

MỤC LỤC

Lời cam đoan	
Lời cảm ơn	
Mục lục	
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT	4
DANH MỤC CÁC BẢNG	5
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....	6
MỞ ĐẦU	17
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN VỀ LASER VI CẦU SINH HỌC	22
1.1. Cơ sở lý thuyết của laser vi cầu và các thông số đặc trưng	22
<i>1.1.1. Cơ sở lý thuyết chung về laser vi cầu</i>	22
<i>1.1.2. Vị trí mode của laser vi cầu</i>	24
<i>1.1.3. Khoảng phổ tự do</i>	29
<i>1.1.4. Hệ số phẩm chất</i>	30
<i>1.1.5. Ngưỡng phát</i>	34
1.2. Tổng quan về laser vi cầu và laser vi cầu sinh học	36
<i>1.2.1. Laser vi cầu rắn</i>	36
<i>1.2.2. Laser vi cầu mềm</i>	39
1.3. Ứng dụng laser vi cầu	48
KẾT LUẬN CHƯƠNG I	53
CHƯƠNG 2: CHẾ TẠO LASER VI CẦU SINH HỌC	54
2.1. Các vật liệu sử dụng trong quy trình chế tạo laser vi cầu	54
<i>2.1.1. Vật liệu chế tạo buồng cộng hưởng vi cầu</i>	54
<i>2.1.2. Vật liệu hoạt chất laser Rhodarmine B (RhB)</i>	57
<i>2.1.3. Dung môi khử nước từ dung dịch protein</i>	58
<i>2.1.4. Màng kỵ nước Teflon</i>	59
<i>2.1.5. Các vật liệu được sử dụng trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu</i>	59

2.2. Quy trình chế tạo laser vi cầu sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein	61
2.2.1. Quy trình đối với protein từ lòng trắng trứng ngỗng	62
2.2.2. Quy trình chế tạo laser vi cầu với vật liệu BSA và hoạt chất RhB	64
2.3. Chế tạo laser vi cầu sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu.....	70
2.3.1. Chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu	70
2.3.2. Sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu để chế tạo laser vi cầu	80
2.4. Hệ thiết bị nghiên cứu các thông số đặc trưng của laser vi cầu	82
2.4.1. Kính hiển vi điện tử quét (SEM)	82
2.4.2. Hệ đo đặc trưng phổ phát xạ của laser vi cầu sinh học	83
2.4.3. Hệ thiết bị điều khiển nhiệt độ để tiếp xúc với laser vi cầu	86
KẾT LUẬN CHƯƠNG 2.....	89
CHƯƠNG 3: ĐẶC TRƯNG CỦA LASER VI CẦU SINH HỌC CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHỬ NƯỚC TỪ DUNG DỊCH PROTEIN.....	90
3.1. Đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu lòng trắng trứng pha hoạt chất màu RhB	90
3.1.1. Hình dạng và kích thước của vi cầu	90
3.1.2. Ngưỡng phát laser	92
3.1.3. Vị trí mode của laser	95
3.1.4. Khoảng phổ tự do	97
3.2.5. Hệ số phẩm chất	98
3.2. Đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu protein BSA pha hoạt chất màu RhB	100
3.2.1. Hình dạng, kích thước và thời gian chế tạo laser vi cầu sinh học	100
3.2.2. Ngưỡng phát	108
3.2.3. Vị trí mode laser	112
3.2.4. Khoảng phổ tự do	115
3.2.5. Hệ số phẩm chất	116
KẾT LUẬN CHƯƠNG 3.....	119

CHƯƠNG 4: CHẾ TẠO LASER VI CẦU SINH HỌC SỬ DỤNG HỆ THỐNG KÊNH DẪN VI LƯU VÀ ỨNG DỤNG LASER VI CẦU TRONG CẢM BIẾN NHIỆT ĐỘ	121
4.1. Kết quả chế tạo kênh dẫn vi lưu	121
4.1.1. <i>Mặt nạ cản quang</i>	121
4.1.2. <i>Khuôn từ màng cản quang</i>	124
4.1.3. <i>Khuôn PDMS</i>	125
4.1.4. <i>Chip microfluidic</i>	129
4.2. Kết quả chế tạo laser vi cầu sinh học sử dụng hệ thống kênh dẫn vi lưu	131
4.2.1. <i>Điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học</i>	131
4.2.2. <i>Đặc trưng của laser vi cầu sinh học cùng kích thước</i>	137
4.3. Ứng dụng của laser vi cầu sinh học	142
KẾT LUẬN CHƯƠNG 4.....	148
KẾT LUẬN CHUNG	150
DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....	153
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	155

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
BSA	Bovine serum albumin	
DASPI	4-[p-(dimethylamino)styryl]-1-methylpyridinium	
DCM	Dichloromethane	
FSR	Free Spectral Range	Khoảng phổ tự do
GEW	Goose egg white	Lòng trắng trứng ngỗng
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation	Khuếch đại ánh sáng bởi phát xạ kích thích
LTTN		Lòng trắng trứng ngỗng
LCD	Liquid Crystal Display	Màn hình tinh thể lỏng
MEMS	Micro Electro Mechanical Systems	Hệ thống vi cơ điện tử
OVb	Ovalbumin	
PCB	Printed Circuit Board	Bản mạch in
PDMS	Polydimethylsiloxane	
PEGDA	Poly-ethylene glycol diacrylate	
PMMA	Poly methylmethacrylate	Thủy tinh hữu cơ
PS	Polystyrene	
Q factor	Quality factor	Hệ số phẩm chất
SEM	Scanning electro microscope	kính hiển vi điện tử quét
TE mode	Transverse Electric mode	Mode điện trường ngang
TM mode	Transverse Magnetic mode	Mode từ trường ngang
TPE	Thermoset polyester	
UV	Ultraviolet	Cực tím
WGM	Whispering gallery mode	Mode vọng hành lang

DANH MỤC CÁC BẢNG

STT	Số bảng	Tên	Trang
1	3.1	Thống kê kích thước của 20 vi cầu ngẫu nhiên (xếp thứ tự từ nhỏ tới lớn).....	90
2	3.2	Thống kê ngưỡng phát của cụm 10 vi cầu ở các kích thước khác nhau.....	93
3	3.3	Sự phù hợp giữa vị trí mode cộng hưởng TM lý thuyết và thực nghiệm.....	95
4	3.4	Thống kê ngưỡng phát của cụm 10 vi cầu ở các kích thước khác nhau.....	109
5	3.5	So sánh các vị trí mode TE, TM lý thuyết và kết quả đo thực nghiệm.....	112

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

STT	Số hình	Tên hình	Trang
1	Hình 1.1	a) Ánh sáng bị giam giữ trong cấu trúc hình cầu do phản xạ toàn phần bên trong và sau đó được khuếch đại để tạo thành mode vòng hành lang (WGM mode) (b).....	22
2	Hình 1.2	Minh họa đường đi của ánh sáng trong quả cầu với hệ tọa độ cầu.....	24
3	Hình 1.3	Minh họa TM và TE mode trong laser vi cầu.....	25
4	Hình 1.4	Sự phù hợp vị trí các mode TM và TE giữa công thức thực nghiệm và kết quả đo.....	27
5	Hình 1.5	Đo giá trị FSR từ phổ phát xạ laser.....	28
6	Hình 1.6	Sự phụ thuộc của FSR theo đường kính của laser vi cầu từ vật liệu BSA pha hoạt chất màu RhB.....	29
7	Hình 1.7	Các mode laser vi cầu cho độ rộng phổ (ở giá trị cường độ bằng một nửa giá trị cực đại) tương đương.....	32
8	Hình 1.8	Các mode laser của vi cầu xuất hiện trên nền của phổ phát xạ tự phát khi được kích thích bởi các xung laser có năng lượng phù hợp.....	34
9	Hình 1.9	a) Xác định ngưỡng phát sử dụng sự thay đổi của cường độ phổ ứng với mode laser cực đại. b) Xác định ngưỡng phát thông qua tính tích phân cường độ phổ phát xạ laser.....	34
10	Hình.1.10	Ảnh hiển vi quang học của một laser vi cầu rắn vật liệu thủy tinh được nung nóng chảy từ sợi quang có kích thước khoảng 250 μm	36

		Phổ phát xạ của của laser vi cầu 110 um (thủy tinh	
11	Hình.1.11	nhôm ô xít pha tạp Er^{3+}) ở năng lượng bơm 1,5 mW và 70 mW.....	37
12	Hình 1.12	Minh họa sơ đồ thực nghiệm chế tạo và khảo sát đặc trung của laser giọt lỏng.....	38
		a) Cấu hình hệ kênh dẫn vi lưu chế tạo laser giọt lỏng,	
13	Hình 1.13	b) Phổ của laser giọt lỏng đường kính khoảng 50 μm	39
		Vị trí các mode TE, TM trong phổ phát xạ của laser	
14	Hình 1.14	vi cầu mềm (kích thước 10 μm) vật liệu PS pha hoạt chất màu.....	40
		a) Minh họa quá trình chế tạo laser bán cầu, b) Ảnh	
15	Hình 1.15	hiển vi quang học của các laser bán cầu kích thước khác nhau.....	41
16	Hình 1.16	Chế tạo laser vi cầu từ vật liệu NOA 81 pha hoạt chất màu R6G sử dụng hệ thống kênh dẫn vi lưu.....	42
17	Hình 1.17	Chế tạo laser sinh học cấu trúc vi cầu từ protein BSA sử dụng phương pháp khử nước trong PDMS.....	43
18	Hình 1.18	Phổ phát quang laser và ngưỡng phát của laser vi cầu sinh học vi cầu làm từ vật liệu protein BSA.....	44
19	Hình 1.19	Các vi laser sinh học chế tạo từ tinh bột khoai tây.....	45
		Đặc trưng khoảng phổ tự do phụ thuộc kích thước	
20	Hình 1.20	laser và hệ số phẩm chất của laser sinh học từ tinh bột khoai tây.....	45
21	Hình 1.21	Chế tạo vi cầu từ vật liệu Cucurmin và đặc trưng quang học của chúng.....	47
22	Hình 1.22	Cấy laser vi cầu sinh học vào trong tế bào và mô sống.....	48
23	Hình 1.23	Ứng dụng WGM laser vi cầu trong gắn mã vạch và theo vết tế bào.....	49

24	Hình 1.24	Ứng dụng laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ.....	50
25	Hình 2.1	a) Quả trứng ngỗng, b) Lọc tách lòng trắng trứng ngỗng.....	53
26	Hình 2.2	a) Mô hình cấu trúc phân tử của BSA, b) BSA dạng tinh thể rắn thương mại, cung cấp bởi hãng Sigma- Aldrich.....	55
27	Hình 2.3	a) Cấu trúc phân tử của RhB, b) Sản phẩm thương mại RhB, c) Phổ phát xạ của RhB (trong DCM).....	56
28	Hình 2.4	Màng Teflon cuộn thành các cuộn.....	58
29	Hình 2.5	a) Cấu trúc ba lớp của màng cản quang, b) Sản phẩm thương mại mua từ hãng Dupont.....	59
30	Hình 2.6	Quy trình chế tạo laser vi cầu sinh học từ LTTN pha hoạt chất màu RhB.....	62
31	Hình 2.7	Quy trình chế tạo laser vi cầu sinh học từ BSA và hoạt chất màu RhB.....	64
32	Hình 2.8	Minh họa sơ đồ khảo sát ảnh hưởng của màng Teflon lên hình dạng vi cầu.....	65
33	Hình 2.9	Vạch kích thước chuẩn 30 μm của kính hiển vi quang học, sử dụng để đo kích thước các giọt lỏng và vi cầu rắn.....	66
34	Hình 2.10	Hình ảnh thực tế các thiết bị sử dụng khảo sát ảnh hưởng của các thông số công nghệ lên quá trình khử nước từ dung dịch protein.....	67
35	Hình 2.11	a) Đánh dấu các vị trí vi cầu trên đế Teflon để chụp ảnh SEM, b) Bố trí cụm vi cầu và các vi cầu rời để chụp ảnh quang học và ảnh hiển vi điện tử quét (SEM), c) Đánh dấu các vị trí vi cầu trên đế kính để bảo quản và khảo sát đặc tính laser.....	69

36	Hình 2.12	Minh họa các thành phần trong hệ thống kênh dẫn vi lưu.....	69
37	Hình 2.13	Các bước trong quy trình chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu.....	70
38	Hình 2.14	Máy là ép màng cán quang quang (Mode YT 320-Trung Quốc).....	71
39	Hình 2.15	Đèn UV sử dụng trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu.....	74
40	Hình 2.16	Thiết bị gia nhiệt (Mode HT02- Đức).....	74
41	Hình 2.17	Thiết bị ăn mòn lớp cán quang.....	75
42	Hình 2.18	Các khuôn nhựa sử dụng cho thao tác đổ khuôn PDMS trong bước 5.....	76
43	Hình 2.19	Keo quang học UV NOA 81.....	77
44	Hình 2.20	Hệ thống các thiết bị sử dụng trong quy trình nghiên cứu chế tạo laser vi cầu sử dụng kênh dẫn vi lưu.....	80
45	Hình 2.21	Thiết bị Micro SEM TM4000 Plus.....	81
46	Hình 2.22	Minh họa hệ đo phổ phát quang nghiên cứu tính chất của laser vi cầu.....	84
47	Hình 2.23	Hệ đo đặc trưng phổ của laser vi cầu thực tế.....	85
48	Hình 2.24	Các thành phần trong hệ điều khiển nhiệt độ.....	86
49	Hình 2.25	Tích hợp thiết bị điều khiển nhiệt độ vào hệ đo các thông số của laser vi cầu.....	87
50	Hình 3.1	a) Ảnh quang học của các vi cầu chế tạo từ lòng trắng trứng, b) Ảnh SEM của các vi cầu.....	89
51	Hình 3.2	Ảnh chụp SEM của hai vi cầu làm từ vật liệu lòng trắng trứng.....	90
52	Hình 3.3	a) Phổ phát xạ của vi cầu có đường kính 46 μm làm từ vật liệu lòng trắng trứng pha hoạt chất mầy RhB, dưới các năng lượng xung bơm khác nhau, b) Tích	

		phân cường độ phổ để tính toán ngưỡng phát laser của vi cầu.....	91
53	Hình 3.4	Sự phụ thuộc ngưỡng phát của laser vi cầu sử dụng vật liệu lòng trắng trứng vào kích thước.....	92
54	Hình 3.5	a) Vị trí các mode của laser vi cầu từ lòng trắng trứng thu được từ thực nghiệm và các vị trí mode theo tính toán lý thuyết, b) Vị trí mode thu được theo thực nghiệm từ 3 vi cầu có kích thước khác nhau so sánh với các vị trí mode theo lý thuyết.....	94
55	Hình 3.6	a) Phổ phát xạ laser của 03 vi cầu kích thước khác nhau làm từ vật liệu lòng trắng trứng, b) Sự phù hợp của FSR đo thực nghiệm và công thức biểu diễn theo lý thuyết.....	97
56	Hình 3.7	a-b) Hình ảnh mode laser và bán độ rộng phổ của hai laser vi cầu có đường kính lần lượt 30 và 131 μm được kích thích bởi xung 5,23 μJ	97
57	Hình 3.8	Sự phụ thuộc của hệ số phẩm chất Q theo kích thước của laser vi cầu.....	98
58	Hình 3.9	a,b,c) Giọt lỏng duy trì hình dạng cầu trong quá trình khử nước, d) Ảnh SEM của các vi cầu trên đế Teflon, f) Ảnh SEM của một vi cầu được phóng to.....	99
59	Hình 3.10	Ảnh SEM của các vi cầu có kích thước khác nhau trên màng Teflon.....	100
60	Hình 3.11	a) Ảnh chụp cụm các vi cầu kích thước khác nhau trên kính hiển vi quang học, b, c) Ảnh SEM các vi cầu ở độ phóng đại khác nhau.....	101
61	Hình 3.12	Ảnh SEM các cụm vi cầu kích thước khác nhau.....	102
62	Hình 3.13	Phân bố kích thước của một cụm 265 vi cầu lựa chọn ngẫu nhiên.....	102

		Quá trình khử nước của bốn giọt BSA với các nồng độ khác nhau. Đường kính ban đầu của các giọt tương tự nhau, xấp xỉ 100 μm . Hình chèn hiển thị tỷ lệ giữa đường kính cuối cùng và đường kính ban đầu của các giọt (D_f/D_0) như một hàm của nồng độ BSA ban đầu... 103
63	Hình 3.14	a) Ảnh hưởng của nhiệt độ Decanol đến quá trình khử nước, hình bên biểu diễn thời gian hoàn thành khử nước như dạng một hàm của nhiệt độ (Kích thước ban đầu các giọt tương tự nhau, xấp xỉ 125 μm), b) Hình ảnh hiển vi quang học của một giọt lỏng trong quá trình khử nước ở các mốc thời gian khác nhau..... 105
64	Hình 3.15	a) Quá trình khử nước của bốn giọt BSA pha hoạt chất RhB kích thước khác nhau. Nồng độ ban đầu của BSA là 500 mg/mL. Hình chèn cho thấy mối quan hệ giữa đường kính cuối cùng (D_f) của vi cầu và đường kính ban đầu giọt lỏng nó (D_0), b) Ảnh hiển vi quang học của giọt BSA đường kính ban đầu 78 μm trong quá trình khử nước lần lượt ở các mốc thời gian 0, 40, 80 và 150 giây tính từ lúc nó được tạo ra. Tất cả các vạch kích thước đều là 50 μm 106
65	Hình 3.16	a) Phổ phát xạ của vi cầu có đường kính 46 μm , dưới các năng lượng xung bơm khác nhau, b) Tích phân cường độ phổ để tính toán ngưỡng phát laser..... 107
66	Hình 3.17	Ngưỡng phát của laser vi cầu phụ thuộc kích thước... 108
67	Hình 3.18	Ảnh hưởng của nhiệt độ quá trình khử nước tới ngưỡng phát..... 109
68	Hình 3.19	a) Sự thay đổi ngưỡng phát của vi cầu 42 μm theo thời gian bảo quản, b) Sự suy giảm của tích phân cường độ 110
69	Hình 3.20	

		phổ laser phát theo thời gian bảo quản (ở cùng một mức năng lượng xung bom, 2,14 μJ / xung).....	
70	Hình 3.21	Sự phù hợp vị trí mode của laser vi cầu từ vật liệu BSA kích thước 47,6 μm (phần phía dưới) so với vị trí mode tính toán theo công thức lý thuyết (phần phía trên).....	111
71	Hình 3.22	a) Sự suy giảm của tích phân cường độ phổ laser chuẩn hóa của vi cầu 42 μm , sử dụng vật liệu BSA theo số lượng xung bom, b) Sự thay đổi của vị trí laser mode theo số xung bom.....	113
72	Hình 3.23	Sự ổn định vị trí mode của laser vi cầu theo thời gian bảo quản.....	113
73	Hình 3.24	a-d) Khoảng phổ tự do (FSR) của các vi cầu có kích thước khác nhau xác định từ phân tích phổ phát xạ laser, e) Sự phù hợp của FSR đo thực nghiệm và công thức biểu diễn theo lý thuyết.....	114
74	Hình 3.25	Độ rộng phổ tại vị trí $\frac{1}{2}$ cường độ cực đại của 03 mode laser(vi cầu có đường kính 85 μm được kích thích bởi xung laser 2,14 μJ).....	115
75	Hình 3.26	a-b) Độ rộng của laser mode (của hai vi cầu có đường kính lần lượt 24 và 123 μm được kích thích bởi xung laser 2,14 μJ) tại vị trí cường độ bằng một nửa cường độ cực đại, b) Sự phụ thuộc của hệ số phẩm chất Q theo kích thước của laser vi cầu.....	116
76	Hình 4.1	Kết quả thiết kế mặt nạ cản quang để chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu: Cấu hình và kích thước các chi tiết...	121
77	Hình 4.2	Hình ảnh các mặt nạ cản quang được in trên tấm phim trong suốt.....	122

78	Hình 4.3	<p>Các cấu trúc được in trên mặt nạ cản quang chụp dưới kính hiển vi quang học: a, b) Hai đường cản quang để chế tạo cấu trúc kênh 2 kênh dẫn Decanol, c) Phần đường cản quang để chế tạo cấu trúc kênh dẫn dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, d) Cấu trúc cản quang để chế tạo đoạn giao cắt các dòng chất lỏng (Bao gồm kênh dẫn BSA, 02 kênh dẫn Decanol, vị trí giao cắt và kênh dẫn đầu ra)..... 122</p>
79	Hình 4.4	<p>1-4) Các khuôn Dryfilm sau khi ăn mòn hình thành nên các cấu trúc kênh dẫn bao đầu. Các vị trí trên cấu trúc kênh: I, III: Hai đầu vào của kênh dẫn chứa Decanol, II: Đầu vào của kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, IV: Cấu trúc vùng giao cắt tạo hạt, V: Cấu trúc kênh dẫn đầu ra..... 124</p>
80	Hình 4.5	<p>a-c) Các khuôn PDMS chứa các cấu trúc để chế tạo kênh dẫn vi lưu, d) Khuôn PDMS để chế tạo mặt đóng kín các kênh dẫn vi lưu..... 125</p>
81	Hình 4.6	<p>Ảnh chụp các cấu trúc PDMS dưới kính hiển vi quang học: a) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, b) Đoạn nối kim đầu ra và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn đầu ra, d và c) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn chứa Decanol, e) Cấu trúc để chế tạo vùng giao cắt tạo hạt trên hệ thống kênh dẫn vi lưu..... 125</p>
82	Hình 4.7	<p>Mặt cắt ngang các cấu trúc kênh của khuôn PDMS quan sát trên kính hiển vi quang học: a) Cấu trúc khuôn kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất</p>

		RhB, b) Cấu trúc khuôn kênh dẫn chứa Decanol, c) Cấu trúc khuôn kênh dẫn đầu ra.....	126
83	Hình 4.8	Ảnh SEM các trên khuôn PDMS: a, b) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo hai kênh dẫn chứa Decanol, c) Đoạn nối kim đầu ra và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn đầu ra, d) Dùng khuôn tạo cấu trúc giao cắt của các kênh dẫn: Kênh dẫn đầu vào BSA pha RhB, 02 kênh dẫn chứa Decanol và kênh dẫn đầu ra.....	127
84	Hình 4.9	1-4) Các Chip chứa cấu trúc kênh dẫn vi lưu chế tạo sử dụng keo UV NOA 81 giống nhau trên đế kính (chưa gắn các kim đầu vào, đầu ra).....	128
85	Hình 4.10	1-4) Các Chip chứa cấu trúc kênh dẫn vi lưu chế tạo sử dụng keo UV NOA 81 giống nhau trên đế kính đã được gắn kim đầu ra.....	129
86	Hình 4.11	1-4) Các Chip kênh dẫn vi lưu chế tạo được sấy và bảo quản trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 °C.....	129
87	Hình 4.12	a) Ảnh chụp vùng giao cắt tạo hạt của chip kênh dẫn vi lưu: Pha lỏng chứa dung dịch protein BSA pha hoạt chất RhB bị hai dòng chất lỏng Decanol ép và cắt rời tạo thành giọt tại điểm giao cắt, b,c,d) Các giọt lỏng có kích thước khác nhau được tạo ra và di chuyển trong kênh dẫn đầu ra tới kim đầu ra.....	131
88	Hình 4.13	a-c) Ảnh các cụm vi cầu rắn kích thước tương tự nhau sau quá trình khử nước với phân bố hoạt chất màu RhB đồng đều.....	132
89	Hình 4.14	a-c) Điều khiển kích thước của các vi cầu rắn sử dụng phương pháp thay đổi tỷ số tốc độ bơm của hai pha chất lỏng.....	132

		a, c) Các ảnh hiển vi quang học của các cụm vi cầu có kích thước quanh dải 110 và 85 μm , b và d) Thống kê phân bố kích thước các vi cầu.....	134
90	Hình 4.15		
		Ảnh SEM độ phóng đại khác nhau của các cụm vi cầu kích thước khoảng 110 μm	134
91	Hình 4.16		
		Ảnh SEM của hai vi cầu kích thước 110 μm	135
92	Hình 4.17		
		a, b) Ảnh SEM của hai cụm vi cầu ở các kích thước khoảng 146 và 123 μm , c) Ảnh SEM của cụm vi cầu ở kích thước khoảng 53 μm	135
93	Hình 4.18		
		a) Cụm 3 vi cầu ở dải kích thước khoảng 76 μm , được phân tán và đánh số vị trí từ 1- 3 trên đế kính, b) Cụm 4 vi cầu ở dải kích thước khoảng 85 μm , được phân tán và đánh số vị trí trên đế kính từ 1-4.....	136
94	Hình 4.19		
		a và b) phổ phát quang từ vi cầu có đường kính 85 μm ở hai mức năng lượng của xung bơm lần lượt là 0,78 và 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng, c) Tích phân cường độ phổ phát xạ laser để tính ngưỡng phát.....	137
95	Hình 4.20		
		Thống kê ngưỡng phát của một số cụm laser vi cầu được chế tạo từ hệ kênh dẫn vi lưu.....	138
96	Hình 4.21		
		a và b) Phổ phát quang từ hai vi cầu có đường kính 76 μm ở năng lượng của xung bơm 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng, c và d) Phổ phát quang từ hai vi cầu có đường kính 85 μm ở năng lượng của xung bơm 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng.....	139
97	Hình 4.22		
		Thống kê hệ số phẩm chất của một số cụm laser vi cầu được chế tạo từ hệ kênh dẫn vi lưu.....	140
98	Hình 4.23		

99	Hình 4.24	a) Minh họa thiết kế các thành phần của đế PCB điều khiển nhiệt độ, b) Minh họa các laser vi cầu tiếp xúc trên đế kính mỏng bên trên đế gia nhiệt, c) Ảnh hiển vi quang học của vi cầu kích thước 85 μm nằm phía trên đế gia nhiệt.....	141
100	Hình 4.25	a) Sự dịch chuyển phổ phát xạ từ laser vi cầu có kích thước 85 μm trên tấm đế điều khiển và gia nhiệt khi thay đổi nhiệt độ đế tiếp xúc, b) Đặc trưng dịch phổ (vị trí mode laser) theo nhiệt độ và hàm đặc trưng nhiệt độ gần đúng dạng tuyến tính.....	143
101	Hình 4.26	Sự hồi phục vị trí mode trong phép phân tích phổ, về vị trí ban đầu khi giảm nhiệt độ của bề mặt đế tiếp xúc với laser vi cầu.....	144
102	Hình 4.27	Sự lặp lại đặc tính dịch phổ của 03 nguồn laser vi cầu kích thước 85 μm dưới năng lượng xung bơm 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$	145
103	Hình 4.28	Đặc trưng dịch phổ theo nhiệt độ của 03 nguồn laser vi cầu kích thước 85 μm dưới năng lượng xung bơm 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$	146

MỞ ĐẦU

LASER (viết tắt của cụm từ tiếng Anh: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation - Khuếch đại ánh sáng bởi phát xạ kích thích) được coi là một trong những phát minh quan trọng nhất của thế kỷ 20, góp phần làm thay đổi nhiều lĩnh vực khoa học và công nghệ. So với ánh sáng thông thường laser có những đặc tính khác biệt như: cường độ, tính định hướng, tính đơn sắc và tính kết hợp cao. Nhờ các ưu điểm này laser (cùng với sợi quang) đã trở thành nền tảng của viễn thông và Internet tốc độ cao, góp phần quan trọng trong cuộc cách mạng công nghiệp lần thứ ba và lần thứ tư. Ngày nay laser có ứng dụng trong hầu hết các lĩnh vực của cuộc sống, nghiên cứu khoa học, sản xuất công nghiệp, chuẩn đoán và điều trị bệnh, vũ khí và khí tài quân sự.

Laser được chế tạo thành công lần đầu tiên vào năm 1960 [49]. Đến nay nhiều loại laser khác nhau như laser rắn, laser bán dẫn, laser màu, laser khí đã được phát triển và sử dụng. Mặc dù vậy nhóm laser mới vẫn tiếp tục được nghiên cứu như plasmon laser, polariton laser, laser chấm lượng tử, laser dựa trên vật liệu có nguồn gốc sinh học (gọi tắt là laser sinh học) [56, 25, 92, 21]. Trong các cấu trúc laser, dạng vi cầu (có buồng cộng hưởng dạng vi cầu) được bắt đầu nghiên cứu từ năm 1961 [29] là một trong các hướng được quan tâm chú ý nhiều với các ưu điểm về khả năng chế tạo, chất lượng của nguồn laser và phù hợp với nhiều loại ứng dụng: từ tích hợp trong các mạch quang tử cho tới các cảm biến siêu nhỏ [29, 89, 13, 65, 73].

Cùng với sự phát triển của vật liệu chế tạo [53] có nhiều loại laser vi cầu đã được nghiên cứu như: Laser vi cầu dạng rắn (sử dụng vật liệu thủy tinh, vật liệu bán dẫn) [18, 29, 33, 65, 73], laser vi cầu dạng lỏng (các giọt dung dịch chứa hoạt chất laser) [5, 85], laser vi cầu polymer (sử dụng các loại polymer nhân tạo)[43], laser vi cầu sinh học (sử dụng vật liệu có nguồn gốc sinh học)[81]. Với từng loại vật liệu lại có các phương pháp phù hợp để chế tạo như: Phương pháp nóng chảy, quang khắc ăn mòn, Sol-gel, bọc vỏ, khử nước [84, 97],.... Trong số các vật liệu sử dụng chế tạo laser vi cầu, nhóm vật liệu có nguồn gốc sinh học với ưu điểm về tính tương thích sinh học,

mở ra triển vọng ứng dụng của laser vi cầu trong cảm biến sinh học thậm chí ở cấp độ tế bào [34, 50].

Laser sinh học mới được bắt đầu được nghiên cứu mạnh trong khoảng 25 năm trở lại đây. Năm 1995 các nhà khoa học tại Đại học New York (Mỹ) lần đầu tiên sử dụng mô của động vật làm cấu trúc tăng cường tán xạ cho việc phát xạ laser ngẫu nhiên [72]. Khoảng 10 năm sau, những ứng dụng thực tiễn của laser sinh học bắt đầu được triển khai. Năm 2004 các nhà Vật lý tại Đại học Utah (Mỹ) nhuộm chất màu (hoạt chất laser) vào mô của người, sau đó kích hoạt những mô này bằng laser xung và thu được laser ngẫu nhiên [59]. Sau khi nghiên cứu tính chất quang của chúng, các nhà khoa học phát hiện phổ laser từ những mô khỏe mạnh có đặc trưng khác với phổ từ những mô bị ung thư. Điều này giúp phân loại mô khỏe với mô bị ung thư đồng thời mở ra triển vọng phát hiện ung thư sớm theo một cách hoàn toàn mới. Năm 2010 nhóm nghiên cứu tại Đại học Purdue (Mỹ) phát hiện ra những thay đổi cấp độ nano trong cấu trúc xương người thông qua khảo sát phổ phát xạ của laser. Gần đây vào năm 2016 các nhà khoa học Úc ở Đại học Macquarie sử dụng laser như một thiết bị cảm biến nồng độ Dopamine (chất dẫn truyền thần kinh) với độ nhạy vào khoảng 100 nM. Năm 2017 các nhà khoa học tại Anh (Đại học King London) chế tạo thành công laser từ vật liệu tơ tằm và được ứng dụng để nhận biết độ pH với độ nhạy gấp 200 lần so với cảm biến dựa trên nguyên lý phát huỳnh quang truyền thống [10]. Cũng trong năm 2017 laser vi cầu đã được chế tạo từ nhiều vật liệu có nguồn gốc sinh học khác nhau như protein, Pectin và Xenlulose, tinh bột [81].

Hiện nay nghiên cứu về laser vi cầu sinh học tập trung vào hai hướng chính: Hướng thứ nhất là khám phá và điều chế vật liệu sinh học mới ứng dụng cho laser [12, 51, 71]. Những vật liệu này bao gồm cả vật liệu phát quang để làm hoạt chất laser và vật liệu không phát quang để làm buồng cộng hưởng (cho laser thông thường) hoặc môi trường tán xạ (cho laser ngẫu nhiên); hướng thứ hai nghiên cứu và phát triển các nguồn laser sinh học có kích thước nhỏ (khoảng 5-150 μm) để ứng dụng cho các cảm biến sinh hóa học có độ nhạy cao như: cảm biến áp suất, cảm biến nhiệt

độ, cảm biến độ pH của môi trường...[15, 28, 87] hay tích hợp vào trong các mô, tế bào và cơ thể sống. Chúng có thể hoạt động như các cảm biến sinh hóa, theo dõi hoạt động của tế bào, giúp chuẩn đoán và điều trị bệnh.

Tại Việt Nam hướng nghiên cứu về laser vi cầu cũng đã được triển khai. Năm 2006 nhóm nghiên cứu của PGS. Phạm Văn Hội đã công bố các kết quả về laser vi cầu từ vật liệu thủy tinh pha tạp ion đất hiếm Er^{3+} [28]. Tuy nhiên các nghiên cứu chế tạo laser vi cầu từ vật liệu sinh học còn chưa được thực hiện.

Nhìn chung laser vi cầu sinh học là hướng nghiên cứu mới với nhiều tiềm năng phát triển. Chế tạo thành công laser vi cầu sinh học và triển khai ứng dụng có tính cấp thiết, đóng góp cho việc phát triển các hệ thống quang tử và hệ thống cảm biến sinh học siêu nhỏ, siêu nhạy. Một số vấn đề trọng tâm trong hướng nghiên cứu về laser vi cầu sinh học hiện nay có thể tóm lược là: (1) Nghiên cứu phát triển các phương pháp chế tạo đơn giản, hiệu quả, thời gian chế tạo nhanh, số lượng sản xuất lớn; (2) Nghiên cứu sử dụng các loại vật liệu tiên tiến có nguồn gốc sinh học; (3) Điều khiển kích thước, hình dạng laser vi cầu; (4) Triển khai các ứng dụng thực tế.

Do đó tôi lựa chọn đề tài luận án: ***“Nghiên cứu chế tạo và khảo sát một số đặc trưng của laser vi cầu từ các vật liệu nguồn gốc sinh học”***

Mục tiêu trọng tâm đặt ra cho luận án là:

- Chế tạo thành công laser vi cầu từ vật liệu có nguồn gốc sinh học với đặc trưng ngưỡng phát laser thấp và hệ số phẩm chất cao;
- Điều khiển thành công kích thước của laser, thu được các nguồn laser có đặc trưng tương đương nhau;
- Thử nghiệm ứng dụng laser đã chế tạo cho cảm biến nhiệt độ môi trường tiếp xúc.

Đối tượng nghiên cứu:

Laser vi cầu chế tạo từ các vật liệu có nguồn gốc sinh học.

Phương pháp nghiên cứu sử dụng cho luận án:

- Sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein thông qua công nghệ nhũ tương và hệ thống kênh dẫn vi lưu. Trong đó kênh dẫn vi lưu là một phương pháp nghiên cứu mới có tính ưu việt trong điều kiện và kiểm soát kích thước của laser vi cầu;
- Phương pháp đo đặc trưng phổ laser kết hợp với thống kê, so sánh;
- Sử dụng kết hợp các phương pháp khác về điều khiển nhiệt độ, xây dựng hệ thiết bị công nghệ chế tạo phù hợp với đối tượng nghiên cứu và các phương pháp tính toán, mô phỏng khác.

Bố cục của luận án:

Ngoài phần mở đầu và kết luận luận án được chia làm 4 chương:

Chương 1: Trình bày tổng quan về laser vi cầu và laser vi cầu sinh học.

Trong chương này trước tiên trình bày tổng quan cơ sở lý thuyết về laser vi cầu và các thông số đặc trưng. Tiếp theo khái quát về laser vi cầu rắn, laser vi cầu mềm. Trong laser vi cầu mềm phân tích sâu hơn về laser vi cầu chế tạo từ các vật liệu có nguồn gốc sinh học (laser vi cầu sinh học). Cuối cùng phân tích một số ứng dụng của của laser vi cầu và laser vi cầu sinh học.

Chương 2: Trình bày thực nghiệm quá trình chế tạo và điều khiển kích thước laser vi cầu sinh học.

Trong chương này các nội dung chính được trình bày bao gồm: Các vật liệu sử dụng trong quy trình chế tạo laser vi cầu và hệ thống kênh dẫn vi lưu; Quy trình chế tạo laser vi cầu sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein đối với vật liệu lòng trắng trứng và vật liệu protein chiết xuất; Quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu và ứng dụng kênh dẫn vi lưu để chế tạo và điều khiển kích thước của của laser vi cầu; Các hệ thiết bị nghiên cứu tính chất đặc trưng của laser vi cầu.

Chương 3: Trình bày kết quả chế tạo laser vi cầu sinh học dựa trên phương pháp khử nước từ dung dịch protein.

Trong chương này trình bày các kết quả chế tạo laser vi cầu theo phương pháp khử nước từ dung dịch protein. Phân tích quy trình chế tạo và các thông số ảnh hưởng, trình bày các kết quả đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu lòng trắng trứng và liệu protein BSA pha hoạt chất màu RhB.

Chương 4: Trình bày kết quả chế tạo và điều khiển kích thước laser vi cầu sinh học sử dụng kênh dẫn vi lưu, đặc trưng laser của chúng và bước đầu thử nghiệm ứng dụng trong cảm biến nhiệt độ môi trường tiếp xúc.

Trong chương này trước tiên trình bày các kết quả về chế tạo kênh dẫn vi lưu. Các kết này bao gồm thiết kế mặt nạ cản quang, phim mặt nạ cản quang, khuôn hệ thống kênh dẫn từ màng mỏng, khuôn từ Polydimethylsiloxane (PDMS) và chip kênh dẫn vi lưu. Tiếp theo sử dụng hệ thống kênh dẫn vi lưu để chế tạo, điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học. Sau đó, từ các kết quả chế tạo laser vi cầu tiến hành nghiên cứu đặc trưng của các laser có kích thước tương tự nhau. Cuối cùng thử nghiệm khả năng ứng dụng laser vi cầu sinh học đã chế tạo trong cảm biến nhiệt độ môi trường tiếp xúc.

Kết luận: Tổng kết lại các kết quả đã đạt được và đề xuất hướng nghiên cứu tiếp theo.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN VỀ LASER VI CẦU SINH HỌC

Trong chương này trước tiên tôi trình bày cơ sở lý thuyết chung về laser vi cầu và các thông số đặc trưng, tiếp theo tổng quan về hướng nghiên cứu laser vi cầu và laser vi cầu sinh học, sau đó trình bày một số ứng dụng trọng tâm của laser vi cầu sinh học, cuối cùng kết luận chương.

1.1. Cơ sở lý thuyết của laser vi cầu và các thông số đặc trưng

1.1.1. Cơ sở lý thuyết chung về laser vi cầu

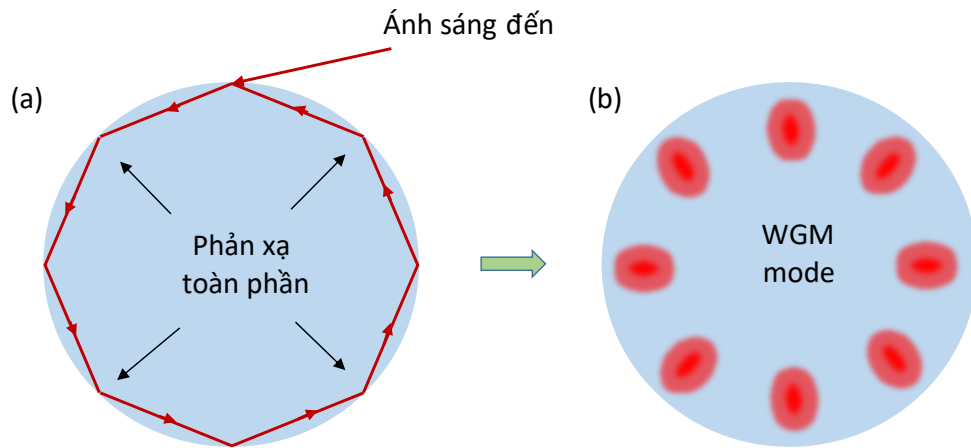
Nguyên lý hoạt động của laser vi cầu dựa trên hiệu ứng “Mode vọng hành lang” (whispering gallery mode - WGM). Khái niệm ban đầu về hiệu ứng này được đề xuất bởi tác giả Lord Rayleigh vào khoảng thời gian 1910 - 1912 [62]. Trong quá trình nghiên cứu các hiện tượng truyền sóng âm bên trong mái vòm của Nhà thờ St. Paul tại London, ông và các cộng sự tìm ra rằng có thể nghe thấy tiếng thì thầm của những người khác ở bất kỳ nơi nào của mái vòm nếu họ đứng ở vị trí sát bức tường. Lord Rayleigh cho rằng hiện tượng này là do khả năng lan truyền của sóng âm dọc theo một lớp không khí mỏng sát gần bề mặt của bức tường cong. Phương thức lan truyền như vậy cũng được chứng minh là có thể áp dụng đối với sóng điện từ, vì vậy các nghiên cứu tương tự trong lĩnh vực quang học đã khám phá và làm sáng rõ các đặc điểm và tính chất của cấu trúc WGM với sóng điện từ. Công bố đầu tiên của Rich-Tymyer trong báo cáo vào năm 1939 cho thấy rằng các cấu trúc vi cầu có thể hỗ trợ hiệu quả các mode cộng hưởng quang học [63]. Đến năm 1961 buồng cộng hưởng laser vi cầu rắn đầu tiên được Garrett thực nghiệm thành công [29].

Trong laser vi cầu, ánh sáng bị giam giữ và khuếch đại bên trong vi cầu nhờ hiện tượng phản xạ toàn phần, khi chiết suất của vi cầu cao hơn môi trường bên ngoài và góc tới của tia sáng lớn hơn góc tới hạn của hiện tượng phản xạ toàn phần (Hình 1.1a). Hiện tượng này dẫn tới ánh sáng lan truyền và bị giam giữ dọc theo một mặt cắt ngang tròn của hình cầu. Khi nguồn sáng chiếu tới quả cầu liên tục phát ra ánh

sáng thì sóng này có thể giao thoa với chính nó sau một chu kỳ di chuyển theo mặt cắt ngang. Phương trình điều kiện mô tả cho hiện tượng này:

$$m\lambda = Ln_{eff} \quad (1.1)$$

Trong đó m là số mode góc, λ là bước sóng của ánh sáng trong chân không, L là chu vi của hình tròn và n_{eff} là chiết suất hiệu dụng của vi cầu so với không khí. Khi điều kiện trên xảy ra, ánh sáng có bước sóng thỏa mãn được giam giữ và có thể khuếch đại một cách tuần hoàn trong buồng cộng hưởng, hình thành các mode sóng cộng hưởng quan sát thấy trong phép phân tích quang phổ và được gọi là mode vòng hành lang - WGM mode, như mô tả trong Hình 1.1b.



Hình 1.1. a) Ánh sáng bị giam giữ trong cấu trúc hình cầu do phản xạ toàn phần bên trong và sau đó được khuếch đại để tạo thành mode vòng hành lang (WGM mode) (b).

Xét bài toán lý thuyết cụ thể hơn, giả sử có một cấu trúc hình cầu có bán kính là a , chiết suất của vật liệu cấu thành vi cầu là n , được đặt trong môi trường không khí (xem chiết suất của không khí ≈ 1). Đặc tính của WGM mode thường được mô tả phụ thuộc theo tính phân cực của mode, là mode điện trường ngang (Transverse Electric -TE) hay từ trường ngang (Transverse Magnetic - TM) cùng với bộ ba số nguyên theo thứ tự (q, l, m) . Trong đó q là số mode cực đại theo hướng xuyên tâm, m là số mode trường cực đại bên trong và dọc theo phân biên dạng hình tròn giữa hình cầu và môi trường bên ngoài, l là số mode phương vị (trong đó $l - m + 1$ là số mode cực đại phương vị). Lý thuyết về phân bố trường quang học và các vị trí các mode

laser thu được từ buồng cộng hưởng vi cầu được triển khai từ hệ phương trình Maxwell, được viết dưới dạng [97, 17]:

$$\begin{cases} \nabla \times (\nabla \times E) - n^2(r)k_0^2 E = 0 \\ \nabla \cdot E = 0 \end{cases} \quad (1.2)$$

Ở đây ∇ là toán tử Laplacian, E là điện trường, $k_0 = 2\pi / \lambda_0$ là số sóng, lúc này phương trình Helmholtz tương ứng được có dạng:

$$\Delta E + n^2(r)k_0^2 E = 0 \quad (1.3)$$

1.1.2. Vị trí mode của laser vi cầu

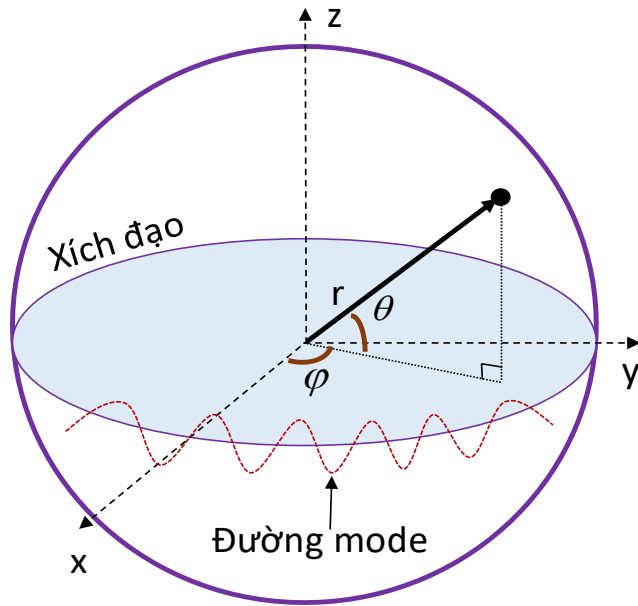
Lý thuyết về vị trí các mode laser thu được khi sử dụng buồng cộng hưởng có cấu trúc dạng cầu được nghiên cứu trong nhiều thập kỷ, đã được một số nhóm nghiên cứu công bố [13, 65, 55, 14, 37, 36]. Bằng cách giải phương trình (1.3) trong hệ tọa độ cầu với toán tử Laplacian lúc này được cho bởi công thức 1.4, trong đó r là bán kính, θ và ϕ lần lượt là góc cực và góc phương vị:

$$\nabla = \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2}{\partial r^2} (r^2 \frac{\partial}{\partial r}) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2}{\sin^2 \phi} \frac{\partial^2}{\partial \theta^2} + \frac{1}{r^2 \sin \phi} \frac{\partial}{\partial \phi} (\sin \phi \frac{\partial}{\partial \theta}) \quad (1.4)$$

Nghiệm của phương trình này đối với các mode TE và TM [97, 39]:

$$\text{Modes TE} \begin{cases} E_{\ell m}^{TE}(r) = E_0 \frac{f_{\ell}(r)}{k_0 r} X_{\ell}^m(\theta, \varphi) \\ B_{\ell m}^{TE}(r) = -\frac{iE_0}{c} \left(\frac{f_{\ell}'(r)}{k_0^2 r} Y_{\ell}^m(\theta, \varphi) + \sqrt{\ell(\ell+1)} \frac{f_{\ell}(r)}{k_0^2 r^2} Z_{\ell}^m(\theta, \varphi) \right) \end{cases} \quad (1.5.1)$$

$$\text{Modes TM} \begin{cases} E_{\ell m}^{TM}(r) = \frac{E_0}{n^2} \left(\frac{f_{\ell}'(r)}{k_0^2 r} Y_{\ell}^m(\theta, \varphi) + \sqrt{\ell(\ell+1)} \frac{f_{\ell}(r)}{k_0^2 r^2} Z_{\ell}^m(\theta, \varphi) \right) \\ B_{\ell m}^{TM}(r) = -\frac{E_0}{c} \frac{f_{\ell}(r)}{k_0 r} X_{\ell}^m(\theta, \varphi) \end{cases} \quad (1.5.2)$$



Hình 1.2. Minh họa đường đi của ánh sáng trong quả cầu với hệ tọa độ cầu.

Với 3 véc tơ đặc trưng:

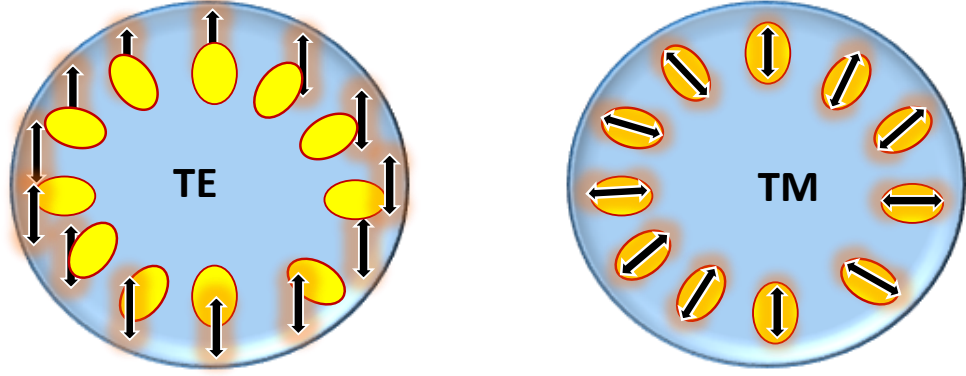
$$\begin{cases} X_\ell^m = \frac{1}{\sqrt{\ell(\ell+1)}} \nabla Y_\ell^m \times r \\ Y_\ell^m = \frac{1}{\sqrt{\ell(\ell+1)}} r \nabla Y_\ell^m \\ Z_\ell^m = Y_\ell^m \hat{r}. \end{cases} \quad (1.6)$$

Trong phương trình (1.5), $f(r)$ là phân bố hướng tâm của điện trường có thể xác định được từ phương trình sau:

$$f''(r) - (\ell(\ell+1)/r^2)f(r) + n^2(r)k_0^2(r)f(r) = 0 \quad (1.7)$$

Nghiệm cho phương trình này:

$$\begin{cases} \psi_\ell(Nk_0r) & \text{khi } r < a \\ \alpha\psi_\ell(k_0r) + \beta\chi(k_0r) & \text{khi } r > a \end{cases} \quad (1.8)$$



Hình 1.3. Minh họa TM và TE mode trong laser vi cầu.

Trong đó α và β là các hằng số được xác định bởi các điều kiện tại $r = a$ và $r \rightarrow \infty$, và ψ_ℓ, χ_ℓ là hàm Riccati-Bessel bậc nhất và bậc hai, được định nghĩa bởi:

$$\begin{cases} \psi_\ell(\rho) = \rho j_\ell(\rho) \\ \chi_\ell(\rho) = \rho n_\ell(\rho) \end{cases} \quad (1.9)$$

Với j_ℓ và n_ℓ là hàm Bessel bậc nhất và bậc hai (hàm Neumann). Trong điều kiện $\ell \gg 1$, nghiệm của phương trình có thể được đơn giản hóa bằng cách tính gần đúng:

$$\begin{cases} \text{Modes TE} \begin{cases} E_{\ell m}^{TE}(r) \approx \frac{f(r)}{k_0 r} Y_\ell^m(\theta, \varphi) u_\theta, \\ B_{\ell m}^{TE}(r) \approx \frac{f(r)}{k_0^2 r^2} Y_\ell^m(\theta, \varphi) u_r, \end{cases} \\ \text{Modes TM} \begin{cases} E_{\ell m}^{TM}(r) \approx \frac{f(r)}{k_0^2 r^2} Y_\ell^m(\theta, \varphi) u_r, \\ B_{\ell m}^{TM}(r) \approx \frac{f(r)}{k_0 r} Y_\ell^m(\theta, \varphi) u_\theta, \end{cases} \end{cases} \quad (1.10)$$

Trong đó u_r và u_θ là các vectơ đơn vị trong hệ tọa độ cầu.

Để tìm vị trí của các mode laser vi cầu một cách đơn giản hơn, có thể sử dụng công thức gần đúng được khai triển bởi tác giả Lam và các cộng sự [45]. Các vị trí

cộng hưởng có thể được khai triển theo một chuỗi số của $v^{-1/3} = (m+1/2)^{-1/3}$. Từ đó các vị trí bước sóng cộng hưởng thu được gần đúng theo biểu thức:

$$(\lambda_m^q)^{-1} = \frac{1}{\pi D n_s} \left[v + 2^{-1/3} A_q v^{1/3} - \frac{P}{\sqrt{n_{eff}^2 - 1}} + \frac{2^{-2/3} A_q^2 v^{-1/3}}{10/3} - \frac{P(n_{eff}^2 - \frac{2}{3} P^2)}{2^{1/3} (n_{eff}^2 - 1)^{3/2} v^{2/3}} \right] \quad (1.11)$$

Trong đó:

- ✓ $n_{eff} = n_s/n_o$, n_s và n_o lần lượt là chiết suất của quả cầu và chiết suất của môi trường bên ngoài;
- ✓ A_q là hệ số của hàm Airy. Khi $q = 1, 2, 3$ thì A_q nhận các giá trị tương ứng được cho bởi 2.338, 4.088 và 5.521 [33, 38, 40];
- ✓ P là hệ số liên quan tới đặc tính phân cực và được cho bởi $P = 1/n_{eff} = n_o/n_s$ trong trường hợp mode TM và $P = n_{eff} = n_s/n_o$ trong trường hợp mode TE.

