cực bằng dung dịch H_2SO_4 thông qua phương pháp quét thế tuần hoàn với dãy điện áp từ 0 đến 1,5V, vận tốc quét là 100mV/s với 10 vòng quét. Quá trình này để làm sạch bề mặt điện cực và hoạt hóa các nguyên tử vàng trên bề mặt điện cực và làm cho các nguyên tử trên bề mặt điện cực vàng được kích hoạt, có thể kết nối dễ dàng với các phân tử khác.

Tiếp đó, điện cực vàng đã được hoạt hóa bề mặt này được ngâm trong dung dịch cystamin dihydrochlorit nồng độ khoảng từ 20 đến 100mM để nhằm dùng nhóm chức thiol biến tính bề mặt điện cực vàng. Tiến hành ủ điện cực trong dung dịch trong khoảng từ 12 đến 14 giờ rồi rửa bằng etanol 3 lần, thu được điện cực có nhóm chức thiol hoạt hóa bề mặt.

Trong bước hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực, tiến hành bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch dicyclohexyl carbodiimide (DCC)/*N*-hydroxysuccinimide (NHS) tỷ lệ 1:1 theo thể tích trong 30 phút ở nhiệt độ phòng để hoạt hóa nhằm biến đổi nhóm chức thiol của cystamin trên bề mặt điện cực để có thể dễ dàng gắn kết với kháng nguyên ở bước sau. Sau đó rửa bề mặt điện cực vàng bằng etanol.

Trong bước liên hợp với kháng nguyên lên bề mặt điện cực, tiến hành ngâm điện cực trong dung dịch kháng nguyên liên hợp trong khoảng từ 1 đến 3 giờ. Tiếp đó, kiểm tra sự hiện diện của lớp cystamin – dicyclohexyl carbodiimide (DCC)/*N*-hydroxysuccinimide (NHS) – kháng nguyên trên bề mặt điện cực vàng bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ và quét thế vòng tuần hoàn với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét. Bước này nhằm xác định chính xác màng tự lắp ghép (màng SAM) có đạt yêu cầu không, nếu không đạt thì có thể tiến hành ngâm điện cực trong dung dịch kháng nguyên để lắp lại quá trình tự lắp ghép. Sau đó rửa bằng nước cất, etanol và sấy điện cực trong khí nitơ.

Trong bước biến tính điện cực, tiến hành ngâm và quét điện cực lần lượt trong dung dịch monome scopoletin chứa NaCl bằng phương pháp dòng-thời gian

(chronoamperometry). Phương pháp dòng-thời gian cho phép quét điện thế theo thời gian và không lặp lại. Quá trình này được thực hiện với dây điện áp từ 0 đến 1V, trong khoảng từ 30 đến 60 giây để polyme hóa lớp scôpletin trên bề mặt điện cực.

Tiếp đó ngâm và quét điện cực trong dung dịch poly(sodium 4-styrenesulfonat) (PSS) với đệm MES (axit 2-morpholino-etan sulfonic), pH=6,4 bằng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn trong dây điện áp từ -0,2 đến 0,6V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét. Quá trình này cho phép dung dịch poly(sodium 4-styrenesulfonat)/MES (axit 2-morpholino-etan sulfonic) lấp đầy những lỗ trống trên bề mặt điện cực. Cuối cùng kiểm tra việc lấp kín các lỗ trống trên bề mặt điện cực bằng cách quét thế vòng tuần hoàn trong dây điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét là 50 - 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ thu được điện cực biến tính.

Trong bước loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp trên bề mặt điện cực biến tính, tiến hành chuyển điện cực vào dung dịch polyvinyl ancol (PVA) trong đệm PBS, tiến hành quét điện cực bằng phương pháp dòng-thời gian (chronoamperometry) với dây điện áp từ 0 đến 1,0V, trong khoảng từ 15 đến 30 giây. Quá trình này nhằm để loại bỏ lớp kháng nguyên mẫu liên hợp trong màng mỏng trên bề mặt điện cực mà ảnh hưởng đến độ nhạy của điện cực.