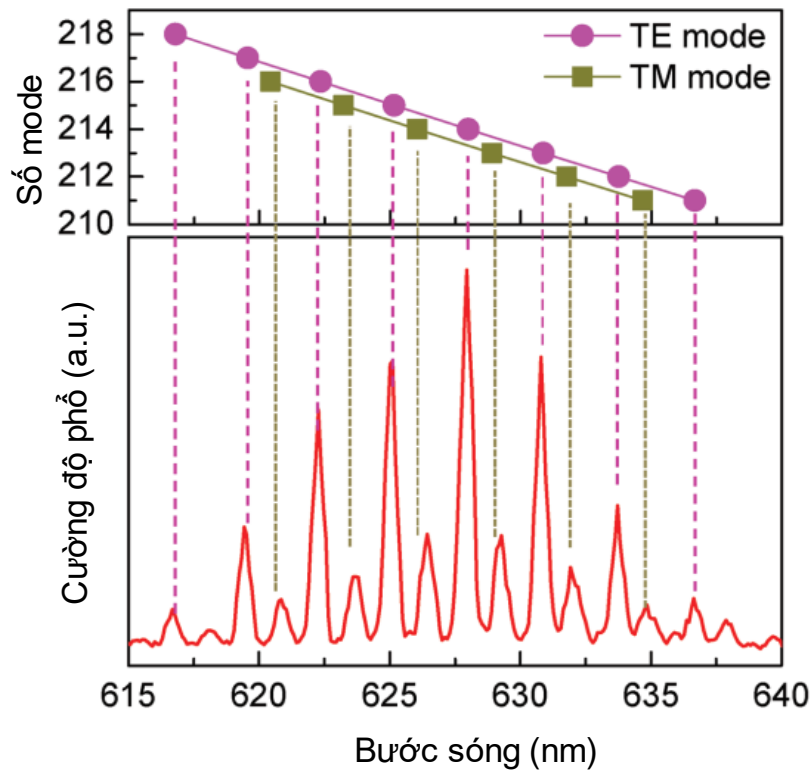
Biểu thức 1.11 có thể được xem như một phép gần đúng chính xác và đáng tin cậy hơn so với cách tiếp cận từ phương trình (1.1). Từ biểu thức này, có thể tính toán các vị trí bước sóng cộng hưởng cho các mode thành phần TE và TM. Để đơn giản hóa, trong trường hợp môi trường xung quanh là không khí $n_o = 1$. Các mode cơ bản (với $q = 1$) thường được xem xét vì chúng được quan sát với cường độ cao nhất trong nghiên cứu thực nghiệm [80, 82]. Thay $P = n_r$ và $A_q = 2,338$ vào (1.11), ta có:

$$\lambda_{TE} \approx \frac{2\pi R n_s}{m + 1.856m^{1/3} + \left(\frac{1}{2} - \frac{n_s}{\sqrt{n_s^2 - 1}} \right)} \quad (1.12)$$

Tương tự, giá trị gần đúng của các vị trí mode cộng hưởng TM là:

$$\lambda_{TM} \approx \frac{2\pi R n_s}{m + 1.856m^{1/3} + \left(\frac{1}{2} - \frac{1}{n_s \sqrt{n_s^2 - 1}} \right)} \quad (1.13)$$

Cần lưu ý rằng số mode góc m được giả định là đủ lớn để các số $(m+1/2)^{-1/3}$ và $(m+1/2)^{-2/3}$ là không đáng kể có thể bỏ qua. Do đó các phương trình (1.12) và (1.13) là biểu thức gần đúng cho các mode cộng hưởng TE và TM trong một buồng cộng hưởng WGM được bao quanh bởi môi trường không khí. Điều kiện tiên quyết đối với cấu trúc WGM là $n_s > 1$ để ánh sáng có thể được tăng cường thông qua phản xạ toàn phần bên trong. Do thành phần $n_s / \sqrt{n_s^2 - 1}$ lớn hơn $1 / (n_s \sqrt{n_s^2 - 1})$ dẫn tới mode cộng hưởng TE được quan sát ở bước sóng dài hơn mode TM cho cùng số mode góc m .



Hình 1.4. Sự phù hợp vị trí các mode TM và TE giữa công thức thực nghiệm và kết quả đo [81].

Đối với trường hợp sử dụng vật liệu chế tạo buồng cộng hưởng laser vi cầu là protein Bovin serum albumin (BSA) và hoạt chất laser là RhB, kết quả về sự phù hợp giữa công thức thực nghiệm vị trí mode TM và TE đã được nghiên cứu và công bố [81] như Hình 1.4. Các mode TE (từ phải sang trái) thể hiện sự phù hợp tốt với ở các

mode TE từ 211 - 218 và các mode TM trong khoảng giá trị 211 - 216, với đường kính giả định của quả cầu là $D = 31,53 \mu\text{m}$, chiết suất của quả cầu (n_s) và môi trường không khí xung quanh (n_o) lần lượt là 1,47 và 1.

1.1.3. Khoảng phổ tự do

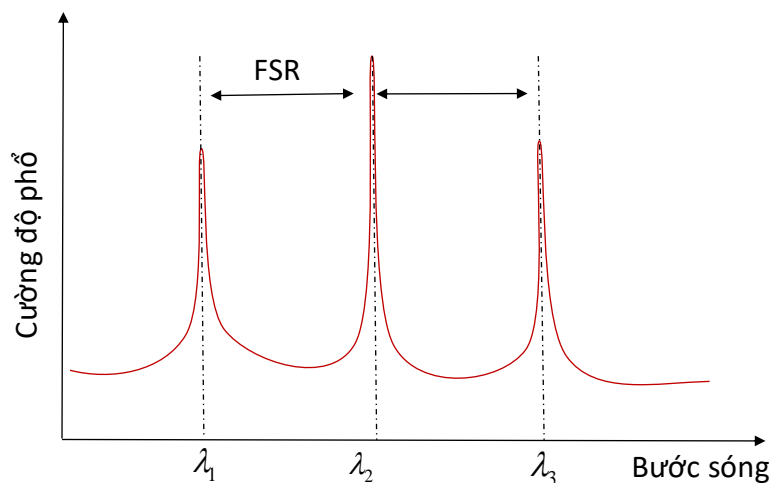
Khoảng phổ tự do (Free Spectral Range - FSR) là một thông tin quan trọng trong cấu trúc phổ của laser vi cầu. FSR được định nghĩa là khoảng cách giữa hai mode (cùng loại TM hoặc cùng loại TE) liên tiếp, có thể được xác định từ công thức tiệm cận [97]:

$$FSR^r = \lambda_m^q - \lambda_{m+1}^q \quad (1.14)$$

Đối với mode cơ bản (thường được quan sát thấy trong thực nghiệm) $q = 1$, giá trị của FSR được lấy gần đúng là [83]:

$$FSR \approx \frac{\lambda^2}{\pi n_{eff} D} \quad (1.15)$$

Trong đó λ là bước sóng cộng hưởng, D là đường kính của quả cầu.

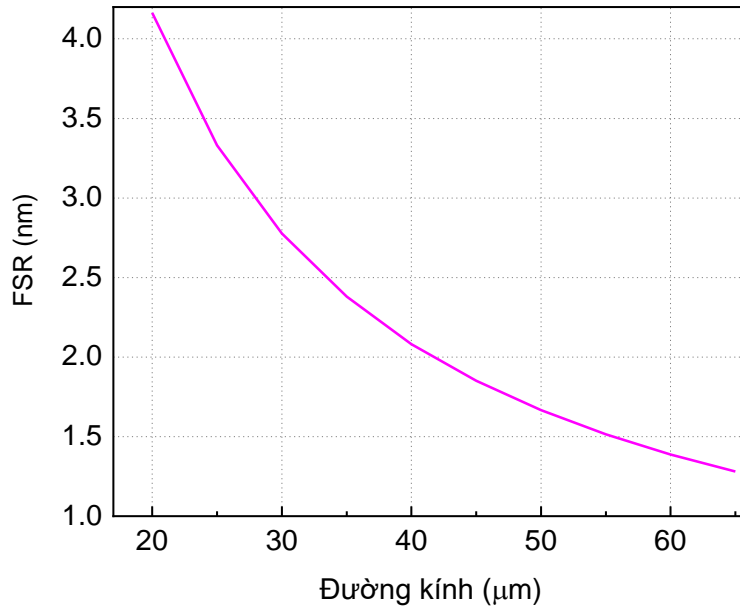


Hình 1.5. Đo giá trị FSR từ phổ phát xạ laser.

Trong thực nghiệm phân tích phổ FSR có thể được tính toán thông qua phổ phát xạ laser thu được. Giả sử kết quả đo đặc trưng phổ phát xạ của laser như Hình 1.5,

FSR được tính là hiệu số của hai giá trị bước sóng cộng hưởng của hai mode cùng loại (TE hoặc TM) liên tiếp. Ở cùng điều kiện đo, các khoảng cách giữa chúng sẽ cho giá trị tương đương nhau:

$$FSR = \lambda_3 - \lambda_2 \approx \lambda_2 - \lambda_1 \quad (1.16)$$



Hình 1.6. Sự phụ thuộc của FSR theo đường kính của laser vi cầu từ vật liệu BSA pha hoạt chất màu RhB.

Các nghiên cứu đã công bố cho thấy sự phù hợp tốt của biểu diễn như công thức 1.15 và các giá trị đo thực nghiệm. Trong trường hợp laser vi cầu làm từ vật liệu protein BSA (chiết suất $n_s = 1,47$) pha tạp chất màu RhB được thực hiện trong luận án này (khảo sát trong không khí, $n_o \approx 1$). Khi được kích thích bởi xung laser bước sóng 532 nm, giá định bước sóng cộng hưởng được lấy ở giá trị $\lambda = 620$ nm, sự phụ thuộc của FSR theo đường kính của quả cầu có dạng như Hình 1.6.

1.1.4. Hệ số phẩm chất

Hệ số phẩm chất (Q) là một thông số quan trọng của buồng cộng hưởng vi cầu cũng như laser vi cầu. Q đặc trưng cho khả năng giam giữ năng lượng trong cấu trúc, có thể được định nghĩa thông qua thời gian sống (τ) của ánh sáng trong mode xác định [97]. Công thức biểu diễn hệ số phẩm chất cho buồng cộng hưởng được cho bởi:

$$Q = \omega\tau \quad (1.17)$$

Trong trường hợp laser vi cầu hệ số phẩm chất của nguồn laser có thể được đánh giá thông qua hệ số phẩm chất của các mode laser. Độ lớn của nó phụ thuộc vào một số thành phần đặc trưng cho sự mất mát năng lượng và được xác định thông qua biểu diễn [30]:

$$Q^{-1} = Q_c^{-1} + Q_s^{-1} + Q_r^{-1} + Q_m^{-1} \quad (1.18)$$

Trong đó:

- Hệ số Q_c tương ứng với suy hao do các thành phần tạp chất trên bề mặt vi cầu, do đó phụ thuộc vào trạng thái bề mặt của vi cầu. Các chất gây ô nhiễm bề mặt, chẳng hạn như sự bám dính của các phân tử nước, các chất khí hoặc các đối tượng khác có thể dẫn đến mức suy hao lớn hơn. Ngoài ra, quá trình oxy hóa vật liệu ở bề mặt của các vi cầu cũng dẫn đến những thay đổi về tính chất hóa học hoặc vật lý bề mặt có thể ảnh hưởng tới hệ số phẩm chất Q_c . Về mặt lý thuyết, hiện không có công thức biểu diễn chính xác đối với thành phần này.
- Hệ số Q_s liên quan tới các suy hao do tán xạ bên trong và sự không đồng nhất của bề mặt vi cầu.
- Hệ số Q_r xuất hiện do sự mất mát phần bức xạ thoát ra ngoài tại phân biên của vi cầu và môi trường bên ngoài.
- Hệ số Q_m tương ứng với suy hao do sự hấp thụ của vật chất bên trong vi cầu.

Các biểu diễn về mặt lý thuyết cho Q_s , Q_r và Q_m có thể được biểu diễn tương ứng như sau:

Hệ số Q_s phần lớn tới từ tán xạ Rayleigh và nhìn chung tỷ lệ thuận với kích thước của vi cầu, có thể được biểu diễn [30]:

$$Q_s = \frac{\lambda^2 R}{\pi^2 \sigma_{rms}^2 B} \quad (1.19)$$

trong đó σ_{rms} là bình phương kích thước mấp mô bề mặt và B là độ dài tương quan, hoặc độ dài không đồng nhất. Để có nguồn laser vi cầu chất lượng cao, cả chiều dài

và kích thước của thành phần không đồng nhất trên bề mặt buồng cộng hưởng cần phải được giảm thiểu. Hệ số Q_s có mối quan hệ tuyến tính với bán kính vi cầu R, điều này cho thấy rằng các laser vi cầu kích thước lớn hoạt động tốt hơn trong việc giam giữ ánh sáng so với các vi cầu nhỏ [30].

Hệ số Q_r là một tham số nội tại được xác định bởi độ cong của các đường biên tròn của các buồng cộng hưởng laser vi cầu. Hệ số này có thể được biểu diễn theo công thức [17, 55]:

$$Q_r = \frac{\text{Re}(k_{r,m})}{\text{Im}(k_{r,m})} \Rightarrow \frac{1}{2} \left(m + \frac{1}{2} \right) n^{(2p-1)} \sqrt{n^2 - 1} e^{2T_{r,m}} \quad (1.20)$$

Trong đó: $p=1$ đối với mode phân cực TM và bằng 0 đối với mode phân cực TE.

$$T_{r,m} = \left(m + \frac{1}{2} \right) \left[\beta_{r,m} - \tanh \beta_{r,m} \right] \quad (1.21)$$

$$\beta_{r,m} = \cosh^{-1} \left(n \left[1 - \left(\frac{1}{m + \frac{1}{2}} \right) \left(A_r \sqrt{\frac{2m+1}{4}} + \frac{n^{1-2p}}{\sqrt{n^2-1}} \right) \right] \right)^{-1}$$

Vì vậy hệ số suy hao bức xạ Q_r phụ thuộc vào số mode bán kính r và số mode góc m . Các mode bậc cao về mặt lý thuyết có Q_r thấp hơn, đây cũng là lý do mà chúng ta thường chỉ quan sát thấy các mode cơ bản trong thực nghiệm.

Hệ số Q_m liên quan sự suy hao năng lượng ánh sáng do vật chất chủ yếu chỉ ra sự hấp thụ cũng như tán xạ Rayleigh của vật liệu trong buồng cộng hưởng [65]. Chiết suất của vật liệu điện môi được cho bởi:

$$n = \tilde{n} + i\kappa \quad (1.22)$$

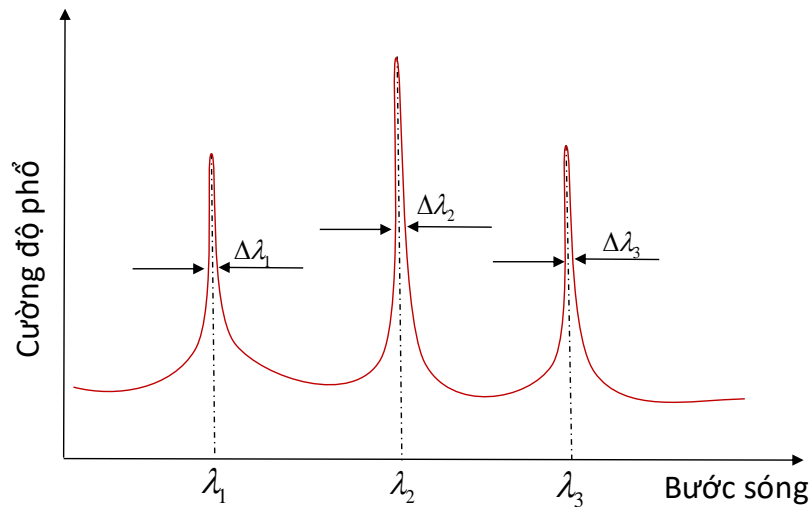
trong đó κ là hệ số tắt và đặc trưng cho sự hấp thụ bức xạ của vật liệu. Hệ số hấp thụ tuyến tính α của vật liệu có thể được áp dụng để biểu diễn hệ số phẩm chất liên quan tới tổn thất vật liệu dưới dạng hàm phụ thuộc vào độ dài bước sóng cộng hưởng [65]:

$$Q_m = \frac{2\pi n}{\alpha\lambda} \quad (1.23)$$

Như vậy có thể thấy hệ số phẩm chất Q của laser vi cầu phụ thuộc vào nhiều yếu tố: Từ vật liệu chế tạo, hình dạng, kích thước, đặc tính bề mặt, các điều kiện bảo quản. Để tính toán mức độ ảnh hưởng, tỷ trọng đóng góp của từng thành phần là tương đối phức tạp. Trong thực nghiệm hệ số phẩm chất của laser vi cầu thường được xem như là hệ số phẩm chất đối với mode laser vi cầu (được xác định từ việc phân tích phổ laser) theo biểu thức [97, 23]:

$$Q = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \quad (1.24)$$

Trong đó λ là bước sóng cộng hưởng, $\Delta\lambda$ là độ rộng phổ giá trị ứng với cường độ bằng một nửa giá trị cực đại (được gọi là bán độ rộng phổ cực đại).



Hình 1.7. Các mode laser vi cầu cho bán độ rộng phổ cực đại tương đương.

Hệ số phẩm chất của các mode khác nhau của laser vi cầu trong cùng một điều kiện khảo sát cho giá trị gần tương đương nhau, và thường được gọi chung là hệ số phẩm chất của laser. Công thức thực nghiệm 1.24, được triển khai cho trường hợp có nhiều mode laser được quan sát như Hình 1.7:

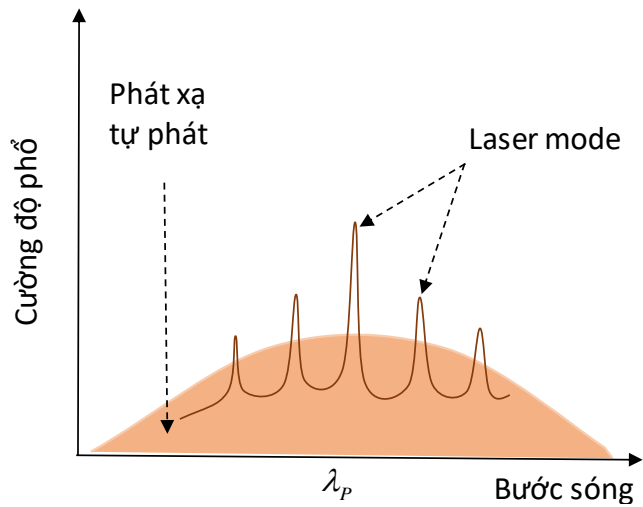
$$Q \approx \frac{\lambda_1}{\Delta\lambda_1} \approx \frac{\lambda_2}{\Delta\lambda_2} \approx \frac{\lambda_3}{\Delta\lambda_3} \quad (1.25)$$

Các nghiên cứu công bố gần đây cho thấy giá trị của Q thu được từ mode của laser vi cầu trong khoảng 10^3 tới 10^4 được gọi là nguồn laser có hệ số phẩm chất cao. Hệ số phẩm chất Q của laser vi cầu chế tạo từ vật liệu có nguồn gốc sinh học của từ một số công trình đã công bố ở mức 10^3 [30, 80, 83].

1.1.5. Ngưỡng phát

Ngưỡng phát cho biết công suất bơm quang học tối thiểu để có thể thu được tín hiệu laser. Khi số photon được tạo ra do quá trình phát xạ kích bằng với lượng photon suy hao, trạng thái này chính là ngưỡng. Khi photon lớn hơn suy hao thì vượt ngưỡng và phát laser. Nhìn chung đối với laser vi cầu được kích thích bằng các nguồn laser xung, ở các điều kiện ngưỡng bơm phù hợp sẽ thu được một hoặc nhiều mode laser (tùy theo kích thước của chúng). Khi thỏa mãn điều kiện cộng hưởng (Phương trình 1.1 hoặc 1.15) và ở trên ngưỡng phát, các mode laser có thể được quan sát. Trên nền phổ phát xạ tự phát, các mode laser xuất hiện với đặc điểm nhận diện là các dải bước sóng có cường độ phổ tăng cao, hình thành các đỉnh cực đại (Hình 1.8). Khi tăng dần năng lượng xung kích thích, tương ứng sẽ quan sát sự gia tăng cường độ của các mode laser.

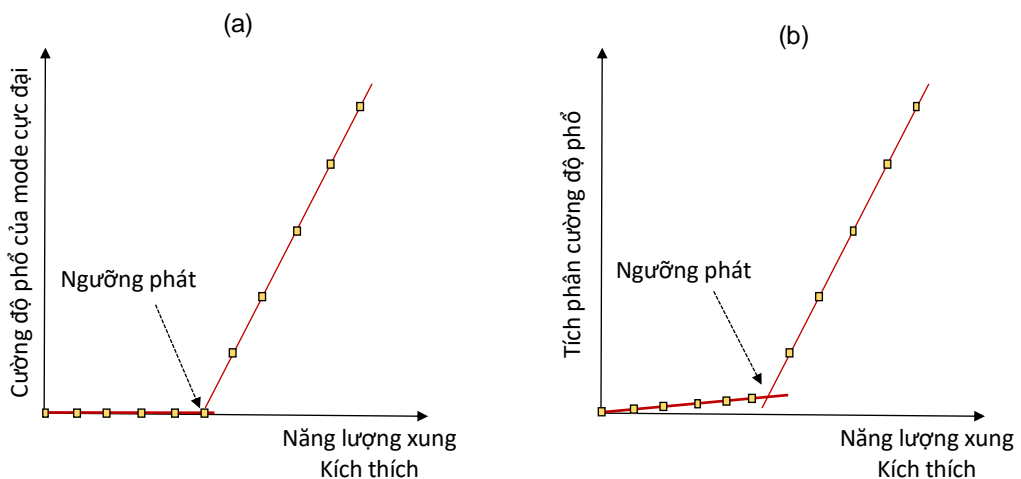
Ngưỡng phát laser là thông số chịu ảnh hưởng tổng hợp của các yếu tố, từ đặc tính vật liệu chế tạo buồng cộng hưởng, vật liệu môi trường hoạt chất cho tới cấu hình và chất lượng của laser vi cầu. Các tính toán lý thuyết thường dựa trên điểm tới hạn của khuếch đại quang học bằng với mức suy hao, đó là điểm ngưỡng, để tìm ra biểu thức cho các cấu trúc cụ thể. Trong thực nghiệm, ngưỡng phát được xác định trực tiếp từ đặc trưng phổ laser, thông qua sự phụ thuộc của cường độ các mode laser vào năng lượng xung kích thích.



Hình 1.8. Các mode laser của vi cầu xuất hiện trên nền của phổ phát xạ tự phát khi được kích thích bởi các xung laser có năng lượng phù hợp.

Hiện nay có hai phương pháp cho giá trị ngưỡng phát tương đương được sử dụng để xác định giá trị ngưỡng phát:

Phương pháp 1: Thông qua sự thay đổi cường độ phổ của mode cực đại khi thay đổi năng lượng xung kích thích (Hình 1.9a). Sự thay đổi này được biểu diễn có dạng hàm số tuyến tính, từ đó xác định được điểm giao cắt với trục giá trị năng lượng xung kích thích chính là giá trị ngưỡng phát laser.



Hình 1.9. a) Xác định ngưỡng phát sử dụng sự thay đổi của cường độ phổ ứng với mode laser cực đại. b) Xác định ngưỡng phát thông qua tính tích phân cường độ phổ phát xạ laser.

Phương pháp 2: Thông qua phép tích tích phân cường độ toàn bộ các mode laser ở vùng bước sóng có sự xuất hiện của chúng khi thay đổi năng lượng kích thích (Hình 1.9b). Ở vùng năng lượng xung kích thích chưa quan sát thấy sự xuất hiện các mode laser, cường độ phổ gia tăng như một hàm số dạng tuyến tính của năng lượng xung kích thích với hệ số góc nhỏ. Ở vùng năng lượng xung kích thích quan sát thấy sự xuất hiện các mode laser, quan hệ tuyến tính này được quan sát với hệ số góc lớn hơn. Điểm giao cắt đường biểu diễn hai hàm số này được xác nhận như ngưỡng phát của laser.

Các công trình nghiên cứu về laser vi cầu dựa trên vật liệu có nguồn gốc sinh học hiện nay công bố mức ngưỡng phát ở vùng $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ tới mJ/mm^2 [77, 81, 94].

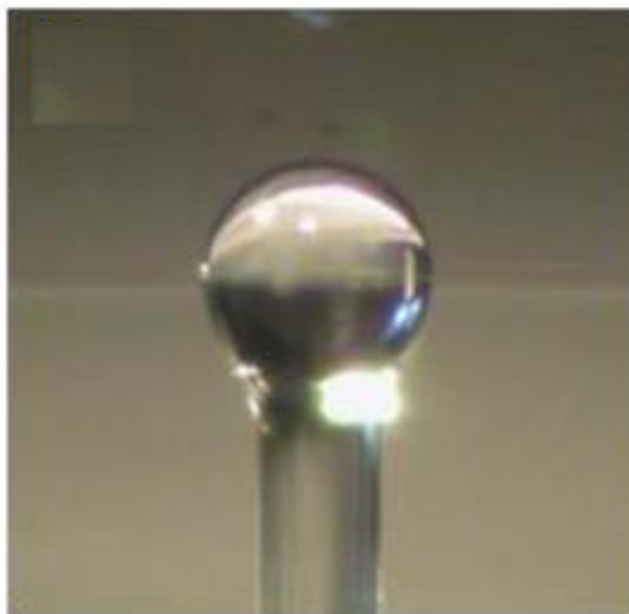
1.2. Tổng quan về laser vi cầu và laser vi cầu sinh học

Hiện nay nghiên cứu laser vi cầu đã và đang phát triển mạnh mẽ trên nhiều định hướng: từ nghiên cứu vật liệu, phát triển các phương pháp chế tạo mới, đa dạng hóa cấu trúc tới triển khai ứng dụng thực tế [24, 32, 84, 97]. Có thể phân chia tổng quan hướng nghiên cứu laser vi cầu hiện nay vào các hai nhóm nhóm như sau [84, 97]: (1) Laser vi cầu dạng rắn được chế tạo từ các loại vật liệu thủy tinh và các chất bán dẫn và (2) Laser vi cầu mềm. Trong đó laser vi cầu mềm được phân chia thành ba nhóm nhỏ hơn là: Laser vi cầu dạng giọt lỏng sử dụng các dung môi pha hoạt chất màu, laser vi cầu được chế tạo từ các loại polymer, và laser vi cầu sinh học (sử dụng vật liệu có nguồn gốc sinh học). Mỗi một nhóm laser vi cầu lại có các phương pháp chế tạo, đặc tính và khả năng ứng dụng riêng. Trong đó laser vi cầu sinh học có các đặc tính riêng về khả năng tương thích sinh học và tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực y sinh học [12, 84]. Một số nghiên cứu trọng tâm về các nhóm laser này cụ thể như sau:

1.2.1. Laser vi cầu rắn

Đây là nhóm laser vi cầu được nghiên cứu sớm nhất, sử dụng các vật liệu truyền thống là thủy tinh và chất bán dẫn được pha tạp thêm hoặc bọc ngoài bởi các ion đất hiếm hay các chấm lượng tử phát quang (QTDs) [29, 97]. Chúng được chế tạo bởi

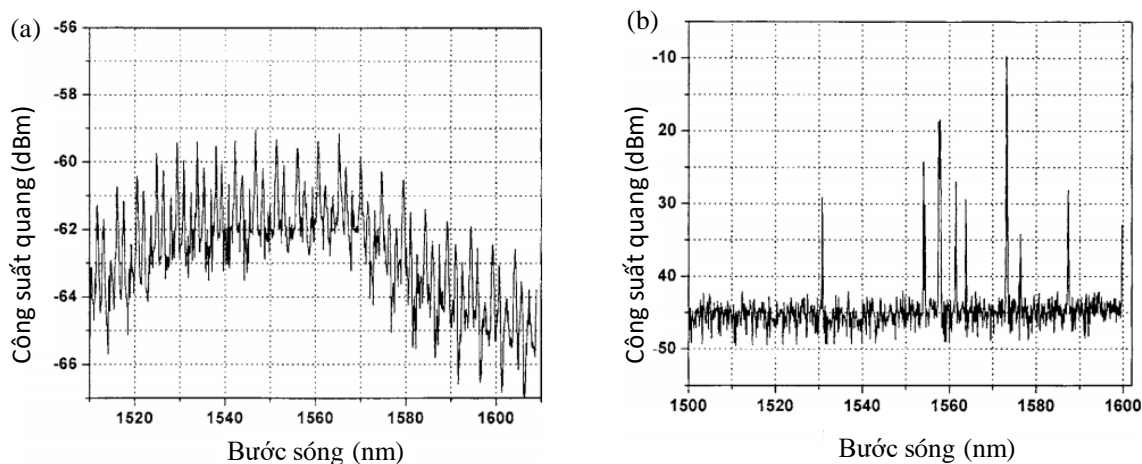
nhiều phương pháp khác nhau phù hợp với vật liệu sử dụng như: nóng chảy, phương pháp Sol-gel hay kỹ thuật quang khắc ăn mòn [97].



Hình 1.10. Ảnh hiển vi quang học của một laser vi cầu rắn vật liệu thủy tinh được nung nóng chảy từ sợi quang có kích thước khoảng $250\ \mu\text{m}$ [73].

Các nghiên cứu ban đầu sử dụng phương pháp làm nóng chảy dần bột thủy tinh hoặc sợi quang dẫn tới thu được cấu trúc vi cầu do tác dụng của sức căng bề mặt ngoài [97]. Để tăng chất lượng bề mặt laser vi cầu thủy tinh, các kỹ thuật đánh bóng khác nhau có thể được áp dụng bổ sung. Nhìn chung có nhiều phương pháp nấu chảy thủy tinh khác nhau, ví dụ: tiến hành nhỏ giọt thủy tinh nóng chảy vào một đĩa quay trong chén nung hoặc một lò nung [58], nấu chảy bằng nhiệt từ chùm tia laser [40, 41], làm nóng chảy bằng năng lượng sóng vi ba [54] hay làm nóng chảy sử dụng hồ quang điện [7]. Tuy nhiên kích thước của các vi cầu được chế tạo bằng các kỹ thuật này tương đối lớn và khó kiểm soát. Một nghiên cứu được chú ý là phương pháp nấu chảy cải tiến sử dụng nóng chảy trực tiếp các sợi quang kết hợp các máy nối sợi [73] để chế tạo các vi cầu (Hình 1.10). Khi làm nóng chảy sợi quang, thông qua kích thước ban đầu các sợi quang và quá trình điều khiển năng lượng điện trường dẫn tới làm

nóng chảy cục bộ phần đầu sợi quang hình thành các cấu trúc vi cầu với kích thước khác nhau có thể điều khiển [65,93].



Hình 1.11. Phổ phát xạ của của laser vi cầu 110 μm (thủy tinh nhôm ô xít pha tạp Er^{3+}) ở năng lượng xung bơm 1,5 mW và 70 mW [33].

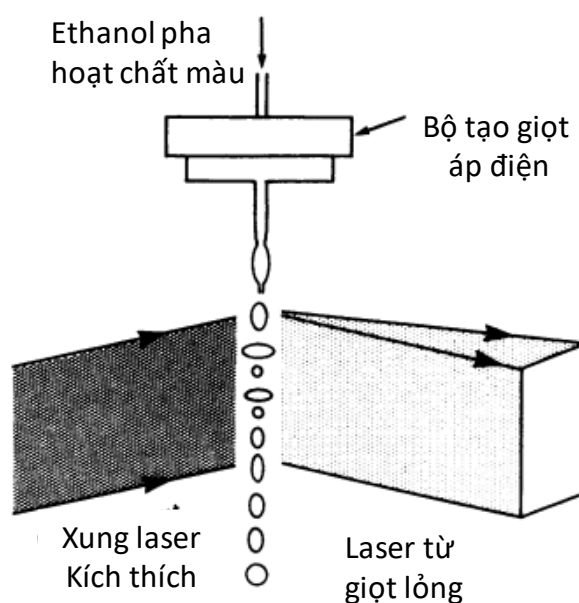
Bên cạnh các phương pháp nóng chảy một hướng tiếp cận khác để chế tạo laser vi cầu rắn là sử dụng quá trình hóa học Sol-gel [65]. Đây là một phương pháp để tổng hợp các cấu trúc thông qua phản ứng hóa học ứng dụng chế tạo các vi cầu ở kích thước micromét. Trong phương pháp này các khối cấu trúc vi cầu được hình thành dần do sự kết tụ của các phân tử vật chất cho phép thực hiện các tùy chỉnh và điều khiển kích thước. Đây là một phương pháp linh hoạt và tương đối rẻ được sự quan tâm chú ý của nhiều nhóm nghiên cứu khác nhau, có thể sử dụng kết hợp với các phương pháp khác như nóng chảy hay thực hiện pha tạp hoạt chất laser phù hợp [97]. Năm 2006, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Phạm Văn Hội tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã sử dụng phương pháp này để chế tạo thành công các vi cầu rắn từ vật liệu thủy tinh pha tạp ion đất hiếm Er^{3+} với kích thước trong dải 40 tới 200 μm (với lớp phủ Er^{3+} pha tạp thủy tinh nhôm oxit dày 1,5-2 μm) [33]. Nhóm tác giả sử dụng nguồn kích thích là laser diode đơn mode với bước sóng 976 nm và công suất đầu ra cực đại 170 mW, laser vi cầu được kết nối với laser bơm thông qua sợi quang. Các kết quả cho thấy laser vi cầu thu được theo cơ chế WGM laser.

Hiện nay nhiều kỹ thuật và quy trình công nghệ khác nhau đã và đang được sử dụng để cải thiện chất lượng laser vi cầu rắn như sử dụng phương pháp lắng đọng áp suất thấp, thiết bị bay hơi bằng chùm điện tử [6]. Nhìn chung các kỹ thuật chế tạo laser vi cầu rắn cũng như quá trình điều khiển kích thước của chúng tương đối phức tạp, cần sử dụng hệ thiết bị công nghệ có chi phí cao.

1.2.2. Laser vi cầu mềm

1.2.2.1. Laser vi cầu lỏng

Laser vi cầu dạng lỏng hiện nay thu hút được sự quan tâm chú ý của nhiều nhóm nghiên cứu khác nhau do tính linh hoạt và khả năng ứng dụng và tương thích với nhiều hệ thống quang tử và y sinh học [48, 91].

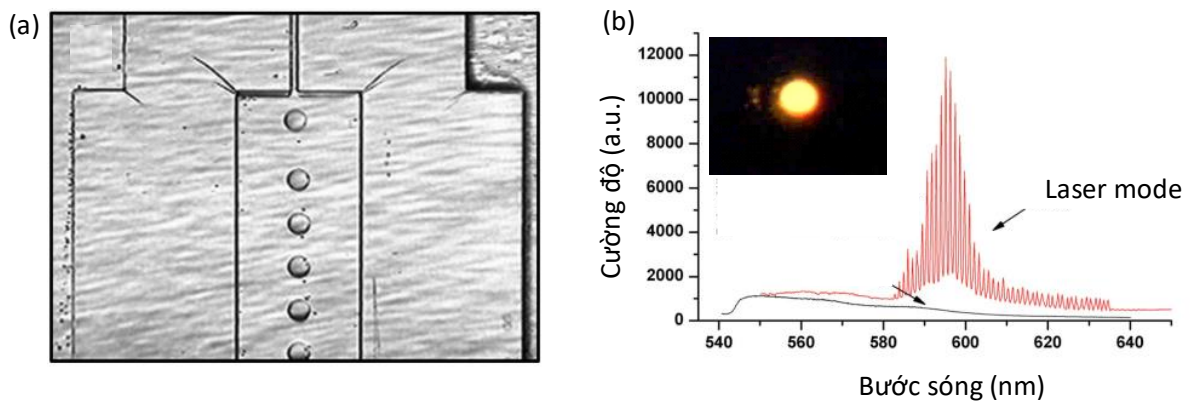


Hình 1.12. Minh họa sơ đồ thực nghiệm chế tạo và khảo sát đặc trưng của laser giọt lỏng [60].

Trong cấu hình này hoạt chất laser được pha cùng các dung môi và chúng được cấu hình để tồn tại ở dạng giọt lỏng [91]. Hướng nghiên cứu này được đề xuất năm 1984 bởi tác giả R.K.Chang cùng cộng sự [60]. Nhóm tác giả sử dụng Etanol pha hoạt chất màu hữu cơ Rhodamine 590 hoặc Rhodamine 640. Thông qua thiết bị

rung tạo giọt để thu được các giọt lỏng như Hình 1.12 với kích thước trong khoảng 20 đến 40 μm . Khi kích thích bởi laser xung 532 nm có thể thu được phổ phát xạ laser hoạt động theo cơ chế WGM.

Một nghiên cứu đáng chú ý khác chế tạo laser dạng giọt lỏng với thành phần gồm 70% nước, khoảng 30% Glycerine và hoạt chất laser là các chấm lượng tử có cấu trúc lõi - vỏ từ vật liệu CdSe/ZnS [69]. Nhóm tác giả sử dụng điện trường xoay chiều trong hệ thống bẫy giọt để cân bằng trọng lực và cố định vị trí của chúng, dải kích thước của các giọt thu được có thể thay đổi trong khoảng từ 10 đến 50 μm . Từ phổ laser thu được hệ số phẩm chất của laser vi cầu được tính toán khoảng $6,5 \times 10^3$.



Hình 1.13. a) Cấu hình hệ kênh dẫn vi lưu chế tạo laser giọt lỏng, b) Phổ của laser giọt lỏng đường kính khoảng 50 μm [86].

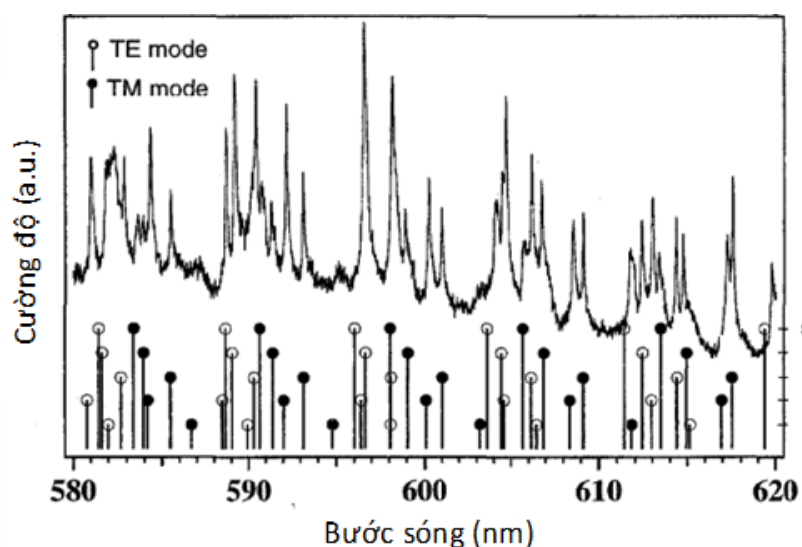
Để điều khiển kích thước và tạo ra các laser vi cầu giọt lỏng đồng nhất, công nghệ kênh dẫn vi lưu đã được nhiều nhóm nghiên cứu áp dụng. Năm 2007 ý tưởng này đã được đề xuất bởi nhóm của tác giả Kennedy [86]. Trong nghiên cứu này tác giả sử dụng thiết kế kênh dẫn vi lưu dạng chữ T để tạo ra tạo ra vùng giao cắt từ đó hình thành các giọt lỏng. Pha lỏng rời rạc bao gồm hỗn hợp nước và Glycerol (70% nước và 30 % Glycerol), pha lỏng liên tục là dầu. Pha lỏng liên tục sẽ chuyển động trong một kênh dẫn tới gặp pha lỏng rời rạc và tách dòng chất lỏng này thành các giọt riêng biệt. Từ đó nhóm tác giả đã thu được các giọt lỏng với đường kính khoảng 50 μm (Hình 1.13). Hiện nay nhiều nghiên cứu khác về laser vi cầu lỏng đang tiếp tục được triển khai [27, 44, 75].

Nhìn chung, các kết quả cho thấy laser vi cầu lỏng có tính linh hoạt cao phù hợp với nhiều ứng dụng [48, 91] tuy nhiên chúng có hạn chế về độ bền, khả năng bảo quản và thời gian sống [84].

1.2.2.2. Laser vi cầu polymer

Laser vi cầu polymer được cấu thành dựa trên các vật liệu polymer (làm buồng cộng hưởng) pha hoạt chất màu [84, 97] với nhiều phương pháp chế tạo và điều khiển kích thước khác nhau.

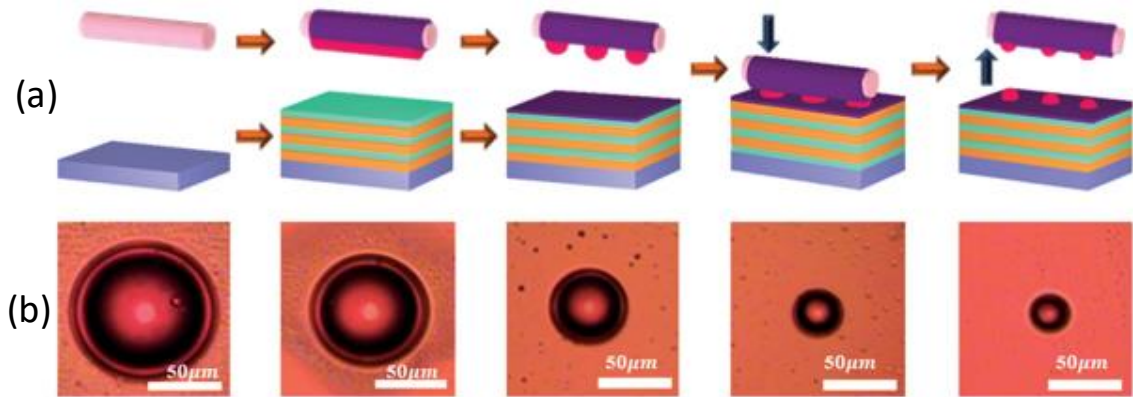
Hướng nghiên cứu này được đề xuất bởi nhóm của tác giả Makoto vào năm 1998 [43]. Nhóm tác giả đã sử dụng vật liệu polystyrene (PS) pha hoạt chất màu Nile-red để chế tạo laser vi cầu bằng cách nhúng các vi cầu PS trong dung dịch chất màu (kích thước 2-20 μm). Nghiên cứu các vi cầu ở kích thước 10 μm cho thấy đặc trưng laser theo cơ chế WGM mode với các mode TM, TE trùng khớp theo lý thuyết (Hình 1.14) và hệ số phẩm chất đạt tới $10^3 - 10^4$.



Hình 1.14. Vị trí các mode TE, TM trong phổ phát xạ của laser vi cầu mềm (kích thước 10 μm) vật liệu PS pha hoạt chất màu [16].

Cấu trúc laser một phần vi cầu (laser bán cầu) từ các vật liệu polymer cũng được nghiên cứu và phát triển thành công bởi nhóm của tác giả H. D. Sun [51]. Trong nghiên cứu này nhóm tác giả đã sử dụng nhựa Epoxy pha hoạt chất Rhodamine 6G

(R6G) để chế tạo laser bán cầu. Nhóm tác giả đã thu được các cấu trúc bán cầu có đường kính trong khoảng từ 5 đến 120 μm , với hệ số phẩm chất laser đạt tới 8000.

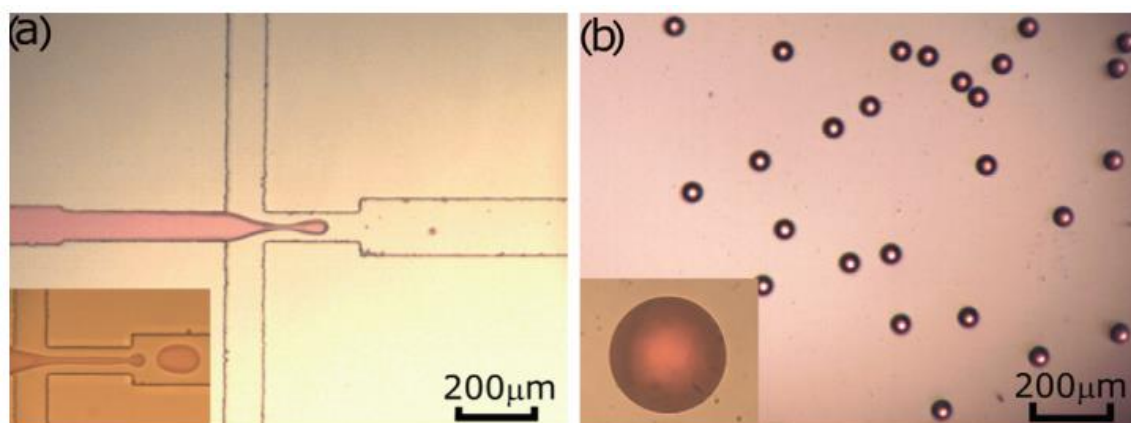


Hình 1.15. a) Minh họa quá trình chế tạo laser bán cầu, b) Ảnh hiển vi quang học của các laser bán cầu kích thước khác nhau [51].

Để điều khiển kích thước của laser vi cầu dạng này, một số giải pháp hiện nay đã được công bố bao gồm kỹ thuật in nhỏ giọt [78] hoặc sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu [46]. Trong đó hệ thống các kênh dẫn vi lưu là một trong các giải pháp hiệu quả cao. Tính tới thời điểm hiện tại, hệ thống kênh dẫn vi lưu đã qua quá trình hơn bốn thập kỷ hình thành và phát triển, đi cùng với sự tiến bộ của các công nghệ chế tác: từ đơn giản tới phức tạp [3, 8, 21, 36, 38, 61, 67, 95, 98] với khả năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, phù hợp cho nghiên cứu các đối tượng kích thước cỡ micro mét.

Sử dụng kênh hệ thống dẫn vi lưu, tác giả H. Li cùng nhóm nghiên cứu đã chế tạo thành công laser vi cầu mềm từ vật liệu NOA 81 pha tạp chất màu Rhodamine 6G (R6G) vào năm 2010 [78]. Kênh dẫn chứa hỗn hợp dung dịch R6G pha tạp NOA 81 có kích thước rộng 80 μm , hai kênh dẫn chứa dầu khoáng có kích độ rộng 100 μm (Kênh dẫn được chế tạo trên vật liệu PDMS). Cả hệ thống kênh được thiết kế có độ sâu 50 μm . Tại điểm giao cắt của hệ thống kênh (Hình 1.16a), dưới tác dụng của dòng chất lỏng dầu khoáng, các giọt NOA 81 pha tạp R6G sẽ được tạo ra với kích thước khác nhau tùy thuộc vào việc điều khiển tốc độ hai pha chất lỏng. Tại đầu ra, đèn cực tím (UV) được sử dụng để polymer hóa làm đóng rắn các giọt lỏng định hình nên cấu

trúc vi cầu. Nhóm tác giả đã chế tạo được các laser vi cầu có kích thước tương đối đồng đều (Hình 1.16b). Khi khảo sát đặc tính của laser, ở kích thước 73,8 μm , ngưỡng phát xạ laser khoảng 16 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$.



Hình 1.16. Chế tạo laser vi cầu từ vật liệu NOA 81 pha hoạt chất màu R6G sử dụng hệ thống kênh dẫn vi lưu [78].

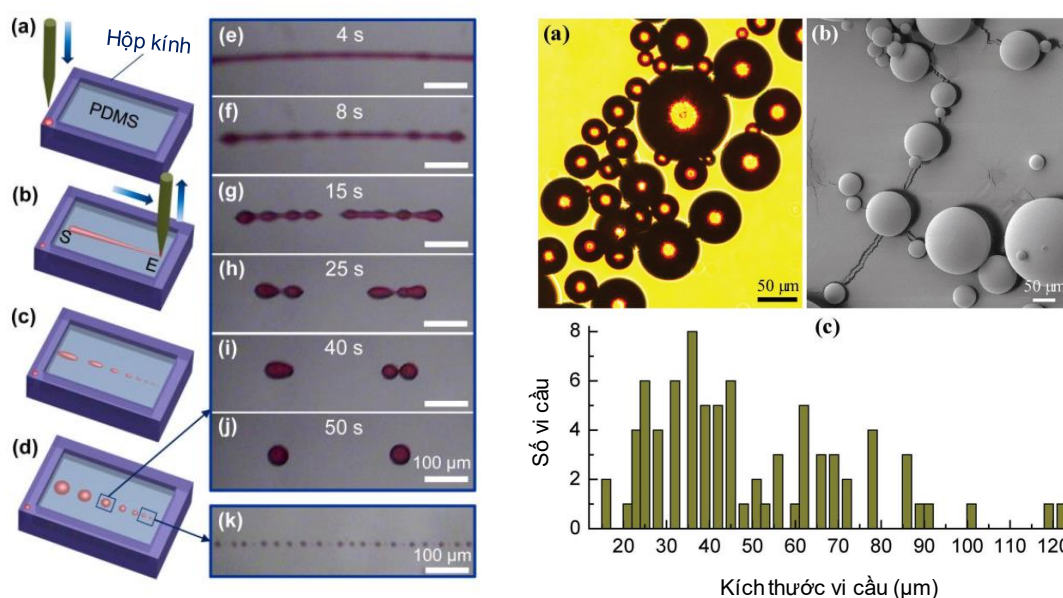
1.2.2.3. Laser vi cầu sinh học

Laser vi cầu sinh học được chế tạo từ các vật liệu có nguồn gốc sinh học. Hướng nghiên cứu này lần đầu tiên được đề xuất vào năm 1971 bởi nhóm của tác giả Hänsch [31]. Tác giả sử dụng protein Gelatin pha hoạt chất màu Rhodamin B để tạo các giọt lỏng và sau đó kích hoạt bằng các xung laser Nitơ. Cho tới hiện nay một số vật liệu sinh học đã được sử dụng để chế tạo laser vi cầu bao gồm: Các loại protein (Bovine serum albumin, Ovalbumin), cellulose, pectin, các loại tinh bột, tơ tằm, curcumin,...[81, 88, 94]. Tùy vào loại vật liệu sinh học mà hiện nay một số phương pháp được áp dụng để chế tạo laser vi cầu bao gồm: (1) Phương pháp khử nước trong Polydimethylsiloxane (PDMS), (2) Phương pháp đông lạnh, (3) Phương pháp bay hơi chậm dung môi.

a) Phương pháp khử nước trong PDMS

Phương pháp này đã được sử dụng để chế tạo laser vi cầu từ các vật liệu là protein Bovine serum albumin, Pectin và Cellulose [81]. Nguyên lý của phương pháp là dựa trên hiệu ứng nhũ tương kết hợp cùng sự khuếch tán và bay hơi dần của nước

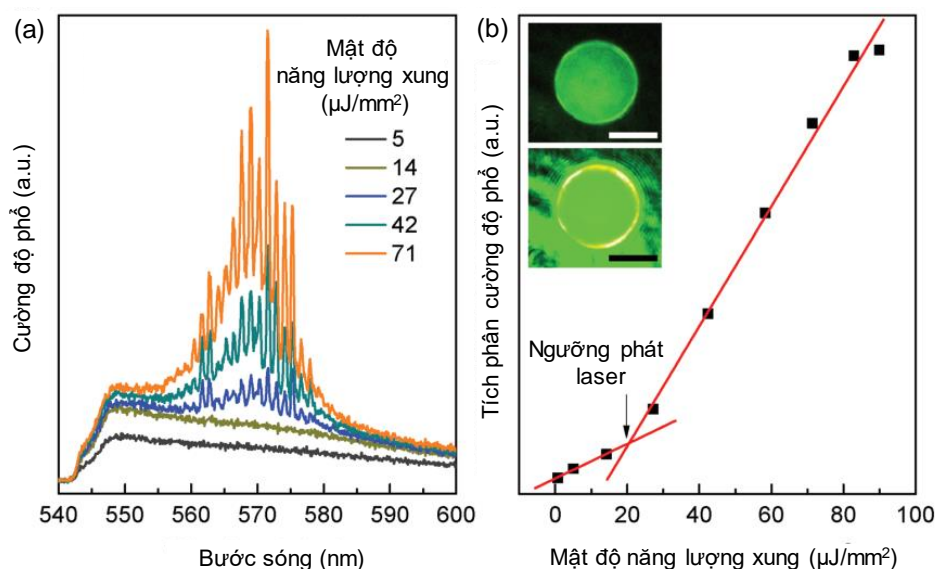
ra khỏi giọt lỏng chứa hỗn hợp hoạt chất màu RhB pha tạp cùng các vật liệu có nguồn gốc sinh học. Thời gian hoàn thành quá trình khử nước khoảng 6 phút, ở nhiệt độ 100 °C. Sau khi các vi cầu rắn chứa vật liệu có nguồn gốc sinh học pha tạp chất màu được hình thành, chúng được lọc rửa sử dụng dung môi Etyl acetat. Đặc trưng WGM laser từ các vi cầu đã chế tạo được quan sát khi kích thích bởi laser xung Nd: YAG, với bước sóng 532 nm và độ rộng xung 400 ps. Năng lượng xung được điều khiển bởi một bộ điều biến quang học, tần số được sử dụng là 1 Hz, chùm laser hội tụ với đường kính khoảng 165 μm . Sự phát xạ laser từ mẫu đã được thu thập thông qua một vật kính và được chuyển đến một máy quang phổ để ghi phổ (độ phân giải phổ là $\approx 0,2$ nm).



Hình 1.17. Chế tạo laser sinh học cấu trúc vi cầu từ protein BSA sử dụng phương pháp khử nước trong PDMS và hình ảnh các vi cầu dưới kính hiển vi quang học, kính hiển vi điện tử quét và phân bố kích thước của chúng [79, 81].

Kết quả nghiên cứu chỉ ra, các vi cầu có kích thước nằm trong khoảng từ 15 tới 120 μm , số lượng các vi cầu trong khoảng từ 25 tới 50 μm chiếm tỷ trọng lớn hơn so với số còn lại (Hình 1.17). Đây là phương pháp tương đối đơn giản và hiệu quả cao, có thể sử dụng cho nhiều vật liệu có nguồn gốc sinh học khác nhau. Ngoài protein BSA, tác giả cũng chứng minh tính khả thi với các vật liệu có nguồn gốc sinh học khác là Pectin và Cellulose. Kết quả khảo sát các đặc trưng laser cho thấy, ngưỡng

phát laser với quả cầu kích thước khoảng $40\ \mu\text{m}$ làm từ vật liệu BSA pha RhB ở mức $20\ \mu\text{J}/\text{mm}^2$. Tuy nhiên phương này chưa thể điều khiển được kích thước mong muốn của các vi cầu, chưa tạo ra được các vi cầu có kích thước và tính chất tương đương nhau.

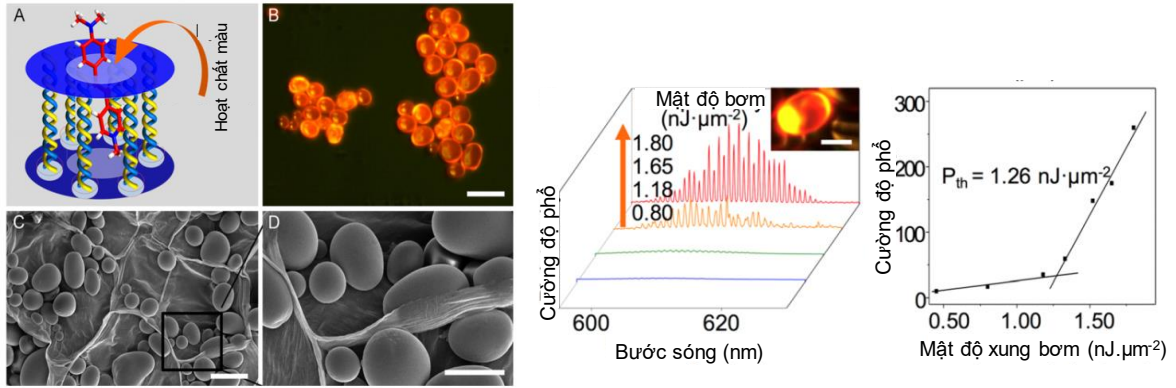


Hình 1.18. Phổ phát quang laser và ngưỡng phát của laser vi cầu sinh học vi cầu làm từ vật liệu protein BSA [81].

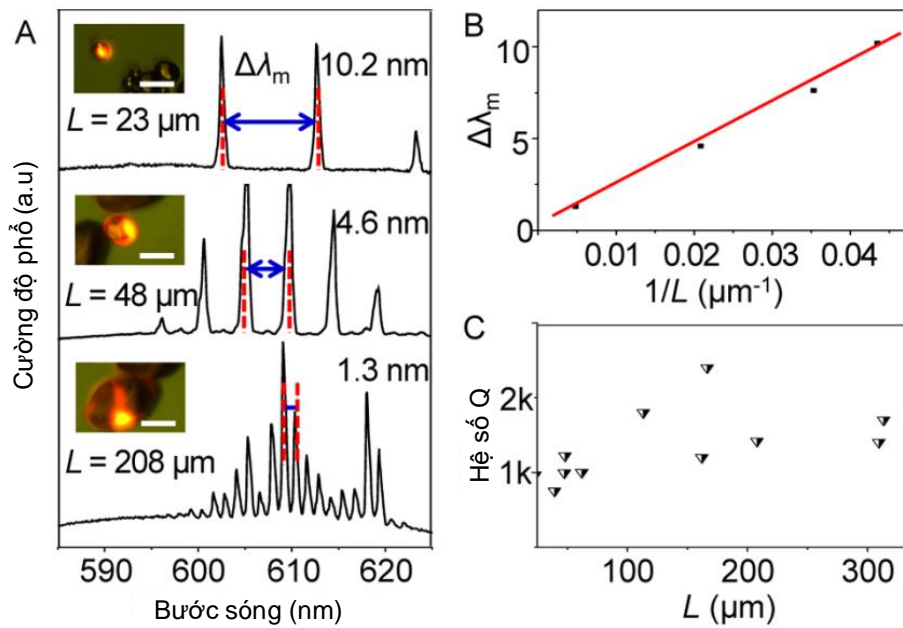
b) Phương pháp đông lạnh

Tác giả Yanhui Wei đã chế tạo laser sinh học (tồn tại cả dạng hạt, dạng vi cầu) sử dụng phương pháp đông lạnh [94]. Nhóm tác giả sử dụng đặc tính tự nhiên của tinh bột khoai tây, có hình dạng các hạt nhỏ, khi pha tạp hoạt chất màu là 4-[p-(dimethylamino)styryl]-1-methylpyridinium (DASPI) đã hoạt động như các nguồn laser hiệu quả. Từ củ khoai tây tự nhiên, nhóm tác giả cắt lát thành từng miếng và cho vào nước tinh khiết rồi lãc mạnh. Hạt khoai tây to được tác giả lọc tách bằng rây vi xốp kích thước nhỏ ($d = 100\ \mu\text{m}$). Các hạt khoai tây sau đó được tinh chế thêm thông qua ly tâm (4000 vòng/phút trong 5 phút) ba lần bằng nước tinh khiết. Cuối cùng, các hạt khoai tây được thu thập và làm khô tự nhiên trong không khí. Sau đó 10 mg hạt tinh bột được ngâm trong 5 mL dung dịch nước bão hòa DASPI ở nhiệt độ môi trường trong 24 giờ, để hoạt chất màu thấm vào và liên kết với cấu trúc của tinh

bột. Tiếp theo các hạt được lọc bỏ, rửa sạch bằng nước tinh khiết, làm khô tự nhiên và khảo sát các đặc tính laser. Nhóm tác giả đã sử dụng phương pháp đông lạnh chậm trong chân không cao và ở nhiệt độ thấp khoảng $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 12 giờ.



Hình 1.19. Các vi laser sinh học chế tạo từ tinh bột khoai tây [94].



Hình 1.20. Đặc trưng khoảng phổ tự do phụ thuộc kích thước laser và hệ số phẩm chất của laser sinh học từ tinh bột khoai tây [94].

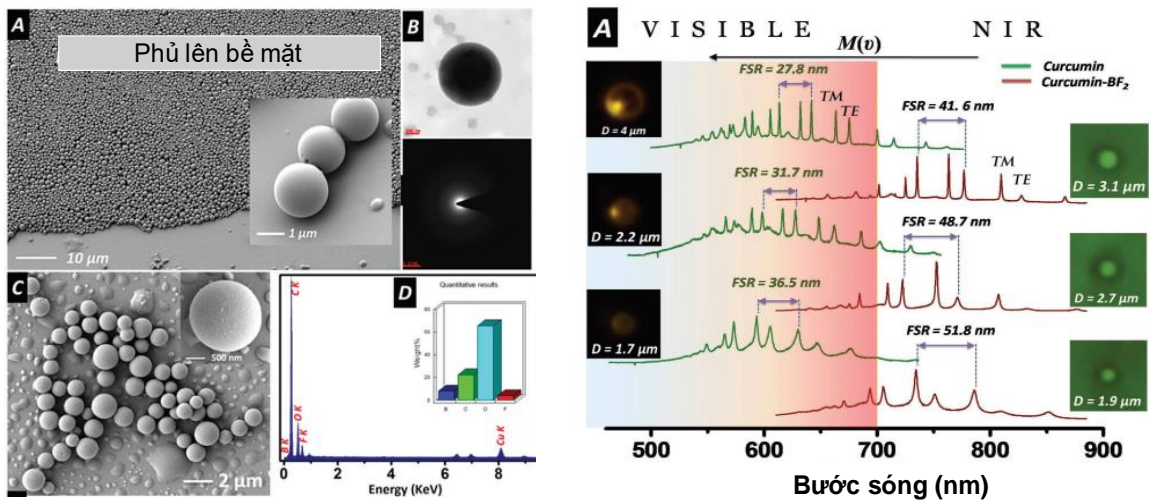
Nghiên cứu về hình thái của các hạt tinh bột khoai tây được sử dụng bằng kính hiển vi điện tử quét (NOVA Nano SEM 430). Để khảo sát đặc tính laser của các hạt, chúng được đặt trên đế silica, sau đó được kích thích cục bộ bằng tia laser Ti: Sapphire

(400 nm, ~200 fs, tần số 1 kHz), chùm laser hội tụ xuống một vùng có đường kính khoảng 12 μm . Mật độ năng lượng kích thích có thể điều khiển thay đổi. Sau đó ánh sáng thu thập được kết hợp với một cách tử quang phổ kế (Acton SP-2358, Princeton Instruments) và ghi lại với một CCD làm mát bằng điện bằng nhiệt (ProEm: 1600B, Princeton). Kết quả công bố của nhóm tác giả cho thấy dải kích thước thu được của các hạt tinh bột khoai tây tự nhiên từ 50 tới 300 μm , ngưỡng phát laser thu được ở mức $\text{nJ}/\mu\text{m}^2$ (mJ/mm^2). Phân tích từ phổ laser thu được của các hạt, các kết quả về khoảng phổ tự do cho thấy sự phụ thuộc có dạng hàm tuyến tính so với kích thước và các vị trí mode cho thấy sự phù hợp với lý thuyết về WGM laser. Hệ số phẩm chất của mode laser theo thống kê đạt mức từ quanh 1000 tới hơn 2000.

Trong phương pháp chế tạo này cần thời gian tương đối dài, yêu cầu thực hiện mức nhiệt độ thấp và chân không cao. Nhóm tác giả cũng chưa đề xuất tính khả thi cho các loại vật có nguồn gốc sinh học khác. Ngoài ra do dựa trên đặc tính tự nhiên của tinh bột, các hạt thu được có kích thước và hình dạng không thể kiểm soát, khó khăn trong điều khiển các đặc tính laser cũng như triển khai các ứng dụng.

c) Phương pháp bay hơi chậm dung môi

Năm 2016 tác giả Dasari Venkatakrishnarao cùng cộng sự chế tạo các vi cầu từ vật liệu Cucurmin được tinh chiết từ củ nghệ dựa trên phương pháp làm bay hơi chậm dung môi [88]. Theo tác giả, một số các vi mảnh từ hỗn hợp Cucurmin và dung môi hòa tan được hình thành trên bề mặt một đế kỵ nước từ trạng thái dung dịch quá bão hòa. Sau đó lượng dung môi này bay hơi dần dần gây ra sự lắng đọng Cucurmin, co cụm dần và tự sắp xếp thành các hạt hình cầu do xu hướng giảm sức căng bề mặt của nó xuống mức đạt được năng lượng tối thiểu. Các kết quả từ phân tích ảnh chụp SEM của đám vi cầu cho thấy kích thước của các chúng có thể thu được trong dải từ 1 - 4 μm . Nghiên cứu đặc trưng quang học cho kết quả hệ số phẩm chất của chúng có thể đạt tới 1000.



Hình 1.21. Chế tạo vi cầu từ vật liệu Curcumin [88].

Thông qua các nghiên cứu trên có thể thấy tiềm năng phát triển các phương pháp chế tạo laser sinh học nói chung và laser sinh học vi cầu nói riêng. Mặt khác, một vấn đề trọng tâm chưa được giải quyết là bài toán điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học. Các các nghiên cứu hiện nay chưa chế tạo được các nguồn laser vi cầu có chất lượng và đặc tính phổ tương đương.

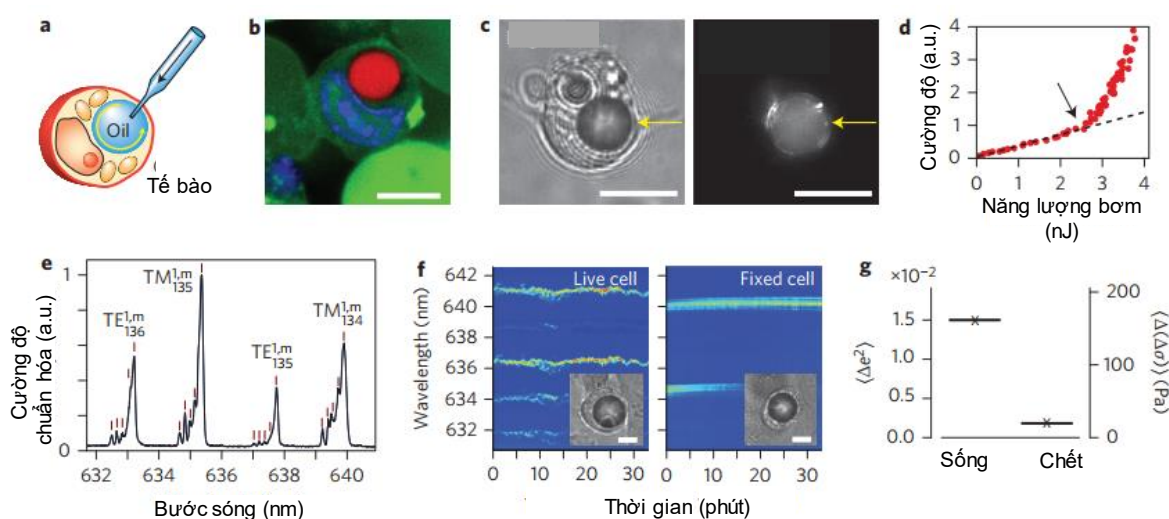
1.3. Ứng dụng laser vi cầu

Các laser vi cầu cấu trúc rắn hoặc mềm có thể ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, từ cảm biến cho tới các mạch quang tử tích hợp [12, 16, 19, 22, 27, 28, 44, 47, 66, 75, 91, 101]. Đối với laser vi cầu sinh học dựa trên ưu điểm về tính tương thích sinh học chúng còn có thể sử dụng trong lĩnh vực y sinh học [34, 70, 87]. Một số hướng ứng dụng trọng tâm có thể kể tới như: Theo dõi hoạt động các tế bào, các thay đổi môi trường bên trong tế bào hoặc cảm biến thông số môi trường và các đối tượng sinh học khác.

Đối với các ứng dụng ở cấp độ tế bào, hai công trình nghiên cứu tiêu biểu được dẫn chứng sau đây:

Năm 2015 tác giả Matjaž Humar cùng cộng sự trong công trình nghiên cứu của mình [34] báo cáo sự phát xạ laser trong các mẫu sinh học như mô và tế bào, mở ra

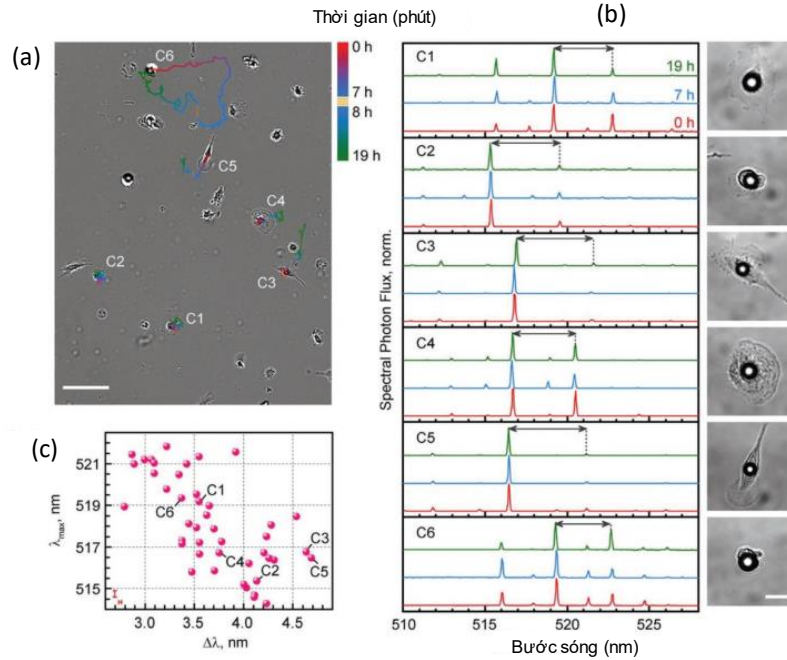
một giải pháp mới cho cảm biến sinh học nội bào, gắn thẻ tế bào và theo dõi tế bào. Hình 1.22a cho thấy laser bên trong tế bào sử dụng các giọt chất béo tự nhiên tồn tại trong tế bào mỡ. Hình 1.22b minh họa một giọt chất béo trong một tế bào mỡ (những giọt này tồn tại sẵn trong tế bào mỡ). Bằng cách pha tạp thêm hoạt chất màu vào các giọt chất béo bằng cách ủ rồi kích thích bằng tia laser xung cường độ thấp, các tế bào thể hiện đặc tính của WGM laser Hình 1.22c,d. Ngưỡng phát laser được tính toán vào khoảng 30 nJ (Hình 1.22d).



Hình 1.22. Cây laser vi cầu sinh học vào trong tế bào và mô sống [34].

Bên cạnh đó nhóm tác giả có thể tạo ra laser từ các tế bào mỡ tại chỗ dùng mô sống với ngưỡng bơm laser cao hơn (bởi vì các tế bào mỡ trong chất béo có hình dạng vi cầu (Hình 1.22f), do đó tổn hao quang học tương đối cao). Để giải quyết vấn đề này, các tác giả đã tiêm hỗn hợp collagenase và hoạt chất màu Nile vào lớp mỡ dưới da. Một sợi quang học đã được sử dụng để định hướng laser xung để kích thích các tế bào mỡ và sự phát xạ được thu thập bởi một sợi quang khác (Hình 1.22g). Phổ phát xạ laser được biểu diễn trong Hình 1.22e xác nhận rằng có thể dễ dàng quan sát thấy laser từ tế bào mỡ trong các mô. Vì cấu trúc laser vi cầu dạng giọt lỏng rất nhạy cảm với môi trường xung quanh, chúng có thể được sử dụng cho mục đích cảm biến các thay đổi trong nội tế bào, với trường hợp này là sự xác định trạng thái tế bào hoạt động và trạng thái tế bào dừng hoạt động. Nghiên cứu này lần đầu tiên chứng minh tính

khả thi cho việc cấy laser vi cầu sinh học cho các ứng dụng phân tích sinh học và cảm biến sinh học ở cấp độ tế bào.

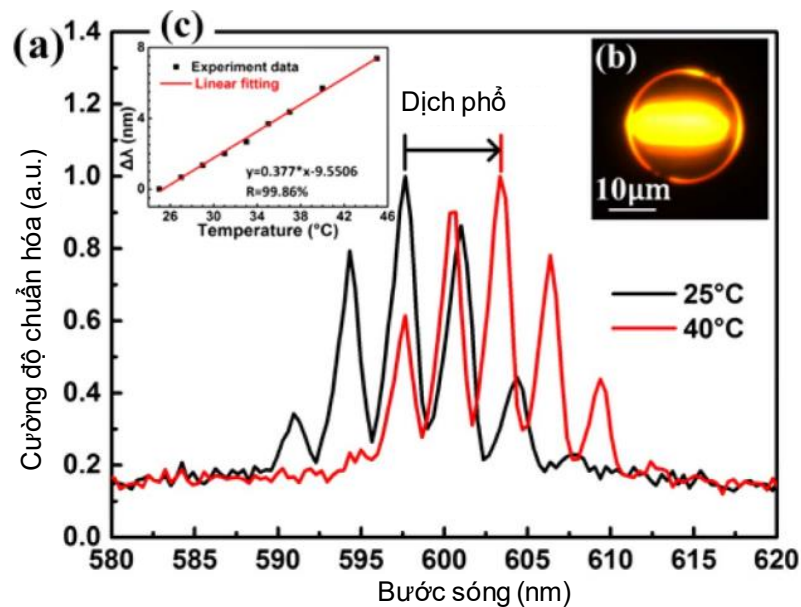


Hình 1.23. Ứng dụng laser vi cầu trong gắn mã vạch và theo vết tế bào [70].

Một công trình nghiên cứu khác về sử dụng laser vi cầu ứng dụng cho gắn thẻ và theo vết tế bào được tác giả Marcel Schubert cùng cộng sự thực hiện năm 2015 [70]. Trong công trình này tác giả đã sử dụng phổ của các laser vi cầu được cấy vào bên trong trong các loại tế bào khác nhau, từ đó gắn thẻ phân loại tế bào để xác định và theo dõi quá trình di chuyển riêng lẻ của chúng. Hình 1.23a cho thấy đường di chuyển của một nhóm tế bào. Nghiên cứu chứng tỏ có thể theo dõi được các tế bào liên tục trong 19 giờ. Phổ laser từ mỗi tế bào có các đặc điểm riêng biệt như vị trí bước sóng cộng hưởng cực đại, và khoảng cách giữa các mode laser (Hình 1.23b). Những đặc tính này có thể được sử dụng để phân biệt 41 tế bào riêng lẻ đáng tin cậy (Hình 1.23c). Các tác giả ước tính rằng khoảng 1800 các tế bào riêng lẻ có thể được theo dõi và xác định.

Đối với lĩnh vực theo dõi nhiệt độ môi trường và nhiệt độ các đối tượng sinh học. Hiện nay nhiều loại cảm biến nhiệt độ với nhiều nguyên lý hoạt động khác nhau đang được sử dụng. Một số loại tiêu biểu như cặp nhiệt điện, nhiệt điện trở, nhiệt kế

bức xạ,... với các dải nhiệt độ đo và tính chất đặc trưng phụ thuộc nhiệt độ khác nhau. Có hai vấn đề giới hạn khả năng sử dụng các cảm biến nhiệt độ truyền thống này trong nhiều ứng dụng y sinh là: 1) tính tương thích sinh học; 2) dải kích thước đủ nhỏ để có thể tích hợp lên mẫu sinh học. Trong khi đó laser vi cầu sinh học nếu được nghiên cứu sử dụng có thể khắc phục các hạn chế ở trên. Khi đưa vào môi trường cần đo, nhiệt độ môi trường thay đổi, có thể dẫn tới sự thay đổi tương ứng và có tính lặp lại cao đối với các đặc trưng của laser. Có hai thay đổi mang thông tin về nhiệt độ có thể ứng dụng cho cảm biến dạng này là: Thay đổi về cường độ mode laser và thay đổi (dịch chuyển) bước sóng phát laser. Bên cạnh đó, các laser vi cầu sinh học có kích thước chỉ từ vài micro mét cho tới vài trăm micro mét, đây là một ưu điểm đáp ứng được khả năng sử dụng ở dải kích thước nhỏ. Để triển khai ứng dụng thực tế và hiệu quả trong các cảm biến, yêu cầu cần đặt ra là tính lặp lại và ổn định của phép đo các đặc trưng laser vi cầu sinh học. Để giải quyết được vấn đề này cần chế tạo được các nguồn laser có kích thước và các thông số đặc trưng tương đương.



Hình 1.24. Ứng dụng laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ [47].

Hiện nay, các ứng dụng trong lĩnh vực cảm biến nhiệt độ của laser vi cầu sinh học chưa có nghiên cứu được công bố. Tuy nhiên, cũng đã có các báo cáo tương tự về việc sử dụng laser vi cầu từ nhóm vật liệu khác cho cảm biến nhiệt độ. Năm 2016

nhóm nghiên cứu của tác giả Zhihai Liu [47] báo cáo về khả năng sử dụng laser vi cầu dạng giọt lỏng để sử dụng cho cảm biến nhiệt độ. Bằng việc sử dụng vật liệu hoạt chất là (2-[2-[4-(dimethylamino) phenyl] ethenyl]-6-methyl-4H-pyran-4-ylidene) pha tạp trong giọt lỏng dầu, nhúng trong môi trường nước. Khi được kích thích bởi laser xung 532 nm, chúng hoạt động như các nguồn laser dựa trên cơ chế WGM. Thay đổi nhiệt độ hoạt động, nhóm tác giả quan sát thấy sự dịch phổ tương đối tuyến tính, với độ dịch lên tới 0,377 nm/ °C, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực cảm biến của laser vi cầu.

KẾT LUẬN CHƯƠNG I

Như vậy trong bức tranh tổng thể về hướng nghiên cứu laser vi cầu, laser vi cầu sinh học là một hướng nghiên cứu mới có nhiều tiềm năng phát triển. Hiện nay nhiều vật liệu sinh học và phương pháp chế tạo khác nhau đã được nghiên cứu và triển khai. Về vật liệu: từ protein cho tới tinh bột, xenlullose,...trên cơ sở các phương pháp như khử nước trong PDMS, bay hơi chậm dung môi hay phương pháp đông lạnh,...Một số kết quả bước đầu về chế tạo thành công laser vi cầu sinh học cũng đã được công bố. Bên cạnh đó các triển vọng ứng dụng thực tế như theo vết tế bào, cảm biến sự thay đổi thông số môi trường nội bào, gắn thẻ tế bào đã và đang được thực hiện.

Tuy đã đạt được một số thành tựu nhưng laser vi cầu sinh học vẫn còn tồn tại nhiều bài toán cần giải quyết như: (1) Phát triển các phương pháp chế tạo hiệu quả hơn, nhanh hơn, đơn giản hơn; (2) Nghiên cứu sử dụng các loại vật liệu sinh học tiên tiến khác nhau; (3) Nghiên cứu điều khiển kích thước của vi laser và thử nghiệm các ứng dụng. Đây là các vấn đề có tính cấp thiết, khoa học và có ý nghĩa thực tiễn cao.

Các nội dung tôi thực hiện trong luận án này hướng tới giải quyết một phần các vấn đề trên. Cụ thể, trong các chương tiếp theo tôi sẽ trình bày quá trình thực nghiệm để chế tạo thành công laser vi cầu sinh học bằng phương pháp khử nước từ dung dịch protein; quá trình chế tạo và điều khiển kích thước laser vi cầu sử dụng hệ thống các kênh dẫn vi lưu; các đặc trưng của laser vi cầu sinh học và ứng dụng của chúng trong cảm biến nhiệt độ.

CHƯƠNG 2: CHẾ TẠO LASER VI CẦU SINH HỌC

Trong chương này trình bày các quy trình chế tạo laser vi cầu sinh học. Trước tiên giới thiệu các vật liệu được sử dụng trong quy trình công nghệ; tiếp theo phân tích các công đoạn trong chế tạo laser vi cầu bằng phương pháp khử nước từ dung dịch protein; sau đó là các bước chế tạo các kênh dẫn vi lưu và ứng dụng chúng trong điều khiển kích thước laser vi cầu sinh học; cuối cùng là hệ các thiết bị nghiên cứu tính chất đặc trưng của laser vi cầu sinh học.

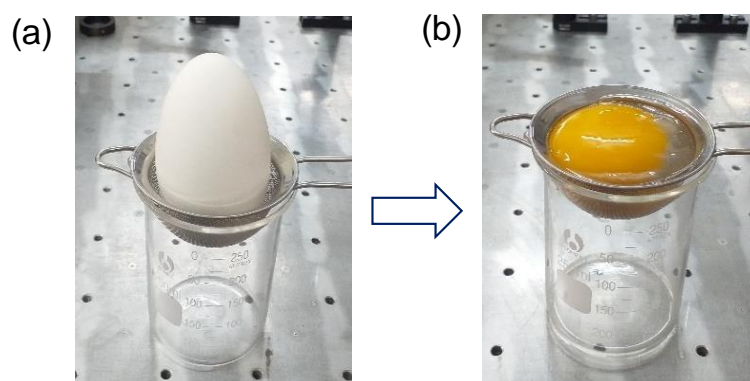
2.1. Các vật liệu sử dụng trong quy trình chế tạo laser vi cầu

2.1.1. Vật liệu chế tạo buồng cộng hưởng vi cầu

Hai vật liệu có nguồn gốc sinh học được sử dụng để chế tạo buồng cộng hưởng laser vi cầu là: Lòng trắng trứng ngỗng (LTTN) và protein BSA.

2.1.1.1. Lòng trắng trứng ngỗng

Dung dịch LTTN được lọc tách trực tiếp từ quả trứng ngỗng (loại bỏ phần lòng đỏ và vỏ bên ngoài) như Hình 2.1. Sau bước lọc tách này dung dịch được đựng trong các lọ thủy tinh bọc kín khí và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh (nhiệt độ từ 4-6 °C) cho các lần sử dụng chế tạo laser vi cầu khác nhau.



Hình 2.1. a) Quả trứng ngỗng, b) Lọc tách lòng trắng trứng ngỗng.

Thành phần hóa học của dung dịch lòng trắng trứng theo các nghiên cứu đã công bố bao gồm hỗn hợp một số loại protein và thành phần chất khác [42, 74]. Tỷ trọng

thành phần protein và các chất trong lòng trứng cũng như tính chất chịu ảnh hưởng của loại trứng, điều kiện chăn nuôi và đặc điểm vùng nuôi [68, 99, 100]. Thành phần cơ bản về khối lượng bao gồm khoảng 88% nước, protein (10 - 11%), và một số chất khác (khoảng 1- 2%). Trong các loại protein thì chiếm tỷ trọng lớn nhất là Ovalbumin (OVB) khoảng 54%, Ovotransferrin khoảng 12%, Ovomuroid khoảng 11%, Lysozyme khoảng 3,5%, Ovomucin khoảng 3,5% và một số loại protein với tỷ trọng nhỏ khác [74]. Lòng trắng trứng hiện nay có vai trò quan trọng trong đời sống con người như một các thực phẩm truyền thống thiết yếu và tốt cho sức khỏe [42].

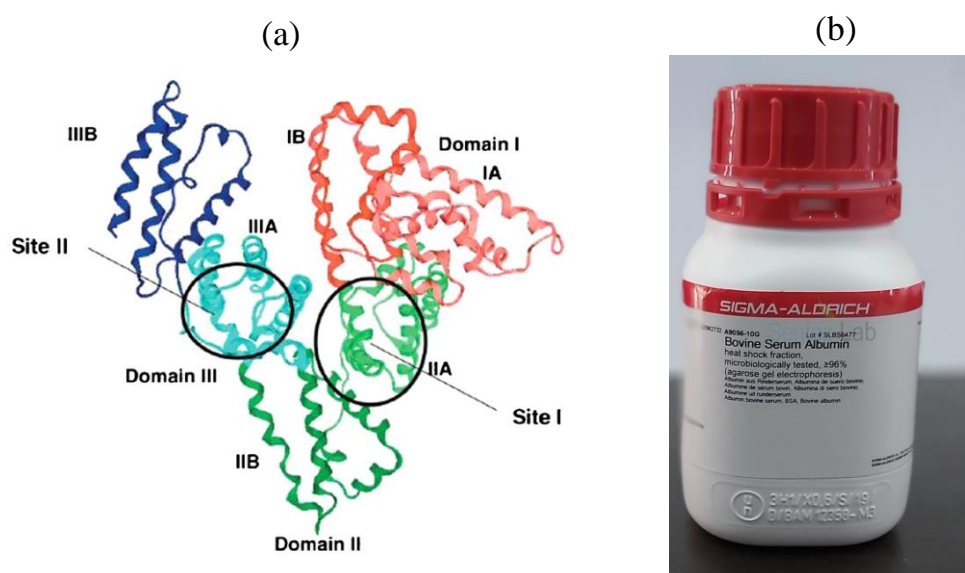
Đối với lĩnh vực quang học quang tử, thành phần protein chính trong lòng trứng (OBV) là vật liệu có nhiều tiềm năng sử dụng. OVB có khối lượng phân tử là 45 kDa với cấu trúc phân tử được tạo thành từ một tập hợp khoảng 386 axit amin. Kể từ lần đầu tiên được kết tinh vào năm 1890 cho tới nay OVB đóng vai trò là một protein mẫu trong nghiên cứu y sinh học [35, 74]. OVB hòa tan được trong nước tạo thành dung môi đồng nhất có thể tạo các liên kết tĩnh điện tốt với các hoạt chất màu laser thông dụng. Đối với tính chất quang trong vùng ánh sáng nhìn thấy (0,38 – 0,76 μm) OVB thể hiện khả năng truyền qua tốt với chiết suất khoảng 1,5-1,6 cao hơn so với một số protein khác [4, 26, 68] do đó có thể là lựa chọn phù hợp để chế tạo các buồng cộng hưởng laser vi cầu. Ngoài ra khi tồn tại trong dung dịch lòng trắng trứng thành phần OBV tự nhiên cùng tập hợp các protein khác ở một thể dung dịch đồng nhất, được bảo quản tốt kín khí bên trong lớp vỏ bảo vệ. Quá trình lọc tách dung dịch này ra khỏi hỗn hợp cùng thành phần lòng đỏ trứng có thể thực hiện được thông qua các phương pháp lọc cơ học thông thường.

Nhìn chung vật liệu protein từ lòng trắng trứng có ưu điểm là sẵn có, giá thành rẻ chỉ khoảng bằng 1/1000 lần so với protein chiết xuất, với tỷ trọng cao protein OBV là ứng viên tốt cho chế tạo laser vi cầu sinh học và phù hợp cho giai đoạn nghiên cứu thử nghiệm. Nhược điểm khi sử dụng vật liệu này là khó đo lường và phân tích chính xác các thành phần protein, các tạp chất khác có thể ảnh hưởng tới chất lượng của nguồn laser vi cầu chế tạo.

2.1.1.2. Protein chiết xuất Bovine serum albumin (BSA)

Cùng với việc sử dụng protein từ lòng trắng trứng, tôi lựa chọn sử dụng vật liệu protein đã được chiết xuất tinh khiết là BSA (Sigma - Aldrich, độ tinh khiết $\geq 98\%$, Hình 2.2b) để chế tạo laser vi cầu (được chiết xuất từ huyết tương bò).

Về đặc tính hóa học: BSA có khối lượng phân tử là 66,2 kDa, bao gồm một tập hợp khoảng 583 axit amin trong một chuỗi polypeptit duy nhất. Cấu trúc mô hình của BSA thu được từ phân tích trình tự axit amin của nó có hai gốc tryptophan (Trp) Trp-212 nằm trong khối liên kết kỵ nước ở miền phụ IIA và Trp-134 trên bề mặt của phân tử albumin trong miền I. Các vị trí liên kết phối tử chính của BSA nằm trong miền phụ IIA và IIIA, được gọi là các vị trí liên kết I và II (Hình 2.2a) [24].



Hình 2.2. a) Mô hình cấu trúc phân tử của BSA [92], b) BSA dạng tinh thể rắn thương mại cung cấp bởi hãng Sigma- Aldrich.

Đối với khả năng bảo quản và khả năng hòa tan trong nước: BSA có thể bảo quản ở trạng thái rắn trong thời gian dài, thể hiện khả năng hòa tan tốt nhất trong nước ở nhiệt độ 4 °C tạo thành dung dịch đồng nhất.

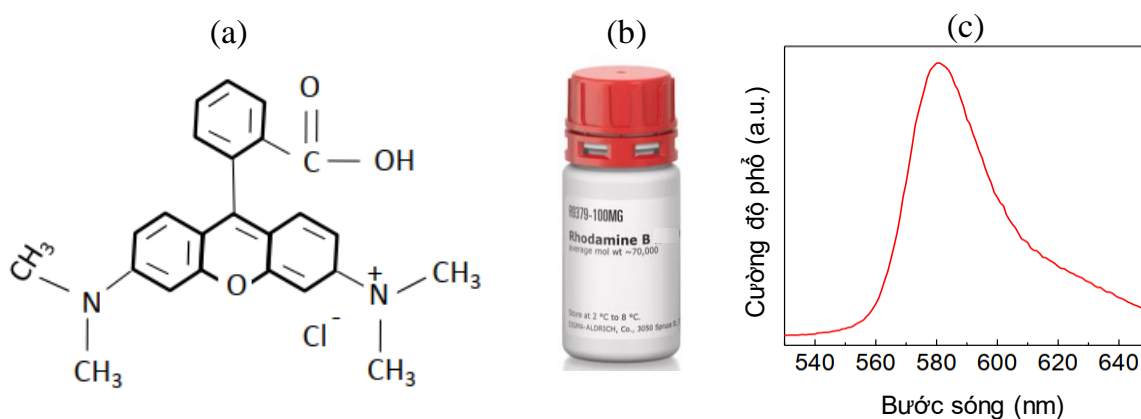
Về dược tính và tính tương thích sinh học: BSA được chứng minh là không độc và được dung nạp tốt bởi hệ thống miễn dịch của nhiều cơ thể động vật. Nhiều công

trình nghiên cứu chứng minh, BSA có thể liên kết chặt với nhiều dạng phân tử thuốc, và được sử dụng như một vật liệu truyền dẫn thuốc trong cơ thể [32].

Đối với tính chất quang học và khả năng kết hợp với các hoạt chất màu hữu cơ: BSA thể hiện khả năng truyền qua tốt ở vùng ánh sáng nhìn thấy, khả năng liên kết phân tử tốt với các hoạt chất laser hữu cơ thông dụng như RhB, R6G [24, 41, 58]. Gần đây trong lĩnh vực quang tử BSA đã được sử dụng để chế tạo các vi thấu kính có khả năng thay đổi kích thước vào năm 2012 [40], sau đó BSA cũng được nghiên cứu sử dụng trong vi laser sinh học dạng đĩa (pha hoạt chất màu RhB) [77] vào năm 2015. Năm 2017 vật liệu BSA được sử dụng lần đầu tiên để chế tạo laser vi cầu sinh học [81].

2.1.2. Vật liệu hoạt chất laser Rhodamine B (RhB)

Trong luận án này RhB (Sigma-Aldrich, độ tinh khiết $\geq 99\%$) được sử dụng đóng vai trò như hoạt chất màu laser.



Hình 2.3. a) Cấu trúc phân tử của RhB, b) Sản phẩm thương mại RhB, c) Phổ phát xạ của RhB (trong DCM).

Đây là một hợp chất hóa học có công thức là C₂₈H₃₁ClN₂O₃ (cấu trúc phân tử được minh họa như Hình 2.3a), còn được gọi với tên khác là thuốc nhuộm màu. RhB có khối lượng mol phân tử là 479,02 g/mol, khối lượng riêng 0,79 g/mL, khả năng hòa tan tốt trong nước. Sản phẩm thương mại RhB cung cấp bởi hãng Sigma -

Aldrich như Hình 2.3b. Đối với tính chất quang học: RhB là một chất phát quang với hiệu suất cao, phổ phát xạ của RhB trong Dichloromethane (DCM) ở vùng bước sóng từ 540 nm tới 650 nm (Hình 2.3c) [17], với cực đại phổ phát xạ quanh vùng 580 nm. Đối với laser vi cầu sinh học, RhB cũng là lựa chọn hiệu quả do RhB liên kết tốt thông qua liên kết tĩnh điện với nhiều nhóm vật liệu sinh học như protein BSA, Ovalbumin, tinh bột [9]. Các nghiên cứu về sử dụng RhB như hoạt chất cho laser công bố tỷ lệ phù hợp của RhB so với vật liệu chế tạo buồng cộng hưởng laser trong khoảng 1-2%. Tỷ lệ này đảm bảo sự cân đối giữa lượng hoạt chất, khả năng phát xạ cũng như giảm thiểu suy hao năng lượng do hấp thụ ánh sáng vào vật liệu.

2.1.3. Dung môi khử nước từ dung dịch protein

Để khử nước (hút nước) khỏi giọt dung dịch protein cần sử dụng dung môi với các yêu cầu: (1) có độ hòa tan (hấp thụ) nước tốt, (2) không hòa tan protein. Một số dung môi thông dụng hiện nay có thể đáp ứng yêu cầu trên như: Decanol, Pentanol, Octanol,...[1, 2, 64]. Trong luận án này 1-Decanol (Sigma-Aldrich, độ tinh khiết $\geq 98\%$) được sử dụng.

Đối với các tính chất đặc trưng của 1-Decanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OH}$) như sau:

- Dạng tồn tại ở nhiệt độ phòng: lỏng không màu;
- Khối lượng mol: 158,28 g/mol;
- Điểm sôi: 220 - 235 °C (áp suất khí quyển);
- Mật độ: 0,8 g/cm³ (20 °C);
- Nhiệt độ bắt lửa: 254 °C;
- Điểm nóng chảy: 5 - 7 °C;
- Áp suất hơi: < 0,1 hPa (20 °C);
- Độ hòa tan: 21,1 mg/l;
- Chiết suất: 1,437.

Vật liệu này được bảo quản trong các chai thủy tinh kín khí ở điều kiện nhiệt độ phòng.

2.1.4. Màn hình kỵ nước Teflon

Để tạo ra các bề mặt có đặc tính kỵ nước linh hoạt trong luận án tôi sử dụng màng Teflon thương mại như Hình 2.4. Đây là một loại màng vật liệu polymer thông dụng có tên khoa học là Tetra Fluoroethylene (PTFE) với công thức hóa học $[CF_2-CF_2]_n$. Vật liệu Teflon được biết đến lần đầu tiên năm 1938 bởi Roy J. Plunkett và được đưa ra thị trường thương mại lần đầu vào năm 1946. Hiện nay vật liệu này có ứng dụng rộng rãi trong đời sống, sản xuất công nghiệp cũng như nhiều lĩnh vực khoa học khác nhau. Ở dạng các màng mỏng chúng có bề mặt nhẵn bóng, không thấm ướt với với năng lượng bề mặt thấp [52]. Sản phẩm thường được cuộn với nhiều kích thước khổ rộng và chiều dày khác nhau (phù hợp với mục đích sử dụng). Trong quá trình chế tạo laser vi cầu tôi sử dụng màng khổ rộng 12 mm, với chiều dày khoảng 0,2 mm.



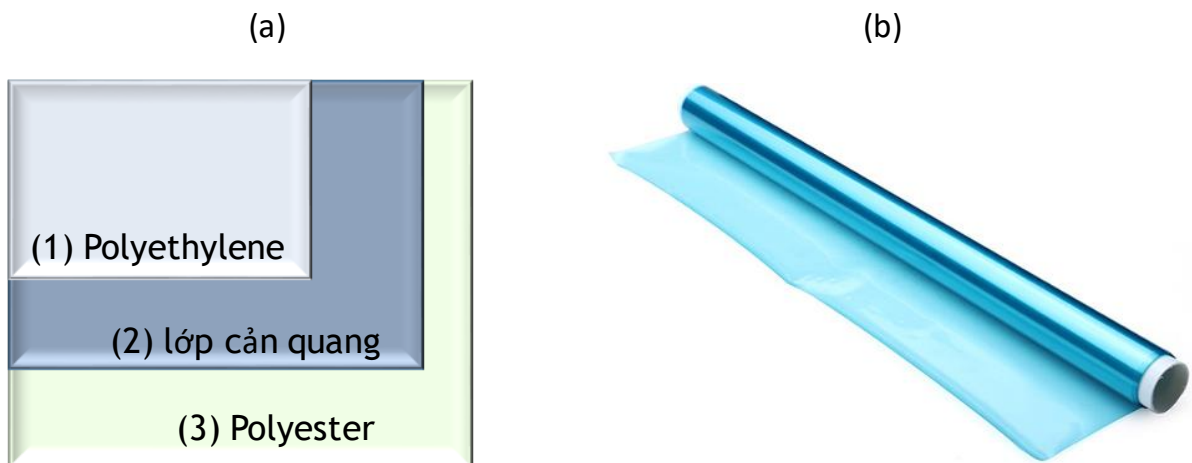
Hình 2.4. Màng Teflon cuộn thành các cuộn.

2.1.5. Các vật liệu được sử dụng trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu

Các bước trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu sử dụng nhiều vật liệu khác nhau. Một số vật liệu cơ bản được thống kê như sau:

2.1.5.1. Màng cản quang

Trong luận án này tôi sử dụng màng cản quang rắn (thuộc loại chất cản quang âm, hãng sản xuất: Dupont, như Hình 2.5b).



Hình 2.5. a) Cấu trúc ba lớp của màng cản quang, b) Sản phẩm thương mại từ hãng Dupont.

Màng cản quang này có cấu trúc bao gồm ba lớp (Hình 2.5a), dạng cuộn với khổ chiều rộng 30 cm. Lớp màng cản quang nằm ở giữa hai lớp màng bảo vệ bằng vật liệu polyethylene ở phía trên và polyester ở phía dưới (bảo vệ lớp màng cản quang khỏi bụi bẩn, tách rời lớp màng cản quang trong cuộn màng cũng như thuận tiện trong quá trình sử dụng). Chiều dày của lớp màng cản quang ở giữa khoảng 40 μm . Đặc tính của màng vật liệu này là nếu được phơi sáng dưới chùm ánh sáng trong vùng bước sóng cực tím (vùng bước sóng 320 nm đến 380 nm) có công suất và cường độ phù hợp sẽ kích hoạt các liên kết nội và polymer hóa màng, tạo thành lớp vật liệu không bị ăn mòn bởi các dung dịch ăn mòn Na_2CO_3 . Ngược lại, phần màng không được phơi sáng sẽ bị ăn mòn. Từ màng cản quang sau khi ăn mòn sẽ thu được các cấu trúc kênh dẫn trên các lớp màng làm tiền đề cho việc chế tạo khuôn kênh dẫn.

2.1.5.2. Polymer Polydimethylsiloxane (PDMS)

Trong luận án này tôi sử dụng polymer PDMS (Sigma-Aldrich) để chế tạo các khuôn dẻo chứa cấu trúc kênh dẫn vi lưu.

Công thức hóa học của PDMS là $\text{CH}_3[\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O}]_n\text{-Si}(\text{CH}_3)_3$, ở trạng thái bình thường là chất lỏng trong suốt ở vùng ánh sáng nhìn thấy, có độ nhớt tương đối cao khoảng 5000 cSt. Khi được trộn cùng hoạt chất đóng rắn PDMS được sử dụng hiệu

quả trong tạo các cấu trúc khuôn dạng dẻo, đặc biệt trong công nghệ quang khắc mềm [61, 67, 96].

2.1.5.3. Keo quang học NOA 81

Để chế tạo cấu trúc chip kênh dẫn vi lưu tôi sử dụng vật liệu là keo quang học NOA 81 (Norland).

Đây là một loại keo trong suốt ở vùng ánh sáng nhìn thấy. Khi chưa được chiếu tia cực tím NOA 81 tồn tại dạng lỏng, khi được chiếu tia cực tím với thời gian và cường độ phù hợp (vùng bước sóng 320 nm đến 380 nm) sẽ kích hoạt việc hình thành các mối liên kết nội dẫn tới bị polymer hóa và đóng rắn một phần hoặc hoàn toàn. Sau khi đóng rắn khối NOA 81 vẫn duy trì tính chất quang học trong suốt ở vùng ánh sáng nhìn thấy, với độ bền cơ học tương đối tốt và bền hóa học với các dung môi như Decanol, Pentanol,... Hiện nay NOA 81 đang được sử dụng như là một vật liệu tin cậy, độ bền cao và có thể tái sử dụng trong chế tạo các kênh dẫn vi lưu [67] và các ứng dụng khác trong lĩnh vực laser vi cầu [46].

2.1.5.4. Chất ăn mòn màng cản quang Na_2CO_3

Để ăn mòn phần màng cản quang bị che sáng bởi mặt nạ cản quang, tôi sử dụng dung dịch từ muối Natri carbonat (Na_2CO_3 , Sigma-Aldrich). Đây là một loại muối có nhiều trong tự nhiên như nước khoáng, nước biển, tro của rong biển và muối mỏ trong lòng đất. Sản phẩm thương mại dạng tinh thể rắn, có màu trắng đục hiện được sử dụng thông dụng trong công nghệ quang khắc mềm trong vai trò của một chất ăn mòn cấu trúc [61, 67].

2.2. Quy trình chế tạo laser vi cầu sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein

Quá trình khử nước khỏi dung dịch protein sử dụng các dung môi khử nước đã được ứng dụng trong chế tạo các hạt protein khô trong lĩnh vực y sinh và thực phẩm. Tuy nhiên chưa được sử dụng trong chế tạo các laser vi cầu sinh học [1, 2, 64, 76, 84]. Trong luận án này tôi sử dụng quy trình khử nước từ dung dịch protein kết hợp

màng ky nước Teflon để chế tạo laser vi cầu sinh học. Quy trình được điều chỉnh cho phù hợp với từng loại vật liệu protein. Cụ thể như sau:

2.2.1. Quy trình đối với protein từ lòng trắng trứng ngỗng

Quy trình chế tạo laser vi cầu từ lòng trắng trứng ngỗng (LTTN) được thực hiện qua 05 bước như minh họa trong Hình 2.6 cụ thể như sau:

Bước 1: Chuẩn bị dung dịch lòng trắng trứng ngỗng pha hoạt chất màu RhB

Đầu tiên dung dịch Rhodamine B 2,5% được chuẩn bị bằng cách sử dụng 0,1 mg RhB pha cùng 4 mL nước trong lọ thủy tinh, khuấy đều sử dụng máy khuấy từ trong 3 phút. Tiếp theo dung dịch LTTN pha RhB được chuẩn bị bằng cách khuấy trộn (khuấy từ trong 5 phút, ở nhiệt độ phòng) hỗn hợp gồm 3 ml LTTN (đã được lọc tách như Hình 2.1) và 1 mL RhB 2,5% ở trên để thu được dạng đồng nhất. Dung dịch này trong quá trình sử dụng được đựng trong lọ thủy tinh kín khí và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.

Bước 2: Chuẩn bị đế phủ màng Teflon

Đế thủy tinh được sử dụng có các kích thước dài x rộng x dày: 18 mm x 18 mm x 1mm. Đầu tiên đế thủy tinh được rửa sạch lần lượt trong nước khử ion, sau đó là Acceton rồi sử dụng máy sấy để sấy khô. Tiếp theo màng Teflon được tách khỏi cuộn và bóc hai lớp lên trên đế thủy tinh. Các đế này sau đó được rửa sạch trong Acceton rồi sấy ở 60 °C trong 5 phút. Cuối cùng chúng được bảo quản trong hộp nhựa kín đặt trong ngăn mát tủ lạnh, để sử dụng cho cả quy trình chế tạo với vật liệu LTTN và vật liệu BSA pha hoạt chất RhB.

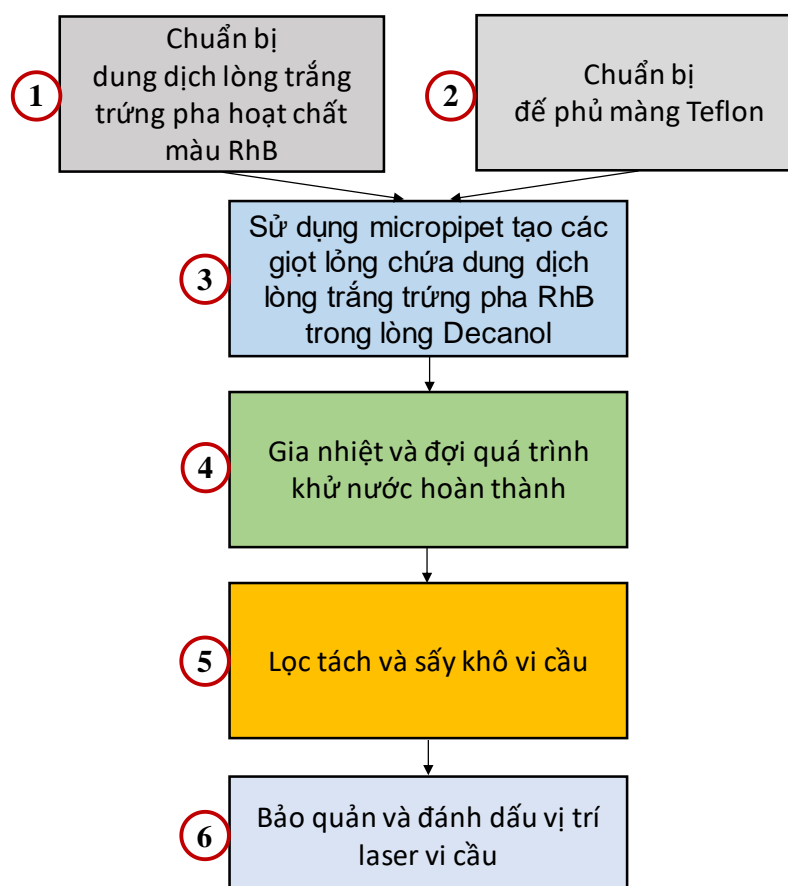
Bước 3, 4: Tạo các giọt lỏng và đợi quá trình khử nước hoàn thành

Các đế kính phủ màng Teflon trong bước 2 được đặt vào các hộp nhựa khác nhau (có kích thước: dài x rộng x cao tương ứng là 25 mm x 25 mm x 6 mm). Tiếp theo sử dụng pipet lấy lần lượt khoảng 2 mL Decanol cho vào các hộp nhựa (nhựa chịu nhiệt, trong suốt) ở trên. Tiến hành gia nhiệt để nhiệt độ trong lòng Decanol đạt

mức khoảng 80 °C. Sau đó, sử dụng micropipet lấy 3 μ L dung dịch được chuẩn bị trong bước 1, nhỏ tạo các giọt LTTN pha RhB lên phía trên đế Teflon bên trong lòng Decanol. Khuấy nhẹ để chia tách thành các giọt có kích thước nhỏ hơn. Cuối cùng đợi cho tới khi quá trình khử nước được hoàn thành để thu được các vi cầu rắn (khoảng 12-18 phút).

Bước 5: Lọc tách và sấy khô các vi cầu

Sau khi quá trình khử nước hoàn thành (quan sát sự ổn định kích thước của cấu trúc vi cầu trên kính hiển vi quang học), sử dụng pipet nhựa hút một phần các vi cầu (có cả Decanol) nhỏ lên trên các đế kính. Đặt chúng lên phía trên lên thiết bị gia nhiệt, tăng nhiệt độ lên tới 100 °C rồi giữ ở nhiệt độ này trong 5 phút để bay hơi hoàn toàn Decanol và lượng nước còn sót lại. Sau đó để mẫu nguội tự nhiên tới nhiệt độ phòng.



Hình 2.6. Quy trình chế tạo laser vi cầu sinh học từ LTTN pha hoạt chất màu RhB.

Bước 6: Đánh dấu vị trí và bảo quản các vi cầu đã chế tạo

Các vi cầu trên đế kính ở trên được kiểm tra sơ bộ trên kính hiển vi, vẽ sơ đồ vị trí sau đó bảo quản trong các hộp nhựa kín (đặt trong ngăn mát tủ lạnh). Chúng được sấy khoảng 5 phút ở nhiệt độ 40 °C trước khi tiến hành các nghiên cứu đặc trưng của laser.

Các kết quả đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu LTTN pha hoạt chất RhB sẽ được trình bày trong Chương 3. Do còn một số điểm hạn chế trong chất lượng bề mặt của nhóm các vi cầu chế tạo từ protein trong lòng trắng trứng này nên tôi không thực hiện các nghiên cứu sâu các yếu tố trong quy trình công nghệ ảnh hưởng tới quá trình chế tạo. Các nội dung này sẽ được thực hiện khi sử dụng vật liệu protein BSA ở trong quy trình sau.