Trong bước thu điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bằng cách quét thế vòng tuần hoàn để kiểm tra điện cực với dây điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ để kiểm tra và đảm bảo sự đồng nhất của điện cực. Sau khi rửa lần lượt bằng nước cất, etanol, tiến hành sấy khô điện cực trong khí nitơ thu được điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bề mặt.

Điện cực thu được theo giải pháp với lớp màng polyme tự lắp ghép được in dấu kháng nguyên cho phép phát hiện đặc hiệu và nhạy với kháng nguyên được sử dụng, cho phép phát hiện kháng nguyên, ví dụ dư lượng kháng sinh trong thủy hải sản.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên oxytetracyclin lên bề mặt điện cực vàng

Tổng hợp màng mỏng polyme nhạy với kháng nguyên oxytetracyclin lên bề mặt điện cực vàng của linh kiện QCM 9MHz (hãng Seiko, Nhật) nhằm phát hiện dư lượng oxytetracyclin tồn dư trong thủy hải sản.

Rửa điện cực vàng của linh kiện QCM bằng etanol nhiều lần và trong plasma oxi. Hoạt hóa bề mặt điện cực vàng bằng dung dịch H_2SO_4 2% bằng cách quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ 0 đến 1,5V, vận tốc quét là 100mV/s với 10 vòng.

Ngâm điện cực vàng sau khi quét thế tuần hoàn trong 200 μl dung dịch cystamin dihydrochlorit 20 mM và ủ qua đêm ở nhiệt độ phòng. Rửa lại điện cực vàng bằng etanol 3 lần.

Lớp cystamin trên bề mặt điện cực được hoạt hóa bằng 200 μl dung dịch dicyclohexyl carbodiimide (DCC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) (100 μl DCC 40mM + 100 μl NHS 10mM) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Rửa sạch điện cực vàng bằng etanol.

Điện cực tiếp tục được ngâm trong 200 μl dung dịch kháng nguyên oxytetracyclin 5mM trong 1 giờ thu được điện cực gắn kháng nguyên oxytetracyclin.

Kiểm tra sự hiện diện của lớp cystamin - kháng nguyên oxytetracyclin trên bề mặt điện cực vàng bằng cách chuyển điện cực vàng vào dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5mM và quét thế vòng tuần hoàn với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét 50mV/s với 3 vòng quét.

Quét điện cực trong 200 μl dung dịch monome scopoletin 1mM trong NaCl (20 μl 10mM scopoletin/etanol + 180 μl 100nM NaCl/nước) và bằng phương pháp dòng- thời gian (chronoamperometry) ở 0,7V, trong 30 giây để polyme hóa lớp scopoletin trên bề mặt điện cực. Tiếp đó, chuyển điện cực vào 200 μl dung dịch poly(sodium 4-styrenesulfonat) (PSS) trong đệm MES (axit 2-morpholino-etan sulfonic) 13,5%, pH=6,4, bằng cách quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,6V, vận tốc quét là 50mV/s với 3 vòng quét.

Kiểm tra lại điện cực bằng cách ngâm trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5mM và quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét là 50mV/s với 3 vòng quét để đảm bảo sự đồng nhất của điện cực.

Điện cực đã biến tính được loại bỏ lớp kháng nguyên bằng 200 μ l dung dịch polyvinyl ancol (PVA) trong đệm PBS (dung dịch muối đệm phosphat) 0,5%, bằng phương pháp dòng- thời gian (chronoamperometry) ở 0,95V, trong 30 giây.

Kiểm tra lại điện cực đã biến tính bằng cách chuyển vào trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ và tiến hành quét thế vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét là 50mV/s với 3 vòng quét. Điện cực được làm sạch bề mặt bằng nước cất, etanol và sấy khô với khí nitơ và thu được màng mỏng polyme nhạy với kháng nguyên trên bề mặt điện cực vàng, ứng dụng làm cảm biến sinh học phát hiện dư lượng kháng nguyên oxytetracyclin.