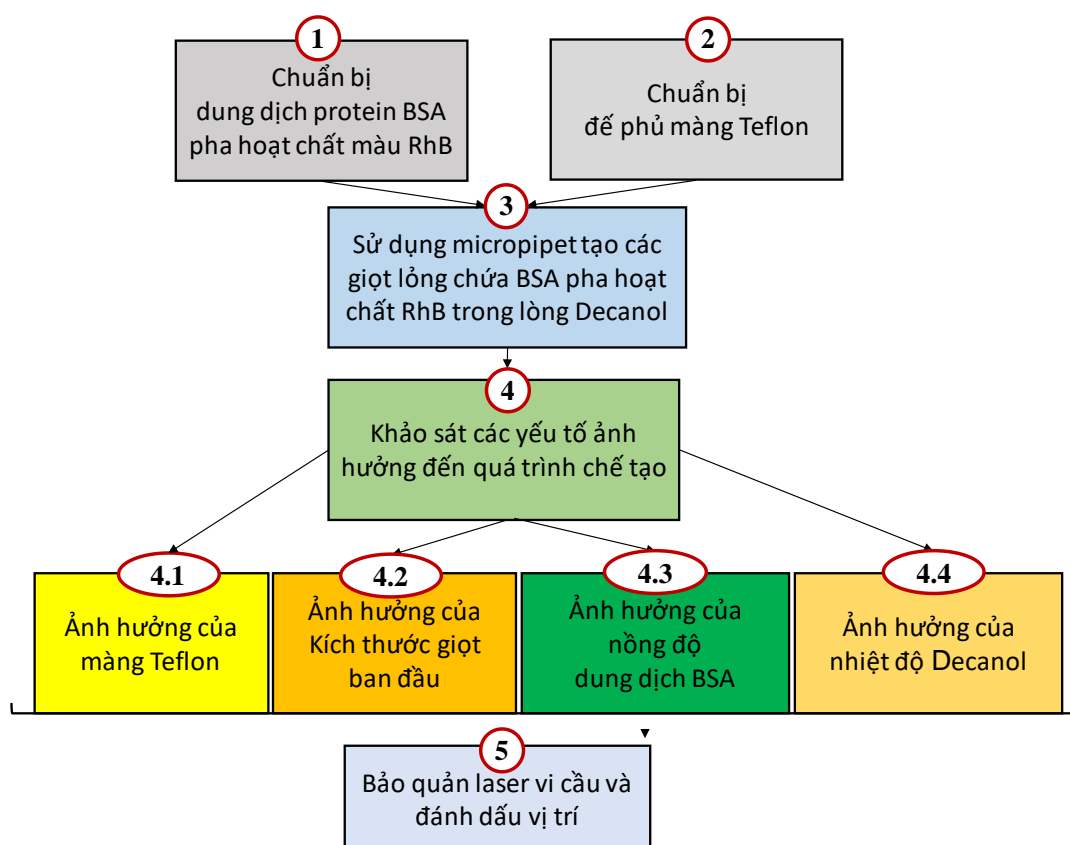
2.2.2. Quy trình chế tạo laser vi cầu với vật liệu BSA và hoạt chất RhB

Các bước chính trong quy trình chế tạo laser vi cầu từ vật liệu BSA và hoạt chất màu RhB được minh họa như Hình 2.7, tương tự như quy trình với protein từ lòng trắng trứng nhưng bổ sung thêm một số thao tác.

Bước 1: Chuẩn bị dung dịch chứa BSA pha RhB ở các nồng độ khác nhau

Đầu tiên các dung dịch BSA với bốn nồng độ khác nhau thu được bằng cách pha lần lượt 1 g BSA trong 1, 4, 7 và 9 mL nước khử ion vào các lọ thủy tinh. Sau khi pha trộn theo các tỷ lệ trên, để qua đêm trong ngăn mát tủ lạnh để BSA tan hoàn toàn vào nước tạo dung dịch đồng nhất. Tiếp đó dung dịch RhB 1% được chuẩn bị bằng cách sử dụng 0.04 mg RhB pha cùng 4 mL nước trong lọ thủy tinh, khuấy đều sử dụng máy khuấy từ trong 3 phút. Cuối cùng lấy lần lượt 1 mL các dung dịch RhB đã chuẩn bị ở trên pha trộn với bốn dung dịch BSA nồng độ khác nhau đã chuẩn bị.

Kết quả sau bước này thu được các dung dịch BSA pha RhB với các nồng độ BSA lần lượt là 500, 200, 125 và 100 mg/mL. Tỷ lệ của RhB so với BSA trong bốn dung dịch là như nhau (RhB: BSA khoảng 1% về khối lượng). Chúng được đựng trong các lọ thủy tinh riêng biệt, kín khí và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.



Hình 2.7. Quy trình chế tạo laser vi cầu sinh học từ BSA và hoạt chất màu RhB.

Bước 2: Chuẩn bị để phủ màng Teflon

Bước này tương tự như đã thực hiện ở quy trình chế tạo với vật liệu LTTN pha hoạt chất RhB.

Bước 3: Tạo các giọt lỏng chứa BSA pha RhB kích thước khác nhau trong Decanol

Bước này tương tự như đã thực hiện ở quy trình chế tạo với vật liệu LTTN pha hoạt chất RhB. Điểm khác biệt là không tiến hành gia nhiệt dung môi Decanol.

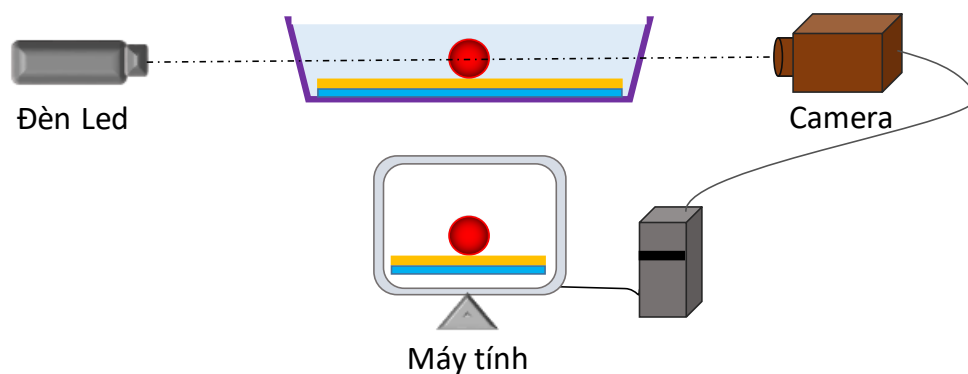
Bước 4: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình chế tạo

Đối với vật liệu protein BSA tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng một số thông số công nghệ chính lên quá trình chế tạo gồm có: (1) ảnh hưởng của màng Teflon, (2)

ảnh hưởng của kích thước giọt protein ban đầu, (3) ảnh hưởng của nồng độ dung dịch protein và (4) ảnh hưởng của nhiệt độ dung môi khử nước, cụ thể:

a) Nghiên cứu ảnh hưởng của màng Teflon

Để quan sát ảnh hưởng của màng Teflon tới quá trình khử nước và hình thành các laser vi cầu sinh học, sơ đồ thực nghiệm được bố trí như Hình 2.8. Bao gồm: Nguồn sáng từ đèn LED (đèn pin); hộp nhựa trong suốt chứa hai loại đế: đế kính và đế kính có phủ màng Teflon (đã cho decanol vào); camera kỹ thuật số được kết nối với máy tính. Đèn LED, hộp nhựa và camera được bố trí ở độ cao và khoảng cách phù hợp để có thể thu được hình ảnh các giọt lỏng trong quá trình khử nước rõ ràng. Sử dụng bước số 3 tạo các giọt BSA pha hoạt chất RhB trong các hộp nhựa chứa Decanol và hai loại đế ở trên. Quá trình khử nước sau đó được chụp ảnh tự động sau các khoảng thời gian liên tiếp 2 giây. Các ảnh này được lưu trữ trong các thư mục riêng, làm dữ liệu đầu vào cho nghiên cứu xác định sự thay đổi kích thước và hình dạng của giọt lỏng trong quá trình khử nước.



Hình 2.8. Sơ đồ khảo sát ảnh hưởng của màng Teflon lên hình dạng vi cầu.

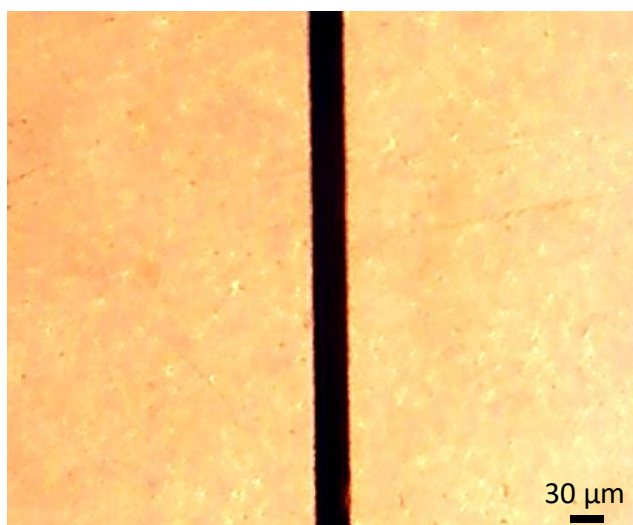
b) Nghiên cứu ảnh hưởng của kích thước giọt ban đầu đến kích thước của các vi cầu trong quá trình khử nước

Hệ thiết bị chế tạo thực tế như trong Hình 2.10 được đánh số thứ tự từ 1 tới 8 bao gồm:

(1). Micropipet

(2). Kính hiển vi kỹ thuật số:

Được gắn trên giá đỡ, có thể điều chỉnh các chế độ phóng đại từ 5 tới 800 lần có vai trò ghi lại quá trình khử nước của các giọt BSA pha RhB. Kính hiển vi được kết nối với máy tính qua cổng USB 2.0, cùng phần mềm chụp ảnh và quay video thời gian thực đi kèm. Kích thước giọt lỏng và vi cầu thu được trên ảnh kính hiển vi được đo theo phương pháp đo so sánh với kích thước mẫu như Hình 2.9.



Hình 2.9. Vạch kích thước chuẩn 30 μm của kính hiển vi quang học, sử dụng để đo kích thước các giọt lỏng và vi cầu rắn.

(3). Cặp nhiệt điện (loại K):

Sử dụng để lấy tín hiệu nhiệt độ của dung môi Decanol, sau đó đưa vào bộ điều khiển để hiển thị và điều khiển nhiệt độ của quá trình khử nước.

(4). Hộp nhựa đựng Decanol và đế kính đã bọc màng Teflon:

Hộp được bọc thêm một lớp màng nhôm mỏng bên ngoài và trong lòng hộp để tăng thêm độ dẫn nhiệt từ đế gia nhiệt.

(5). Thiết bị gia nhiệt:

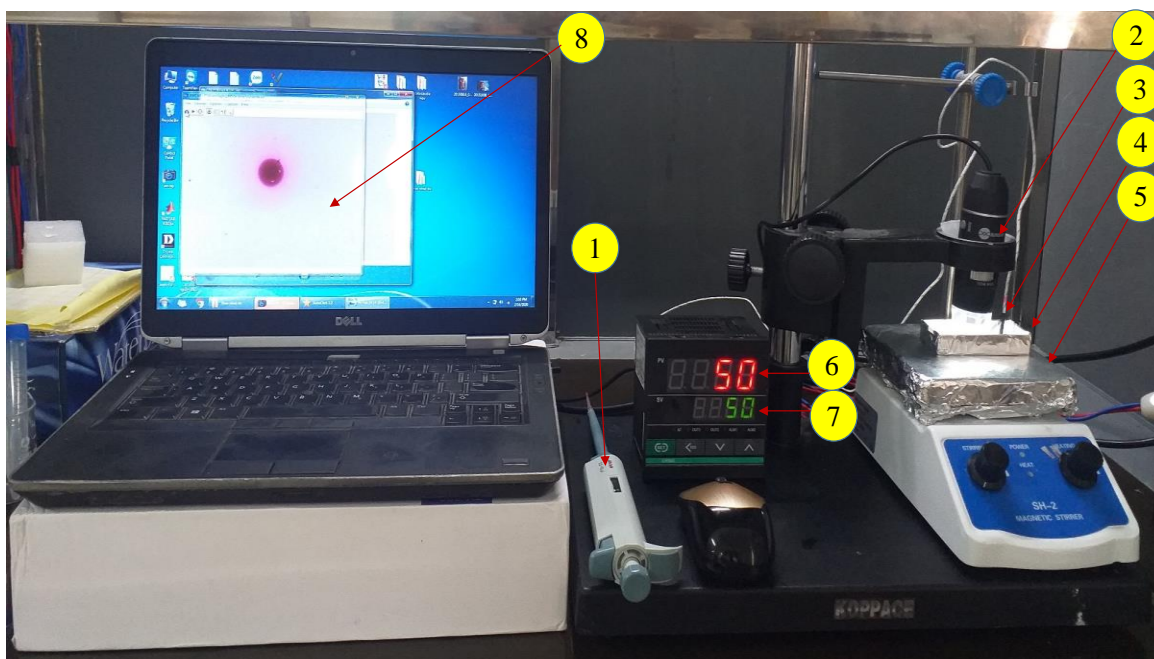
Có công suất gia nhiệt là 150 W, ở phía trên là đế kim loại gia nhiệt được bọc lớp màng nhôm mỏng (tiện cho quá trình thay thế và làm sạch).

(6) và (7). Màn hình LED hiển thị nhiệt độ thực tế và nhiệt độ điều khiển:

Lần lượt là thông tin về nhiệt độ thực tế phía trong lòng Decanol (nơi quá trình khử nước xảy ra) và nhiệt độ thiết lập từ khối điều khiển (được thiết lập thủ công). Quá trình chế tạo ở các nhiệt độ khác nhau được thực hiện khi giá trị hiển thị trên hai khối màn hình LED này giống nhau và ổn định.

(8). Máy tính:

Được kết nối trực tiếp và liên tục với camera kỹ thuật số, có chức năng thực hiện thao tác chụp ảnh tự động thời gian thực và ghi video quá trình khử nước xảy ra. Các dữ liệu hình ảnh và video được lưu trữ để sử dụng cho các bước phân tích về kích thước và hình dạng của giọt lỏng cũng như laser vi cầu.



Hình 2.10. Hình ảnh thực tế các thiết bị sử dụng khảo sát ảnh hưởng của các thông số công nghệ lên quá trình khử nước từ dung dịch protein.

Bước 4.2 được thực hiện như sau: Sử dụng dung dịch BSA có nồng độ 500 mg/mL được chuẩn bị trong bước 1.3; thực hiện bước số 2 và bước số 3 như đã mô tả ở trên. Thu thập dữ liệu (hình ảnh và video) quá trình khử nước của các hạt có kích thước khác nhau. Bước này được thực hiện ở nhiệt độ phòng khoảng 25 °C.

c) Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BSA

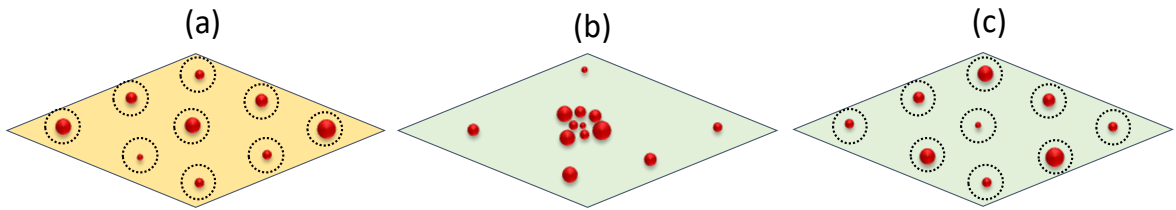
Ảnh hưởng của nồng độ BSA đối với quá trình khử nước được tiến hành như sau. Sử dụng hệ thiết bị như Hình 2.10, với các dung dịch BSA có nồng độ khác nhau (500, 200, 125 và 100 mg/mL) đã được chuẩn bị ở bước 1.3; thực hiện bước số 2 rồi tới bước số 3. Sau đó thu thập dữ liệu (hình ảnh và video) quá trình khử nước về sự thay đổi kích thước của giọt lỏng và quá trình đóng rắn thành các vi cầu của chúng. Trong quá trình này nhiệt độ quá trình khử nước ở mức nhiệt độ phòng, khoảng 25 °C.

d) Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ Decanol

Trong bước này sử dụng dung dịch BSA có nồng độ 500 mg/mL đã được chuẩn bị trong bước 1; thực hiện lặp lại các bước số 2 và bước số 3 đã trình bày ở trên. Thu thập dữ liệu (hình ảnh và video) quá trình khử nước của các hạt có kích thước khác nhau. Trong quá trình này nhiệt độ quá trình khử nước được điều khiển để thay đổi trong khoảng từ 25 °C tới 60 °C (bước này được thực hiện khi nhiệt độ đã ổn định ở các mức xác định).

Bước 5: Bảo quản laser vi cầu và đánh dấu vị trí

Sau khi quá trình khử nước hoàn thành (các giọt lỏng trở thành các vi cầu rắn, thời điểm quá trình này hoàn tất được quan sát khi kích thước của các vi cầu không thay đổi (thu nhỏ) thêm nữa. Thời gian chờ khoảng 5- 10 phút. Sử dụng pipet nhựa hút một phần các vi cầu (có cả Decanol) nhỏ lên trên các đế kính riêng được bố trí thành các cụm như Hình 2.11b để chụp ảnh SEM và bố trí rời rạc minh họa như Hình 2.11c để tiện đánh dấu và khảo sát đặc tính quang học sau. Số vi cầu còn lại trên các đế bọc màng Teflon, được hút bớt Decanol. Đặt các mẫu phía trên lên đế gia nhiệt, tăng nhiệt độ lên tới 100 °C, giữ ở nhiệt độ này trong 5 phút để bay hơi hoàn toàn Decanol và lượng nước còn sót lại. Ngắt bộ gia nhiệt để các vi cầu nguội từ từ tới nhiệt độ phòng, sau đó bảo quản các đế kính này trong các hộp nhựa trong ngăn mát tủ lạnh.



Hình 2.11. a) Đánh dấu các vị trí vi cầu trên bề mặt Teflon để chụp ảnh SEM, b) Bố trí cụm vi cầu và các vi cầu rời để chụp ảnh quang học và ảnh hiển vi điện tử quét (SEM), c) Đánh dấu các vị trí vi cầu trên kính để bảo quản và khảo sát đặc tính laser.

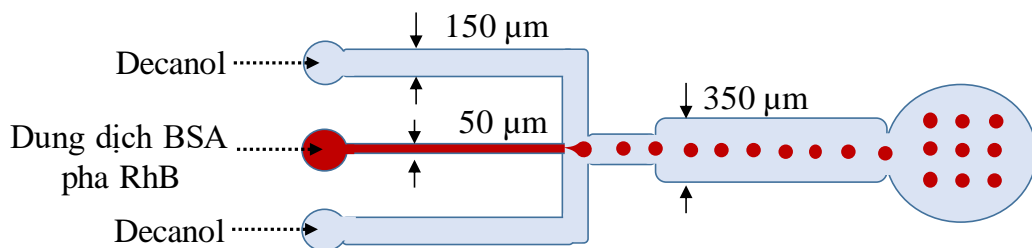
2.3. Chế tạo laser vi cầu sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu

Để thực hiện quá trình chế tạo laser vi cầu sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu, trước tiên tôi tiến hành thiết kế chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu.

2.3.1. Chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu

Hình 2.12 minh họa cấu hình hệ thống kênh dẫn vi lưu sử dụng chế tạo laser vi cầu protein pha RhB. Thiết bị kênh dẫn vi lưu bao gồm bốn phần chính: 03 kênh dẫn chất lỏng đầu vào, điểm giao nhau của các kênh, 01 kênh đầu ra và 01 hộp chứa. Các thông số thiết kế cơ bản của hệ thống vi lưu như sau:

- Kênh đầu vào giữa có chiều rộng 50 μm và chiều sâu 40 μm . Được sử dụng để dẫn dung dịch protein pha RhB, có vai trò pha lỏng rời rạc.



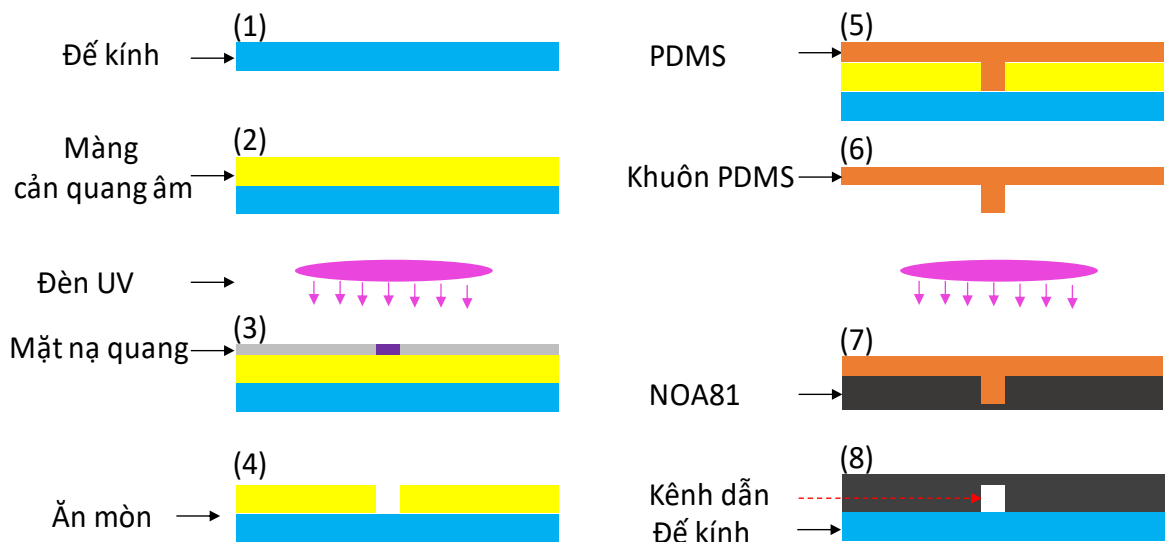
Hình 2.12. Minh họa các thành phần trong hệ thống kênh dẫn vi lưu.

- Hai kênh đầu vào hai bên có kích thước thiết kế chiều rộng 150 μm và chiều sâu 160 μm . Được sử dụng để dẫn Decanol, có vai trò như pha lỏng liên tục.
- Kênh đầu ra có chiều rộng 350 μm và chiều sâu 160 μm .

- Hộp thu gom các giọt lỏng và chứa các vi cầu sau quá trình khử nước sử dụng đĩa thủy tinh (đường kính 8 cm, sâu 1,2 cm) có phủ lớp màng Teflon ở đáy.

Quy trình chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu được minh họa như Hình 2.13, bao gồm 8 bước chính như sau:

- Bước 1: Chuẩn bị đế kính;
- Bước 2: Phủ các lớp màng chất cản quang;
- Bước 3: Khớp mặt nạ và chiếu tia cực tím;
- Bước 4: Ăn mòn, định hình cấu trúc khuôn từ màng chất cản quang;
- Bước 5: Đổ khuôn PDMS, đóng rắn khuôn;
- Bước 6: Bóc tách khuôn PDMS;
- Bước 7: Tạo cấu trúc kênh dẫn NOA 81 từ khuôn PDMS;
- Bước 8: Hoàn thiện hệ thống kênh dẫn.



Hình 2.13. Các bước trong quy trình chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu.

Phân tích chi tiết các bước trong quy trình này như sau:

Bước 1: Chuẩn bị đế kính

Đế kính sử dụng trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu cho hai mục đích: Đóng vai trò là đế cho các lớp màng chất cản quang và hệ thống kênh dẫn vi lưu. Kích

thước của cửa đế kính (dài x rộng x dày) là 75 x 25 x 1 mm. Các đế kính được làm sạch lần lượt trong nước khử ion, cồn 90 độ và Acceton. Sau đó chúng được sấy khô và bảo quản trong hộp nhựa kín, đựng trong tủ hút và sấy chân không ở 40 °C.

Bước 2: Phủ các lớp màng chất cản quang

Để tăng cường chất lượng các lớp màng cản quang phủ trên đế kính, máy là ép như Hình 2.14 được sử dụng (máy ép tấm Plastic). Có 4 thành phần chủ yếu của thiết bị là: (1) bộ hai cuộn cán nóng chuyển động ngược chiều nhau và được gia nhiệt. (2) Hiển thị nhiệt độ thực của hai cuộn cán nóng; (3) Khối các phím chức năng điều khiển bật tắt, điều khiển chiều quay. (4) Khối chức năng điều khiển công suất gia nhiệt.



Hình 2.14. Máy là ép màng cản quang (Mode YT 320- Trung Quốc).

Quy trình cho bước này được thực hiện như sau: Màng cản quang được cắt thành các tấm nhỏ có kích thước phù hợp với đế thủy tinh đã chuẩn bị. Đầu tiên lớp màng bảo vệ polyetylen phía trên cùng được loại bỏ bằng cách bóc rời, hai lớp còn lại được đặt lên trên một phần giấy bìa A4 (được cắt với kích thước phù hợp). Tiếp theo đế thủy tinh (đã được chuẩn bị ở bước 1) được đặt lên trên lớp màng cản quang. Tờ bìa giấy A4 chứa đế thủy tinh và lớp màng cản quang sau đó được đưa từ từ vào thiết bị là ép (được thiết lập nhiệt độ duy trì ở mức 100 °C). Tác dụng của thiết bị này là dựa vào nhiệt và lực nén để các lớp màng cản quang bám dính chặt đế kính. Sau đó thực hiện tách đế kính và màng cản quang khỏi tờ bìa giấy rồi bóc lớp phủ bảo vệ polyester ra. Quy trình phủ các lớp màng cản quang tiếp theo được tiếp tục lặp lại để

đạt được tới kích thước độ dày cần thiết theo thiết kế. Lớp polyester ở trên cùng được giữ lại, để bảo vệ các lớp cản quang phía dưới và tránh bụi bẩn.

Bước 3: Khớp mặt nạ cản quang và phơi sáng dưới chùm tia cực tím

Mặt nạ cản quang:

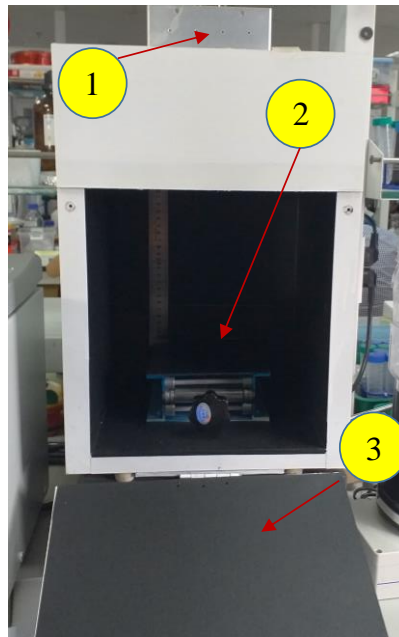
Cấu trúc trên mặt nạ cản quang được thiết kế trên máy tính sử dụng phần mềm AutoCAD (2017). Sau đó được in lên tấm phim ảnh trong suốt sử dụng máy in có độ phân giải cao. Đây là giải pháp đơn giản và chi phí thấp, chất lượng ở mức chấp nhận được cho các cấu trúc kênh dẫn kích thước từ 30 μm trở lên.

Đèn UV:

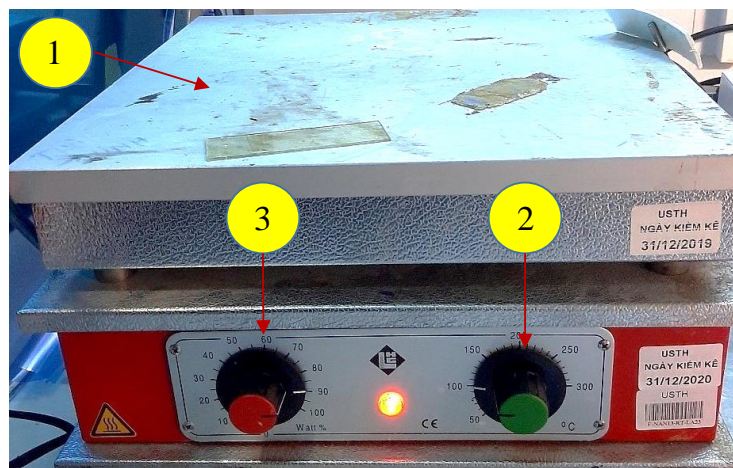
Đèn cung cấp ánh sáng vùng cực tím có thể điều khiển công suất và thời gian chiếu sáng. Công suất cực đại của đèn theo thiết kế là 30 W và có thể thay đổi trong khoảng từ 1% đến 100%, thời gian chiếu sáng của các cấu trúc có thể được thiết lập với độ phân giải 0,1 giây. Các bộ phận chính của đèn bao gồm: (1) Cụm đèn UV LED được đặt phía trên đỉnh; (2) khoang kín chứa giá đỡ mẫu, chiều cao từ điểm đặt mẫu tới đèn UV có thể thay đổi từ 5 đến 30 cm; (3) Cửa phía trước. Tùy thuộc vào độ dày (số lớp) của màng cản quang phủ trên đế kính, thời gian và khoảng các phơi sáng được điều chỉnh cho tối ưu.

Hai yếu tố quyết định tới thời gian phơi sáng phù hợp là cường độ nguồn sáng của đèn UV (tới màng cản quang) và độ dày của các lớp cản quang. Các mẫu khác nhau với độ dày khác nhau sẽ yêu cầu thời gian phơi sáng khác nhau tương ứng. Trong các thực nghiệm, khoảng cách giữa điểm đặt mẫu và đèn UV được thiết lập mặc định ở giá trị 5 cm và công suất của đèn UV được đặt ở mức 50% công suất tối đa. Do đó đảm bảo cường độ ánh sáng hầu như không thay đổi trong các lần thực nghiệm. Để xác định thời gian phơi sáng tối ưu cho một độ dày nhất định của màng cản quang, các thử nghiệm với các mẫu khác nhau được thực hiện. Nếu thời gian phơi sáng quá dài, sự tán xạ ánh sáng từ đế thủy tinh và từ các phần đã được chiếu sáng sẽ ảnh hưởng đến các vùng bên cạnh, làm chúng cứng hơn, gây khó khăn trong quá trình

ăn mòn phía sau và ảnh hưởng tới kích thước cũng như cấu trúc đã thiết kế. Ngược lại, nếu thời gian phơi sáng không đủ, các liên kết nội trong cấu trúc màng cản quang không đủ độ vững chắc, dẫn tới trong quá trình ăn mòn màng cản quang phía sau cấu trúc kênh có thể bị phá vỡ.



Hình 2.15. Đèn UV sử dụng trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu.



Hình 2.16. Thiết bị gia nhiệt (Mode HT02- Đức).

Ở bước số 3 này trình tự thực hiện lần lượt như sau:

- Mặt nạ cản quang (in trên phim ảnh trong suốt) được khốp lên trên các lớp màng cản quang (đã bóc trên đế kính);
- Đưa cấu trúc vào buồng kín của đèn UV;
- Thiết lập thời gian và thực hiện phơi sáng (phù hợp tương ứng với độ dày của các lớp cản quang);
- Lấy cấu trúc ra, tách mặt nạ cản quang rồi tiến hành loại bỏ lớp bảo vệ polyester trên cùng của màng cản quang;
- Gia nhiệt tiếp cấu trúc trên ở 100 °C trên đế gia nhiệt (Hình 2.16) trong thời gian khoảng 5 phút.

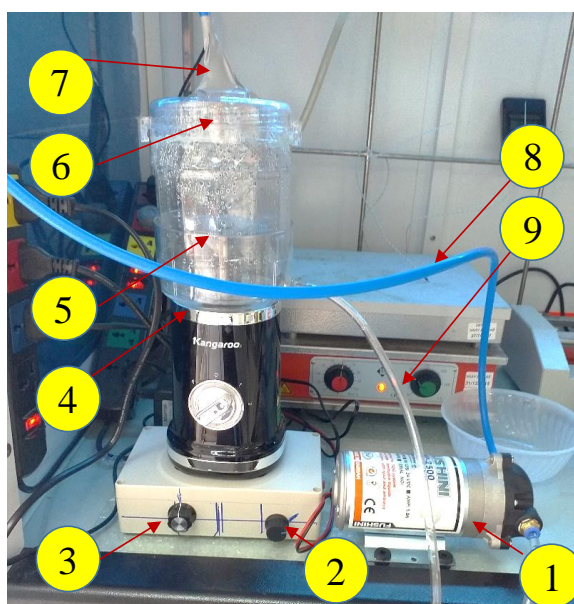
Máy gia nhiệt được sử dụng cho bước này có cấu tạo gồm một đế kim loại dày (1) được nung nóng bởi hệ thống dây may so bên trong. Có thể điều khiển nhiệt độ (2) và công suất (3) một cách linh hoạt. Bước này để cung cấp năng lượng nhiệt bổ sung giúp tăng cường các liên kết nội trong màn cản quang, từ đó cải thiện độ bền của vùng được phơi sáng trên màng trong quá trình ăn mòn. Sau đó, cấu trúc được để nguội đến nhiệt độ phòng trước khi tiến hành bước tiếp theo.

Bước 4: Ăn mòn, hình thành cấu trúc khuôn từ màng chất cản quang

Trong bước này vùng không được phơi sáng của màng cản quang phủ trên đế kính ở bước số 3 được loại bỏ (ăn mòn) bằng dung dịch Natri Cacbonat (Na_2CO_3) 1%. Từ đó hình thành nên cấu trúc khuôn theo thiết kế. Thời gian cần thiết để hoàn thành quá trình ăn mòn được xác định bởi nồng độ Na_2CO_3 và chịu ảnh hưởng mạnh bởi nhiệt độ và các thông số công nghệ của thiết bị ăn mòn. Trong các thực nghiệm ở luận án tôi thiết kế chế tạo thiết bị hỗ trợ quá trình ăn mòn chất cản quang như Hình 2.17. Các thành phần chính của thiết bị ăn mòn lớp cản quang bao gồm:

1. Máy bơm hút dung dịch chất ăn mòn;
2. Núm điều khiển tốc độ bơm dung dịch chất ăn mòn (giữ cố định ở một vị trí trong quá trình thực hiện thực nghiệm);
3. Núm điều khiển tốc độ quay của đĩa gắn đế kính (giữ cố định ở một vị trí trong quá trình thực hiện luận án);

4. Khoảng chứa đĩa quay, đế kính, bộ phun dung dịch ăn mòn;
5. Đĩa kim loại để gắn đế kính có thể điều khiển tốc độ quay;
6. Nắp đậy;
7. Van phun;
8. Ống dẫn dung dịch ăn mòn đi vào van phun;
9. Ống dẫn dung dịch ăn mòn ra ngoài.



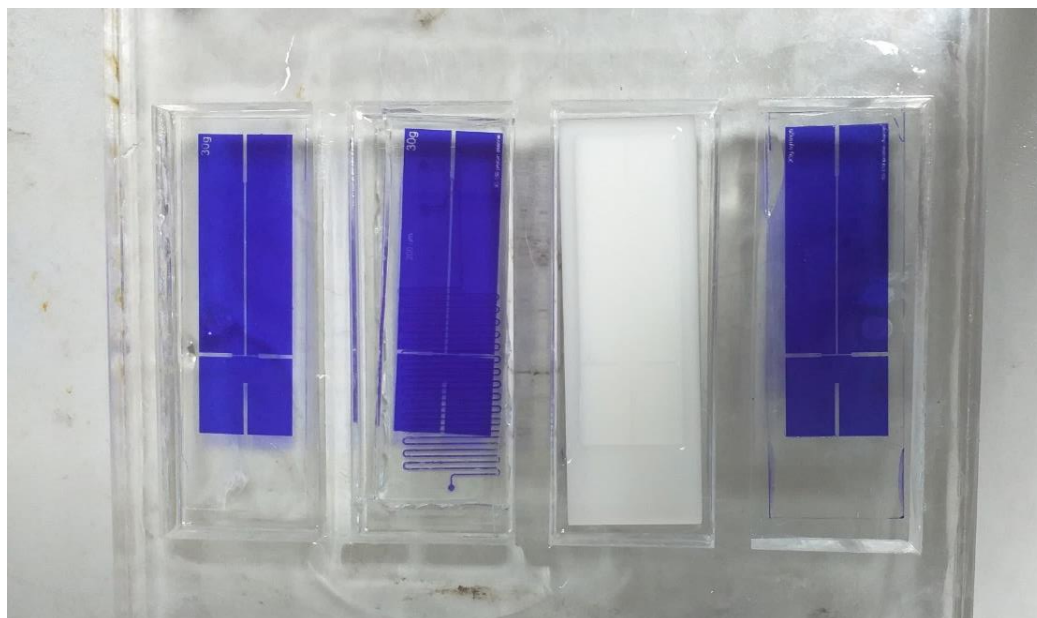
Hình 2.17. *Thiết bị ăn mòn lớp cản quang.*

Thực hiện quá trình ăn mòn cấu trúc ở nhiệt độ phòng. Đế thủy tinh chứa màng cản quang được gắn cân đối lên trên một đế dạng đĩa phẳng, dung dịch ăn mòn được phun từ trên xuống bởi bộ phun sương có thể điều khiển lưu lượng phun thông qua điều khiển công suất của bơm, cùng lúc với chuyển động quay chậm của đế.

Sau quá trình ăn mòn hoàn thành mẫu được rửa sạch trong nước khử ion rồi phơi sáng trở lại trong đèn UV. Thời gian cho lần phơi sáng này được thiết lập gấp đôi thời gian quá trình phơi sáng cấu trúc ban đầu.

Bước 5: Đổ khuôn PDMS, đóng rắn khuôn

Sử dụng vật liệu PDMS pha trộn thêm với tỷ lệ 10% chất đóng rắn PDMS. Hỗn hợp này sau đó được hút chân không trong bình hút chân không khoảng 30 phút để loại bỏ lượng khí hấp thụ (các bọt khí phát sinh trong quá trình pha trộn).



Hình 2.18. Các khuôn nhựa sử dụng cho thao tác đổ khuôn PDMS trong bước 5.

Một cấu trúc khuôn bao bên ngoài bằng nhựa mica như Hình 2.17 được sử dụng cho quá trình đổ khuôn PDMS. Cấu trúc khuôn từ màng cản quang thu được ở bước 4 được đặt phía dưới đáy khuôn nhựa ở trên, sau đó đổ từ từ PDMS đã pha chất đóng rắn vào, với chiều dày lớp PDMS khoảng 10 mm. Tiếp theo đặt khuôn nhựa đã đổ PDMS này vào trong tủ sấy hút chân không, thiết lập nhiệt độ 40 °C và thời gian khoảng 5 giờ để quá trình đóng rắn tạo khuôn PDMS được hoàn tất.

Bước 6: Bóc tách khuôn PDMS

Khuôn PDMS sau khi được đóng rắn, sẽ có các cấu trúc kênh dẫn nhô lên cao. Chúng được bóc ra khỏi khuôn nhựa, sau đó được rửa lại trong nước khử ion và Ethanol hai lần rồi sấy khô. Toàn bộ các khuôn PDMS được bảo quản trong các hộp thủy tinh kín khí trong ngăn mát tủ lạnh.

Bước 7: Tạo cấu trúc kênh dẫn từ vật liệu NOA 81 sử dụng khuôn PDMS

Keo quang học UV NOA 81 (Hình 2.19) để sử dụng chế tạo kênh dẫn vi lưu. Thực hiện bước số 7 lần lượt như sau:

a) Đế kính (đã làm sạch trong bước 1) được đặt phía trên một tấm phẳng PDMS, sau đó nhỏ khoảng 1mL keo NOA 81 lên trên. Nghiên nhẹ đế kính về các phía khác nhau để NOA 81 tạo thành một lớp mỏng dần đều phía trên đế kính (với diện tích phù hợp với khuôn PDMS).

b) Khuôn PDMS chế tạo từ bước 6 được đặt từ từ xuống và ấn nhẹ để trải NOA 81 ra toàn bộ bề mặt của khuôn. Giữ nguyên trạng thái này trong khoảng 15 phút cho các bóng khí phát sinh (nếu có) được hấp thụ vào PDMS.



Hình 2.19. Keo quang học UV NOA 81.

c) Phơi sáng lớp màng NOA 81 trong đèn UV khoảng 2-3 giây (khoảng cách và công suất giữ nguyên như ở bước 3).

d) Lặp lại ba bước a-c để chế tạo một lớp đệm NOA 81 làm lớp phủ phía trên (sử dụng để đóng kín mặt trên các kênh).

e) Khuôn PDMS được tách ra khỏi lớp NOA 81 trong bước 7.3 rồi căn chỉnh trên kính hiển vi quang học để khớp lớp phủ đóng kênh thực hiện trong bước 7.4 vào cấu trúc kênh dẫn chính.

f) Phơi sáng trong đèn UV khoảng 1 phút để hai phần cấu trúc từ keo NOA 81 dính chặt vào nhau và dính chặt vào đế kính, hình thành hệ thống các kênh dẫn được khép kín mặt trên và mặt dưới.

Sau bước này cấu trúc kênh dẫn đã được hoàn thành. Trước khi tiến hành bước số 8 các kênh dẫn vi lưu được kiểm tra trên kính hiển vi quang học để đánh giá mức độ hoàn thành cấu trúc kênh, các vị trí tắc nghẽn, đứt gãy kênh nếu có.

Bước 8: Hoàn thiện và kiểm tra hệ thống kênh dẫn

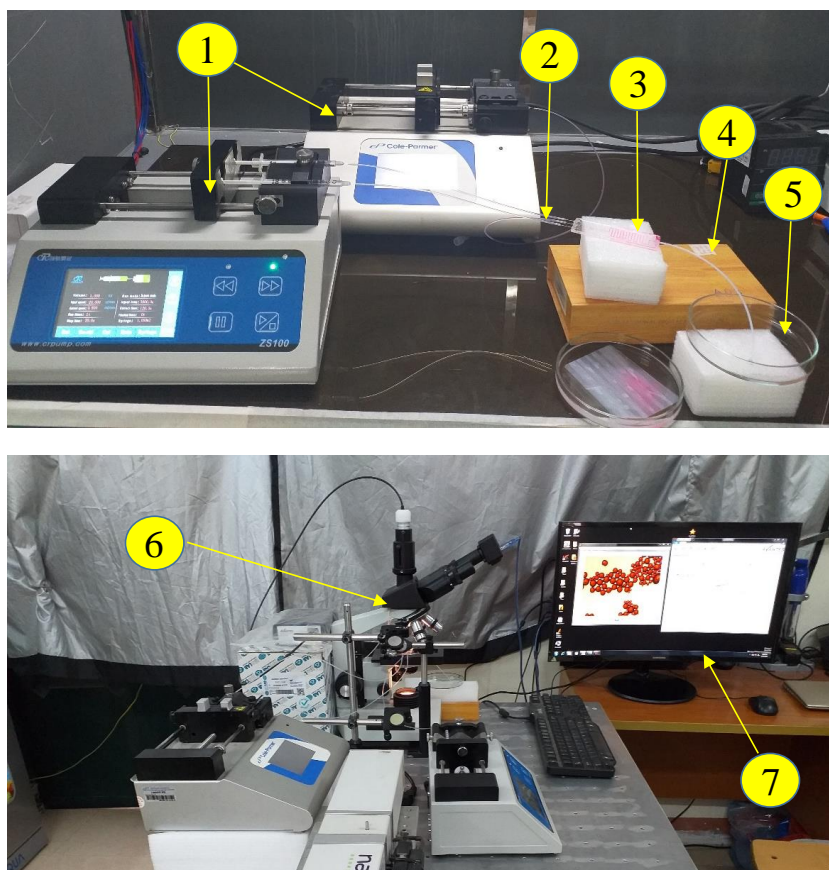
Với hệ kênh dẫn đã được chế tạo và kiểm tra trong bước 7, các đầu dẫn (đầu kim bằng kim loại lấy từ kim tiêm loại 30g) lần lượt được luồn vào 03 đầu vào và 01 đầu ra của cấu trúc kênh dẫn. Để cố định các đầu kim này vào các kênh, sử dụng keo hai thành phần nhỏ lên các vị trí luồn kim rồi sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 °C khoảng 4 giờ. Quá trình sấy giúp để đóng rắn hoàn toàn lớp keo. Sau bước này hệ thống kênh dẫn vi lưu đã được hoàn thiện.

Để kiểm tra tính thông suốt của hệ thống kênh vi lưu, một xi lanh nhỏ chứa nước khử ion được nối với ống nối và bơm nhẹ lần lượt vào các vị trí đầu vào, đầu ra của kênh dẫn để kiểm tra khả năng lưu thông của dòng chất lỏng theo các hướng trong hệ thống kênh dẫn vi lưu. Nếu hệ thống kênh không thông suốt, thực hiện lại bước 7 và phần bước 8 ở trên. Các kênh dẫn đáp ứng các yêu cầu qua hai bước kiểm tra ở trên sau đó được đựng trong các hộp thủy tinh kín và bảo quản trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 °C, sử dụng để chế tạo laser vi cầu.

Sau khi đã chế tạo và kiểm tra khả năng hoạt động của kênh dẫn vi lưu tôi tiến hành sử dụng chúng trong chế tạo các laser vi cầu.

2.3.2. Sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu để chế tạo laser vi cầu

Sơ đồ các thiết bị sử dụng hệ kênh dẫn vi lưu để chế tạo laser vi cầu sinh học được bố trí như trong Hình 2.20 bao gồm 07 thành phần thiết bị với vai trò cụ thể được phân tích dưới đây:



Hình 2.20. Hệ thống các thiết bị sử dụng trong quy trình nghiên cứu chế tạo laser vi cầu sử dụng kênh dẫn vi lưu.

(1) Hai thiết bị bơm vi lưu: Được sử dụng để gá 01 xi lanh chứa dung dịch BSA pha RhB (sử dụng dung dịch BSA nồng độ 500 mg/mL, tỷ lệ RhB: BSA khoảng 1% về khối lượng) và 02 xi lanh chứa Decanol. Có thể thiết lập và điều khiển tốc độ bơm, chế độ bơm các dòng chất lỏng vào hệ thống kênh dẫn vi lưu đã chế tạo thông qua hệ thống hai bơm này. Dải tốc độ bơm chất lỏng có thể điều khiển thay đổi trong khoảng từ 0,01 μL cho tới 50 μL / phút, tùy thuộc vào thể tích xi lanh chứa các chất lỏng sử dụng.

(2) Các dây dẫn chất lỏng đầu vào: Được sử dụng với vai trò kết nối giữa các xilanh tới 3 đầu vào của hệ thống kênh dẫn vi lưu. Kích thước của các dây kết nối này tương thích với đầu kim xilanh cũng như đầu kim loại 30G gắn trên chip kênh dẫn vi lưu. Chúng là các dây nhựa mềm trong suốt, có thể quan sát sự di chuyển của các dòng chất lỏng trong dây dẫn.

(3) Hệ thống kênh dẫn vi lưu: Đã được thiết kế chế tạo.

(4) Dây dẫn đầu ra: Tương tự dây dẫn đầu vào, sử dụng với vai trò đưa các giọt lỏng BSA pha tạp RhB được tạo ra trong hệ thống kênh dẫn vi lưu tới đĩa chứa.

(5) Đĩa chứa: Sử dụng đĩa thủy tinh, đường kính 8 cm, chiều sâu 1cm. Đĩa chứa 10 mL Decanol, phía dưới đặt đế kính có phủ màng Teflon. Các giọt lỏng BSA pha tạp RhB sau khi tạo ra trong kênh được dẫn bởi dây dẫn đầu ra được bố trí tách rời nhau trên màng Teflon (nhúng trong Decanol) để quá trình khử nước xảy ra. Đây là nơi hoàn thành quá trình khử nước để hình thành laser vi cầu sinh học.

(6) Kính hiển vi: Sử dụng để kiểm tra hệ thống kênh dẫn vi lưu, theo dõi quá trình di chuyển của các dòng chất lỏng trong kênh, quá trình cắt tạo giọt lỏng tại điểm giao cắt và sự thay đổi kích thước giọt lỏng khi thay đổi các thông số bơm đầu vào.

(7) Máy tính: Được kết nối với kính hiển vi để chụp, lưu trữ dữ liệu về kênh dẫn, giọt lỏng và các vi cầu.

Trong bước này dòng chất lỏng chứa BSA pha tạp RhB đóng vai trò là pha lỏng rời rạc trong khi hai dòng chất lỏng chứa Decanol đóng vai trò là pha lỏng liên tục. Tại điểm giao cắt giữa 3 dòng chất lỏng, pha lỏng rời rạc bị ép mỏng dần do áp lực từ hai dòng chất lỏng pha liên tục dẫn tới bị cắt tạo thành các giọt lỏng có kích thước tương tự nhau. Kích thước của giọt lỏng BSA pha tạp RhB có thể được điều khiển thông qua việc thay đổi tốc độ bơm từ hai vi bơm. Ngay sau khi giọt lỏng được tạo ra trong pha liên tục (Decanol), quá trình khử nước cũng đồng thời xảy ra. Do độ dài các kênh dẫn ngắn nên thời gian di chuyển của giọt lỏng trong kênh chưa đủ để quá trình khử nước diễn ra hoàn toàn. Quá trình này sau đó tiếp tục diễn ra trong đĩa chứa

(5). Mỗi loạt giọt lỏng kích thước khác nhau khi tạo ra được chứa trong các đĩa khác nhau, thuận tiện cho quá trình lưu trữ, nghiên cứu các đặc trưng kích thước và đặc tính phát laser sau này.

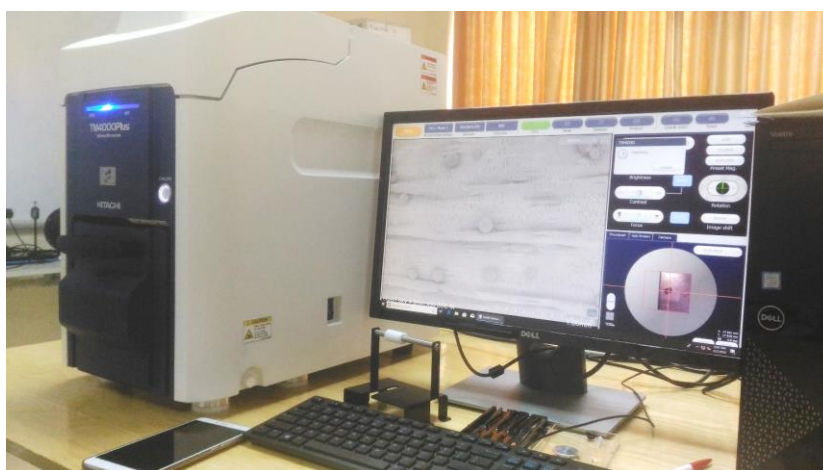
Sau khoảng thời gian 5 phút (để quá trình khử nước hoàn thành) các loạt vi cầu được hút từ các đĩa chứa (ở các tỷ số tốc độ bơm của hai bơm vi lưu khác nhau) cho lên các đế kính. Sau đó chúng được gia nhiệt tới 100 °C, rồi tiến hành bước đánh dấu các vị trí vi cầu để lưu trữ và khảo sát các đặc trưng kích thước, hình dạng và đặc trưng phổ laser.

2.4. Hệ thiết bị nghiên cứu các thông số đặc trưng của laser vi cầu

Các đặc trưng về hình dạng kích thước của laser vi cầu sinh học đã chế tạo được nghiên cứu sử dụng kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử quét (SEM); Các đặc tính laser được nghiên cứu trên hệ đo phổ phát xạ laser.

2.4.1. Kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Hình dạng và kích thước của các vi cầu được nghiên cứu thông qua các ảnh từ kính hiển vi điện tử quét (SEM- Micro SEM TM4000Plus, HITACHI).



Hình 2.21. Thiết bị Micro SEM TM4000 Plus.

Nguyên lý hoạt động cơ bản của thiết bị này như sau: Mẫu cần chụp ảnh được đặt vào trong buồng quét ảnh, sau quá trình hút chân không chùm tia điện tử được

phát ra và tăng tốc từ súng bắn điện tử, chúng đi qua hệ thống các thấu kính hội tụ và hệ thống điều hướng rồi quét lên các vùng diện tích rất nhỏ trên bề mặt mẫu. Từ vùng mà chùm electron quét tới các thông tin phản hồi từ các loại hạt như điện tử tán xạ ngược, điện tử thứ cấp,... sẽ được khối xử lý thu nhận xử lý và tái tạo lại hình ảnh bề mặt mẫu cần quan sát. Nhìn chung các thiết bị SEM sử dụng thông tin từ hai loại hạt phát sinh: Thứ nhất là các điện tử thứ cấp: Đây là chế độ ghi ảnh thông dụng nhất của kính hiển vi điện tử quét, chùm điện tử thứ cấp có năng lượng thấp (thường nhỏ hơn 50 eV) được ghi nhận bằng ống nhân quang nhấp nháy. Thứ hai là các điện tử tán xạ ngược (điện tử tán xạ ngược là chùm điện tử ban đầu khi tương tác với bề mặt mẫu bị bật ngược trở lại), chúng thường có năng lượng cao hơn điện tử thứ cấp. Sự tán xạ ngược của các điện tử này phụ thuộc rất nhiều vào đặc tính và thành phần hóa học ở bề mặt mẫu, do đó ảnh tái tạo từ các điện tử tán xạ ngược rất hữu ích cho phân tích hình ảnh bề mặt mẫu.

Trong trường hợp các mẫu trong luận án là các vi cầu sinh học với hình dạng cầu và kích thước từ vài micro mét tới vài trăm micro mét, thiết bị Micro SEM TM4000Plus có thể đáp ứng tốt các yêu cầu về ghi ảnh với độ phóng đại phù hợp. Để tăng độ tương phản và chất lượng hình ảnh, một lớp vàng mỏng chiều dày khoảng 10 nm được phún xạ lên toàn bộ các vi cầu trước khi tiến hành chụp ảnh. Trên Hình 3.1 là ảnh thực tế của thiết bị khi đang chụp ảnh các vi cầu được làm từ vật liệu BSA pha tạp RhB (trên màng Teflon). Bên cạnh các vi cầu, các cấu trúc của hệ thống khuôn dẻo kênh dẫn vi lưu cũng được khảo sát trên thiết bị này.

2.4.2. Hệ đo đặc trưng phổ phát xạ của laser vi cầu sinh học

Minh họa các thành phần và cách bố trí chúng trong hệ đo như Hình 2.22, ảnh thực tế của hệ đo như Hình 2.23. Các thành phần cụ thể bao gồm:

1. Nguồn laser xung

Trong hệ đo này, tôi sử dụng nguồn bơm là laser xung Nd: YAG (Litron Lasers) với bước sóng 532 nm, tần số 10 Hz và độ rộng xung 4-7 ns. Công suất của xung laser có thể điều khiển được.

2. Các gương điều hướng chùm tia laser

Được sử dụng để điều chỉnh hướng của chùm tia laser phát ra từ nguồn laser xung. Chúng có thể điều chỉnh vị trí, hướng bởi các cơ cấu cơ khí gắn trên bàn quang học. Chùm laser chiếu tới vi cầu được điều chỉnh thông qua các gương để tạo góc nghiêng khoảng 45 độ so với phương ngang.

3. Thấu kính hội tụ

Được sử dụng để hội tụ chùm tia laser lên trên mẫu, có thể điều chỉnh vị trí, hướng trên bàn quang học. Thông qua thấu kính hội tụ, chùm laser chiếu tới để chứa mẫu có dạng elip với diện tích khoảng $350 \mu\text{m}^2$.

4. Đế chứa mẫu

Là các đế thủy tinh chứa các vi cầu đã được đánh dấu vị trí (được chuẩn bị từ các bước chế tạo trước).

5. Kính hiển vi quang học

Kính hiển vi Amscope (Model MBL 2000T, độ phóng đại 5-100 lần), được sử dụng để quan sát ảnh quang học của các vi cầu và thu tín hiệu laser phát ra từ vi cầu dẫn tới máy phân tích phổ.

6. Kính lọc

Được sử dụng để lọc dải bước sóng nhỏ hơn 532 nm từ chùm laser phát ra từ mẫu tới máy phân tích phổ.

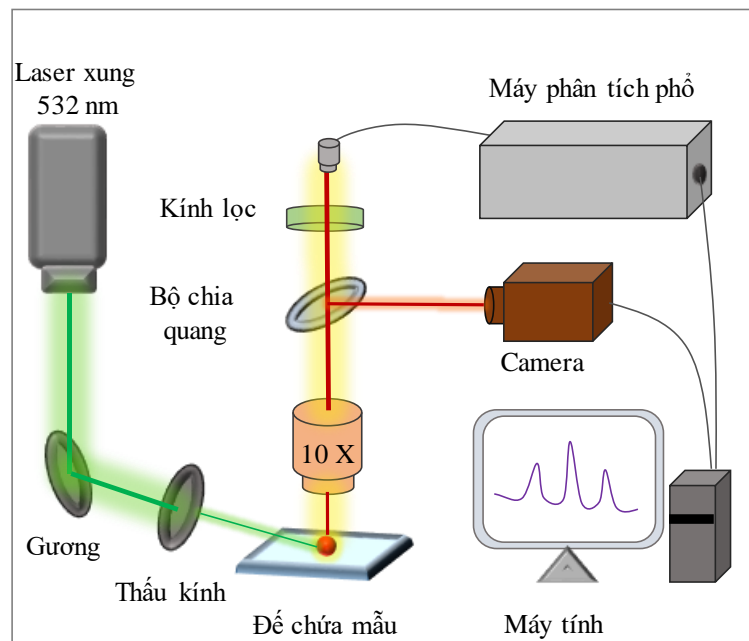
7. Máy phân tích phổ

Được sử dụng để thu nhận và phân tích phổ phát xạ từ laser vi cầu. Thiết bị sử dụng trong hệ đo là model AvaSpec-2048L (Avantes) kết nối với kính hiển vi qua sợi

quang. Vùng dải phổ có thể phân tích trong khoảng từ 550 nm tới 720 nm, độ phân giải 0,2 nm.

8. Camera

Được sử dụng để chụp ảnh và quay video thời gian thực các laser vi cầu, kết nối trực tiếp máy tính (độ phân giải 5 MP).

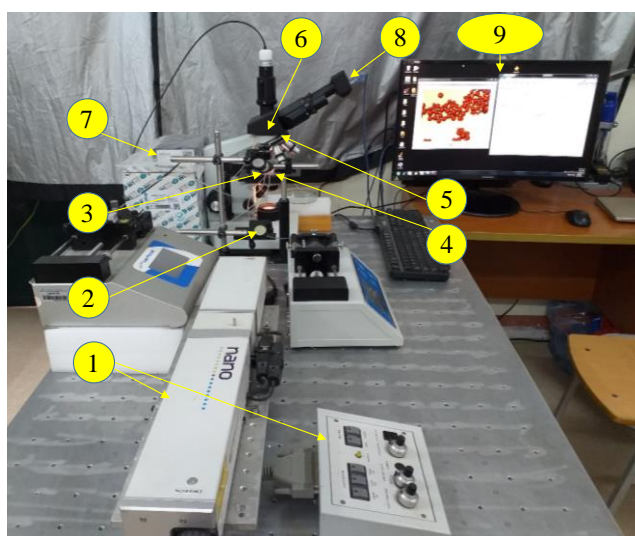


Hình 2.22. Minh họa hệ đo phổ phát quang nghiên cứu tính chất của laser vi cầu.

9. Máy tính

Được sử dụng để lưu dữ liệu ảnh laser vi cầu thông qua kính hiển vi quang học và dữ liệu phổ laser từ máy phân tích quang phổ.

Chùm laser xung kích thích 532 nm được phát ra từ nguồn Litron Lasers, sau khi đi qua hệ thống gương điều hướng và thấu kính hội tụ, chiếu tới vi cầu được đặt trên đế kính. Mức năng lượng xung kích thích được điều khiển thay đổi từ bộ điều khiển của Litron Lasers. Vị trí vết chiếu được điều chỉnh thông qua gương điều hướng. vị trí của vi cầu được điều khiển thông qua bàn chỉnh hướng hai chiều của kính hiển vi.



Hình 2.23. Hệ đo đặc trưng phổ của laser vi cầu thực tế.

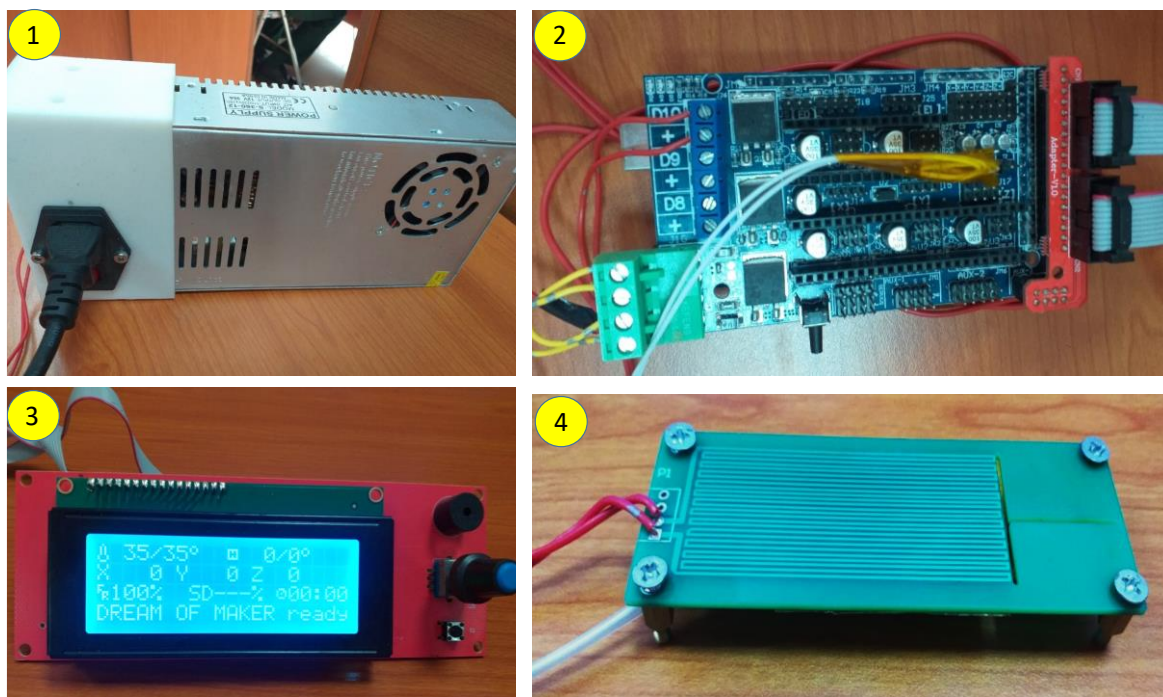
2.4.3. Hệ thiết bị điều khiển nhiệt độ để tiếp xúc với laser vi cầu

Để khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ lên đặc tính của laser vi cầu sinh học cũng như khả năng ứng dụng của laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ, hệ thiết bị được sử dụng bao gồm 4 thành phần chính như Hình 2.24. Vai trò và chức năng của từng khối như sau:

(1) *Khối nguồn:* Khối nguồn có vai trò chuyển đổi nguồn xoay chiều thành nguồn một chiều ổn định và cung cấp cho mạch điều khiển nhiệt độ, tấm gia nhiệt và thiết bị hiển thị. Đầu vào của khối nguồn là dòng điện xoay chiều 220V, thông qua mạch chỉnh lưu và máy biến áp cung cấp đầu ra của khối nguồn là dòng điện một chiều điện áp 12V, cường độ dòng điện 2,5 A cấp cho tấm gia nhiệt và điện áp 5V, cường độ dòng điện 500 mA cấp cho mạch điều khiển. Khối nguồn được bảo vệ trong vỏ hộp nhôm với các khe rỗng để thông khí và tản nhiệt. Cụm quạt thông gió cũng được bố trí giúp tăng cường khả năng trao đổi nhiệt của khối.

(2) *Mạch điều khiển trung tâm:* Sử dụng một bo mạch Arduino điều khiển nhiệt độ có khả năng lập trình. Bo mạch nhận thông tin nhiệt độ từ cặp nhiệt điện được gắn ở tấm gia nhiệt, so sánh với nhiệt độ thiết lập và điều khiển phù hợp công suất điện

cung cấp cho tấm gia nhiệt (thông qua thay đổi dòng điện cung cấp cho điện cực đồng ở tấm gia nhiệt).



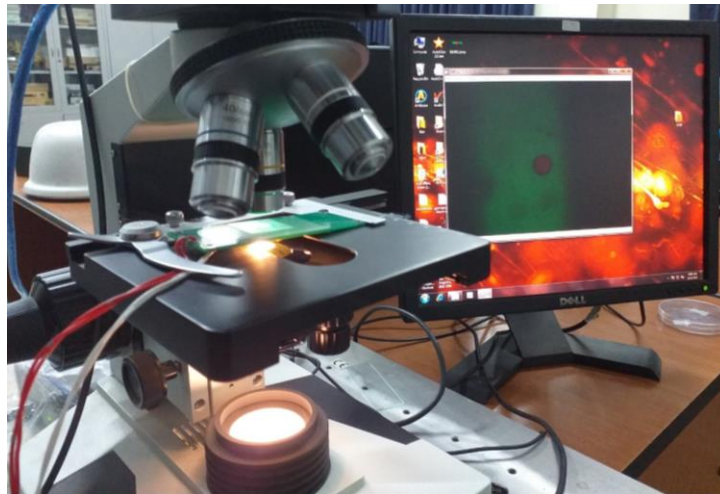
Hình 2.24. Các thành phần trong hệ điều khiển nhiệt độ.

(3) *Tấm gia nhiệt:* Có kích thước tổng thể 2,5 x 6,5 cm. Một lò vi nhiệt sử dụng các điện cực đồng được in trên bản mạch in PCB. Điện cực đồng được cấp nguồn từ mạch điều khiển để thay đổi nhiệt độ của điện cực và cả đế bản mạch in. Các điện cực được thiết kế dạng răng lược, gồm 13 cặp điện cực bố trí trên vùng diện tích 2,0 x 5,5 cm. Phía dưới của đế gia nhiệt được gắn một cặp nhiệt điện loại K, để lấy thông tin nhiệt độ gửi về mạch điều khiển trung tâm.

(4) *Khối hiển thị và điều khiển:* Bao gồm một màn hình LCD hiển thị các thông số của nhiệt độ điều khiển, nhiệt độ thiết lập, nguồn và các thông tin hệ thống khác. Màn hình LCD được gắn cố định trên một bản mạch PCB. Nút điều khiển, nút reset được bố trí cùng trên tấm PCB này.

Khối thiết bị này sau đó được tích hợp cùng hệ đo các thông số đặc trưng của laser vi cầu như Hình 2.25. Tấm gia nhiệt trong khối điều khiển nhiệt độ được gắn

trên bàn di chuyển của kính hiển vi. Đế kính (kích thước 18 x 18 mm, chiều dày 1 mm, chứa các laser vi cầu ở trên) được đặt lên vùng không gian điện cực đồng. Vị trí của đế kính được điều chỉnh phù hợp sao cho các vi cầu nằm trên phía trên điện cực đồng (để có thể quan sát thấy chúng trên kính hiển vi như ảnh trên màn hình máy tính tại ở Hình 2.25).



Hình 4.25. Tích hợp thiết bị điều khiển nhiệt độ vào hệ đo các thông số của laser vi cầu.

Trước khi khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ lên đặc tính của laser vi cầu, đặc trưng gia nhiệt của khối thiết bị điều khiển nhiệt độ được khảo sát:

- Ở chiều tăng nhiệt độ: Tiến hành thiết lập các nhiệt độ khác nhau cần điều khiển, từ giá trị nhiệt độ phòng khoảng 25 °C, tăng dần mỗi lần 2 °C cho tới giá trị 50 °C. Ghi lại các khoảng thời gian đạt nhiệt độ thiết lập tương ứng.
- Ở chiều giảm nhiệt độ: Tiến hành thiết lập các nhiệt độ khác nhau cần điều khiển từ giá trị 50 °C giảm dần mỗi lần 2 °C cho tới giá trị nhiệt độ phòng. Ghi lại các khoảng thời gian đạt nhiệt độ thiết lập tương ứng. Ở chiều giảm này thực hiện khảo sát cả quá trình giảm nhiệt tự nhiên, từ các nhiệt độ thiết lập xuống nhiệt độ phòng.

KẾT LUẬN CHƯƠNG 2

Trong Chương 2 tôi đã trình bày và phân tích chi tiết các bước thực nghiệm trong luận án để chế tạo laser vi cầu sinh học với các nội dung chính:

1. Phân tích các vật liệu sử dụng để chế tạo laser vi cầu sinh học và trong quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu;
2. Trình bày các công đoạn chế tạo laser vi cầu sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein với vật liệu lòng trắng trứng ngỗng pha hoạt chất RhB;
3. Trình bày các công đoạn chế tạo laser vi cầu sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein BSA pha hoạt chất RhB. Khảo sát các thông số trong quy trình chế tạo ảnh hưởng tới hình dạng và kích thước của laser vi cầu.
4. Trình bày quy trình chế tạo kênh dẫn vi lưu, sử dụng kênh dẫn vi lưu để chế tạo điều khiển kích thước của của laser vi cầu.

Các kết quả nghiên cứu đặc trưng của laser từ các vi cầu sinh học sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein sẽ được tôi trình bày trong chương 3; Các kết quả chế tạo kênh dẫn vi lưu, sử dụng kênh dẫn vi lưu điều khiển kích thước laser vi cầu sinh học và ứng dụng chúng cảm biến nhiệt độ sẽ được tôi trình bày trong chương 4.

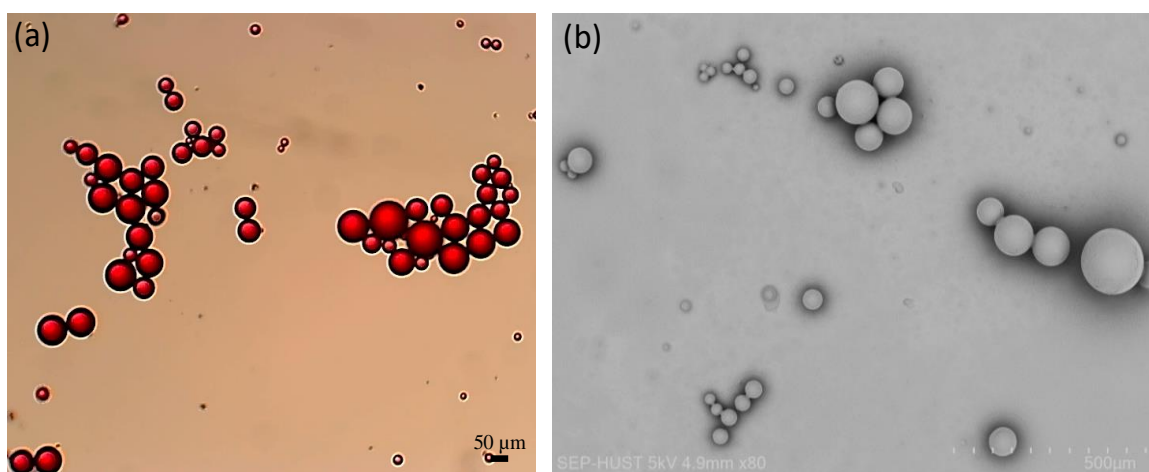
CHƯƠNG 3: ĐẶC TRƯNG CỦA LASER VI CẦU SINH HỌC CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHỬ NƯỚC TỪ DUNG DỊCH PROTEIN

Trong chương này trình bày các kết quả nghiên cứu đặc trưng của laser vi cầu sinh học đã chế tạo bằng phương pháp khử nước từ dung dịch protein từ vật liệu lòng trắng trứng và vật liệu BSA pha hoạt chất màu RhB.

3.1. Đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu lòng trắng trứng pha hoạt chất màu RhB

3.1.1. Hình dạng và kích thước của vi cầu

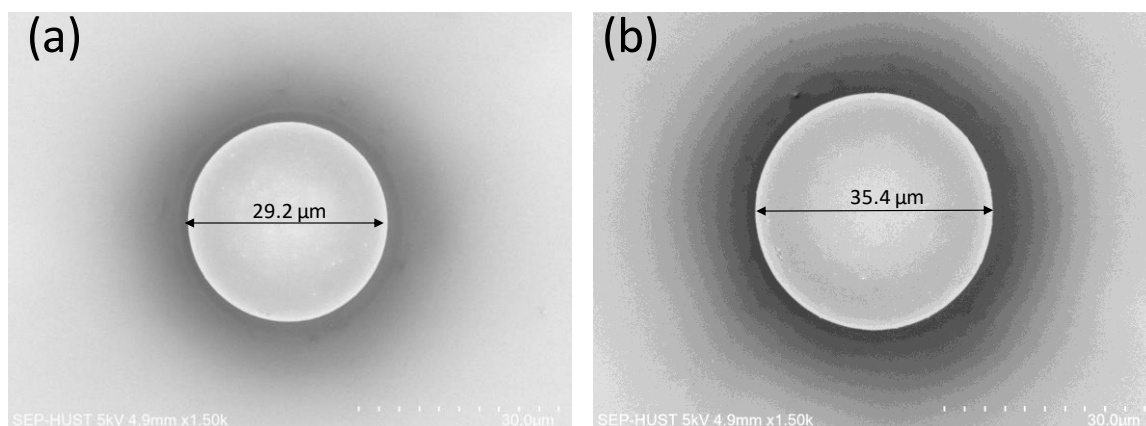
Hình 3.1 là ảnh trên kính hiển vi quang học và hiển vi điện tử quét (SEM) các cụm vi cầu kích thước khác nhau đã được chế tạo thành công theo phương pháp khử nước từ dung dịch protein sử dụng vật liệu lòng trắng trứng pha hoạt chất màu RhB.



Hình 3.1. a) Ảnh quang học của các vi cầu chế tạo từ lòng trắng trứng, b) Ảnh SEM của các vi cầu.

Hình dạng được quan sát rõ với 100% các cấu trúc thu được dạng cầu. Về phân bố màu sắc, các vi cầu có màu đỏ đậm (do hoạt chất RhB) tương đối đồng đều. Trên ảnh SEM như Hình 3.1b thể hiện các cấu trúc vi cầu rõ hơn với dải kích thước thu được theo thống kê từ khoảng 5 - 150 μm. Ở ảnh SEM độ phóng đại cao hơn như Hình 3.2 a,b có thể quan sát thấy bề mặt của các vi cầu sử dụng vật liệu lòng trắng

trứng có xuất hiện một số vùng mấp mô nhỏ cho thấy chất lượng của các vi cầu đã chế tạo chưa thực sự cao.



Hình 3.2. Ảnh chụp SEM của hai vi cầu làm từ vật liệu lòng trắng trứng.

Thông kê kích thước khoảng 20 vi cầu lựa chọn ngẫu nhiên như Bảng 3.1:

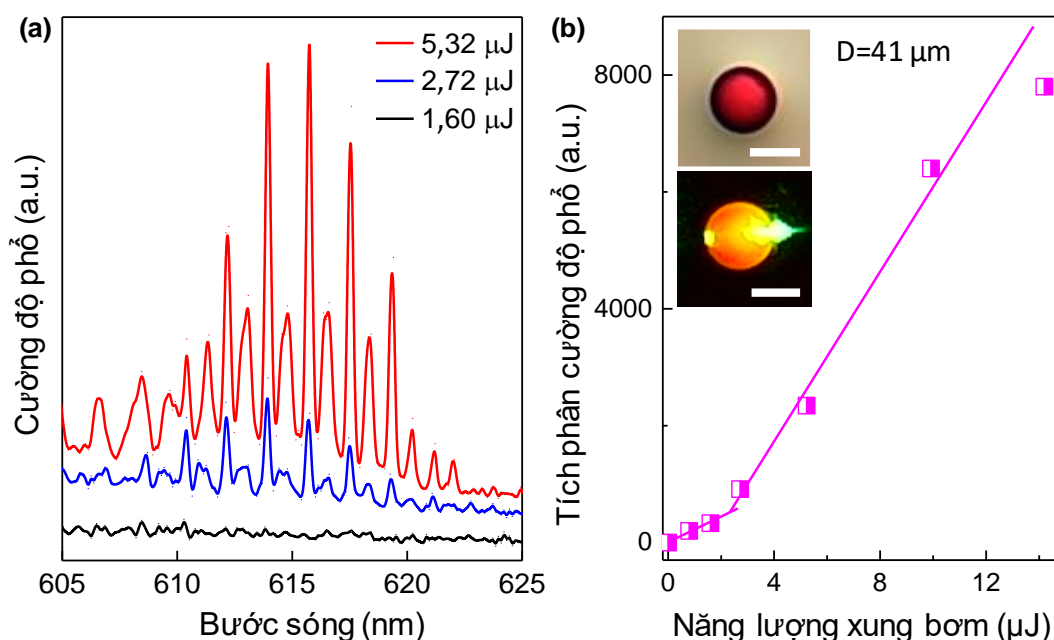
Bảng 3.1: Thống kê kích thước của 20 vi cầu ngẫu nhiên (xếp thứ tự từ nhỏ tới lớn)

Số TT	Kích thước (μm)	Số TT	Kích thước (μm)
1	8,2	11	44,6
2	21,6	12	44,7
3	26,5	13	50,1
4	29,2	14	52,8
5	33,7	15	58,2
6	35,4	16	70,6
7	38,8	17	71,5
8	40,3	18	78,8
9	41,4	19	84,3
10	43,0	20	105,2

3.1.2. Ngưỡng phát laser

Các vi cầu chế tạo từ protein trong lòng trắng trứng ngỗng pha hoạt chất màu RhB được bảo quản và đánh dấu như đã mô tả trong phần thực nghiệm được sử dụng để nghiên cứu đặc tính ngưỡng phát. Các thông tin cụ thể như sau:

1. Tổng số vi cầu khảo sát ngưỡng phát laser: 11;
2. Nhiệt độ khảo sát: Nhiệt độ phòng (khoảng 25 °C);
3. Dải kích thước vi cầu: từ khoảng 30 tới 140 μm .

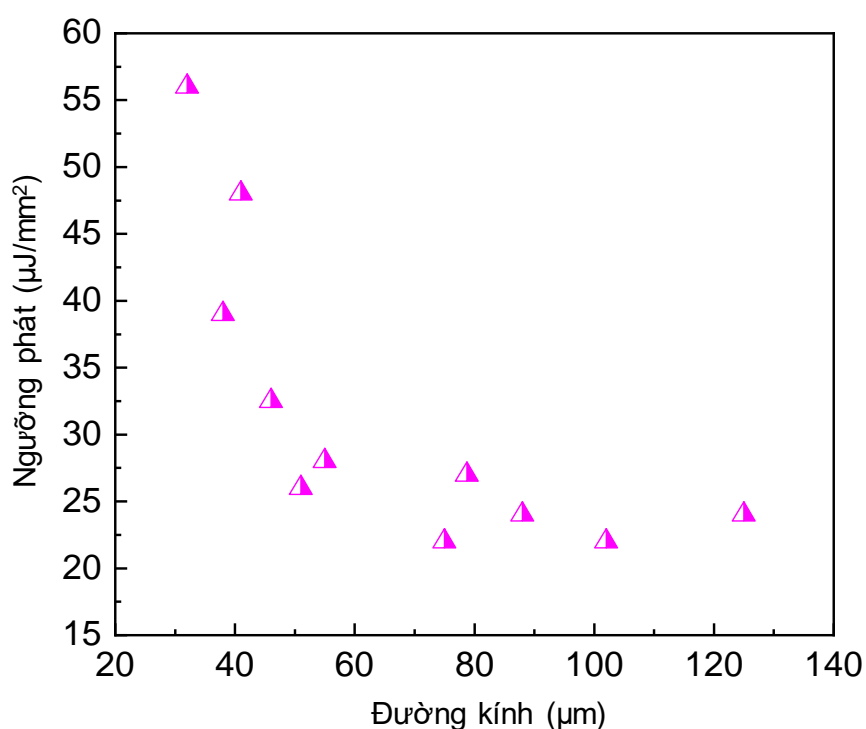


Hình 3.3. a) Phổ phát xạ của vi cầu có đường kính 41 μm làm từ vật liệu lòng trắng trứng pha hoạt chất màu RhB, dưới các năng lượng xung bơm khác nhau. b) Tích phân cường độ phổ để tính toán ngưỡng phát laser của vi cầu, ảnh chèn là vi cầu ở trạng thái bình thường và khi được kích thích bởi xung laser 2,72 μJ , kích thước của thanh bar là 50 μm .

Với mỗi vi cầu vị trí đế kính được điều chỉnh phù hợp để vị trí của vi cầu nằm ở khoảng giữa của vùng xung laser kích thích chiếu tới. Tiến hành tăng dần năng lượng của chùm laser kích thích và ghi lại đặc trưng phổ laser trên máy tính. Kết quả cho thấy tất cả các vi cầu đã khảo sát đều xuất hiện phổ laser, đạt tỷ lệ 100%. Trên Hình 3.3a là phổ phát xạ laser từ vi cầu có đường kính 41 μm với các

mức năng lượng xung bơm tăng dần, lần lượt là 1,60, 2,72 và 5,32 $\mu\text{J}/\text{xung}$. Vùng bước sóng quan sát thấy sự xuất hiện của các mode laser trong vùng 580 - 630 nm. Cường độ các mode phát tăng tỷ lệ với sự gia tăng của cường độ xung laser bơm. Ngưỡng phát laser được tính toán bằng cách lấy tích phân cường độ phổ phát xạ, kết quả như trên Hình 3.6b cho thấy giá trị ngưỡng phát khoảng khoảng 2,5 $\mu\text{J}/\text{xung}$, tương ứng với mật độ năng lượng khoảng 26 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ (do đường kính của chùm laser hội tụ khoảng 350 μm). Ngưỡng phát này khi so sánh với laser vi cầu có kích thước tương đương sử dụng vật liệu BSA pha RhB cao hơn khoảng 3 lần [81], nhưng thấp hơn khoảng 40 lần so với laser vi hạt làm từ vật liệu tinh bột khoai tây [94].

Thống kê ngưỡng phát laser trên 11 vi cầu khác trong dải kích thước từ 30 tới 130 μm cho thấy 100% các cấu trúc vi cầu đều thu được đặc trưng phát laser.



Hình 3.4. Sự phụ thuộc ngưỡng phát của laser vi cầu sử dụng vật liệu lòng trắng trứng vào kích thước.

Thông tin cụ thể ngưỡng phát laser được tổng hợp như trên Hình 3.7, chi tiết ngưỡng phát của 10 vi cầu được liệt kê trong Bảng 3.2. Xu thế ngưỡng phát laser

giảm dần khi kích thước của các vi cầu tăng lên, cụ thể ngưỡng phát thay đổi từ mức 55 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ với vi cầu có kích thước 30 μm giảm xuống mức 25-35 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ với các vi cầu có kích thước trong khoảng 40 - 60 μm . Ngưỡng phát thấp nhất thu được trong khoảng 22 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ với các vi cầu trong dải kích thước 80 -100 μm .

Bảng 3.2: Thống kê ngưỡng phát của cụm 10 vi cầu ở các kích thước khác nhau

Số TT	Kích thước (μm)	Ngưỡng phát ($\mu\text{J}/\text{mm}^2$)	Số TT	Kích thước (μm)	Ngưỡng phát ($\mu\text{J}/\text{mm}^2$)
1	32,1	56	6	75,3	22
2	41,4	48	7	78,7	24
3	46,3	33	8	87,8	24
4	54,9	28	9	102,5	32
5	51,2	26	10	124,6	27

Khi thống kê trên toàn bộ dải kích thước đã khảo sát, ngưỡng phát của laser vi cầu làm từ vật liệu lòng trắng trứng cao hơn khoảng 2-3 lần so với một số công trình đã công bố sử dụng vật liệu protein chiết xuất tinh khiết [77, 81]. Điều này có thể giải thích do hai nguyên nhân chính ảnh hưởng như sau:

Thứ nhất: Dung dịch lòng trắng trứng bao gồm các loại protein khác nhau cùng nhiều thành phần tạp chất dẫn tới gia tăng sự suy hao bức xạ do hấp thụ vật liệu.

Thứ hai: Chất lượng bề mặt của các vi cầu chế tạo từ lòng trắng trứng (như quan sát trên các ảnh SEM) có độ nhẵn bề mặt chưa cao, xuất hiện các vị trí nhấp nhô trên bề mặt dẫn tới suy hao do tán xạ bức xạ cũng như suy hao bức xạ tại bề mặt cong của cấu trúc gia tăng, dẫn tới ngưỡng phát cao hơn.

Thông số ngưỡng phát của laser vi cầu sinh học sẽ được cải thiện khi sử dụng vật liệu protein được tinh chiết (BSA) sẽ trình bày ở phần sau.

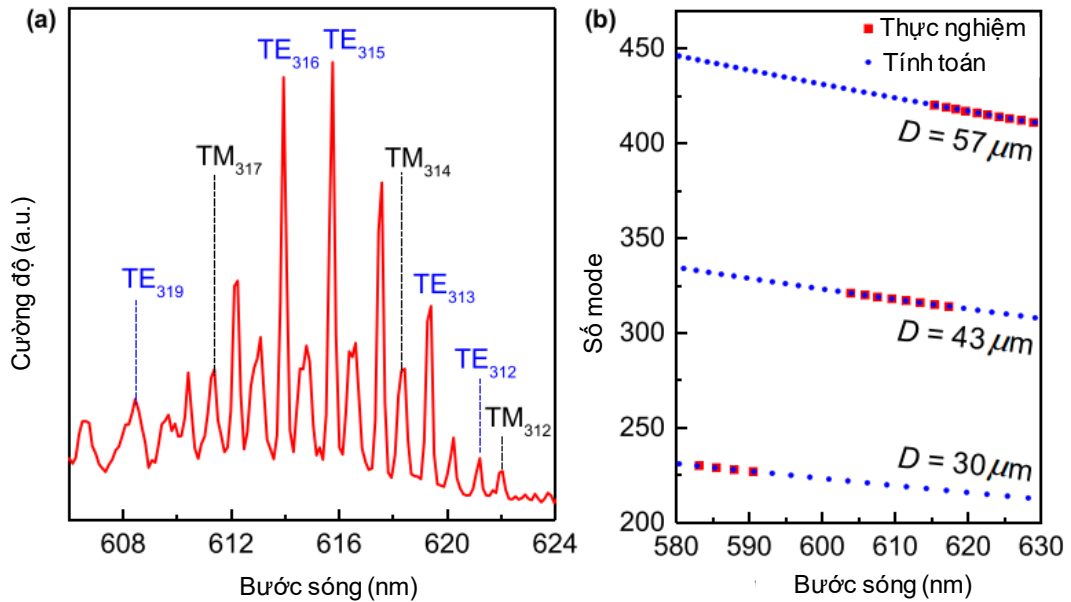
3.1.3. Vị trí mode của laser

Đặc trưng phổ laser được thực hiện trong môi trường không khí, chiết suất $n_o \approx 1$ do đó vị trí các mode laser cơ bản ($q = 1$) thường được xem xét vì chúng được quan sát với cường độ cao nhất trong nghiên cứu thực nghiệm [84]. Vị trí các mode TE và TM trong phổ phát xạ của laser vi cầu biểu diễn theo công thức gần đúng (1.12 và 1.13).

$$\lambda_{TE} \approx 2\pi R n_s / \left(m + 1.856m^{\frac{1}{3}} + \left(\frac{1}{2} - \frac{n_s}{\sqrt{n_s^2 - 1}} \right) \right);$$

$$\lambda_{TM} \approx 2\pi R n_s / \left(m + 1.856m^{\frac{1}{3}} + \left(\frac{1}{2} - \frac{1}{n_s \sqrt{n_s^2 - 1}} \right) \right)$$

ở đây R là bán kính vi cầu, n_s là chiết suất vi cầu (trong dải bước sóng 600 nm - 650 nm) và m là số mode góc.



Hình 3.5. a) Vị trí các mode của laser vi cầu từ lòng trắng trứng thu được từ thực nghiệm và các vị trí mode theo tính toán lý thuyết, b) Vị trí mode thu được theo thực nghiệm từ 3 vi cầu có kích thước khác nhau so sánh với các vị trí mode theo lý thuyết.

Phân tích đặc trưng phổ của các laser vi cầu sử dụng lòng trắng trứng ngỗng pha tạp RhB cho thấy sự phù hợp tốt của các vị trí mode theo lý thuyết WGM laser. Cụ thể trên Hình 3.5a thể hiện vị trí các mode laser thu được từ thực nghiệm khi kích thích phát từ vi cầu có đường kính 43 μm dưới năng lượng kích thích 5,32 $\mu\text{J}/\text{xung}$. Với giá trị chiết suất giả định của lòng trắng trứng khoảng 1,49 các đường nét đứt là vị trí các mode TE và TM trong khoảng giá trị của m từ 312 tới 319. Kết quả cho thấy sự tương thích tốt giữa thực nghiệm và lý thuyết.

Sự phụ thuộc vị trí mode theo kích thước của một số vi cầu được biểu diễn trên Hình 3.8b với 3 vi cầu ở các kích thước khác nhau: 30, 43 và 57 μm . Các vị trí nét đứt chấm tròn (màu xanh) tương ứng với vị trí mode TE theo công thức 1.12, vị trí các chấm vuông (màu đỏ) là vị trí các mode TE quan sát thấy trong thực nghiệm cho thấy sự tương thích tốt với nhau. Kết quả thống kê chi tiết trong Bảng 3.3. Ở đây có các vị trí mode theo lý thuyết không quan sát thấy trong đặc trưng phổ thực nghiệm có thể giải thích là do chúng bị hấp thụ bởi vật liệu hoặc suy hao do quá trình tán xạ.

Bảng 3.3: Sự phù hợp giữa vị trí mode cộng hưởng TM lý thuyết và thực nghiệm

Mẫu 1: $D= 30 \mu\text{m}$		
m	Giá trị λ_{TM} lý thuyết (nm)	Giá trị λ_{TM} thực nghiệm (nm)
227	590,64	590,56
228	587,83	587,95
229	585,34	585,51
230	582,87	583,14
Mẫu 2: $D= 43 \mu\text{m}$		
314	617,44	617,34
315	615,22	615,40
316	613,32	613,46
317	611,43	611,50
318	609,56	609,55

319	607,69	607,60
320	605,84	605,88
321	603,99	603,92
Mẫu 3: $D= 57 \mu\text{m}$		
411	629,12	628,53
412	627,30	627,20
413	625,82	625,89
414	624,34	624,58
415	622,86	623,27
416	621,40	621,91
417	619,94	620,47
418	618,48	619,11
419	617,04	617,70
420	615,60	616,25

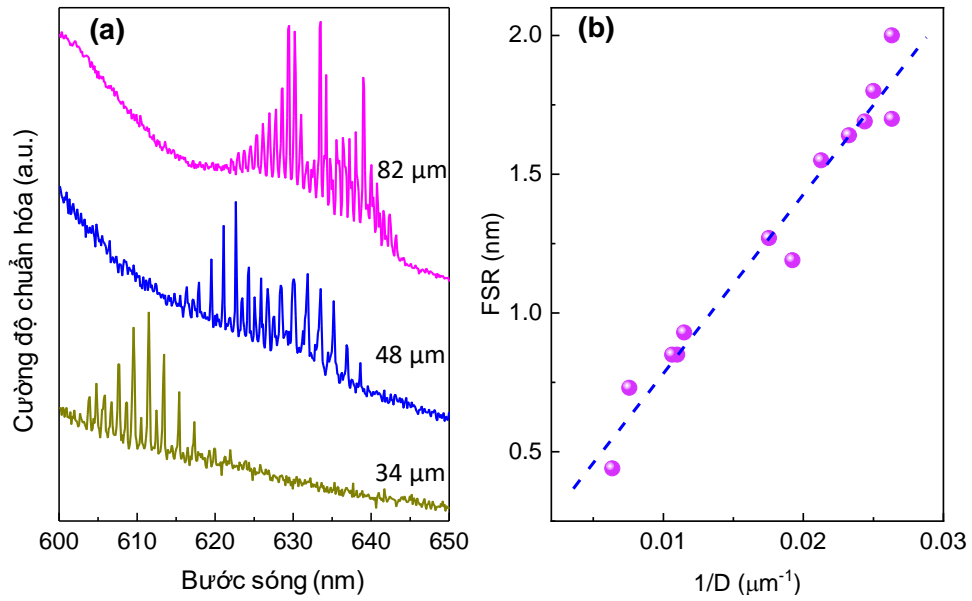
3.1.4. Khoảng phổ tự do

Sự thay đổi của khoảng phổ tự do liên quan trực tiếp tới kích thước của vi cầu [97], được biểu diễn gần đúng (Công thức 1.15):

$$FSR \approx \frac{\lambda^2}{\pi n_{\text{eff}} D}$$

ở đây, D là đường kính của laser vi cầu, λ là bước sóng cộng hưởng, n_{eff} là chiết suất hiệu dụng, trong trường hợp môi trường không khí n_{eff} lấy gần đúng là n_s .

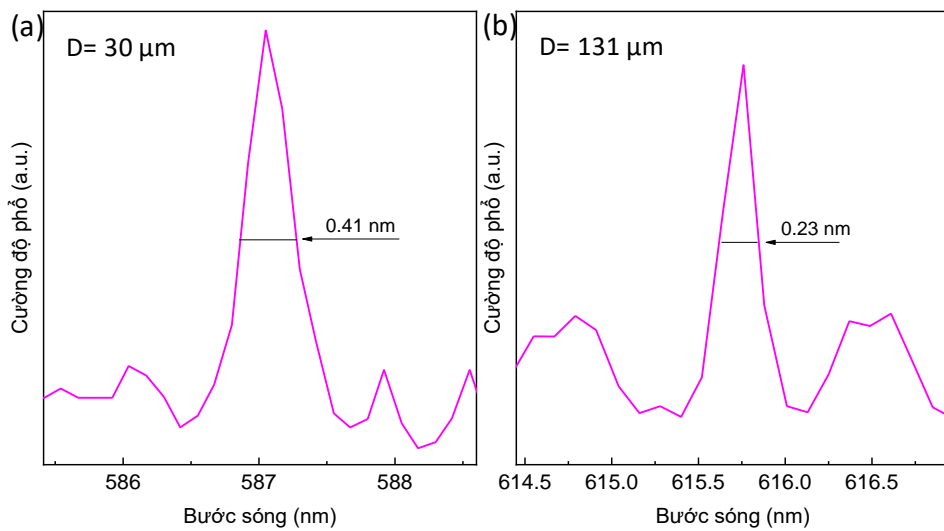
Trên Hình 3.6a là phổ phát xạ laser từ 03 vi cầu có đường kính lần lượt là 34, 48 và 82 μm . Kích thước của vi cầu tăng dần dẫn tới thông số FSR có xu hướng sát lại gần nhau hơn và số lượng mode laser quan sát thấy nhiều hơn. Với giả thiết chiết suất của lòng vật liệu lòng trắng trứng trong dải bước sóng 600 - 650 nm khoảng 1,49, bước sóng cộng hưởng trung bình là 616 nm, đường biểu diễn sự phụ thuộc của FSR theo đường kính của nguồn laser vi cầu (màu xanh nước biển, nét đứt) cho thấy sự phù hợp tuyến tính tốt với các giá trị FSR đo được từ phổ thực nghiệm.



Hình 3.6. a) Phổ phát xạ laser của 03 vi cầu kích thước khác nhau làm từ vật liệu lòng trắng trứng, b) Sự phù hợp của FSR đo thực nghiệm và công thức biểu diễn theo lý thuyết.

3.2.5. Hệ số phẩm chất

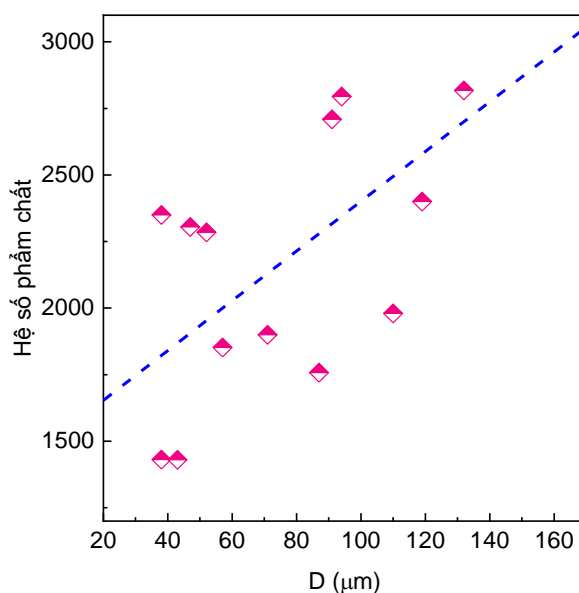
Hệ số phẩm chất Q của laser vi cầu phụ thuộc vào kích thước, chất lượng bề mặt và vật liệu chế tạo của chúng [97].



Hình 3.7. a-b) Hình ảnh mode laser và bán độ rộng phổ của hai laser vi cầu có đường kính lần lượt 30 và 131 μm được kích thích bởi xung 5,23 μJ .

Trên Hình 3.7 là hai laser mode (chọn mode có cường độ cực đại trong phổ phát xạ laser) tại vị trí bước sóng 587,2 nm và 615,8 nm của hai vi cầu có đường kính tương ứng là 30 và 131 μm (Dưới xung laser kích thích 5,23 μJ). Kết quả cho thấy độ rộng của $\Delta\lambda$ tương ứng là 0,41 nm và 0,23 nm, giá trị do đó Q được tính toán theo công thức 1.24 lần lượt là 1430 và 2680.

Thống kê trên 13 vi cầu có kích thước từ 30 tới 131 μm , cho thấy hệ số Q tăng từ vùng 1400 tới 2800 tương ứng với sự gia tăng của kích thước vi cầu. Giá trị hệ số phẩm chất cho thấy sự tương đương với một số công trình nghiên cứu về laser vi cầu sinh học đã công bố [81, 94].



Hình 3.8. Sự phụ thuộc của hệ số phẩm chất Q theo kích thước của laser vi cầu.

Như vậy các nguồn laser vi cầu sử dụng vật liệu protein từ lòng trắng trứng pha hoạt chất màu RhB đã được chế tạo thành công. Ngưỡng phát trong khoảng 22- 55 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$, hệ số phẩm chất thu được trong khoảng 1400 – 2800 với các vi cầu có kích thước từ 30 tới 131 μm . Tuy ngưỡng phát laser cao hơn một số nguồn vi cầu từ vật liệu protein tinh khiết nhưng vật liệu lòng trắng trứng lại có ưu điểm về giá thành rẻ và tính sẵn có. Vì vậy đây cũng là một ứng cử viên tốt cho các nguồn laser vi cầu sinh học. Các kết quả này đã được tổng hợp và công bố trên tạp chí *Journal of Physics D: Applied Physics*.

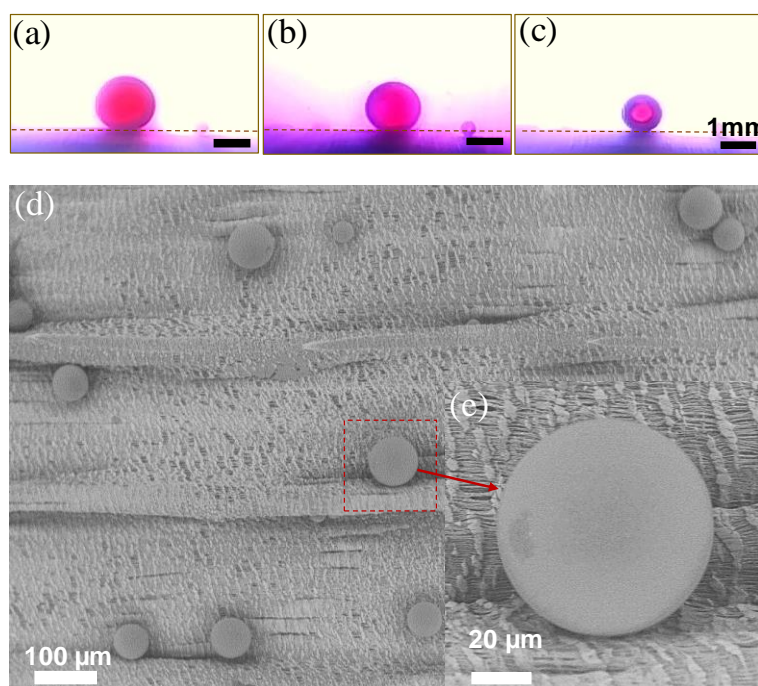
Do dung dịch protein từ lòng trắng trứng có tỷ lệ protein tương đối thấp (khoảng 10%, bên cạnh đó còn chứa nhiều thành phần tạp chất dẫn tới bề mặt các cấu trúc vi cầu chế tạo chưa tốt, ảnh hưởng tới ngưỡng phát của nguồn laser. Để cải thiện chất lượng của laser vi cầu sinh học tôi đã sử dụng vật liệu protein tinh khiết (đã qua công đoạn chiết xuất) là BSA. Các kết quả chế tạo laser vi cầu từ vật liệu này được trình bày tiếp sau đây.

3.2. Đặc trưng của laser vi cầu sinh học sử dụng vật liệu protein BSA pha hoạt chất màu RhB

3.2.1. Hình dạng, kích thước và thời gian chế tạo laser vi cầu sinh học

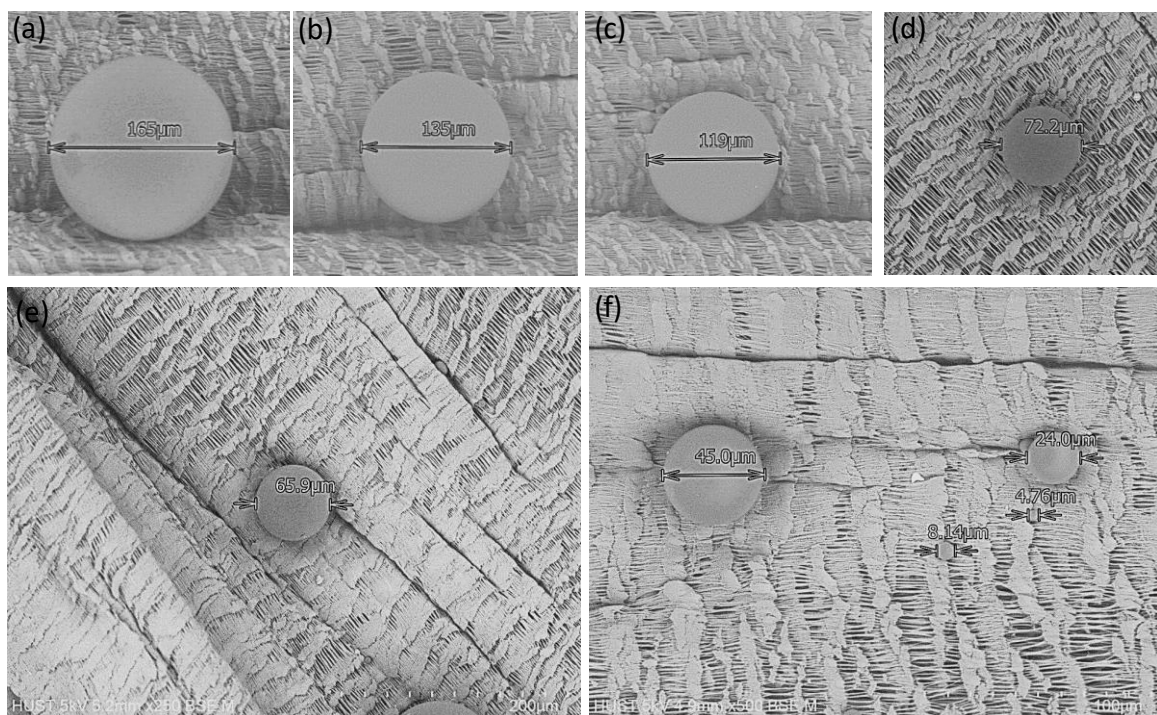
3.2.1.1. Hình dạng và kích thước

Để quan sát rõ hơn quá trình khử nước theo phương ngang, tôi tạo ra giọt lỏng có đường kính ban đầu khoảng 1,7 mm trong dung dịch khử nước Decanol (Nồng độ dung dịch BSA là 500 mg/mL, tỷ lệ hoạt chất RhB: BSA là 1:100). Giọt kích thước lớn để quá trình ghi ảnh theo phương ngang dễ thực hiện hơn.



Hình 3.9. a,b,c) Giọt lỏng duy trì hình dạng cầu trong quá trình khử nước, d) Ảnh SEM của các vi cầu trên đế Teflon, f) Ảnh SEM của một vi cầu được phóng to.

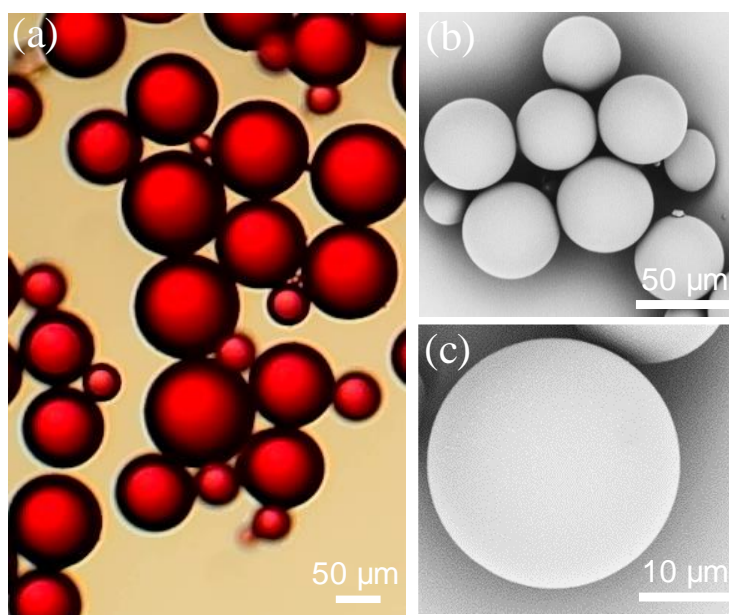
Sau thời gian 120 phút của quá trình rút nước, kích thước giảm dần và đạt tới trạng thái cân bằng với đường kính khi ổn định khoảng 1,2 mm. Trong quá trình từ khi bắt đầu cho tới khi hoàn thành khử nước, do đặc tính kỵ nước của lớp màng Teflon đã bọc trên đế kính mà cấu trúc dạng cầu được duy trì như quan sát trên Hình 3.9 a-c. Các vi cầu ở vùng kích thước micro mét được chế tạo và bố trí nằm rải rác như trên ảnh SEM (Hình 3.9 d). Ở độ phóng đại cao hơn ở Hình 3.12e có thể quan sát thấy bề mặt nhẵn bóng của vi cầu, cho thấy sự cải thiện tốt hơn đặc tính bề mặt khi so sánh với các vi cầu được chế tạo từ vật liệu lòng trắng trứng. Trên Hình 3.10 a-f là ảnh SEM của 9 vi cầu có kích thước khác nhau, đường kính của chúng theo thứ tự giảm dần lần lượt là 165, 135, 119, 72,2, 65,9, 45, 24, 8,14 và 4,76 μm .



Hình 3.10. Ảnh SEM của các vi cầu có kích thước khác nhau trên màng Teflon.

Một số vi cầu đã chế tạo được chuyển sang các đế kính phục vụ việc quan sát, đánh dấu, bảo quản và khảo sát đặc trưng laser. Ảnh trên kính hiển vi quang học của các vi cầu trong dải kích thước từ 20 tới khoảng 100 μm thể hiện như trên Hình 3.11 a. Cho thấy tất cả các vi cầu đều có màu đỏ sẫm và màu sắc tương tự nhau, chứng tỏ khả năng liên kết và phân bố đều của hoạt chất RhB trong protein BSA (do cấu trúc

cầu nên phần rìa của chúng quan sát thấy màu đỏ đậm hơn). Trên ảnh SEM như Hình 3.14b các vi cầu có màu sáng và độ tương phản cao hơn do chúng được phun xạ một lớp vàng mỏng lên trên bề mặt. Trên Hình 3.11 c là ảnh SEM độ phóng cao của một vi cầu với kích thước khoảng 22 μm với bề mặt nhẵn bóng.

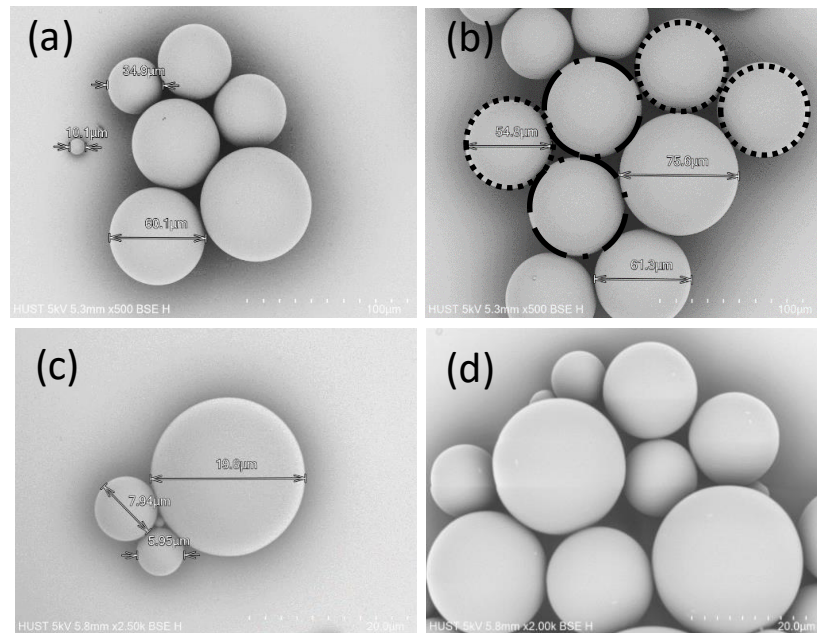


Hình 3.11. a) Ảnh chụp cụm các vi cầu kích thước khác nhau trên kính hiển vi quang học, b, c) Ảnh SEM các vi cầu ở độ phóng đại khác nhau.