Kết quả đo mẫu bằng điện cực được in dấu oxytetracyclin cho thấy có ngưỡng phát hiện là 0,01 ppm, thấp hơn nhiều so với ngưỡng phát hiện 2 ppm đo bằng phương pháp thông thường.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng cho phép lắp ghép và in dấu phân tử đặc hiệu với loại kháng nguyên cần phân tích. Quy trình theo giải pháp hữu ích có thời gian tổng hợp nhanh, hiệu suất cao, màng mỏng polyme thu được bền và ổn định với nhiệt độ và môi trường thực địa. Màng thu được cũng cho thấy không tương tác với axit, chất nền, ion kim loại và dung môi hữu cơ nên thuận lợi trong sản xuất và thương mại hóa sản phẩm.

Quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên cho phép ứng dụng để chế tạo cảm biến kiểm tra dư lượng kháng sinh oxytetracyclin trong thủy hải sản. Giải pháp hữu ích giúp tăng độ nhạy của cảm biến sinh học, tăng độ đặc hiệu do khả năng in dấu phân tử, đồng thời cho phép kiểm tra tác nhân là dư lượng kháng sinh, ví dụ oxytetracyclin với ngưỡng phát hiện là 0,01 ppm (thấp hơn nhiều so với ngưỡng cho phép trong thủy hải sản là 2 ppm).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình tổng hợp màng mỏng polyme nhạy kháng nguyên lên bề mặt điện cực vàng, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) hoạt hóa bề mặt điện cực bằng cách rửa điện cực vàng bằng etanol 3 lần và làm sạch trong plasma oxi, tiếp đó hoạt hóa bằng dung dịch H_2SO_4 trong điều kiện quét thể tuần hoàn với dãy điện áp từ 0 đến 1,5V, vận tốc quét là 100mV/s với 10 vòng quét, sau khi ngâm điện cực trong dung dịch cystamin dihydrochlorit và ủ trong khoảng từ 12 đến 14 giờ rồi rửa bằng etanol 3 lần, thu được điện cực hoạt hóa bề mặt;

b) hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch dicyclohexyl carbodiimit (DCC)/*N*-hydroxysuccinimit (NHS) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng để hoạt hóa lớp cystamin trên bề mặt điện cực, sau đó rửa bề mặt điện cực bằng etanol;

c) liên hợp với kháng nguyên lên bề mặt điện cực bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch kháng nguyên liên hợp trong khoảng từ 1 đến 3 giờ, kiểm tra sự hiện diện của lớp cystamin – dicyclohexyl carbodiimit (DCC)/*N*-hydroxysuccinimit (NHS) – kháng nguyên trên bề mặt điện cực vàng bằng cách ngâm điện cực trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ và quét thể vòng tuần hoàn với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét, sau đó rửa bằng nước cất, etanol và sấy điện cực trong khí nitơ;

d) biến tính điện cực bằng cách ngâm và quét điện cực lần lượt trong dung dịch monome scopoletin chứa NaCl bằng phương pháp dòng-thời gian (chronoamperometry) với dãy điện áp từ 0 đến 1V, trong khoảng từ 30 đến 60 giây, tiếp đó ngâm và quét điện cực trong dung dịch poly(sodium 4-styrenesulfonat) (PSS) với đệm MES (axit 2-morpholino-etan sulfonic), pH=6,4 bằng phương pháp quét thể vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,6V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét, cuối cùng kiểm tra lại bằng cách quét thể vòng tuần hoàn trong dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét là 50 - 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ thu được điện cực biến tính;

e) loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp trên bề mặt điện cực biến tính bằng cách chuyển điện cực vào dung dịch polyvinyl ancol (PVA) trong đệm PBS, tiến hành quét

điện cực bằng phương pháp dòng-thời gian (chronoamperometry) với dãy điện áp từ 0 đến 1,0V, trong khoảng từ 15 đến 30 giây để loại bỏ lớp kháng nguyên liên hợp bề mặt điện cực; và

f) thu điện cực được được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bằng cách quét thế vòng tuần hoàn để kiểm tra điện cực với dãy điện áp từ -0,2 đến 0,8V, vận tốc quét từ 50 đến 100mV/s với 3 vòng quét trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$, sau khi rửa lần lượt bằng nước cất, etanol, sấy khô trong khí nitơ thu được điện cực được phủ lớp màng polyme nhạy kháng nguyên bề mặt.