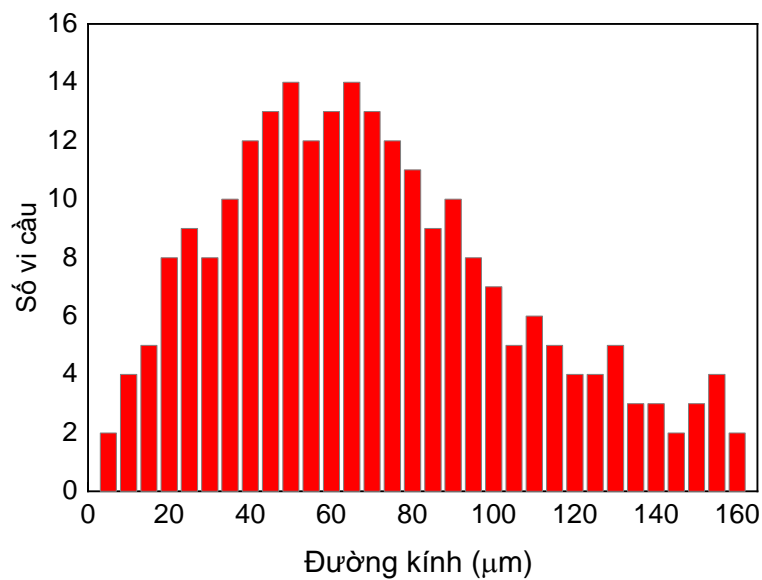
Thống kê dải kích thước vi cầu đã chế tạo thông qua các ảnh chụp SEM (như Hình 3.12). Trên Hình 3.12a,b là vi cầu trong dải kích thước từ 10 tới 76 μm . Ở Hình 3.12 c,d với dải kích thước trong khoảng từ 5 tới 20 μm . Tổng hợp trên một tập hợp ngẫu nhiên khoảng 265 vi cầu, kết quả cho thấy dải kích thước của vi cầu phân bố trong vùng 5 tới 165 μm , tập trung số lượng nhiều hơn các vi cầu phân bố ở vùng 40- 80 μm , kết quả phân bố kích thước được thể hiện như trên Hình 3.13.

Trong số các vi cầu đã chế tạo, bước đầu thu được một số vi cầu có kích thước tương tự nhau như trên Hình 3.12b, có 03 vi cầu kích thước khoảng 54 - 56 μm và 02 vi cầu kích thước khoảng 60 μm trong tổng số 11 vi cầu được quan sát (được đánh dấu bởi các đường tròn nét đứt). Tuy nhiên dải kích thước phân bố của vi cầu khá rộng và số lượng các vi cầu ở cùng kích thước không có nhiều. Do đó phương pháp

này dù đã chế tạo thành công các vi cầu có bề mặt nhẵn bóng nhưng chưa giải quyết được bài toán tạo ra số lượng lớn các vi cầu đồng đều với dải phân bố kích thước hẹp. Vấn đề này sẽ được tôi giải quyết trong chương sau khi sử dụng kết hợp thêm hệ thống kênh dẫn vi lưu.



Hình 3.12. Ảnh SEM các cụm vi cầu kích thước khác nhau.



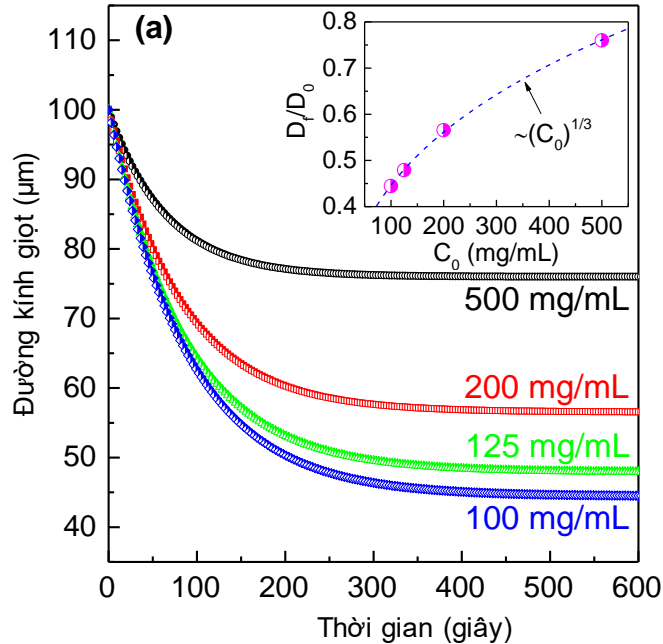
Hình 3.13. Phân bố kích thước của một cụm 265 vi cầu lựa chọn ngẫu nhiên.

3.2.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố tới quá trình khử nước từ dung dịch protein

Khi sử dụng vật liệu lòng trắng trứng do tỷ lệ nước trong dung dịch protein khoảng 90% dẫn tới quá trình khử nước mất nhiều thời gian hơn. Với vật liệu BSA bằng cách sử dụng nồng độ dung dịch protein cao có thể rút ngắn thời gian khử nước, đồng thời việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng khác như nồng độ dung dịch BSA, kích thước giọt ban đầu, nhiệt độ của dung môi khử nước cũng có thể được tiến hành chi tiết. Các nội dung này được trình bày sau đây.

a) Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch BSA ban đầu

Sử dụng các dung dịch có nồng độ BSA ban đầu khác nhau dẫn tới thể tích nước trong các giọt có cùng kích thước sẽ khác nhau. Điều này ảnh hưởng tới kích thước cuối cùng của vi cầu (do lượng nước rút ra khác nhau) cũng như thời gian hoàn thành quá trình khử nước.



Hình 3.14. Quá trình khử nước của bốn giọt BSA với các nồng độ khác nhau. Đường kính ban đầu của các giọt tương tự nhau, xấp xỉ 100 µm. Hình chèn hiển thị tỷ lệ giữa đường kính cuối cùng và đường kính ban đầu của các giọt (D_f/D_0) như một hàm của nồng độ BSA ban đầu.

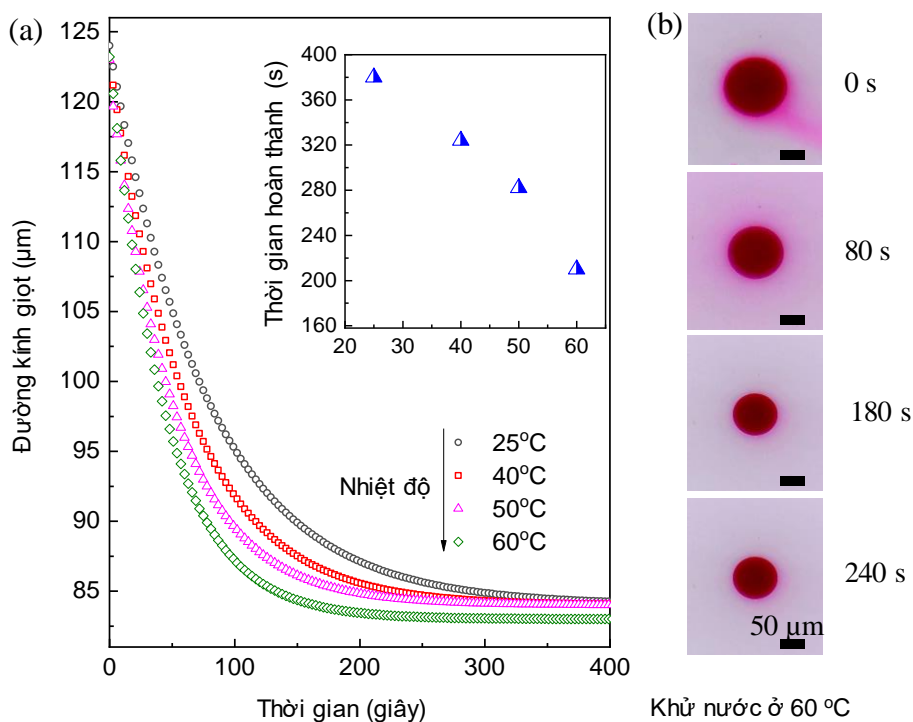
Quá trình giảm dần kích thước của giọt lỏng trong quá trình khử nước được biểu diễn như trên Hình 3.14a (kích thước của bốn giọt ở giá trị đường kính ban đầu khoảng 100 μm). Chúng được tạo ra từ các dung dịch BSA có nồng độ ban đầu khác nhau, lần lượt là 500, 200, 125 và 100 mg/mL (như phần thực nghiệm đã mô tả). Từ bốn giọt lỏng này, kết quả sau quá trình khử nước thu được bốn vi cầu rắn với đường kính lần lượt là 76, 56,5, 48 và 45,5 μm . Hình chèn của Hình 3.14a cho thấy sự thay đổi tỷ lệ đường kính cuối cùng và đường kính ban đầu D_f và D_0 của chúng, tương ứng với biểu thức nồng độ ban đầu $(C_0)^{1/3}$. Như vậy có thể thu được các vi cầu nhỏ hơn từ cùng kích thước ban đầu của các giọt bằng cách giảm nồng độ ban đầu của BSA (nhưng lại cần nhiều thời gian hơn để hoàn thành quá trình khử nước).

b) Ảnh hưởng nhiệt độ Decanol tới quá trình khử nước

Quá trình khử nước ra khỏi các giọt dung dịch protein phụ thuộc vào sự khuếch tán của phân tử nước vào dung môi (Decanol). Để khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ dung môi Decanol tới quá trình sự khử nước các bước tiến hành thực nghiệm được mô tả như trong phần thực nghiệm. Ở đây tôi sử dụng dung dịch BSA có nồng độ 500 mg/mL.

Bốn giọt lỏng có kích thước ban đầu khoảng 124 μm được tạo ra để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình khử nước của chúng. Kết quả từ thực nghiệm cho thấy việc tăng nhiệt độ của Decanol dẫn tới rút ngắn đáng kể thời gian chế tạo vi cầu như biểu diễn trong Hình 3.15a. Cụ thể cần khoảng 380 giây để hoàn thành quá trình khử nước (các vi cầu rắn có kích thước khoảng 84 μm được hình thành) ở nhiệt độ phòng (25 °C) nhưng thời gian này giảm xuống chỉ còn 324 giây (ở 40 °C) và giảm xuống mức 210 giây ở 60 °C. Điều này được giải thích là do khi nhiệt độ tăng tốc độ khuếch tán của nước vào Decanol cũng tăng lên làm giảm thời gian hoàn thành khử nước. Ở đây có thể bỏ qua sự khuếch tán của các phân tử hoạt chất màu RhB vào Decanol, do RhB liên kết chặt với các phân tử BSA [1, 76, 77]. Như quan sát trong Hình 3.15b, màu đỏ đậm của giọt được duy trì trong suốt quá trình khử nước cho đến

khi hình thành một khối cầu rắn và lượng RhB (màu đỏ) khuếch tán vào Decanol là không đáng kể.



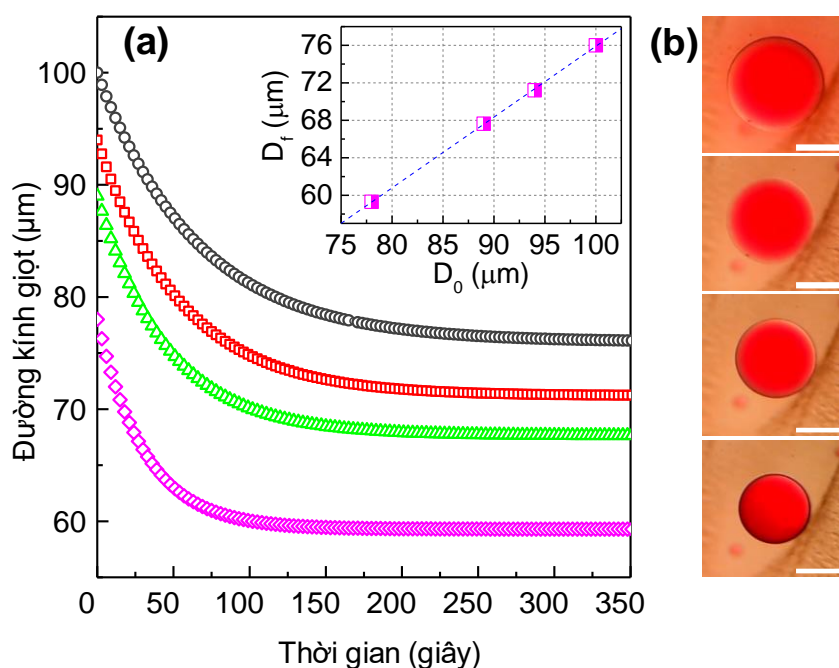
Hình 3.15. a) Ảnh hưởng của nhiệt độ Decanol đến quá trình khử nước, hình chèn biểu diễn thời gian hoàn thành khử nước như dạng một hàm của nhiệt độ (Kích thước ban đầu các giọt tương tự nhau, xấp xỉ 125 μm), b) Ảnh hiển vi quang học của một giọt lỏng trong quá trình khử nước ở các mốc thời gian khác nhau.

c) Ảnh hưởng của kích thước giọt ban đầu

Trong quá trình khử nước kích thước của các giọt lỏng giảm dần cùng với quá trình chuyển sang trạng thái rắn của chúng. Ở cùng nồng độ ban đầu của dung dịch BSA và trong cùng một quá trình khử nước, kích thước cuối cùng của các vi cầu sẽ phụ thuộc vào kích thước ban đầu của các giọt protein.

Kết quả nghiên cứu sự thay đổi kích thước và nồng độ BSA của giọt lỏng theo thời gian khử nước được biểu diễn như Hình 3.16. Thực hiện nghiên cứu trên bốn giọt (BSA pha hoạt chất RhB, cùng nồng độ BSA là 500 mg/mL, tỷ lệ về khối lượng RhB/BSA là 1/100) có đường kính ban đầu lần lượt là 100, 94, 89 và 78 μm . Có thể quan sát thấy như Hình 3.16a, kích thước giọt lớn hơn sẽ cần nhiều thời gian hơn lần

lượt là 350, 310, 245 và 150 giây để hoàn thành quá trình khử nước và đạt tới trạng thái cân bằng. Hình chèn của Hình 3.16a thể hiện đường kính cuối cùng (D_f) của vi cầu sau quá trình khử nước có dạng hàm số tuyến tính so với đường kính ban đầu (D_0) tương ứng, cho thấy có thể tính toán được kích thước của vi cầu rắn thu được từ kích thước các giọt ban đầu. Hình 3.16b ghi lại sự suy giảm kích thước giọt trong quá trình khử nước, từ đường kính ban đầu là 78 μm trở thành vi cầu rắn 44,5 μm .



Hình 3.16. a) Quá trình khử nước của bốn giọt BSA pha hoạt chất RhB kích thước khác nhau. Nồng độ ban đầu của BSA là 500 mg/mL. Hình chèn cho thấy mối quan hệ giữa đường kính cuối cùng (D_f) của vi cầu và đường kính ban đầu giọt lỏng (D_0), b) Ảnh hiển vi quang học của giọt BSA đường kính ban đầu 78 μm trong quá trình khử nước lần lượt ở các mốc thời gian 0, 40, 80 và 150 giây tính từ lúc nó được tạo ra. Tất cả các vạch kích thước đều là 50 μm .

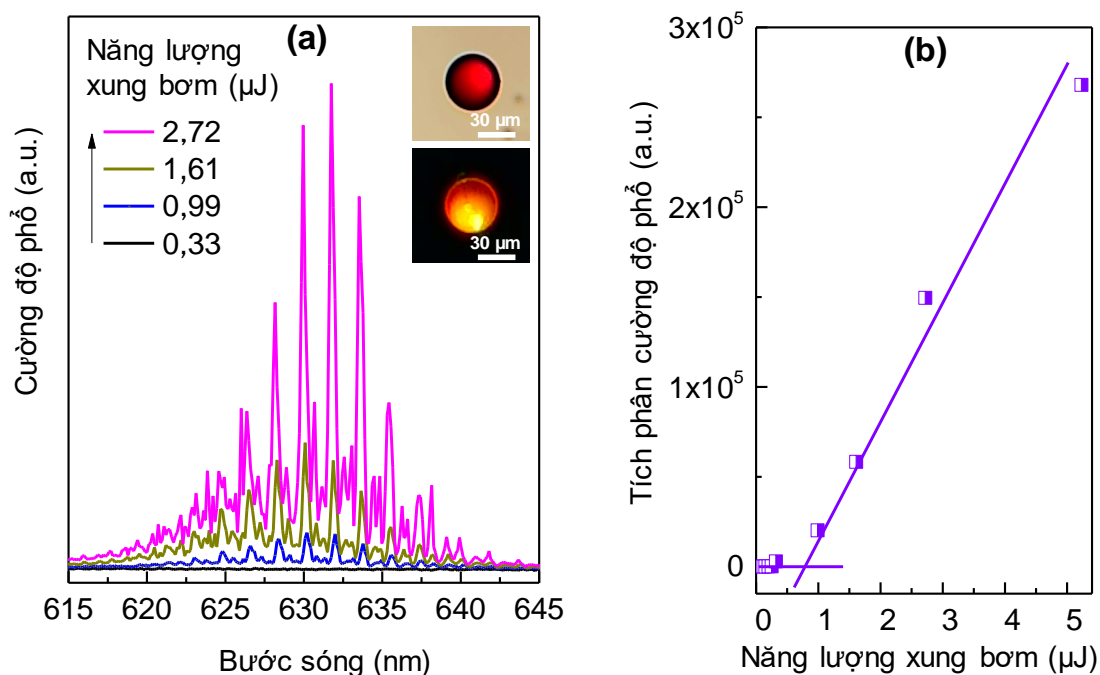
Như vậy khi chế tạo các vi cầu sử dụng quá trình khử nước từ giọt protein có thể thu được các loạt có cùng kích thước bằng cách tạo ra các giọt ban đầu giống nhau. Kết quả này là tiền đề cho các kết quả chế tạo và điều khiển kích thước các vi cầu với dải phân bố hẹp sử dụng hệ thống các kênh dẫn vi lưu mà tôi trình bày trong chương 4.

3.2.2. Ngưỡng phát

Các vi cầu BSA pha hoạt chất màu RhB được bảo quản và đánh dấu như đã mô tả trong phần thực nghiệm được sử dụng để nghiên cứu đặc tính ngưỡng phát.

Thông tin cụ thể như sau:

1. Tổng số vi cầu khảo sát đặc trưng ngưỡng phát: 38;
2. Nồng độ BSA ban đầu từ quá trình khử nước: 500 mg/mL, tỷ lệ RhB: BSA là 1:100, nhiệt độ khử nước 25, 40, 50 và 60 °C;
3. Nhiệt độ khảo sát: Nhiệt độ phòng, khoảng 25 °C;
4. Dải kích thước vi cầu: từ 24 tới 140 μm .

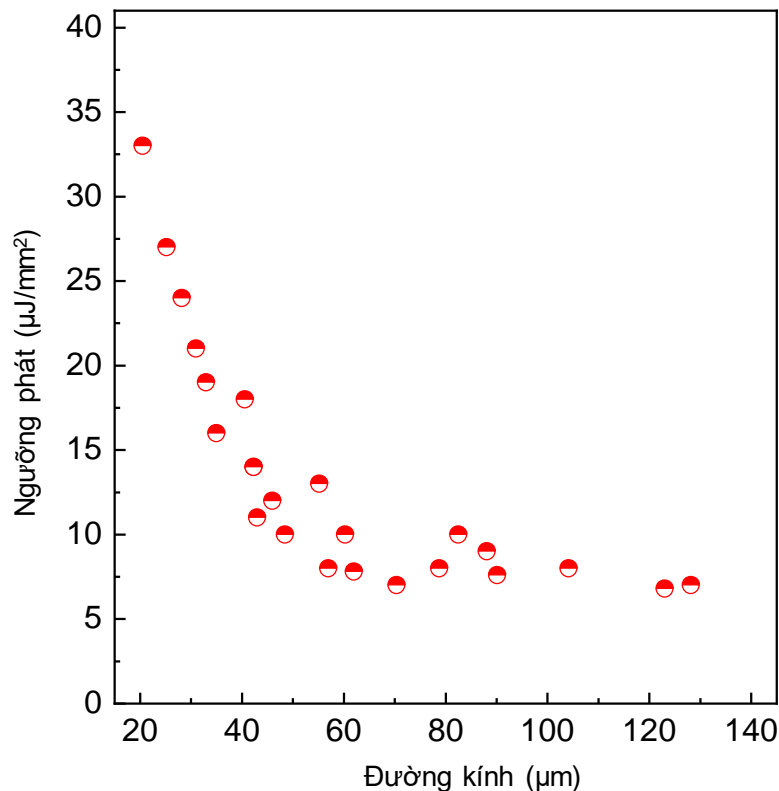


Hình 3.17. a) Phổ phát xạ của vi cầu có đường kính 46 μm , dưới các năng lượng xung bơm khác nhau, b) Tích phân cường độ phổ để tính toán ngưỡng phát laser.

Với mỗi vi cầu vị trí đế kính được điều chỉnh phù hợp để vị trí của vi cầu nằm ở khoảng giữa của vùng xung laser kích thích chiếu tới. Tiến hành tăng dần năng lượng xung laser kích thích phù hợp với từng vi cầu và ghi lại đặc trưng phổ laser trên máy tính. Kết quả thống kê chỉ ra tất cả các vi cầu được nghiên cứu đều xuất hiện phổ laser, đạt tỷ lệ 100%. Trên Hình 3.17 là phổ phát xạ từ vi cầu có đường kính

khoảng 46 μm ở các mức năng lượng xung bơm khác nhau. Khi tăng dần năng lượng xung kích thích, từ khoảng giá trị 0,99 $\mu\text{J}/\text{xung}$ bắt đầu quan sát thấy các mode laser xuất hiện. Cường độ các mode này gia tăng tuyến tính với sự gia tăng của năng lượng xung bơm. Tính toán giá trị ngưỡng phát với kết quả được biểu diễn trên Hình 3.17b với giá trị khoảng 0,75 $\mu\text{J}/\text{xung}$ tương ứng mật độ năng lượng trung bình 7,8 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$. Kết quả này tương đương nghiên cứu đã công bố với cùng vật liệu và khoảng kích thước [81].

Thống kê sự phụ thuộc của ngưỡng phát xạ laser vi cầu phụ thuộc vào kích thước (ở cùng giá trị nồng độ ban đầu của BSA và tỷ lệ RhB, cùng một quy trình chế tạo và điều kiện đo giống nhau). Kết quả cho thấy ngưỡng có xu hướng giảm khi kích thước của vi cầu tăng lên.



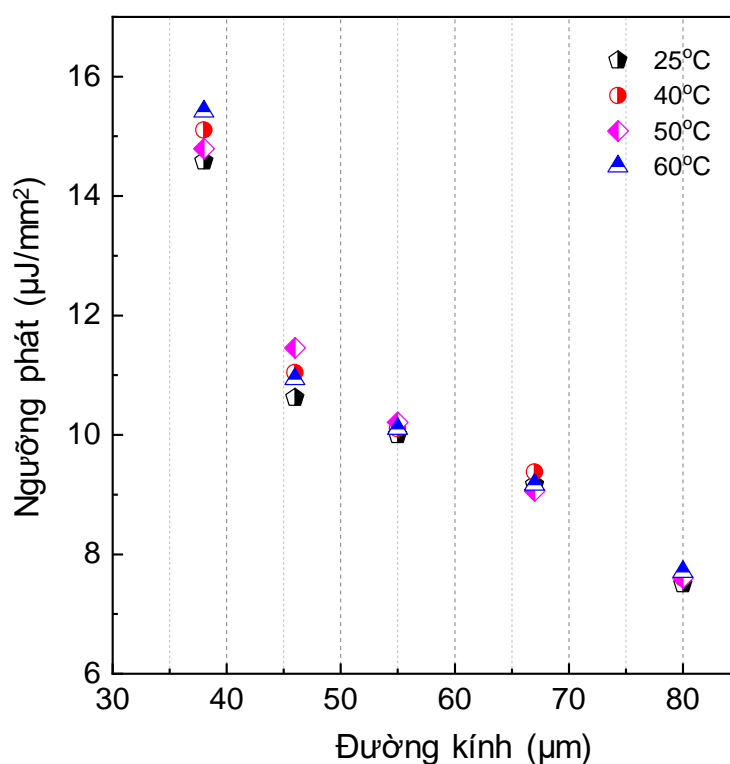
Hình 3.18. Ngưỡng phát của laser vi cầu phụ thuộc kích thước.

Trên Hình 3.18 ở kích thước 25 μm giá trị ngưỡng phát khoảng 33 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$. Trong khi đó ở kích thước quanh 40 μm ngưỡng phát khoảng 10-12 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ và phần lớn ở mức 7-9 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ khi ở dải kích thước trên 60 μm . Giá trị cụ thể về ngưỡng phát

của nhóm 10 vi cầu khác nhau được thống kê như trong Bảng 3.4. Ngưỡng phát này khi so sánh cho thấy sự tương đương với vi cầu được chế tạo bằng phương pháp khử nước dùng PDMS, thấp hơn khoảng 3 lần so với laser vi cầu từ lòng trắng trứng có kích thước tương đương và thấp hơn khoảng 150 lần so với vi laser từ tinh bột [94].

Bảng 3.4: Thống kê ngưỡng phát của cụm 10 vi cầu ở các kích thước khác nhau

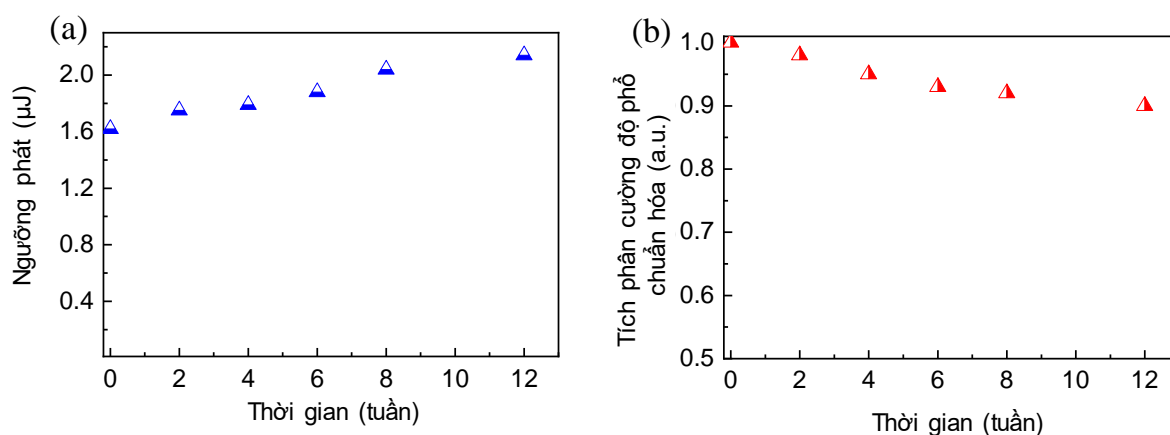
Số TT	Kích thước (μm)	Ngưỡng phát ($\mu\text{J}/\text{mm}^2$)	Số TT	Kích thước (μm)	Ngưỡng phát ($\mu\text{J}/\text{mm}^2$)
1	25,2	27,5	6	57	8,5
2	31	21,3	7	70,4	7,8
3	40,6	18,6	8	88,1	9,2
4	46	12,2	9	90,1	7,6
5	48,5	10,1	10	104,2	8,5



Hình 3.19. Ảnh hưởng của nhiệt độ quá trình khử nước tới ngưỡng phát.

Trong quá trình khử nước khi tăng nhiệt độ Decanol dẫn tới giảm thời gian chế tạo vi cầu. Để khảo sát ảnh hưởng của thông số nhiệt độ lên đặc tính ngưỡng phát laser một số vi cầu ở kích thước tương đương được sử dụng để so sánh, khoảng kích thước của chúng lần lượt là 38, 46, 55, 67 và 80 μm . Kết quả phân tích ngưỡng phát cho thấy, các nguồn laser có kích thước tương đương cho ngưỡng phát tương tự nhau (Hình 3.19). Như vậy, thay đổi nhiệt độ của dung môi Decanol trong khoảng từ 25 - 60 $^{\circ}\text{C}$ khi khử nước không ảnh hưởng tới ngưỡng phát của các laser vi cầu.

Nghiên cứu sự ổn định của ngưỡng phát và cường độ phổ laser theo thời gian đối với laser vi cầu có kích thước 42 μm được ghi lại và thể hiện như ở Hình 3.20.



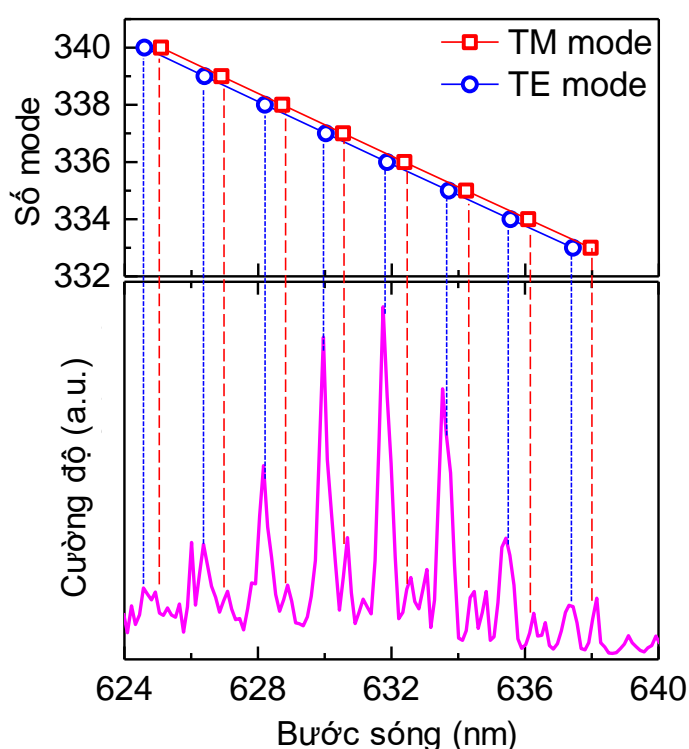
Hình 3.20. a) Sự thay đổi ngưỡng phát của vi cầu 42 μm theo thời gian bảo quản, b) Sự suy giảm của tích phân cường độ phổ laser phát theo thời gian bảo quản (ở cùng một mức năng lượng xung bơm, 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$).

Hình 3.20a cho thấy theo thời gian bảo quản ngưỡng phát có xu hướng tăng nhẹ. Cụ thể, sau thời gian bảo quản 4 tuần ngưỡng phát có xu hướng tăng khoảng 10% và ở thời gian khoảng 12 tuần ngưỡng phát có mức tăng tăng khoảng 20% so với thời điểm ban đầu. Sự gia tăng của ngưỡng phát có thể được giải thích là do quá trình vật liệu sinh học protein bị lão hóa theo thời gian cũng như hoạt chất màu có thể bị oxy hóa trong quá trình bảo quản. Cùng với sự gia tăng của ngưỡng phát, cường độ phát xạ laser cũng có xu hướng giảm nhẹ theo thời gian (ở cùng một mức năng lượng

xung bơm là 2,14 μJ / xung). Kết quả cho thấy sau thời gian bảo quản khoảng 12 tuần tích phân cường độ phổ chuẩn hóa thể hiện sự suy giảm khoảng 10%.

3.2.3. Vị trí mode laser

Các vi cầu chế tạo từ vật liệu BSA pha hoạt chất RhB khi được kích thích bởi laser xung 532 nm với năng lượng kích thích cao hơn ngưỡng phát laser thì trong phổ phát xạ sẽ xuất hiện các mode laser. Sự tương thích của kết quả thực nghiệm và lý thuyết được thể hiện như trên Hình 3.21.



Hình 3.21. Sự phù hợp vị trí mode của laser vi cầu từ vật liệu BSA kích thước 47,6 μm (phần phía dưới) so với vị trí mode tính toán theo công thức lý thuyết (phần phía trên).

Các giá trị so sánh được thể hiện trên khi phân tích phổ phát xạ laser của vi cầu có đường kính 47,6 μm (với hệ thống các vị trí các mode được quan sát tương đối rõ ràng và tách biệt, dưới năng lượng xung kích thích 2,14 μJ /xung). Cụ thể, các vị trí ô tròn (màu xanh) và vị trí các ô vuông (màu đỏ) lần lượt là vị trí các mode TE và TM theo công thức gần đúng 1.12 và 1.13, với giá trị của m trong khoảng từ 330 đến 340

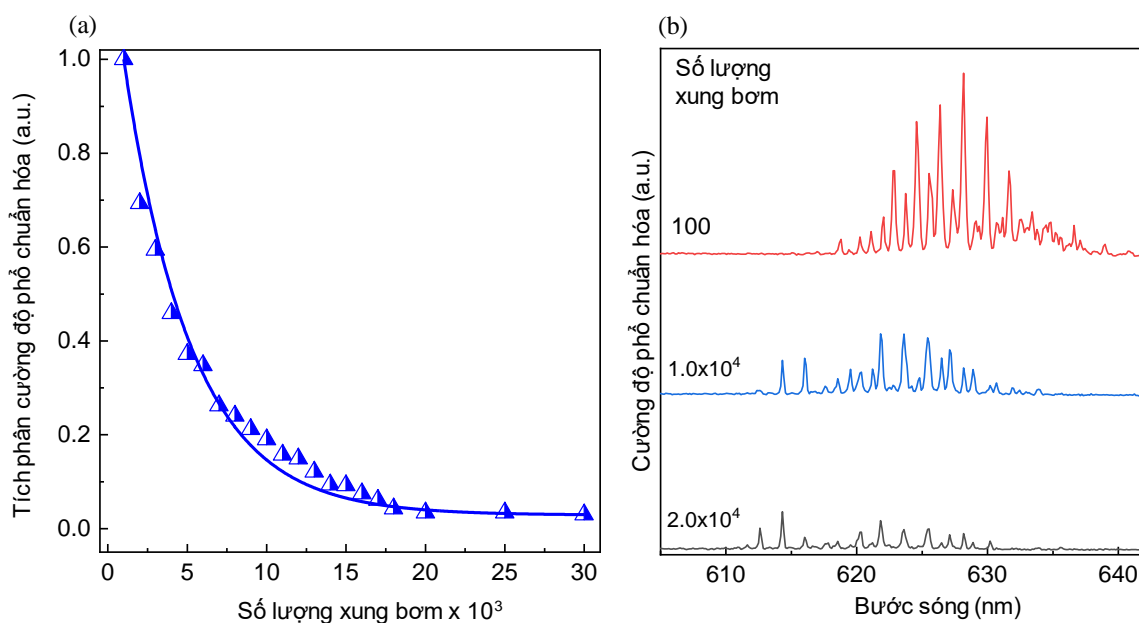
(được lựa chọn phù hợp với vùng phát xạ laser). Kết quả so sánh như trong Bảng 3.5. cho thấy sự trùng khớp tốt giữa công thức lý thuyết với đặc trưng phổ từ thực nghiệm đo.

Bảng 3.5: So sánh các vị trí mode TE, TM lý thuyết và kết quả đo thực nghiệm

m	Mode TE lý thuyết (nm)	Mode TE thực nghiệm (nm)	Mode TM lý thuyết (nm)	Mode TM thực nghiệm (nm)
333	637,43	637,41	637,96	638,12
334	635,56	635,43	636,09	635,96
335	633,71	633,53	634,23	634,06
336	631,86	631,75	632,38	632,27
337	630,03	629,96	630,54	630,48
338	628,2	628,17	628,72	628,68
339	626,39	626,37	626,90	626,89
340	624,59	624,57	625,09	625,08

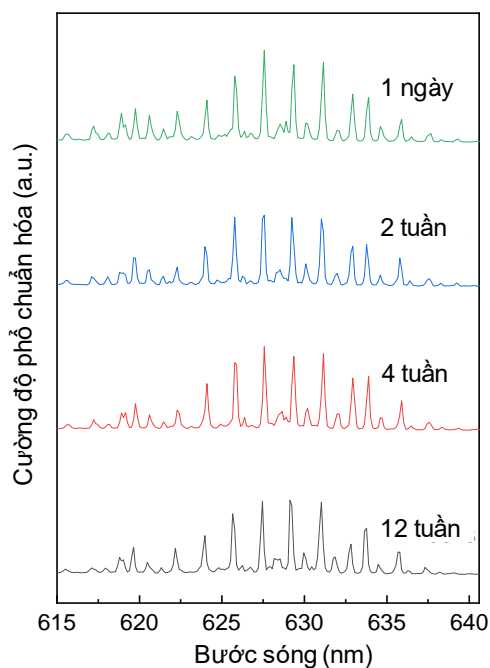
Vị trí mode và cường độ mode của laser vi cầu chịu ảnh hưởng của số lượng xung laser kích thích với kết quả thể hiện như trên Hình 3.22. Sau càng nhiều chu kỳ xung bơm (cùng mức năng lượng 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$) thì cường độ các mode laser cho thấy độ lớn càng giảm dần. Cụ thể sau khoảng 2500 chu kỳ xung bơm, tích phân cường độ phổ cho thấy sự suy giảm chỉ còn khoảng 70% so với cường độ ban đầu và còn ở mức 22% sau 7500 chu kỳ, kết quả này có thể được giải thích là do chất màu RhB bị ô xi hóa trong quá trình bị kích thích liên tục bởi các xung laser.

Bên cạnh đó, trong quá trình bơm liên tiếp này cũng quan sát thấy vị trí mode cộng hưởng của của laser vi cầu thay đổi với xu hướng dịch về phía vùng bước sóng ngắn hơn khi tăng dần số xung kích thích. Kết quả này có thể giải thích là do quá trình bơm liên tục làm gia tăng nhiệt độ của buồng cộng hưởng laser từ đó ảnh hưởng tới hệ số quang nhiệt của buồng cộng hưởng cũng như sự thay đổi phổ phát xạ của hoạt chất RhB [20, 90].



Hình 3.22. a) Sự suy giảm của tích phân cường độ phổ laser chuẩn hóa của vi cầu 42 μm , sử dụng vật liệu BSA theo số lượng xung bơm, b) Sự thay đổi của vị trí laser mode theo số xung bơm.

Đối với sự ổn định vị trí mode theo thời gian của laser vi cầu được tiến hành nghiên cứu và thống kê sử dụng vi cầu có đường kính 46 μm kích thích bởi xung laser 2,14 μJ , kết quả được thể hiện như trên Hình 3.23.

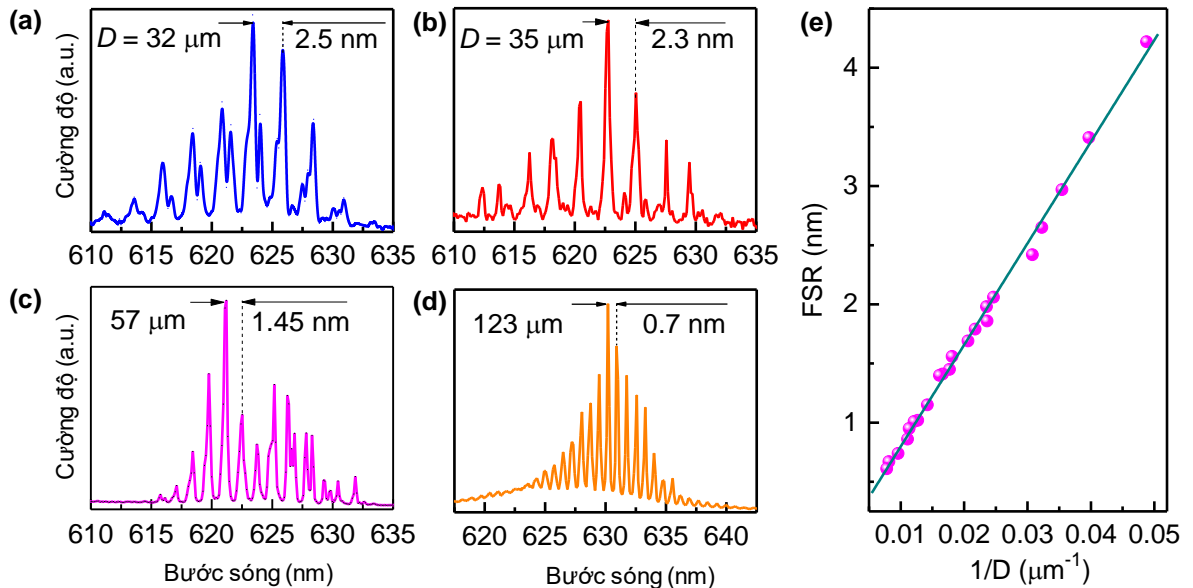


Hình 3.23. Sự ổn định vị trí mode của laser vi cầu theo thời gian bảo quản.

Từ đặc trưng phổ cho thấy sự ổn định vị trí các mode laser tốt theo thời gian bảo quản. Cụ thể, sau các mốc bảo quản là 1 ngày, 2 tuần, 4 tuần và 12 tuần vị trí các mode và cường độ mode (ở cùng mức năng lượng xung kích thích) giữ ở mức tương đối ổn định. Các laser vi cầu chế tạo sau khoảng thời gian dài bảo quản (trên một năm) vẫn tiếp tục cho thấy đặc trưng phổ laser rõ ràng.

3.2.4. Khoảng phổ tự do

Từ phổ phát xạ laser của các vi cầu tôi tiến hành nghiên cứu thông số khoảng phổ tự do (FSR). Đặc trưng FSR của laser vi cầu đã chế tạo từ vật liệu BSA được thống kê trên 21 vi cầu trong dải kích thước từ 24 tới 140 μm .



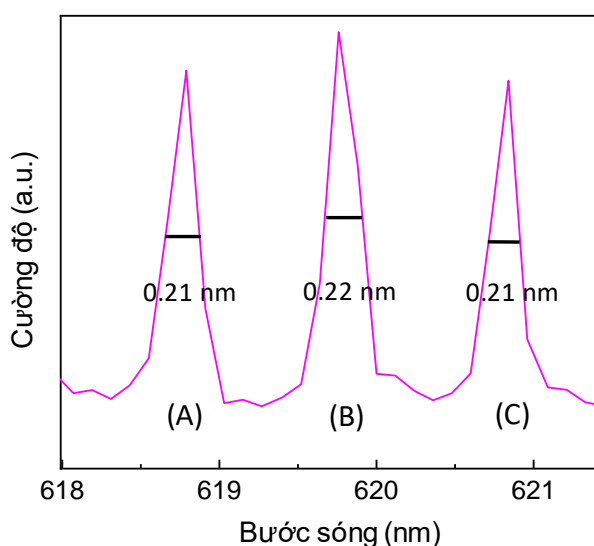
Hình 3.24. a-d) Khoảng phổ tự do (FSR) của các vi cầu có kích thước khác nhau xác định từ phân tích phổ phát xạ laser, e) Sự phù hợp của FSR đo thực nghiệm và công thức biểu diễn theo lý thuyết.

Kết quả cụ thể FSR của một số vi cầu và kết quả thống kê 21 vi cầu trên được thể hiện trên Hình 3.24. Phân tích phổ phát xạ laser của các vi cầu khác nhau cho thấy giá trị FSR phụ thuộc vào kích thước của chúng. Cụ thể, trên Hình 3.24a-d lần lượt là phổ phát xạ từ các vi cầu có đường kính 32, 35, 57 và 123 μm có các giá trị FSR tương ứng là 2,5; 2,3; 1,45 và 0,7 nm. Khi kích thước laser vi cầu tăng lên quan sát

thấy sự thu hẹp của khoảng phổ tự do và sự tăng lên của số lượng các mode laser. Kết quả này tương tự như các các nghiên cứu đã công bố khác [77, 81, 94]. Đường biểu diễn FSR như dạng hàm số tuyến tính của $1/D$ trên Hình 3.24e với các giá trị tương ứng thiết lập là đường thẳng (màu xanh lá) nét liền. Thống kê các giá trị FSR tính toán thực nghiệm từ phổ của nguồn laser vi cầu khác nhau thể hiện ở vị trí các quả cầu (màu tím) cho thấy sự phù hợp tốt giữa kết quả thực tế và lý thuyết về WGM laser.

3.2.5. Hệ số phẩm chất

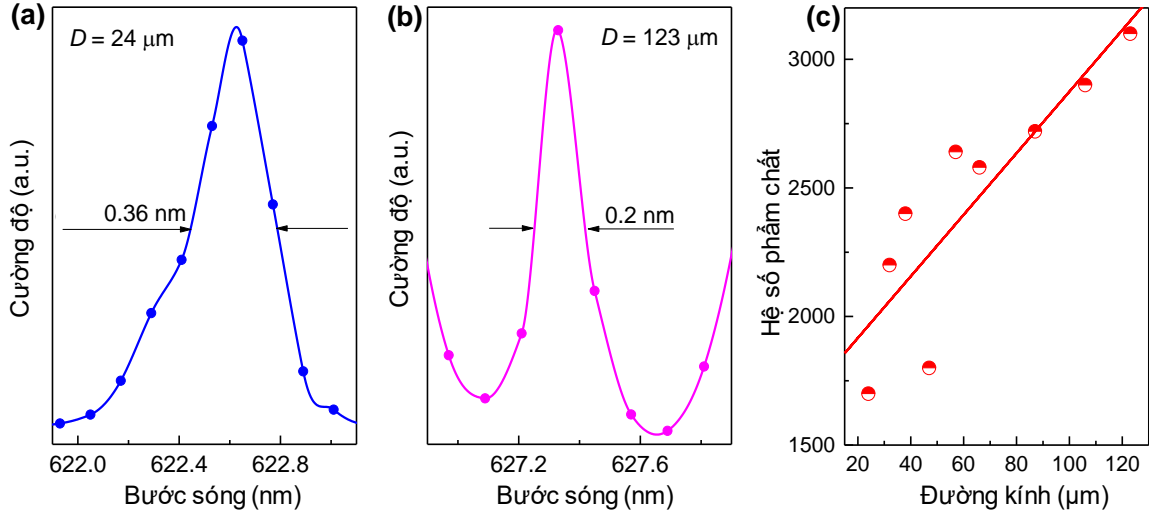
Từ phổ phát xạ của các laser vi cầu chế tạo từ vật liệu BSA (các vi cầu đã được sử dụng để nghiên cứu và thống kê ngưỡng phát), thông số hệ số phẩm chất được tính toán và thống kê.



Hình 3.25. Bán độ rộng cực đại của 03 mode laser (vi cầu có đường kính 85 μm được kích thích bởi xung laser 2,14 μJ).

Hệ số phẩm chất Q của nguồn laser được xác định thông qua phân tích phổ phát xạ laser được biểu diễn theo Công thức 1.24. Giá trị của Q với các mode khác nhau của cùng một nguồn laser vi cầu là tương đương. Cụ thể trên Hình 3.25a là 03 mode laser được đặt theo thứ tự là mode A, B và C của vi cầu có đường kính 85 μm (được kích thích bởi xung laser có năng lượng 2,14 μJ). Kết quả tính toán cho thấy giá trị bán độ rộng cực đại phổ của chúng gần tương đương nhau khoảng giá trị 0,21

- 0,22 nm cho thấy sự phù hợp với lý thuyết. Với vị trí bước sóng cộng hưởng gần đúng 620 nm dẫn tới giá trị của Q cho kết quả trong khoảng 2820 - 2950.



Hình 3.26. a-b) Độ rộng của laser mode (của hai vi cầu có đường kính lần lượt 24 và 123 μm được kích thích bởi xung laser 2,14 μJ) tại vị trí cường độ bằng một nửa cường độ cực đại, c) Sự phụ thuộc của hệ số phẩm chất Q theo kích thước của laser vi cầu.

Thống kê hệ số phẩm chất của 9 vi cầu có kích thước khác nhau, từ 24 đến 123 μm . Kết quả cho thấy khi tăng kích thước các vi cầu giá trị Q có xu hướng tăng dần. Cụ thể, trên Hình 3.26a, với vi cầu có đường kính 24 μm bán độ rộng cực đại phổ có giá trị 0,36 nm, tương ứng giá trị Q khoảng 1730, trong khi giá trị Q ứng với vi cầu có đường kính 123 nm đạt khoảng 3130. Sự phụ thuộc của hệ số phẩm chất theo kích thước được biểu diễn như trên Hình 3.26c với giá trị tăng dần và nằm trong dải khoảng 1500 - 3000.

Các kết quả này có thể được giải thích là do khi vi cầu càng lớn thì khả năng giam giữ ánh sáng kích thích càng được tăng cường, kết quả này cho thấy sự tương đương với các công trình đã công bố khác[81, 88, 94]. Tổng hợp các kết quả từ laser vi cầu chế tạo từ vật liệu BSA đã công bố trên các tạp chí *Soft Matter*, *Optics Communications* và một số tạp chí trong nước và kỹ yếu hội nghị quốc tế, hội nghị trong nước.

Như vậy sử dụng phương pháp khử nước từ dung dịch protein tôi đã chế tạo các laser vi cầu từ vật liệu có nguồn gốc sinh học thành công. Các nguồn laser có hệ số phẩm chất khoảng 10^3 , ngưỡng phát ở vùng $\mu\text{J}/\text{mm}^2$, với các đặc trưng mode phù hợp với lý thuyết WGM mode laser. Các laser vi cầu sử dụng vật liệu protein BSA cho chất lượng bề mặt tốt hơn dẫn tới ngưỡng phát thấp hơn so với sử dụng vật liệu lòng trắng trứng. Tuy nhiên phương pháp khử nước từ dung dịch protein có 02 nhược điểm cần phải tiếp tục cải tiến là: (1) Không điều khiển được kích thước của laser vi cầu; (2) Dải phân bố kích thước của vi cầu thu được trải rộng (từ 10-150 μm) dẫn tới đặc trưng phổ laser khác nhau. Sự khác nhau về đặc trưng phổ này hạn chế các ứng dụng của chúng. Hai nhược điểm này tôi sẽ khắc phục thông qua sử dụng kết hợp hệ thống kênh dẫn vi để chế tạo laser vi cầu. Các kết quả tôi sẽ trình bày trong chương 4.

KẾT LUẬN CHƯƠNG 3

Trong chương này các kết quả chế tạo laser vi cầu theo phương pháp khử nước từ protein đã được tôi tổng hợp và phân tích, trọng tâm bao gồm:

- Đã chế tạo thành công laser vi cầu từ các vật liệu có nguồn gốc sinh học: Lòng trắng trứng ngỗng và protein BSA. Các yếu tố chính ảnh hưởng tới quá trình khử nước của các laser vi cầu từ vật liệu BSA đã được phân tích và thảo luận bao gồm: ảnh hưởng của màng Teflon lên cấu trúc và hình dạng vi cầu; ảnh hưởng của nồng độ dung dịch protein; ảnh hưởng kích thước ban đầu của giọt protein tới kích thước của vi cầu và ảnh hưởng của nhiệt độ chế tạo.
- Đối với laser vi cầu từ vật liệu lòng trắng trứng ngỗng: Đặc trưng vị trí mode và khoảng phổ tự do phù hợp với tính toán lý thuyết WGM laser; laser vi cầu được chế tạo từ vật liệu này có ngưỡng phát khoảng 22- 55 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ cao hơn gấp 2-3 lần so laser vi cầu được chế tạo từ protein BSA bằng phương pháp khử nước trong PDMS nhưng thấp hơn khoảng 50 lần so với laser hạt từ vật liệu tinh bột khoai tây; thông số hệ số phẩm chất thu được trong khoảng 1400 - 2800 tương đương với các nguồn laser vi cầu khác cùng khoảng kích thước.
- Đối với laser vi cầu sử dụng vật liệu BSA pha tạp hoạt chất màu RhB: có kích thước chủ yếu trong dải từ 10 - 150 μm với ngưỡng phát cỡ 7- 33 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$, hệ số phẩm chất đạt tới 1700 đến hơn 3000 tương đương với các công trình đã công bố khác. Các đặc trưng vị trí mode và khoảng phổ tự do theo thống kê cho thấy sự phù hợp với lý thuyết WGM laser. Bên cạnh đó các nguồn laser thể hiện độ bền xung bơm tốt và hoạt động ổn định trong thời gian bảo quản dài.

Mặc dù đã thành công trong chế tạo laser vi cầu sinh học tuy nhiên với phương pháp khử nước từ dung dịch protein chưa giải quyết được bài toán điều khiển kích thước của laser vi cầu. Cụ thể dải phân bố kích thước thu được tương đối rộng (từ hàng chục tới hàng trăm μm); chưa thu được nhiều các vi cầu có kích thước gần giống nhau với các đặc trưng tương đương, điều này cũng giới hạn việc có thể ứng dụng

chúng. Các vấn đề hạn chế này sẽ được tôi tiếp tục giải quyết trong chương 4 khi kết hợp hệ thống các kênh dẫn vi lưu vào quá trình chế tạo.

CHƯƠNG 4: CHẾ TẠO LASER VI CẦU SINH HỌC SỬ DỤNG HỆ THỐNG KÊNH DẪN VI LƯU VÀ ỨNG DỤNG LASER VI CẦU TRONG CẢM BIẾN NHIỆT ĐỘ

Trong chương này tôi trình bày các kết quả về chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu, ứng dụng hệ kênh dẫn vi lưu trong điều khiển kích thước của laser vi cầu và ứng dụng laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ môi trường.

4.1. Kết quả chế tạo kênh dẫn vi lưu

Các hệ thống kênh dẫn vi lưu được tôi chế tạo với các công đoạn và thông số thiết kế được trình bày chi tiết như mô tả trong phần thực nghiệm. Kết quả chế tạo hệ thống kênh dẫn được phân tích theo từng công đoạn bao gồm bốn nội dung: (1) Kết quả về thiết kế chế tạo mặt nạ cản quang, (2) Kết quả chế tạo khuôn từ màng cản quang, (3) Kết quả chế tạo khuôn dẻo từ vật liệu PDMS, (4) Chip kênh dẫn vi lưu. Cụ thể như sau:

4.1.1. Mặt nạ cản quang

Trên Hình 4.1 là ảnh phóng to của các mặt nạ cản quang đã được thiết kế để sử dụng cho quy trình chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu với các thông số được chú thích chi tiết. Hệ thống cấu trúc trên các mặt nạ cản quang bao gồm 03 phần chính được thiết kế trên phần mềm AutoCAD 2018.

Về phân bố màu:

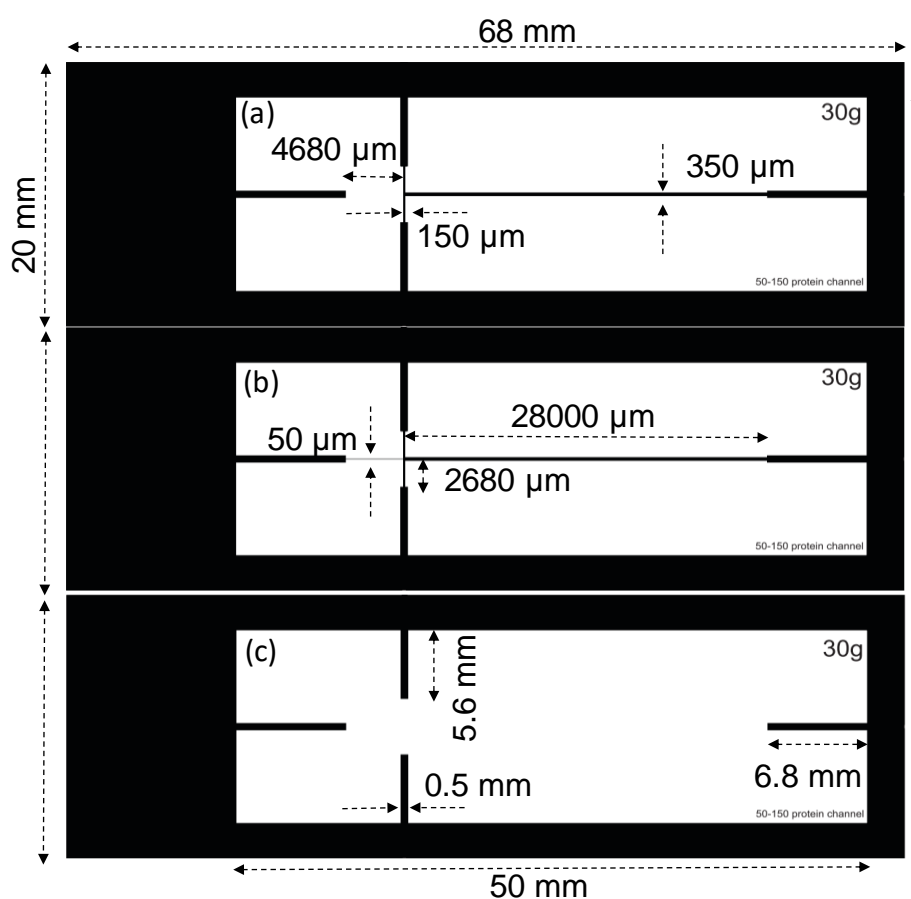
Mặt nạ có hai phân bố màu: màu trắng và màu đen. Màu trắng là các vùng không gian không bố trí các chi tiết và khi in trên phim sẽ là vùng trống. Màu đen là vùng không gian bố trí các thành phần của hệ thống kênh dẫn và vùng không gian bao quanh.

Về kích thước:

Kích thước tổng thể bên ngoài của mặt nạ chiều rộng x dài là 20 x 65 mm. Kích thước này được lựa chọn phù hợp với kích thước của đế kính (25 x 75 mm). Phần không gian chứa cấu trúc các kênh dẫn được thiết kế với kích thước rộng x dài là 15

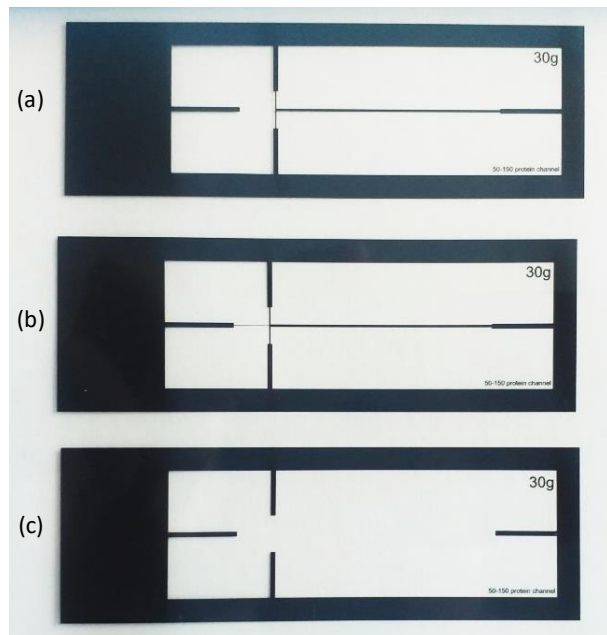
x 50 mm. Các kích thước của hệ thống các kênh dẫn được thể hiện trong Hình 4.1a, b bao gồm: kênh dẫn nhỏ chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB có kích thước chiều rộng x dài là 50 x 4680 μm . Hai kênh dẫn Decanol được thiết kế đối xứng nhau với kích thước rộng x dài là 150 x 2680 μm . Kênh dẫn đầu ra được thiết kế với kích thước rộng x dài là 350 x 2800 μm . Các đầu vào gắn kim dẫn Decanol được thiết kế với kích thước rộng x dài là 500 x 5600 μm , các đầu vào gắn kim dẫn BSA pha hoạt chất màu và đầu ra của hệ thống được thiết kế với kích thước rộng x dài là 500 x 6800 μm .

Dấu so mặt nạ (khớp mặt nạ): Có ký hiệu 30g là ký hiệu của đầu kim dẫn được sử dụng cho các đầu vào đầu ra của hệ thống kênh dẫn vi lưu.

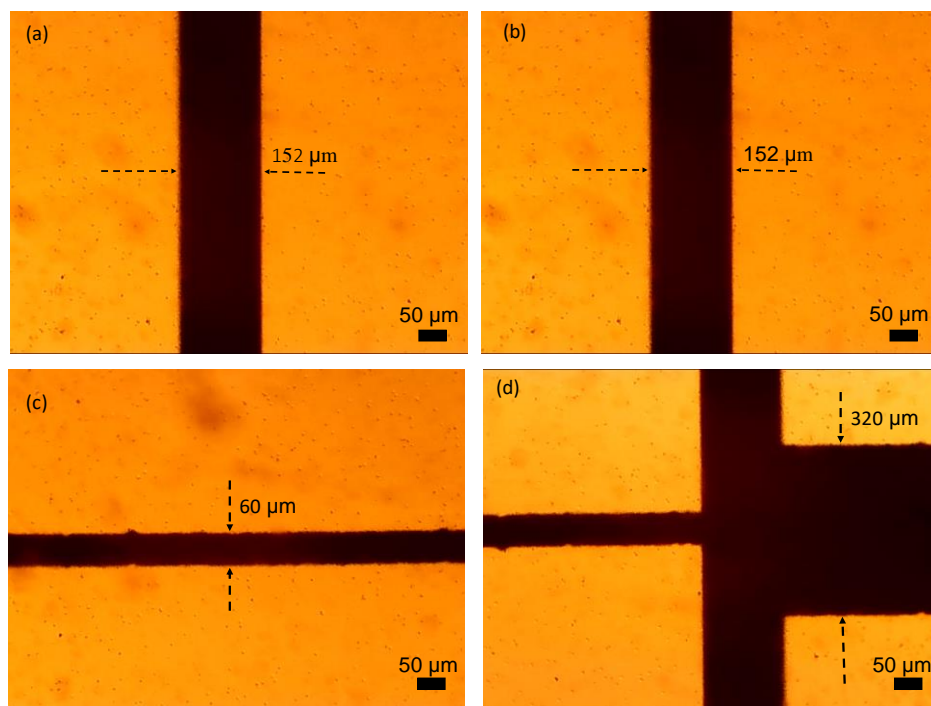


Hình 4.1. Kết quả thiết kế mặt nạ căn quang để chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu: Cấu hình và kích thước các chi tiết.

Hệ thống 03 mặt nạ đã in thành dạng phim mỏng thực tế như Hình 4.2.



Hình 4.2. Hình ảnh các mặt nạ cản quang được in trên tấm phim trong suốt.



Hình 4.3. Các cấu trúc được in trên mặt nạ cản quang chụp dưới kính hiển vi quang học: a, b) Hai dải chất cản quang để chế tạo cấu trúc 2 kênh dẫn Decanol, c) Phần đường cản quang để chế tạo cấu trúc kênh dẫn dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, d) Cấu trúc cản quang để chế tạo đoạn giao cắt các dòng chất lỏng (Bao gồm kênh dẫn BSA, 02 kênh dẫn Decanol, vị trí giao cắt và kênh dẫn đầu ra).

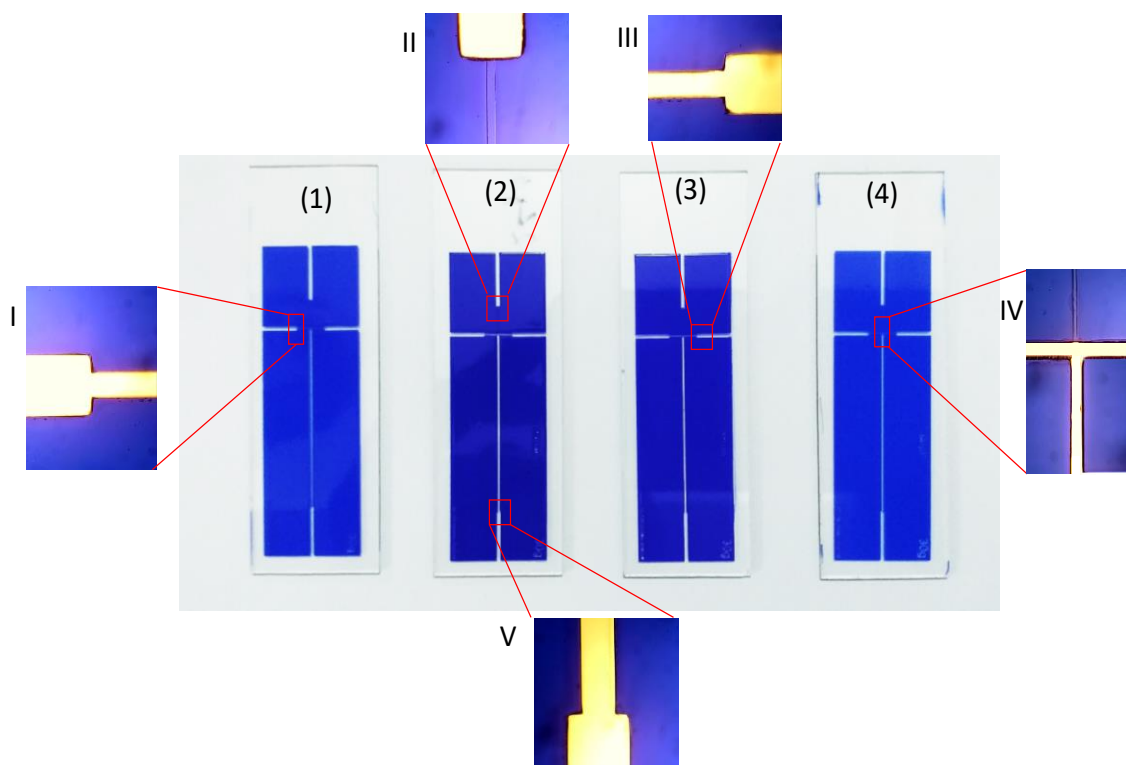
Kết quả chụp trên kính hiển vi quang học cho thấy hình ảnh các cấu trúc rõ nét trên Hình 4.3. Về kích thước kênh nhỏ được thiết kế với độ rộng 50 μm tuy nhiên thực tế độ rộng của kênh thu được dao động trong dải 52 - 60 μm . Điều này có thể giải thích là do ảnh hưởng của độ phân giải máy in (kích thước giọt mực khoảng 20-30 μm). Cấu trúc kênh nhỏ cũng xuất hiện các rìa răng cưa nhỏ nhưng đảm bảo tính liên tục và không có vị trí cấu trúc bị đứt gãy. Giới hạn về kích thước của giọt mực máy in cũng dẫn tới các kênh có kích thước nhỏ hơn 20 μm là không thực hiện được đối với phương pháp này. Với hai kênh dẫn lớn (cho chất lỏng Decanol) thiết kế kích thước 150 μm , thực tế thu được trên phim dao động trong khoảng 150 - 156 μm . Với thiết kế kênh đầu ra 350 μm , trên phim thực tế thu được trong khoảng 320 - 355 μm .

4.1.2. Khuôn từ màng cản quang

Từ hệ thống mặt nạ cản quang đã chế tạo ở trên và sử dụng quy trình chế tạo như đã trình bày trong phần thực nghiệm, 04 khuôn có cấu trúc giống nhau được chế tạo từ màng vật liệu cản quang như trên Hình 4.4. Cấu trúc và kích thước của chúng giống nhau là do sử dụng cùng mặt nạ và hệ thống các quy trình chế tạo được lặp lại. Phần màu trắng trên hình là các vị trí để kính ở đó màng cản quang đã bị mặt nạ che chùng tia UV- dẫn tới không được chiếu sáng do đó chúng đã bị ăn mòn bởi dung dịch ăn mòn. Vùng không gian màu xanh là phần màng không được che sáng dẫn tới chịu tác dụng của tia UV khiến cấu trúc màng trở nên rắn chắc do các liên kết nội được tạo ra. Vùng được chiếu sáng bởi UV này trở nên bền với dung dịch ăn mòn.

Để chế tạo các kênh dẫn với chiều sâu khác nhau tôi sử dụng tương ứng số lớp màng phù hợp. Cụ thể, với mỗi một lớp màng có chiều dày 40 μm được phủ lên trên để kính sẽ dẫn tới độ sâu của kênh trên khuôn màng cản quang theo lý thuyết là 40 μm . Tuy nhiên do quá trình công nghệ có giai đoạn là ép bởi máy cán nóng đồng thời quá trình ăn mòn không hoàn toàn có thể dẫn tới chiều sâu thực tế của kênh nhỏ hơn. Phần kênh dẫn dung dịch BSA pha hoạt chất RhB tôi sử dụng một lớp màng dẫn đến chiều sâu dự kiến là 40 μm . Với hệ thống kênh dẫn Decanol và kênh dẫn đầu ra tôi sử dụng 4 lớp màng, chiều sâu dự kiến của kênh là 160 μm . Với các vị trí gắn kim

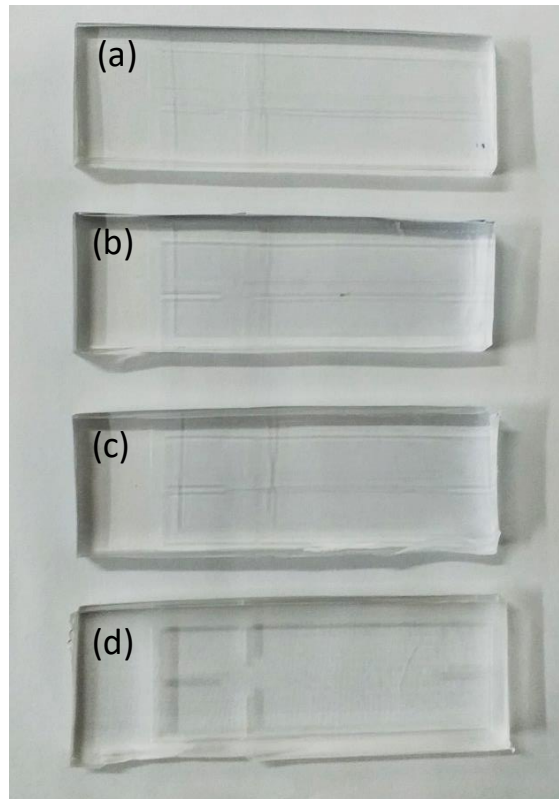
đầu ra (chiều rộng 500 μm) tôi sử dụng mặt nạ cản quang Hình 4.4c và sử dụng thêm 8 lớp màng cho cấu trúc đóng hệ thống kênh dẫn, do đó tổng chiều sâu chiều sâu thiết kế là 480 μm .



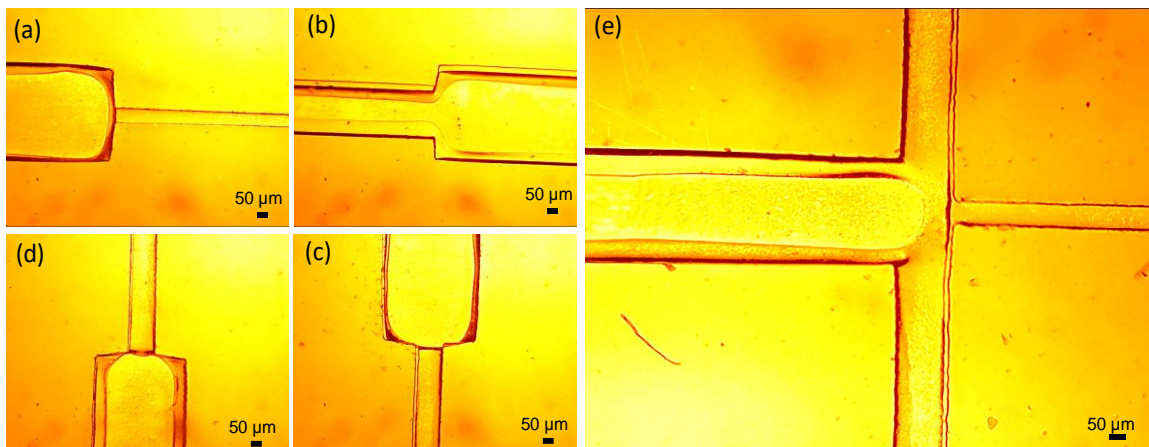
Hình 4.4. 1-4) Các khuôn Dryfilm sau khi ăn mòn hình thành nên các cấu trúc kênh dẫn bao đầu. Các vị trí trên cấu trúc kênh: I, III: Hai đầu vào của kênh dẫn chứa Decanol, II: Đầu vào của kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, IV: Cấu trúc vùng giao cắt tạo hạt, V: Cấu trúc kênh dẫn đầu ra.

4.1.3. Khuôn PDMS

Từ khuôn trên màng cản quang đã được chế tạo ở trên (Hình 4.4) sau khi thực hiện quy trình tạo khuôn dẻo PDMS như mô tả trong phần thực nghiệm tôi thu được các bộ khuôn như Hình 4.5. Trong đó Hình 4.5a,b,c là ba khuôn giống nhau cho hệ thống kênh dẫn. Hình 4.5d là khuôn được sử dụng để chế tạo phần đầu vào và đầu ra gắn kim.



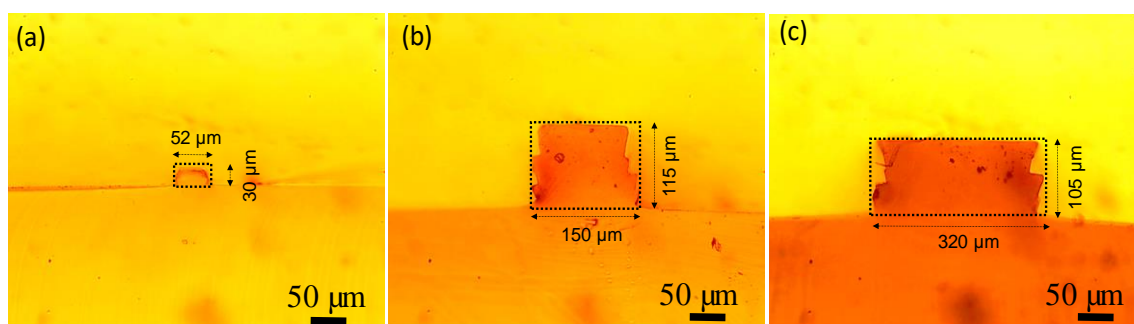
Hình 4.5. a-c) Các khuôn PDMS chứa các cấu trúc để chế tạo kênh dẫn vi lưu, d) Khuôn PDMS để chế tạo mặt đóng kín các kênh dẫn vi lưu.



Hình 4.6. Ảnh chụp các cấu trúc PDMS dưới kính hiển vi quang học: a) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, b) Đoạn nối kim đầu ra và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn đầu ra, c và d) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn chứa Decanol, e) Cấu trúc để chế tạo vùng giao cắt tạo hạt trên hệ thống kênh dẫn vi lưu.

Cấu trúc của hệ thống kênh trên khuôn PDMS được quan sát trên kính hiển vi quang học như Hình 4.6. Cụ thể Hình 4.6a thể hiện cấu trúc của đầu dẫn gắn kim đầu vào và kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha tạp RhB; Hình 4.6b là cấu trúc kênh đầu ra và cấu trúc đầu gắn kim dẫn ra. Hình 4.6c,d là cấu trúc đầu gắn kim đầu vào và hai kênh dẫn Decanol. Trên Hình 4.6e là vùng cấu trúc của điểm giao cắt của các hệ thống kênh dẫn. Tại vùng giao cắt này quan sát rõ các cấu trúc kênh dẫn BSA, 02 kênh dẫn Decanol và kênh dẫn đầu ra.

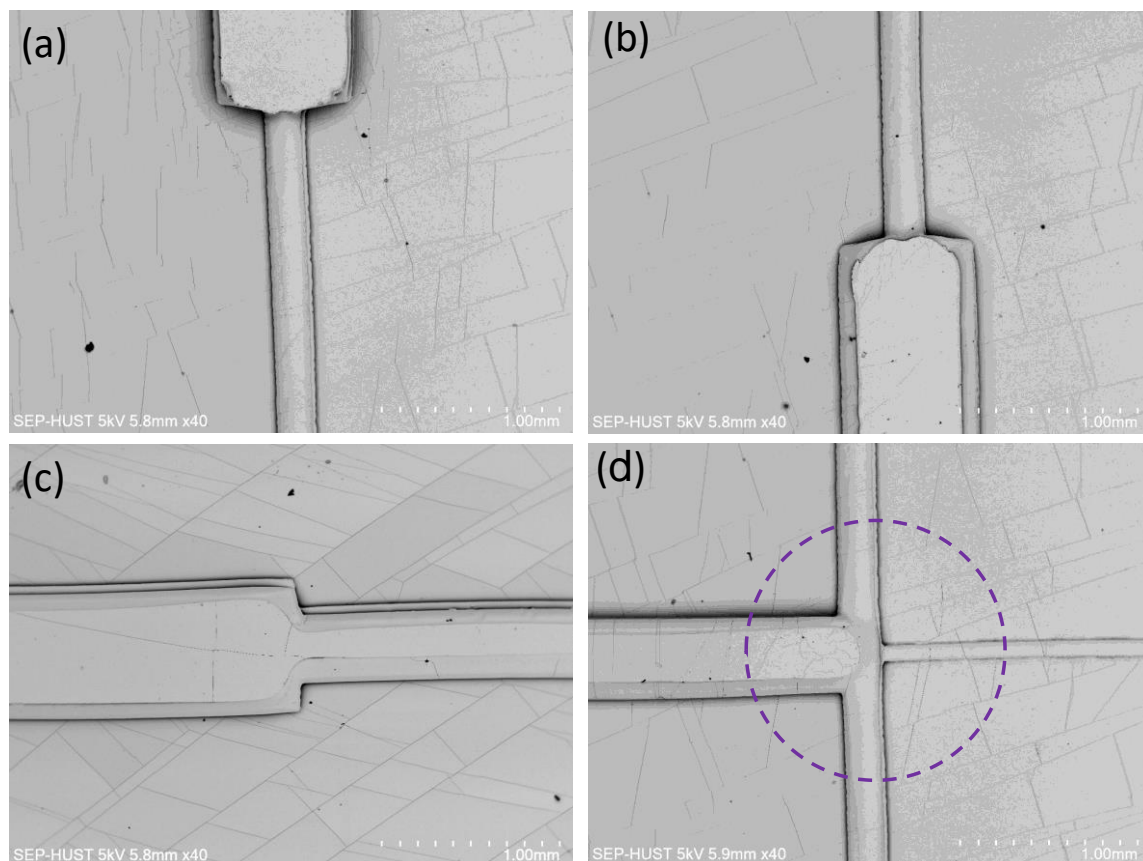
Để quan sát rõ hơn kích thước chiều sâu của các kênh dẫn ở khuôn PDMS trên kính hiển vi quang học, tôi tiến hành cắt theo chiều ngang các kênh. Mặt cắt ngang các kênh dẫn được chụp trên kính hiển vi quang học thể hiện như Hình 4.7.



Hình 4.7. Mặt cắt ngang các cấu trúc kênh của khuôn PDMS quan sát trên kính hiển vi quang học: a) Cấu trúc khuôn kênh dẫn chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, b) Cấu trúc khuôn kênh dẫn chứa Decanol, c) Cấu trúc khuôn kênh dẫn đầu ra.

Trong đó ở Hình 4.7a là mặt cắt ngang của kênh dẫn dung dịch BSA pha hoạt chất RhB, cho thấy kích thước chiều rộng x chiều sâu thực tế khoảng 52 x 30 μm so với kích thước dự kiến là 50 x 40 μm . Kích thước chiều rộng tương đối phù hợp cho thấy màng cản quang và cấu khuôn đáp ứng tốt với thiết kế tuy nhiên kích thước chiều sâu nhỏ hơn kích thước dự kiến. Việc kích thước chiều sâu thấp hơn có thể giải thích là chiều dày của lớp màng cản quang bị nén lại do quá trình là ép thực hiện trong phần thực nghiệm. Trên Hình 4.7b,c là kích thước thực tế của kênh dẫn Decanol, với chiều rộng x sâu khoảng 150 x 115 μm và kích thước kênh dẫn đầu ra với chiều rộng x chiều sâu khoảng 320 x 105 μm . Kích thước chiều rộng của kênh dẫn đầu ra nhỏ

hơn khoảng 10% so với kích thước thiết kế. Trên nền tảng các công nghệ và quy trình sử dụng chế tạo đơn giản và giá thành rẻ do đó xuất hiện sự sai khác về kích thước trên kênh dẫn so với các thiết kế ban đầu. Tuy nhiên các hệ thống kênh trên khuôn PDMS hình thành rõ nét và liên tục cho thấy sự thành công các quy trình chế tạo và các thông số công nghệ của quy trình thực nghiệm là phù hợp.



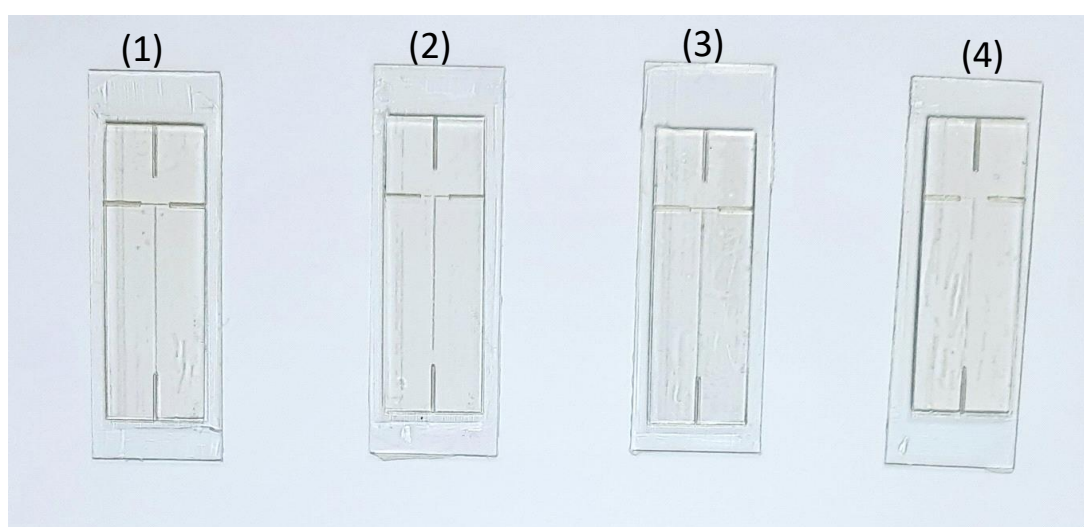
Hình 4.8. Ảnh SEM các cấu trúc trên khuôn PDMS: a, b) Đoạn nối kim đầu vào và một phần cấu trúc để chế tạo hai kênh dẫn chứa Decanol, c) Đoạn nối kim đầu ra và một phần cấu trúc để chế tạo kênh dẫn đầu ra, d) Vùng khuôn tạo cấu trúc giao cắt của các kênh dẫn: Kênh dẫn đầu vào BSA pha RhB, 02 kênh dẫn chứa Decanol và kênh dẫn đầu ra.

Cấu trúc kênh nổi trên khuôn dẻo PDMS ở trên được quan sát rõ nét trên ảnh chụp SEM (Hình 4.8). Hình 4.8a, b là cấu trúc đầu chứa kim dẫn và kênh chứa decanol; Hình 4.8c là cấu trúc chứa kim dẫn và đầu kênh ra; Hình 4.8d là cấu trúc điểm giao cắt: nơi giao nhau của kênh dẫn đầu vào chứa BSA pha RhB, hai kênh dẫn đầu vào chứa Decanol và kênh dẫn đầu ra của hệ thống. Bề mặt khuôn có các vị trí

vết nứt nhỏ, nguyên nhân là do quá trình hút chân không cao (khi chụp ảnh SEM) dẫn tới lượng khí và một phần hơi nước hấp thụ trong khuôn PDMS bị hút ra ngoài khiến cấu trúc của khuôn trở lên khô cứng và xuất hiện các vết nứt.

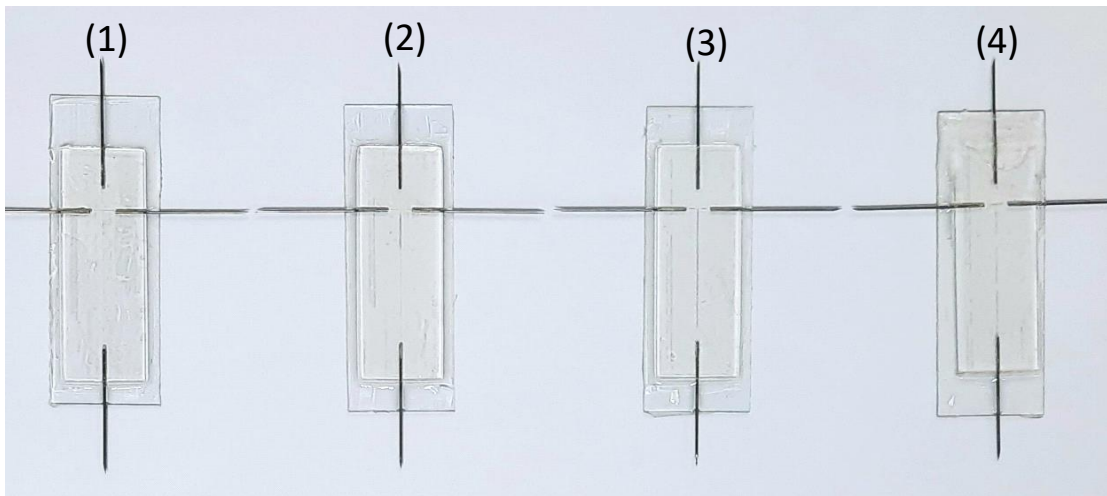
4.1.4. Chip microfluidic

Từ hệ thống khuôn PDMS và quy trình chế tạo chip sử dụng keo quang học NOA 81 như mô tả ở phần thực nghiệm hệ thống kênh dẫn vi lưu đã được chế tạo thành công.



Hình 4.9. 1-4) Các Chip chứa cấu trúc kênh dẫn vi lưu chế tạo sử dụng keo quang học NOA 81 giống nhau trên đế kính (chưa gắn các kim đầu vào, đầu ra).

Trên Hình 4.9 là 04 chip kênh dẫn vi lưu được chế tạo và gắn trên đế kính. Tổng số chip chế tạo phục vụ cho nghiên cứu và chế tạo laser vi cầu sinh học là 12 chip, chúng được đánh số thứ tự từ 1 tới 12. Trên Hình 4.10 là 04 chip ở trên sau khi được gắn các kim dẫn vào các đầu vào và đầu ra. Các kim dẫn này được gắn chặt sử dụng keo hai thành phần như mô tả trong thực nghiệm. Sau khi gắn kim chúng được sấy và bảo quản trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 °C như Hình 4.11. Sau mỗi lần sử dụng, các chip được bơm nước khử ion qua hệ thống dây dẫn từ phía đầu vào và ngược lại từ phía đầu ra để làm sạch hệ thống kênh trước khi cho trở lại vào trong tủ sấy để bảo quản.



Hình 4.10. 1-4) Các Chip chứa cấu trúc kênh dẫn vi lưu chế tạo sử dụng keo UV NOA 81 giống nhau trên đế kính đã được gắn kim đầu ra.



Hình 4.11. 1-4) Các Chip kênh dẫn vi lưu chế tạo được gắn dây nối đầu ra và sấy, bảo quản trong tủ sấy ở nhiệt độ 40 °C.

4.2. Kết quả chế tạo laser vi cầu sinh học sử dụng hệ thống kênh dẫn vi lưu

4.2.1. Điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học

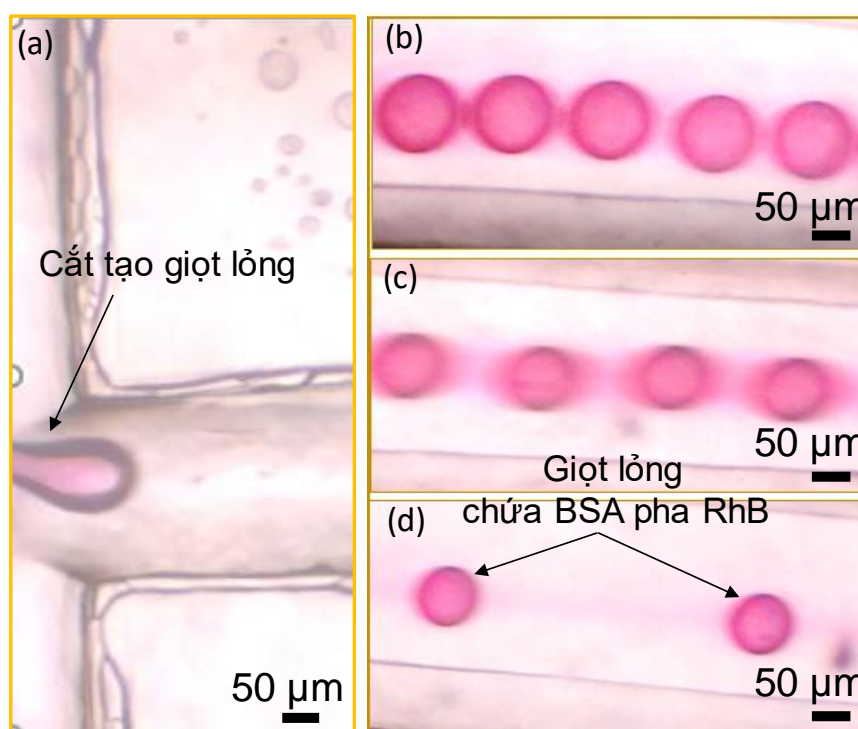
Sử dụng các chip kênh dẫn vi lưu bố trí hệ thống các thiết bị như mô tả trong phần thực nghiệm. Trên Hình 4.12a là kết quả tạo giọt chứa dung dịch BSA pha hoạt chất RhB thành công tại điểm giao cắt của hệ thống kênh. Dòng chất lỏng BSA pha RhB đóng vai trò là pha lỏng rời rạc đi ra từ kênh chứa, bị hai dòng chất lỏng Decanol (đóng vai trò là pha lỏng liên tục) ép mỏng dần dần từ hai bên cho tới khi giọt lỏng bị cắt ra khỏi dòng chảy liên tục. Ở đây có thể quan sát thấy có sự lệch tâm khi cắt tạo giọt lỏng, lí do có thể được giải thích là vùng giao cắt ở gần kênh dẫn Decanol phía trên hơn. Hình 4.12b-d là ảnh các giọt lỏng kích thước khác nhau được tạo thành do thay đổi tỷ số tốc độ bơm khác nhau của các dòng chất lỏng (đang đưa các giọt protein pha hoạt chất màu chuyển động bên trong kênh đầu ra). Để có thể điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học sử dụng kênh dẫn vi lưu có ba nhóm thông số kết hợp có liên quan là:

1. Nồng độ của dung dịch BSA ban đầu;
2. Kích thước của các kênh dẫn;
3. Tỷ số tốc độ bơm của hai pha chất lỏng.

Trong đó với nồng độ dung dịch BSA như đã phân tích ảnh hưởng như trong chương 3. Tôi lựa chọn giữ cố định nồng độ của dung dịch BSA (ở mức 500 mg/mL). Đối với kích thước của các kênh dẫn tôi chỉ sử dụng một cấu hình kênh dẫn vi lưu đã thiết kế với bộ thông số kích thước là cố định. Do giới hạn về mặt công nghệ, tôi lựa chọn chiều rộng nhỏ nhất của kênh dẫn BSA là 50 μm , ở mức khoảng 1,7 lần giới hạn của thiết bị in. Hệ thống kênh dẫn có kích thước nhỏ hơn cần quy trình công nghệ phức tạp và phù hợp hơn để chế tạo.

Tôi sử dụng nhóm thông số thứ 3 là tỷ số tốc độ bơm của hai pha chất lỏng làm thông số đầu vào để điều khiển kích thước các giọt lỏng tạo ra tại điểm giao cắt, từ đó dẫn tới có thể điều khiển kích thước của laser vi cầu. Tỷ số tốc độ bơm này được

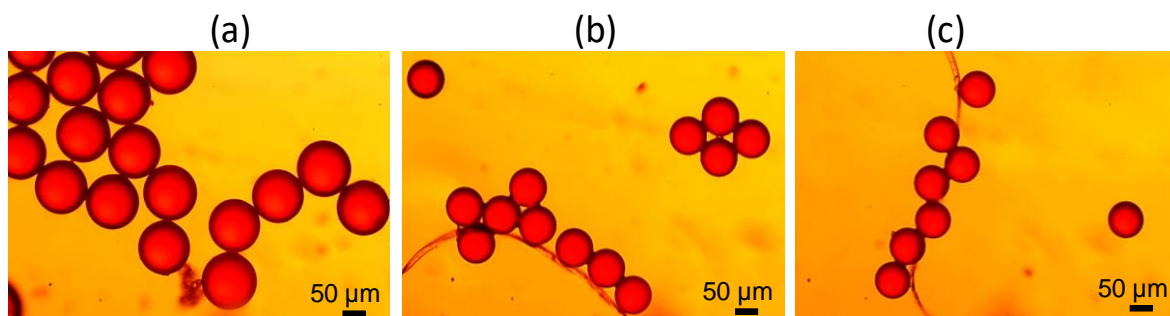
thay đổi hệ thống hai bơm vi lưu. Cụ thể, tốc độ bơm của kênh chứa BSA pha RhB được thiết lập từ bơm số một với tốc độ bơm của dòng chất lỏng là 0,5 $\mu\text{L}/\text{phút}$. Đối với bơm số hai thiết lập tăng dần tốc độ bơm của kênh dẫn chứa decanol trong dải từ 1,5 tới 6 $\mu\text{L}/\text{phút}$. Với cấu hình này kết quả thực nghiệm cho thấy kích thước của các giọt lỏng tạo từ điểm giao cắt và chuyển động trong kênh dẫn đầu ra có xu thế giảm dần. Trên Hình 4.12b,c,d là ảnh các giọt lỏng tạo ra ở các tỷ số tổ độ bơm là 4, 6 và 10 lần.



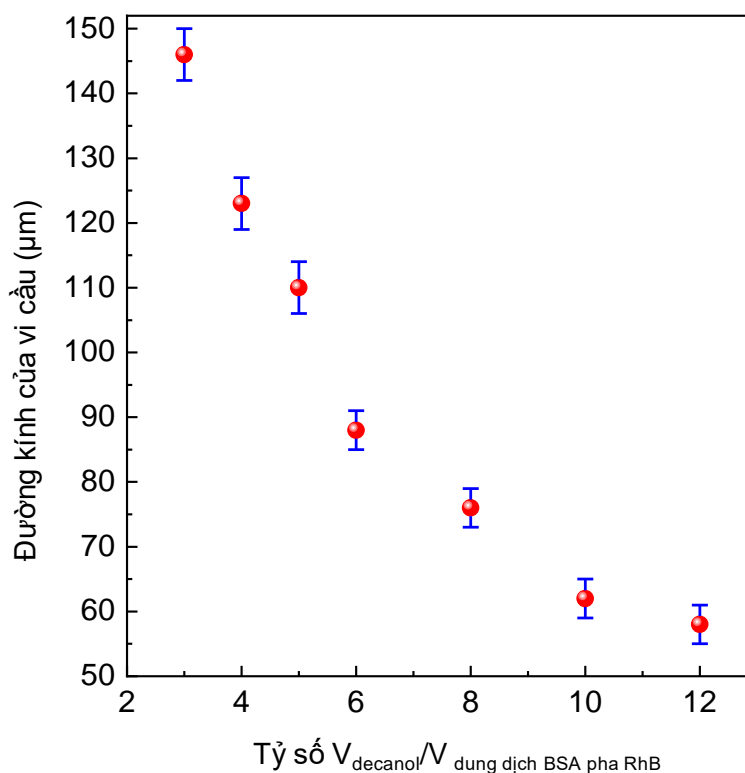
Hình 4.12. a) Ảnh chụp vùng giao cắt tạo hạt của chip kênh dẫn vi lưu: Pha lỏng chứa dung dịch protein BSA pha hoạt chất RhB bị hai dòng chất lỏng decanol ép và cắt rời tạo thành giọt tại điểm giao cắt, b,c,d) Các giọt lỏng có kích thước khác nhau được tạo ra và di chuyển trong kênh dẫn đầu ra tới kim đầu ra.

Khi tỷ số tốc độ bơm được thiết lập cố định các giọt lỏng có kích thước tương tự nhau được tạo ra. Chúng được di chuyển thông qua hệ thống kênh dẫn đầu ra, tới dây dẫn đầu ra và tới hộp chứa (hộp kính có phủ màng Teflon). Như đã phân tích ở Chương 3, từ các giọt lỏng có nồng độ BSA như nhau ở kích thước giống nhau thông qua cùng điều kiện của quá trình khử nước trong Decanol sẽ hình thành nên các vi

cầu có cùng kích thước. Minh chứng cho luận điểm này được thể hiện trên Hình 4.13a-c. Trên Hình 4.13a là ảnh hiển vi quang học của 18 vi cầu có cùng kích thước khoảng 110 μm . Ở Hình 4.13b là 13 vi cầu có kích thước khoảng 85 μm , và 8 vi cầu có kích thước khoảng 76 μm như trên Hình 4.13c (các vi cầu nằm sát nhau do chúng được tạo ra nhiều và liên tục từ hệ thống kênh dẫn đầu ra chảy vào hộp chứa).



Hình 4.13. a-c) Ảnh các cụm vi cầu rắn kích thước tương tự nhau sau quá trình khử nước với phân bố hoạt chất màu RhB đồng đều.

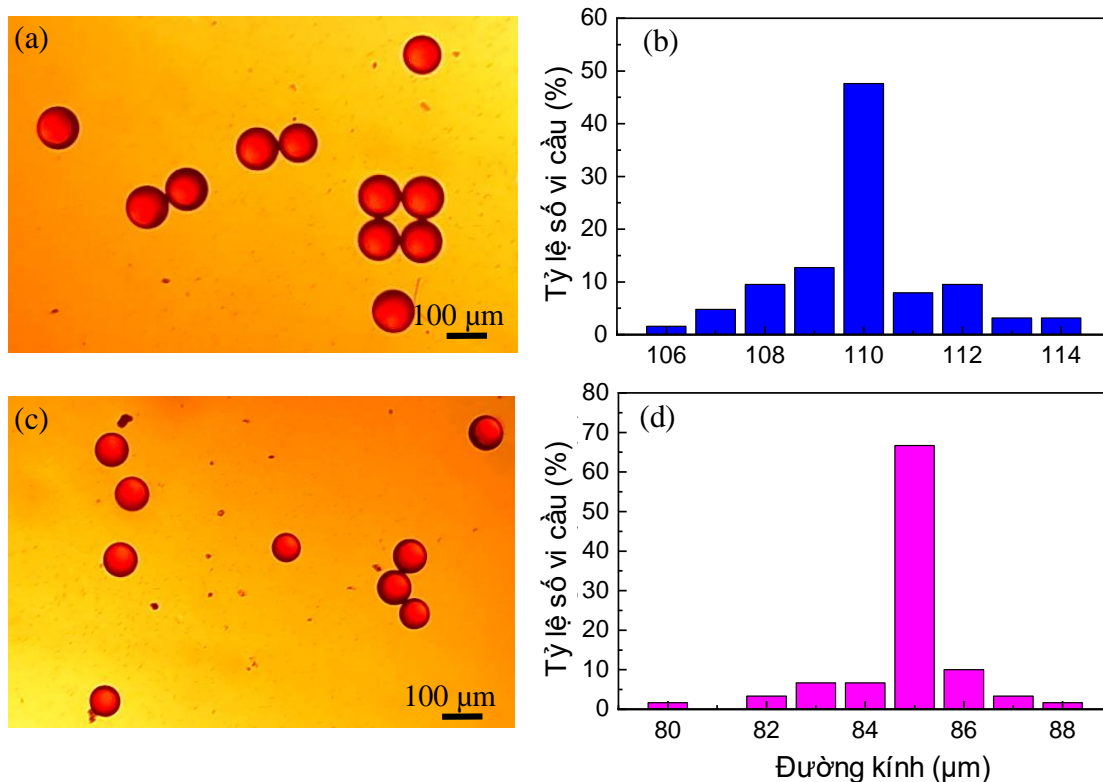


Hình 4.14. a-c) Điều khiển kích thước của các vi cầu rắn sử dụng phương pháp thay đổi tỷ số tốc độ bơm của hai pha chất lỏng.

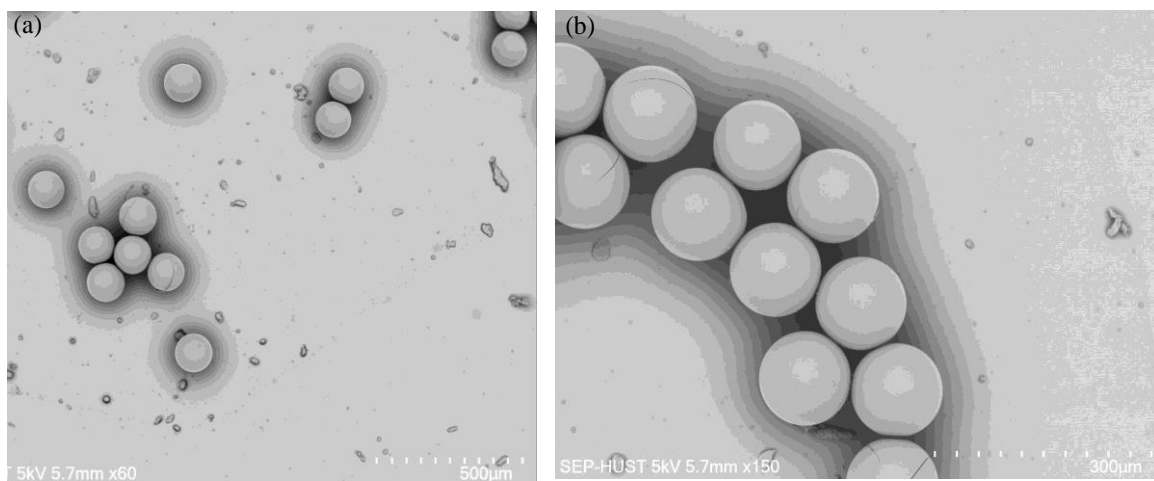
Thông kê sự phụ thuộc của kích thước vi cầu thu được vào tỷ số tốc độ bơm của hai pha lỏng được thể hiện như Hình 4.14. Khi tăng dần tỷ số tốc độ bơm từ 3 lên 12 lần, kích thước của các vi cầu thu được có xu hướng giảm dần từ 145 μm xuống vùng 53 μm . Để đảm bảo an toàn cho hệ thống kênh dẫn, tỷ số tốc độ lớn nhất mà tôi sử dụng được thiết lập ở mức 12 (khi thử nghiệm sử dụng ở tỷ số tốc độ bơm cao hơn có thể dẫn tới sự phá hủy các kênh dẫn, sự rò chất lỏng ra khỏi kênh dẫn).

Nghiên cứu về phân bố kích thước của vi cầu đã chế tạo ở các tỷ số tốc độ khác nhau, tôi tiến hành thống kê trên các nhóm khoảng 60 vi cầu (ảnh chụp kính hiển vi quang học một phần nhóm vi cầu này như Hình 4.15a,c). Kết quả cho thấy ở tỷ số tốc độ $V_{\text{Decanol}}/V_{\text{dung dịch BSA}}$ là 5 và 6 lần có khoảng 50% vi cầu có cùng đường kính 110 μm và 70% vi cầu có cùng đường kính 85 μm . Trong dải kích thước 110 μm cũng xuất hiện 50% còn lại là các vi cầu có kích thước 106 - 109 μm và 111 - 114 μm . Tương tự trong khoảng kích thước 85 μm cũng xuất hiện khoảng 30% còn lại là các vi cầu trong dải kích thước 80 - 84 và 86 - 88 μm . Khoảng phân bố về kích thước ở mức 3-4% như tổng hợp trong Hình 4.15b, d. Kết quả này tương đương với một số công trình công bố tương tự [46].

Với phương pháp này chưa thu được toàn bộ các vi cầu ở cùng các dải kích thước. Kết quả này có thể do 03 nguyên nhân sau: (1) Sự dao động nhất định tới từ hệ thống nguồn điện cấp cho các vi bơm, (2) Sự không đồng nhất giữa các bơm (hai hãng sản xuất khác nhau) dẫn tới tốc độ bơm có sự dao động một khoảng hẹp và (3) Ảnh hưởng từ sự rung lắc của toàn bộ hệ thống thiết bị khi chúng đặt trong tủ hút khí. Các lý do này gây hưởng tới quá trình cắt tạo từng giọt lỏng protein pha hoạt chất RhB, từ đó ảnh hưởng tới kích thước cuối cùng của các laser vi cầu sau quá trình khử nước. Tuy không tạo ra 100% các loạt vi cầu có cùng dải kích thước nhưng thông qua hệ thống kênh dẫn vi lưu tôi đã chế tạo ra được các vi cầu có dải phân bố kích thước hẹp với khoảng 50 - 70 % các vi cầu có cùng kích thước. Bên cạnh đó dải kích thước này có thể được điều khiển linh hoạt chỉ bởi thay đổi thông số tỷ số tốc độ bơm của hai pha lỏng. Các kết quả chế tạo vi cầu này là tiền đề để thu được các nguồn laser có đặc trưng tương tự nhau.



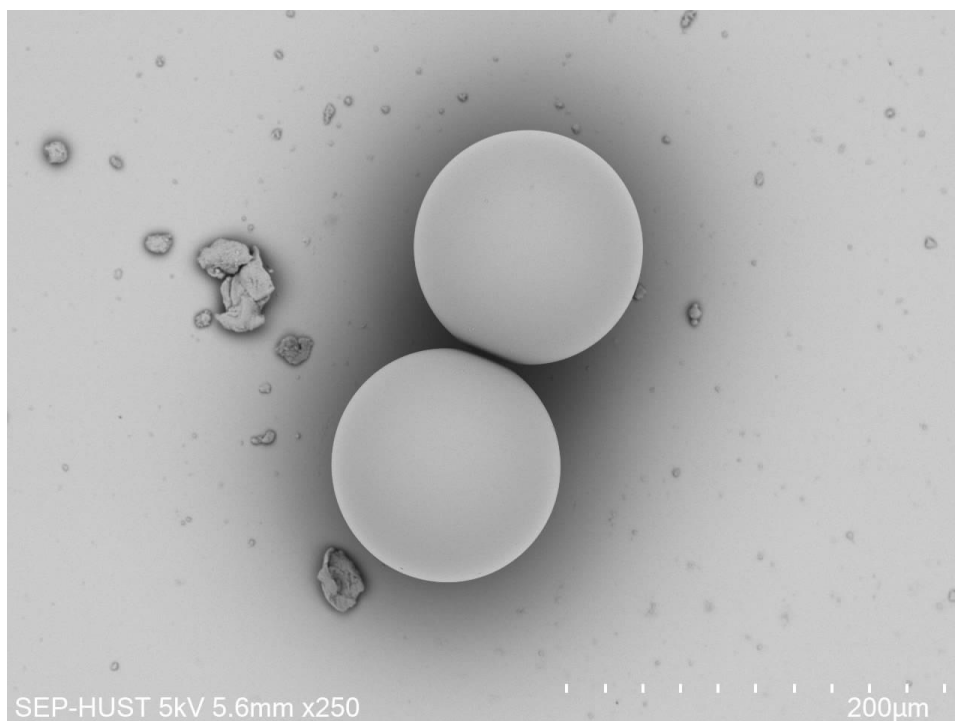
Hình 4.15. a,c) Các ảnh hiển vi quang học của các cụm vi cầu có kích thước quanh dải 110 và 85 μm, b,d) Thống kê phân bố kích thước các vi cầu.



Hình 4.16. Ảnh SEM độ phóng đại khác nhau của các cụm vi cầu kích thước khoảng 110 μm.

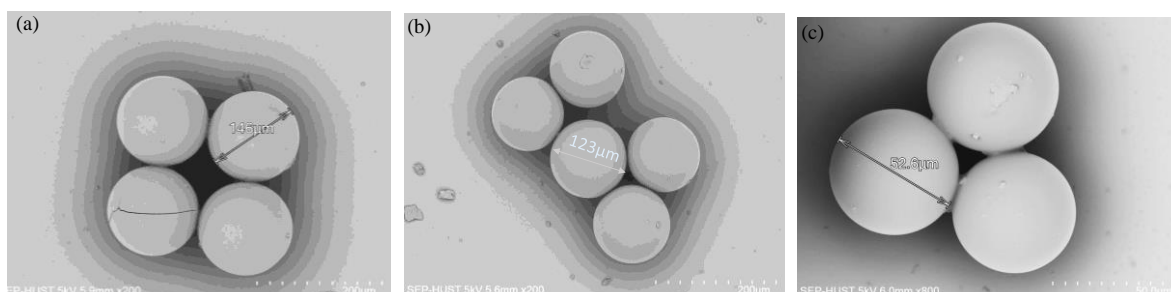
Về hình dạng các vi cầu được quan sát rõ hơn trên ảnh SEM, như Hình 4.16a,b. Tất cả các cấu trúc có dạng vi cầu (tỷ lệ 100%) và có kích thước khoảng 110 μm. Ảnh

SEM độ phóng đại cao hơn như trên Hình 4.17 quan sát rõ hai vi cầu giống hệt nhau, với bề mặt nhẵn bóng.



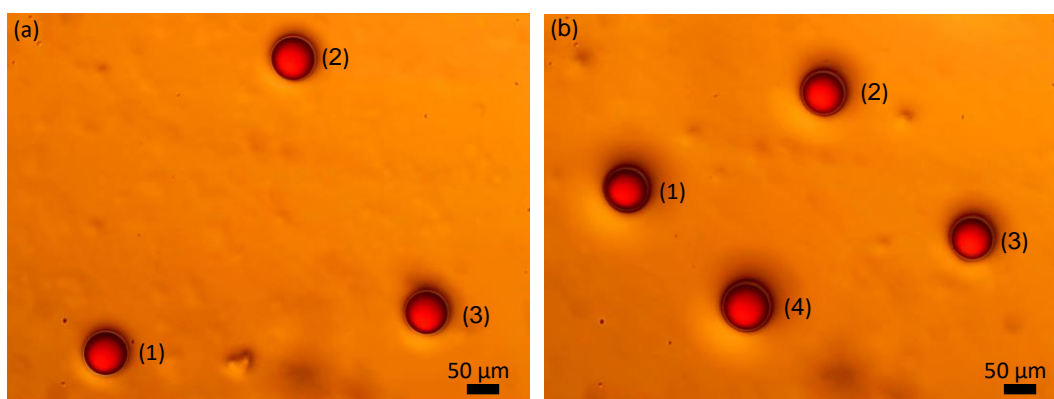
Hình 4.17. Ảnh SEM của hai vi cầu kích thước 110 µm.

Trên Hình 4.18 là ảnh SEM là các loạt vi cầu ở tỷ số tốc độ 3, 5 và 12 lần. Với cấu hình hệ thống kênh dẫn vi lưu như trên và giới hạn trên của tỷ số tốc độ là 12, cố định nồng độ dung dịch BSA 500 mg/mL. Thống kê từ các loạt vi cầu đã chế tạo sử dụng kênh dẫn vi lưu, kết quả thu được kích thước lớn nhất của vi cầu thu được khoảng 146 µm trong khi kích thước nhỏ nhất khoảng 53 µm.



Hình 4.18. a,b) Ảnh SEM của hai cụm vi cầu ở các kích thước khoảng 146 và 123 µm, c) Ảnh SEM của cụm vi cầu ở kích thước khoảng 53 µm.

Các loại vi cầu ở các dải kích thước khác nhau được nhỏ lên trên các đế kính, phân tán rải rác và đánh dấu vị trí như đã trình bày trong phần thực nghiệm. Trên Hình 4.19 là ảnh hiển vi quang học của hai cụm các vi cầu có kích thước lần lượt 76 và 85 μm , được đánh số thứ tự tương ứng để định danh và lưu trữ các dữ liệu, tránh sự nhầm lẫn giữa các vi cầu cũng như tránh việc khảo sát lặp lại trên một vi cầu. Các đặc trưng laser của chúng sẽ được tối nghiên cứu và thống kê ở phần sau.



Hình 4.19. a) Cụm 3 vi cầu ở dải kích thước khoảng 76 μm , được phân tán và đánh số vị trí từ 1- 3 trên đế kính, b) Cụm 4 vi cầu ở dải kích thước khoảng 85 μm được phân tán và đánh số vị trí trên đế kính từ 1-4.

Như vậy sau khi chế tạo thành công các hệ thống kênh dẫn vi lưu có độ lặp lại cao, các kênh dẫn này được thử nghiệm cho thấy khả năng hoạt động ổn định hiệu quả trong chế tạo các vi cầu rắn chứa BSA pha hoạt chất RhB. Hệ thống kênh dẫn vi lưu đã chế tạo cho thấy khả năng giải quyết được bài toán điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học. Kết quả đã chế tạo thành công nhóm vi cầu với phân bố kích thước hẹp, thu được tỷ lệ các vi cầu ở cùng kích thước lên tới 50 -70%. Những kết quả này là điều kiện cần thiết để tạo ra các nguồn laser vi cầu sinh học với các thông số đặc trưng tương đương.

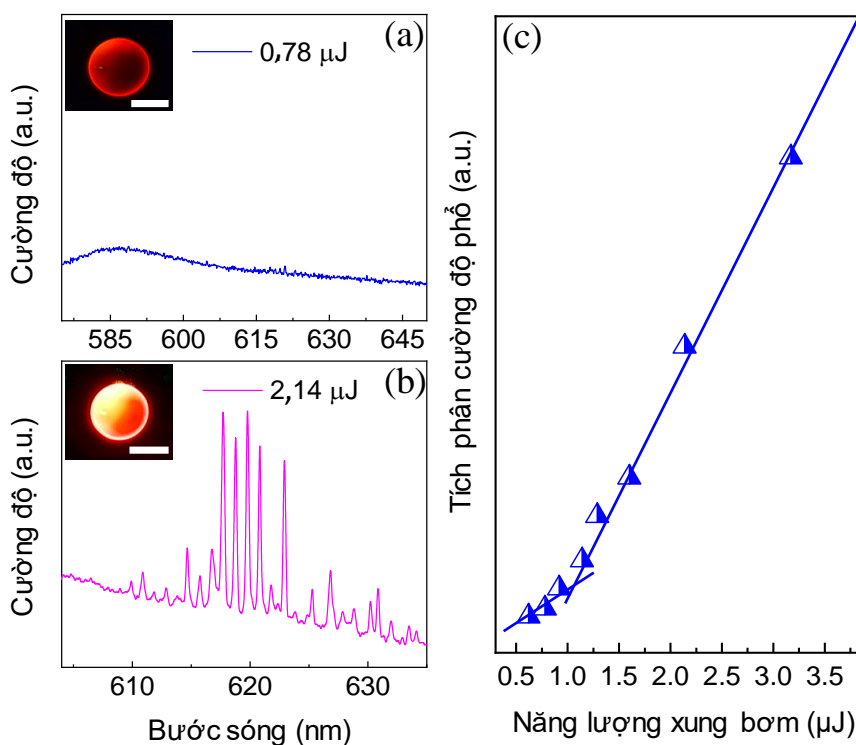
4.2.2. Đặc trưng của laser vi cầu sinh học cùng kích thước

Nghiên cứu các đặc trưng phổ của laser vi cầu cùng kích thước tối lựa chọn từ các cụm vi cầu ở phân bố quanh 76 và 85 μm (dải kích thước này theo nghiên cứu ở

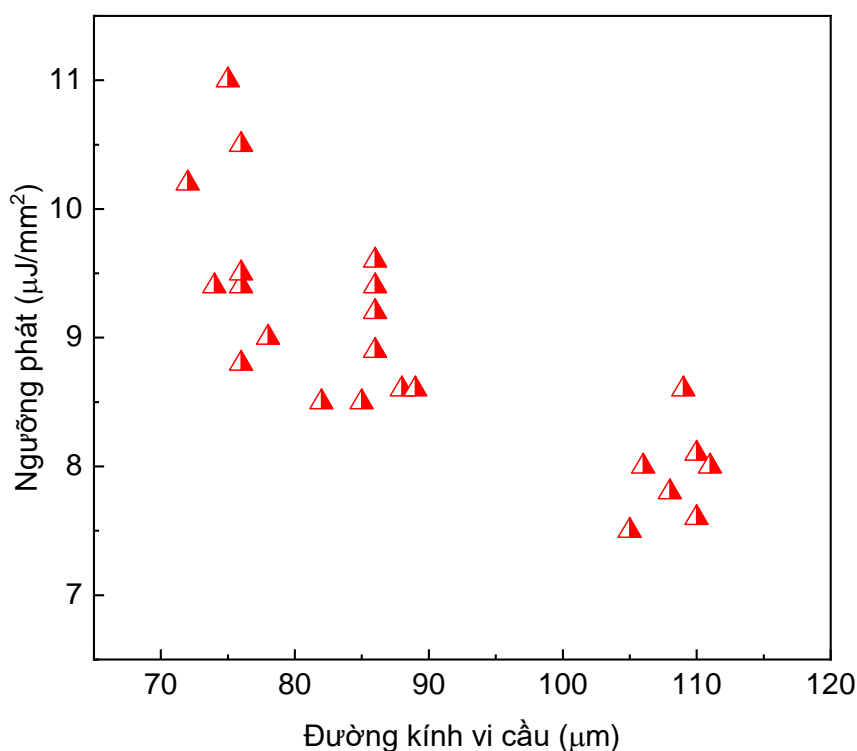
Chương 3 cho thấy ngưỡng phát thấp, hệ số phẩm chất cao và với số lượng mode laser không quá nhiều). Kết quả thống kê các đặc trưng laser của chúng như sau.

4.2.2.1. Ngưỡng phát

Trên Hình 4.20a,b là phổ phát quang từ vi cầu có đường kính 85 μm ở hai mức năng lượng của xung bơm lần lượt là 0,78 và 2,14 μJ / xung. Ở mức năng lượng xung kích thích thấp chỉ quan sát thấy sự phát quang tự phát với dải phát xạ rộng. ở mức năng lượng 2,14 μJ / xung có thể quan sát rõ vị trí các mode laser xuất hiện. Các vị trí mode laser với đặc trưng vạch phổ hẹp và cường độ cao. Tính toán giá trị ngưỡng phát cho kết quả ở mức 0,70 μJ / xung tương ứng với mật độ năng lượng khoảng 7,30 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$. Ngưỡng phát này tương đương với nguồn laser vi cầu cùng kích thước chế tạo bằng phương pháp khử nước từ dung dịch protein đã trình bày trong Chương 3.



Hình 4.20. a và b) Phổ phát quang từ vi cầu có đường kính 85 μm ở hai mức năng lượng của xung bơm lần lượt là 0,78 và 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng, c) Tích phân cường độ phổ phát xạ laser để tính ngưỡng phát.

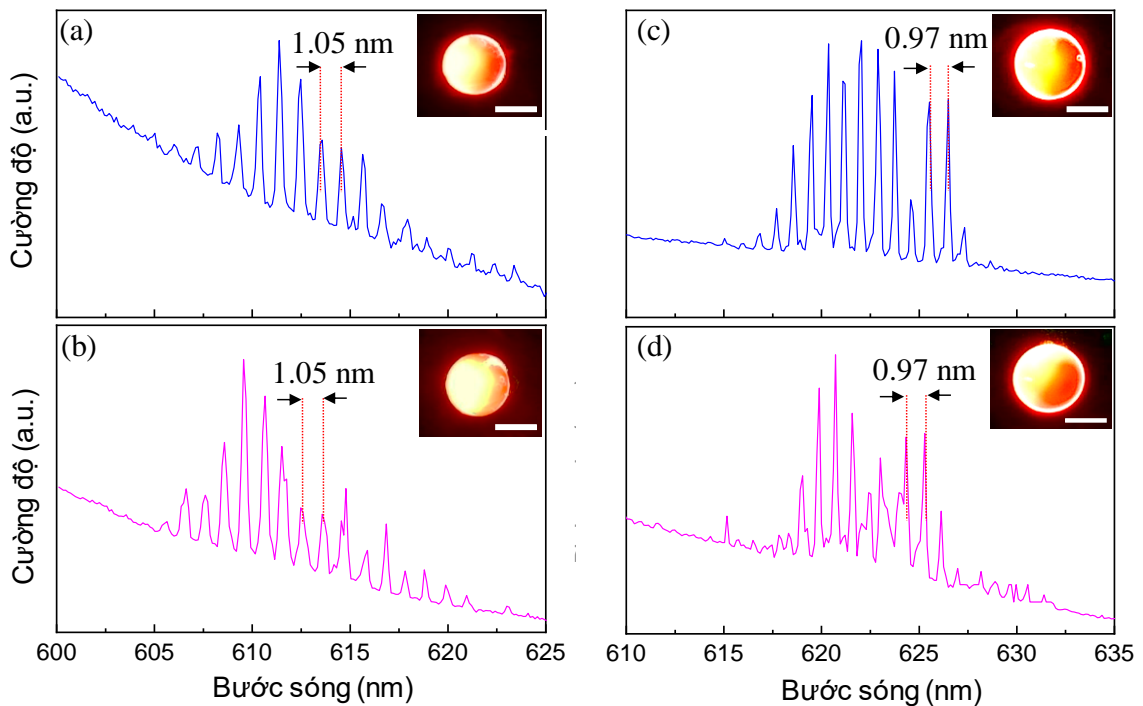


Hình 4.21. Thống kê ngưỡng phát của một số cụm laser vi cầu được chế tạo từ hệ kênh dẫn vi lưu.

Thống kê ngưỡng phát của 23 nguồn laser vi cầu có ở dải kích thước từ 72 tới 113 μm thể hiện như trên Hình 4.21 gồm 8 vi cầu có kích thước quanh 75 μm , 8 vi cầu có kích thước quanh 85 μm và 7 vi cầu có kích thước quanh 110 μm . Kết quả thống kê cho thấy mật độ năng lượng ngưỡng phát phân bố ngưỡng phát trong khoảng 7 - 11 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$. Các vi cầu có kích thước giống nhau nhưng ngưỡng phát không hoàn toàn đồng nhất (dao động trong khoảng 20%). Điều này có thể giải thích là do sự phụ thuộc phức tạp của ngưỡng phát vào nhiều yếu tố khác ngoài kích thước và do sự dao động nhất định của năng lượng xung bơm từ nguồn laser kích thích. Quan sát xu hướng tổng thể, ngưỡng phát giảm dần khi kích thước của laser vi cầu tăng, tương tự như kết quả đã thống kê ngưỡng phát với dải kích thước rộng hơn ở Chương 3. Nhìn chung các vi cầu ở cùng dải kích thước cho thấy mức ngưỡng phát tương tự nhau. Điều này là phù hợp do chúng được chế tạo bởi cùng quy trình công nghệ và thực hiện phép đo trong điều kiện giống nhau.

4.2.2.2. Vị trí mode

Nghiên cứu vị trí mode laser của các nguồn laser vi cầu có kích thước tương đương. Kết quả phân tích phổ và thống kê cho thấy các nguồn laser vi cầu kích thước giống nhau cho kết quả về vị trí mode phát laser tương tự nhau. Trên Hình 4.22a,b là phổ phát xạ laser từ hai vi cầu có kích thước khoảng 76 μm (được đánh dấu vị trí trên ảnh hiển vi quang học số 1 và 2 trong Hình 4.19a). Trên phổ phát xạ các mode laser xuất hiện trong vùng 605 - 620 nm với hình dáng phổ và vị trí tương đương nhau. Kết quả tương tự với hai vi cầu ở kích thước 85 μm (được đánh dấu vị trí số 1 và 2 trên ảnh hiển vi quang học như Hình 4.19b) với các mode laser xuất hiện trong vùng 615 - 630 nm ở các vị trí tương đương. Kết quả này cũng thu được khi nghiên cứu trên các laser vi cầu khác ở các vùng dải kích thước.



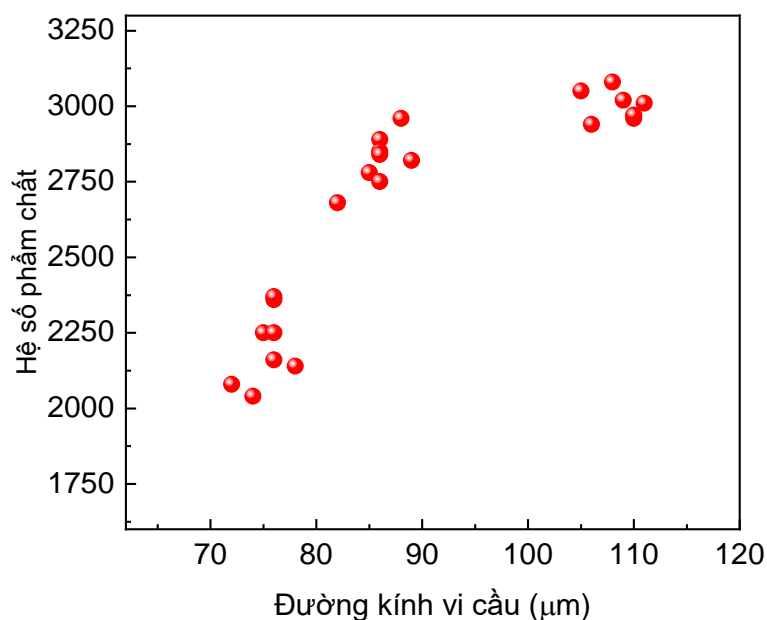
Hình 4.22. a,b) Phổ phát quang từ hai vi cầu có đường kính 76 μm ở năng lượng của xung bơm 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng, c,d) Phổ phát quang từ hai vi cầu có đường kính 85 μm ở năng lượng của xung bơm 2,14 μJ / xung cùng ảnh hiển vi quang học của chúng.

4.2.2.3. Khoảng phổ tự do

Đối với phổ tự do (FSR) như đã phân tích trong Chương 3, các vi cầu có kích thước giống nhau về lý thuyết sẽ cho giá trị FSR tương đương. Kết quả này chứng minh như trong Hình 4.22a,b. Nghiên cứu trên cặp các vi cầu có kích thước 76 và 85 μm có giá trị FSR xác định từ phổ thực nghiệm tương ứng là 1,05 và 0,97 nm. Về mặt lý thuyết (Công thức 1.15), FSR được tính toán theo biểu thức $\lambda^2/\pi nD$, với λ là bước sóng laser, n và D lần lượt là chiết suất và đường kính của vi cầu. Trong trường hợp này có các giá trị lần lượt là $n = 1,47$, $D = 76$ và 85 μm . Giả sử giá trị bước sóng cộng hưởng $\lambda = 620$ nm, FSR tương ứng được tính toán là 1,06 và 0,97 nm, tương thích tốt với các giá trị thu được từ thực nghiệm của phổ laser ở trên.

4.2.2.4. Hệ số phẩm chất

Tương tự với ngưỡng phát, khoảng phổ tự do và vị trí mode, hệ số phẩm chất Q của các laser vi cầu có kích thước tương đương cũng cho kết quả tương tự nhau. Xu thế hệ số phẩm chất của laser vi cầu sinh học tăng dần khi kích thước của vi cầu tăng tương ứng được thống kê như Hình 4.23.

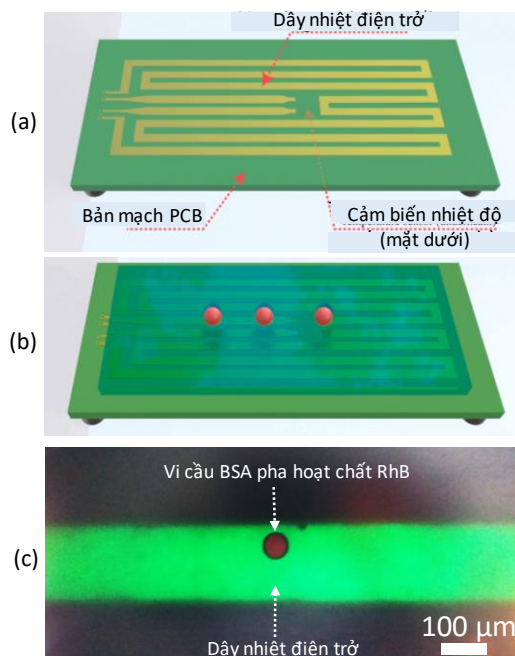


Hình 4.23. Thống kê hệ số phẩm chất của một số cụm laser vi cầu được chế tạo từ hệ kênh dẫn vi lưu.

Tính toán và thống kê trên 23 vi cầu đã nghiên cứu ngưỡng phát ở trên, các vi cầu có kích thước phân bố quanh 76 μm cho hệ số phẩm chất trong vùng 2000 tới 2300, trong khi các vi cầu có kích thước quanh 85 μm có hệ số phẩm chất trong khoảng 2650 tới 2950. Các vi cầu quanh 110 μm cho hệ số phẩm chất quanh 3000. Ở cùng dải kích thước, độ lớn của Q dao động trong khoảng tương đối hẹp, cỡ 10% cho thấy sự tương đương về chất lượng của các nguồn laser vi cầu đã chế tạo. Tổng hợp các kết quả chế tạo và điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học tôi đã công bố trên tạp chí *Optics Letters*.

4.3. Ứng dụng của laser vi cầu sinh học

Để nghiên cứu ứng dụng của laser vi cầu sinh học trong cảm biến nhiệt độ môi trường tiếp xúc, ảnh hưởng của nhiệt độ lên đặc tính phổ của laser được thực hiện theo cả chiều tăng nhiệt độ và chiều giảm nhiệt độ. Giá trị phổ laser được ghi nhận ở các nhiệt độ điều khiển xác định (Sau khoảng thời gian là 30 s tính từ thời điểm nhiệt độ điều khiển ổn định).



Hình 4.24. a) Minh họa thiết kế các thành phần của đế PCB điều khiển nhiệt độ, b) Minh họa các laser vi cầu tiếp xúc trên đế kính mỏng bên trên đế gia nhiệt, c) Ảnh hiển vi quang học của vi cầu kích thước 85 μm nằm phía trên đế gia nhiệt.

Trên cơ sở các nguồn laser có kích thước giống nhau và cùng các thông số hệ đo, vị trí các mode laser trong đặc trưng phổ của chúng có thể thay đổi tương đương nhau so với sự thay đổi nhiệt độ để tiếp xúc. Các nguồn laser vi cầu được đặt phía trên đế kính mỏng (chiều dày 1mm) rồi đặt phía trên tấm gia nhiệt có gắn cảm biến nhiệt độ. Thông số nhiệt độ thiết lập và điều khiển ở đây là nhiệt độ để tiếp xúc nên giá trị này thực tế cao hơn nhiệt độ của nguồn laser vi cầu đang khảo sát (do quá trình truyền nhiệt qua đế kính và tới vi cầu có độ trễ nhất định, bên cạnh đó diện tích tiếp xúc của vi cầu với đế kính nhỏ). Tôi sử dụng cụm các laser vi cầu kích thước 85 μm (được đánh số biểu diễn như Hình 4.19b) để nghiên cứu ảnh hưởng của sự thay đổi thông số nhiệt độ để tiếp xúc lên đặc tính phổ laser từ đó phân tích khả năng ứng dụng chúng trong cảm biến nhiệt độ. Để có thể so sánh các vi cầu với nhau, mức năng lượng xung bơm kích thích được giữ nguyên tại giá trị 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$ trong toàn bộ quá trình khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ.

Phân tích phổ của nguồn laser vi cầu dưới xung laser kích thích có năng lượng 2,14 $\mu\text{J}/\text{xung}$ ở các mức nhiệt độ để được thiết lập khác nhau lần lượt là: 36, 38, 40, 42, 44 $^{\circ}\text{C}$. Tôi tiến hành mở xung laser laser kích thích và ghi phổ phát xạ laser từ vi cầu khi nhiệt độ của hệ thống điều khiển đã đạt trạng thái ổn định, đồng thời giả thiết rằng xung laser kích thích trong thời gian ngắn giả thiết không ảnh hưởng lên nhiệt độ của đế tiếp xúc. Kết quả cho thấy khi nhiệt độ điều khiển tăng dần, vị trí mode laser vi cầu ứng với cường độ phát xạ cực đại có xu hướng dịch chuyển về vùng bước sóng thấp hơn (Hình 4.25a). Toàn bộ hệ thống các mode laser cũng có chung xu hướng dịch chuyển này. Sự dịch chuyển phổ laser khi tăng nhiệt độ hiện nay có thể được giải thích theo hai nguyên nhân chính là: (1) Hiệu ứng quang nhiệt và (2) Sự dịch chuyển của phổ phát xạ huỳnh quang RhB [20, 90].

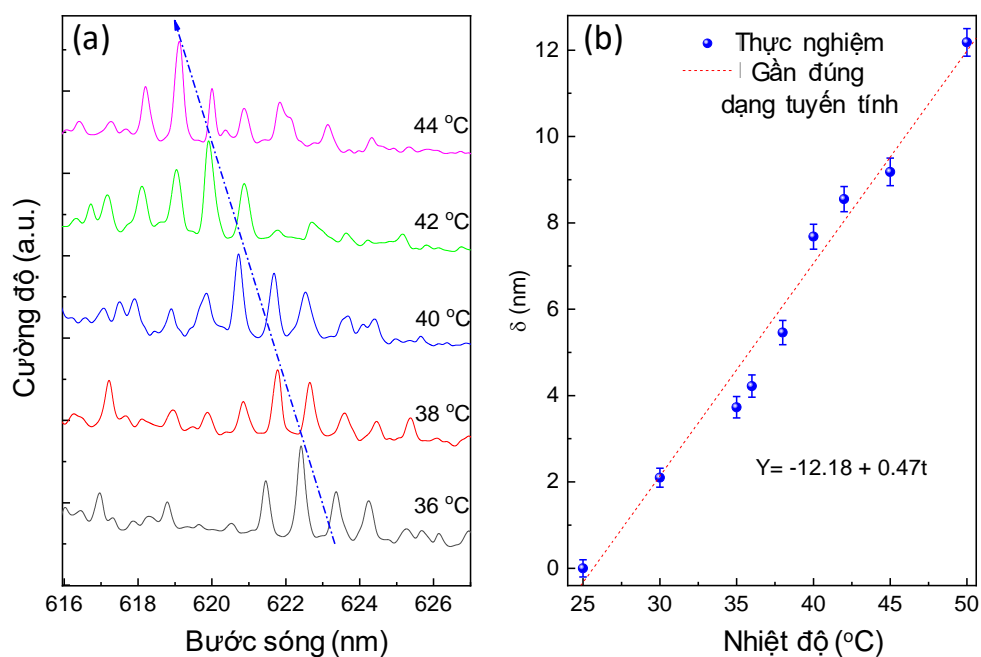
Thực hiện lặp lại quy trình gia nhiệt ở các mức nhiệt khác nhau (05 lần, lấy giá trị trung bình của sự dịch chuyển phổ đặc trưng laser), kết quả cho thấy sự phụ thuộc của dịch chuyển vị trí mode (chọn quan sát mode có cường độ phổ lớn nhất) của laser thay đổi theo dạng hàm số tuyến tính với sự gia tăng của nhiệt độ để tiếp xúc (Hình

4.25 b). Từ kết quả này cho thấy laser vi cầu sinh học đã chế tạo có triển vọng ứng dụng trong các cảm biến nhiệt độ môi trường.

Trong dải nhiệt độ 25 °C đến 50 °C hàm dịch phổ đặc trưng theo nhiệt độ của laser vi cầu 85 μm ở trên có dạng:

$$Y = -12,18 + 0,47t$$

Trong đó Y tương ứng với khoảng dịch chuyển bước của sóng mode (nm), t là giá trị nhiệt độ (°C). Từ đó nếu biết vị trí của mode laser (mode có cường độ lớn nhất) tại nhiệt độ 25 °C, có thể tính toán nhiệt độ của đế mà laser vi cầu đang tiếp xúc theo công thức trên thông qua phân tích sự dịch chuyển của phổ laser.

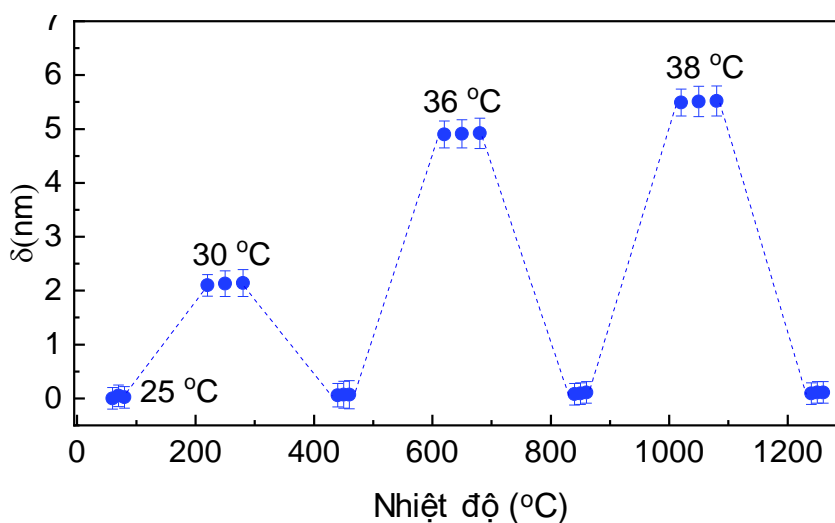


Hình 4.25. a) Sự dịch chuyển phổ phát xạ từ laser vi cầu có kích thước 85 μm trên tấm đế điều khiển và gia nhiệt khi thay đổi nhiệt độ để tiếp xúc, b) Đặc trưng dịch phổ (vị trí mode laser) theo nhiệt độ và hàm đặc trưng nhiệt độ gần đúng dạng tuyến tính.

Ứng dụng trong cảm biến nhiệt độ môi trường tiếp xúc sử dụng nguồn laser vi cầu với đặc trưng phổ ở trên sẽ có các thông số đặc trưng như sau:

Độ nhạy: Vi cảm biến nhiệt độ môi trường sử dụng nguồn laser vi cầu sinh học và hệ kích thích quang học như trên cho giá trị độ nhạy đạt khoảng 0,47 nm/°C, cao hơn 2 lần so với cảm biến nhiệt sử dụng laser dạng nhân [90].

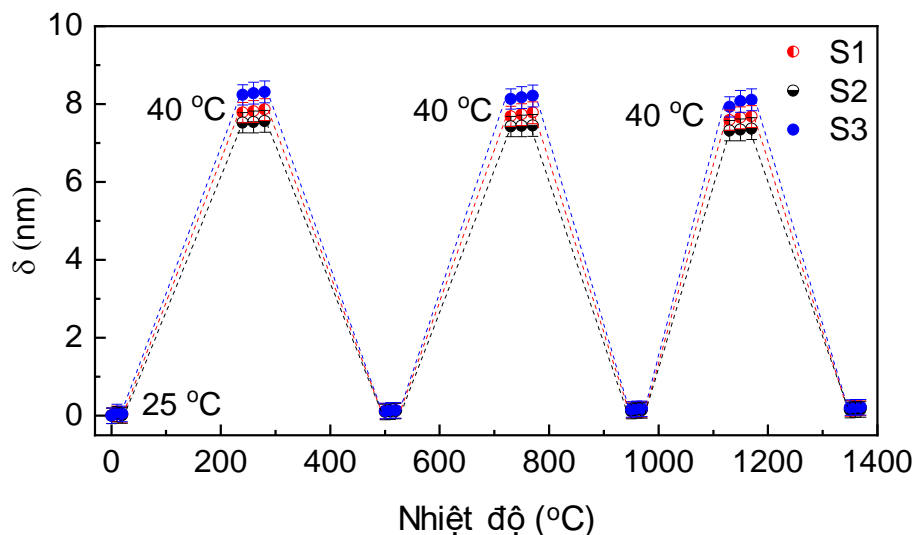
Khả năng hồi phục: Để nghiên cứu khả năng hồi phục trở lại trạng thái phổ ban đầu ở mức nhiệt độ phòng, tiến hành gia tăng nhiệt độ của đế từ 25 °C lên các mức 30, 36 và 38 °C, duy trì ở từng mức nhiệt này trong thời gian một phút, tiến hành đo đặc trưng phổ laser rồi để đế hạ nhiệt độ tự nhiên về mức nhiệt độ 25 °C. Kết quả cho thấy các mode laser có xu hướng dịch chuyển trở lại vị trí ban đầu. Cụ thể, như Hình 4.26, vị trí mode ứng với cường độ phát xạ cực đại, ở nhiệt độ 30 °C dịch chuyển khoảng 2,10 nm so với nhiệt độ 25 °C, và trở lại trạng thái này khi nhiệt độ giảm trở lại. Tương tự vị trí mode này dịch chuyển 4,22 và 5,46 nm khi nhiệt độ tăng lên các mức 36 và 38 °C và trở lại vị trí ban đầu sau quá trình giảm nhiệt độ. Đặc tính này cũng diễn ra tương tự với độ lặp lại cao khi gia tăng nhiệt độ khảo sát lên các mức cao hơn (tới mức nhiệt 50 °C).



Hình 4.26. Sự hồi phục vị trí mode cộng hưởng về vị trí ban đầu khi giảm nhiệt độ của bề mặt để tiếp xúc với laser vi cầu.

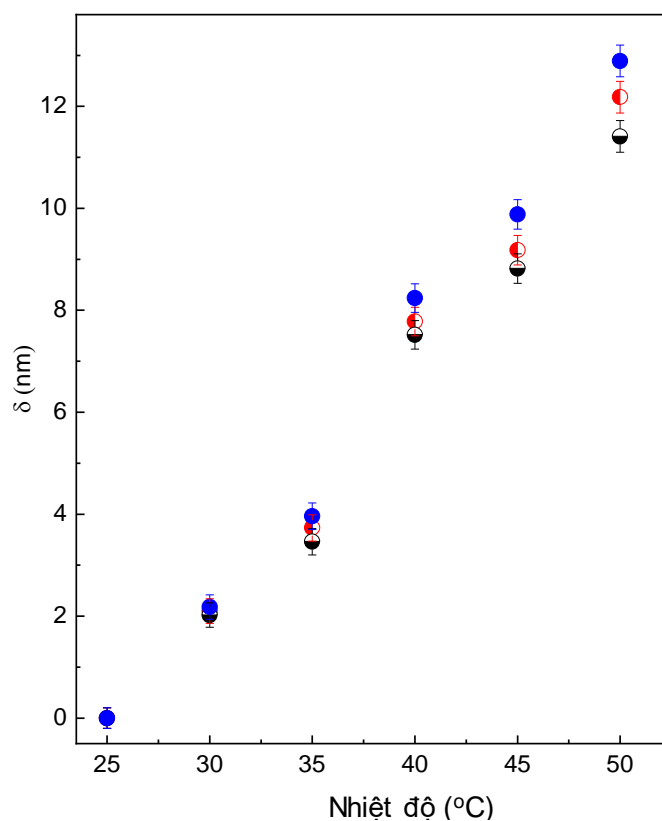
Độ lặp lại: Nghiên cứu trên các nguồn laser vi cầu sinh học khác khác (cùng dải kích thước và lựa chọn ngẫu nhiên được đánh số vị trí từ 1-3 trong Hình 4.19). Kết quả cho thấy đặc tính dịch phổ theo nhiệt độ và khả năng phục hồi vị trí mode của các nguồn laser vi cầu trên khá tương đồng. Kết quả biểu diễn trên Hình 4.27 cho

thấy từ mức nhiệt độ phòng 25 °C gia tăng tới mức 40 °C, cả ba nguồn laser vi cầu đều cho mức dịch phổ khoảng 7,2 - 8 nm thể hiện độ lặp lại tốt đối với các nguồn laser khác nhau. Đồng thời các nguồn laser này cũng có mức dịch phổ và khả năng hồi phục tương đương tương đương trong các lần gia nhiệt tiếp theo. Tuy nhiên khi phân tích và thống kê đặc tính dịch phổ theo nhiệt độ của chúng, đường đặc trưng dịch phổ của chúng không hoàn toàn trùng khớp nhau. Kết quả thể hiện như trên Hình 4.30. Mức độ dịch phổ và đặc trưng dịch phổ không hoàn toàn trùng khớp có thể đến từ việc kích thước của chúng có sự sai khác nhỏ, và điều này dẫn tới sự sai khác về đặc trưng nhiệt độ trong quá trình thực hiện các phép đo.



Hình 4.27. Sự lặp lại đặc tính dịch phổ của 03 nguồn laser vi cầu kích thước 85 μm dưới năng lượng xung bơm 2,14 μJ / xung.

Các kết quả ban đầu này cho thấy tiềm năng ứng dụng của laser vi cầu sinh học trong cảm biến nhiệt độ. Với ưu điểm về kích thước chỉ cỡ micro mét và tính tương thích sinh học cao, các nguồn laser vi cầu sinh học này có thể được xem như một giải pháp phù hợp cho các phép đo nhiệt độ tiếp xúc đối với các môi trường và đối tượng sinh học khác nhau. Tổng hợp các kết quả trọng tâm ở phần ứng dụng của laser vi cầu sinh học này này đã được đăng trên tạp chí *Journal of Physics D: Applied Physics*



Hình 4.28. Đặc trưng dịch phổ theo nhiệt độ của 03 nguồn laser vi cầu kích thước $85 \mu\text{m}$ dưới năng lượng xung bơm $2,14 \mu\text{J}/\text{xung}$.

Để tiếp tục phát triển hướng nghiên cứu về laser vi cầu sinh học này, một số vấn đề mà chúng tôi hướng tới để giải quyết trong các nghiên cứu tiếp theo sau khuôn khổ của luận án này như:

- Cải thiện đặc trưng phổ của các vi cầu cùng kích thước;
- Thay thế vật liệu mới để laser vi cầu có thể hoạt động tốt trong môi trường nước;
- Biến tính bề mặt của laser vi cầu, hướng tới cảm biến các đối tượng sinh học khác nhau....

KẾT LUẬN CHƯƠNG 4

Trong chương 4 tôi đã trình bày và thảo luận các kết quả về chế tạo hệ kênh dẫn vi lưu, ứng dụng để chế tạo và điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học. Trên cơ sở các nguồn laser vi cầu có cùng kích thước và đặc trưng laser tương tự nhau, đã thử nghiệm ứng dụng của chúng trong cảm biến nhiệt độ. Các kết quả trọng tâm như sau:

Về chế tạo hệ thống kênh dẫn vi lưu:

- Thiết kế hệ thống mặt nạ cản quang định hình cấu trúc kênh dẫn từ đó chế tạo mặt nạ cản quang dạng phim. Các cấu trúc trên mặt nạ cản quang cho thấy đảm bảo sự liên tục với khoảng kích thước thực tế và kích thước thiết kế có độ sai lệch tương đối nhỏ.
- Đã chế tạo thành công cấu trúc khuôn từ màng cản quang với các thông số quy trình được tối ưu.
- Đã chế tạo thành công khuôn dẻo từ vật liệu PDMS. Kích thước kênh chứa dung dịch protein BSA pha hoạt chất màu RhB với chiều rộng x chiều sâu khoảng 52 x 30 μm ; kênh dẫn decanol với chiều rộng x chiều sâu khoảng 150 x 115 μm và kênh dẫn đầu ra với chiều rộng x chiều sâu khoảng 320 x 105 μm . Các hệ thống kênh trên khuôn PDMS hình thành rõ nét và liên tục cho thấy sự thành công các quy trình chế tạo và bộ các thông số công nghệ của quy trình thực nghiệm là phù hợp.
- Đã chế tạo thành công 12 bộ chip kênh dẫn vi lưu giống nhau trên cơ sở cùng một khuôn PDMS. Qua thử nghiệm các chip vi lưu đều hoạt động ổn định.

Từ các hệ thống kênh dẫn vi lưu, đã điều khiển thành công kích thước của vi cầu laser và thu được dải vi cầu có phân bố kích thước hẹp:

- Đã điều khiển được dải kích thước đầu ra của giọt lỏng protein pha hoạt chất màu. Từ đó, điều khiển dải kích thước cửa laser vi cầu, trong khoảng

từ 52 tới 146 μm . Quá trình điều khiển tương đối linh hoạt, dựa trên sự thay đổi tỷ số tốc độ của hai dòng chất lỏng (thông qua điều khiển bơm vi lưu).

- Kết quả cho thấy, ở tỷ số tốc độ $V_{\text{decanol}}/V_{\text{dung dịch BSA}}$ lần lượt là 5 và 6 tương ứng, có thể thu được khoảng 50% vi cầu có cùng đường kính 110 μm và khoảng 70% vi cầu có cùng đường kính 85 μm . Tuy không thể tạo ra tất cả các vi cầu có đường kính hoàn toàn giống nhau, nhưng thông qua hệ thống kênh dẫn vi lưu, đã tạo ra được số lượng lớn các vi cầu tương đương.

Nghiên cứu đặc trưng laser của các vi cầu có cùng kích thước và bước đầu thử nghiệm ứng dụng của laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ. Kết quả cho thấy có sự tương đương về ngưỡng phát, vị trí mode, khoảng phổ tự do và hệ số phẩm chất của các laser vi cầu cùng dải kích thước.

Từ đặc trưng phổ laser của các vi cầu cùng kích thước (dải 85 μm):

- Đã thử nghiệm ứng dụng của laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ môi trường (Ở dải nhiệt liên quan tới các hoạt động sống của nhiều nhóm vi sinh vật trong vùng 25 $^{\circ}\text{C}$ đến 50 $^{\circ}\text{C}$).
- Kết quả cho thấy khi ứng dụng cho cảm biến nhiệt độ môi trường (của bề tiếp xúc) laser vi cầu có thể hoạt động như các cảm biến nhiệt độ siêu nhỏ đạt độ nhạy khoảng 0,47 nm/ $^{\circ}\text{C}$, cao hơn 2 lần so với cảm biến nhiệt sử dụng laser dạng vi nhẵn.
- Các nguồn laser cho thấy sự hồi phục tốt khi tái sử dụng và đường đặc trưng nhiệt độ có xu hướng tương tự nhau.

Như vậy Chương số 4 đã giải quyết được các bài toán về điều khiển kích thước của laser vi cầu, chế tạo laser vi cầu có kích thước tương đương số lượng lớn. Bước đầu, đã ứng dụng thử nghiệm thành công laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ môi trường. Các kết quả cho thấy tiềm năng triển khai ứng dụng trong thực tế.

KẾT LUẬN CHUNG

Luận án đã tập trung nghiên cứu và chế tạo laser vi cầu sinh học với các đóng góp vào định hướng nghiên cứu này bao gồm:

1. Chế tạo thành công laser vi cầu sinh học từ vật liệu protein tự nhiên trong lòng trắng trứng và protein chiết xuất BSA pha hoạt chất RhB trên cơ sở phương pháp khử nước từ dung dịch protein:

- Các vi cầu được chế tạo khép kín trong một quy trình với thời gian ngắn khoảng 10 phút chỉ bằng 1/20 so với các phương pháp khác như đông lạnh hay bay hơi chậm dung môi;
- Điều kiện thực hiện chế tạo ở nhiệt độ phòng, có thể gia nhiệt tới 60-80 °C để rút ngắn thêm thời gian chế tạo. Các bước thực hiện không quá phức tạp về mặt công nghệ và cơ sở vật chất phù hợp với điều kiện nghiên cứu tại Việt Nam;
- Các cấu trúc đã chế tạo 100% có hình dạng cầu.

2. Nghiên cứu và thống kê các thông số đặc trưng laser cho thấy:

- Tất cả các vi cầu đã chế tạo đều phát xạ laser khi được kích thích dưới năng lượng xung phù hợp;
- Vị trí các mode laser và khoảng phổ tự do FSR phù hợp với các lý thuyết về WGM laser;
- Dải ngưỡng phát laser trong khoảng 22-55 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ đối với vật liệu protein từ lòng trắng trứng ngỗng và cải thiện giảm hơn hai lần xuống mức 7 - 33 $\mu\text{J}/\text{mm}^2$ đối với vật liệu protein BSA, tương đương với các công trình đã công bố đối với laser vi cầu protein;
- Thông số hệ số phẩm chất đạt mức cao 10^3 tương đương với các nguồn laser vi cầu sinh học khác.

3. Đã nghiên cứu chế tạo thành công hệ thống kênh dẫn vi lưu trên cơ sở công nghệ quang khắc mềm ứng dụng trong điều khiển kích thước của laser vi cầu sinh học:

- Đã thiết kế chế tạo thành công mặt nạ cản quang định hình cấu trúc kênh dẫn vi lưu;
- Đã chế tạo thành công cấu trúc khuôn từ màng cản quang với các thông số quy trình được tối ưu;
- Đã chế tạo thành công khuôn dẻo từ vật liệu PDMS. Kích thước kênh chứa dung dịch protein BSA pha hoạt chất màu RhB với chiều rộng x chiều sâu khoảng 52 x 30 μm ; kênh dẫn decanol với chiều rộng x chiều sâu khoảng 150 x 115 μm và kênh dẫn đầu ra với chiều rộng x chiều sâu khoảng 320 x 105 μm . Các hệ thống kênh trên khuôn PDMS hình thành rõ nét và liên tục cho thấy sự thành công các quy trình chế tạo và bộ các thông số công nghệ của quy trình thực nghiệm là phù hợp;
- Đã chế tạo thành công 12 bộ chip kênh dẫn vi lưu giống nhau trên cơ sở cùng một khuôn PDMS. Qua thử nghiệm các chip vi lưu đều hoạt động ổn định.

4. Sử dụng kết hợp hệ thống kênh dẫn vi lưu và quá trình khử nước từ dung dịch protein để chế tạo và điều khiển thành công kích thước của laser vi cầu sinh học:

- Thông qua thay đổi tỷ số tốc độ bơm của các dòng chất lỏng vào hệ thống kênh dẫn vi lưu để điều khiển được dải kích thước giọt lỏng protein pha hoạt chất màu. Kết hợp cùng quá trình khử nước từ dung dịch protein để điều khiển dải kích thước của laser vi cầu trong khoảng từ 52 tới 146 μm ;
- Đã chế tạo được khoảng 50-70% laser vi cầu sinh học có cùng dải kích thước với dải phân bố kích thước hẹp, dao động thay đổi trong vùng 3-4%. Kết quả này tương đương với một số công trình đã công bố về chế tạo laser vi cầu trên vật liệu thông thường khác.

5. Trên cơ sở các laser vi cầu cùng kích thước và có đặc trưng laser tương tự nhau ứng dụng chúng trong cảm biến nhiệt độ môi trường:

Sử dụng các laser vi cầu sinh học ở dải kích thước khoảng 85 μm :

- Đã thử nghiệm thành công ứng dụng của laser vi cầu trong cảm biến nhiệt độ môi trường trong dải nhiệt độ 25 °C đến 50 °C;
- Kết quả cho thấy khi ứng dụng cho cảm biến nhiệt độ môi trường (của đế tiếp xúc) laser vi cầu có thể hoạt động như các cảm biến siêu nhỏ đạt độ nhạy 0,47 nm/ °C;
- Các nguồn laser cho thấy sự hồi phục tốt khi tái sử dụng và đường đặc trưng nhiệt độ có sự tương đương nhau.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Các công trình công bố trên tạp chí khoa học thuộc danh mục ISI

1. **T.V. Nguyen**, N.V. Pham, H.H. Mai, D.C. Duong, H.H. Le, R. Sapienza, V.-D. Ta (2019), " Protein-based microsphere biolasers fabricated by dehydration ", *Soft Matter* 15, pp. 9721-9726.
2. V.D. Ta, T.V. Nguyen, Q.V. Pham, **T.V. Nguyen**. (2019), " Biocompatible microlasers based on polyvinyl alcohol microspheres", *Optics Communications* 459, pp. 124925.
3. **T.V. Nguyen**, H.H. Mai, T.V. Nguyen, D.C. Duong, V.D. Ta. (2020), " Egg white based biological microlasers ", *Journal of Physics D: Applied Physics* 53, pp. 445104.
4. **T.V. Nguyen**, V.D. Ta. (2020), " High-quality factor, biological microsphere and microhemisphere lasers fabricated by a single solution process ", *Optics Communications* 465, pp. 125647.
5. **T. V. Nguyen**, T. D. Nguyen, N. V. Pham, T.-A. Nguyen, and D. V. Ta. (2021), " Monodisperse and size-tunable high-quality factor microsphere biolasers ", *Optics Letters* 46, pp. 2517-2520.

2. Công trình công bố trên tạp chí khoa học trong nước

6. **T.V. Nguyen**, N.V. Pham, V.D. Ta. (2021), " Fabricating microsphere lasers by protein dehydration: A fast fabrication method and excellent lasing properties ", *VNU Journal of Science Mathematics – Physics* 37, PP. 17-23.

3. Các công trình công bố trên kỷ yếu hội nghị khoa học Quốc tế và trong nước

7. **T.V. Nguyen**, N.V. Pham, V.D. Ta. (2019), " Fabrication and optical properties of microsphere biolasers ", *the 4th International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology (ICAMN 2019) proceedings*, pp. 189-191.

8. **T.V. Nguyen**, H.H. Mai, V.D. Ta. (2019), " Fabrication and lasing characteristics of kudzu starch based microsphere biolasers ", *the 6th Academic Conference on Natural Science for Young Scientists, Master and PhD Students from ASEAN Countries (CASEAN - 6) proceedings*, pp. 21-24.
9. **T.V. Nguyen**, N.V. Pham, V.D. Ta. (2021), " Protein dehydration as a novel approach for fabrication of high quality microsphere biolasers ", *Advances in Optics, Photonics, Spectroscopy & Applications XI proceedings*, pp. 118-121.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aniket, Gaul D.A., Rickard D.L., Needham D. (2014), "MicroclassificationTM: A Novel Technique for Protein Dehydration", *J. Pharm. Sci* 103, pp. 810-820.
2. Aniket, Gaul D.A., Bitterfield D.L., Su J.T., Li V.M., Singh I., Morton J., Needham D. (2015), "Enzyme dehydration using Microclassification preserves the protein's structure and function", *J. Pharm. Sci* 104, pp. 640-651.
3. Anna S.L., Bontoux N. Stone H.A. (2003), "Formation of dispersions using "flow focusing" in microchannels", *Appl. Phys. Lett* 82, pp. 364-366.
4. Arakawa E.T., Tuminello P.S., Khare B.N., Milham M.E. (2001), "Optical properties of ovalbumin in 0.130–2.50 μm spectral region", *Biopolymers* 62, pp. 122-128.
5. Aubry G., Kou Q. Soto-Velasco J., Wang C., Meance S., He J. Haghiri-Gosnet A.-M. (2011), "A multicolor microfluidic droplet dye laser with single mode emission", *Appl. Phys. Lett* 98, pp. 111111.
6. Barucci A., Grimaldi I., Persichetti G., Berneschi S., Soria S., Tiribilli B., Bernini R., Baldini F., Nunzi Conti G. (2018), "Selective coupling of Whispering Gallery Modes in film coated micro-resonators", *Opt. Express* 26, pp. 11737.
7. Bica I. (2000), "Formation of glass microspheres with rotating electrical arc", *Mater. Sci. Eng. C* 77, pp. 210-212.
8. Brouzes E., Medkova M. Savenelli N., Marran D., Twardowski M. Link D.R., Perrimon N., Samuels M.L. (2009), "Droplet microfluidic technology for single-cell high-throughput screening", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, pp. 14195-14200.
9. Cai H., Zhong X., Yang P.-H., Wei W., Chen J., Cai J. (2010), "Probing site-selective binding of rhodamine B to bovine serum albumin", *Colloids Surf. A* 372, pp. 35-40.
10. Caixeiro S., Gaio M., Marelli B., Omenetto F.G., Sapienza R. (2016), "Silk-Based Biocompatible Random Lasing", *Adv. Opt. Mater* 4, pp. 998-1003.
11. Chen R., Ta V.D., Sun H. (2014), "Bending-Induced Bidirectional Tuning of Whispering Gallery Mode Lasing from Flexible Polymer Fibers", *ACS Photonics* 1, pp. 11-16.
12. Chen Y.-C., Fan X. (2019), "Biological Lasers for Biomedical Applications", *Adv. Opt. Mater* 0, pp. 1900377.
13. Chiasera A., Dumeige Y., Féron P., Ferrari M., Jestin Y., Nunzi Conti G., Pelli S., Soria S., Righini G.C. (2010), "Spherical whispering-gallery-mode microresonators", *Laser Photon. Rev.* 4, pp. 457-482.
14. Conwell P.R., Barber P.W., Rushforth C.K. (1984), "Resonant spectra of dielectric spheres", *J. Opt. Soc. Am. A* 1, pp. 62-67.
15. Dogru I.B., Min K. Umar M., Bahmani Jalali H., Begar E., Conkar D. Kim S., Nizamoglu S. (2017), "Single transverse mode protein laser", *Appl. Phys. Lett* 111, pp. 231103.

16. Duan R., Li Y., Li H., Yang J. (2019), "Detection of heavy metal ions using whispering gallery mode lasing in functionalized liquid crystal microdroplets", *Biomed. Opt. Express* 10, pp. 6073.
17. Duong T.V. (2014), Flexible Whispering Gallery Mode Optical Microcavities for Lasers and Sensors, Ph.D. Thesis, Nanyang Technological University.
18. Elliott G.R., Murugan G.S., Wilkinson J.S., Zervas M.N., Hewak D.W. (2010), "Chalcogenide glass microsphere laser", *Opt. Express* 18, pp. 26720-26727.
19. Eryürek M., Tasdemir Z., Karadag Y., Anand S., Kilinc N., Alaca B.E., Kiraz A. (2017), "Integrated humidity sensor based on SU-8 polymer microdisk microresonator", *Actuator B-Chem.* 242, pp. 1115-1120.
20. Estrada-Pérez C., Hassan Y., Tan S. (2011), "Experimental characterization of temperature sensitive dyes for laser induced fluorescence thermometry", *Rev. Sci. Instrum.* 82, pp. 074901.
21. Fan X., Yun S.-H. (2014), "The potential of optofluidic biolasers", *Nat. Methods* 11, pp. 141-147.
22. Feng Z. Bai L. (2018), "Advances of Optofluidic Microcavities for Microlasers and Biosensors", *Micromachines* 9, pp. 122.
23. Foreman M.R., Swaim J.D., Vollmer F. (2015), "Whispering gallery mode sensors", *Adv. Opt. Photonics* 7, pp. 168-240.
24. François A., Riesen N. Ji H., Afshar S. V., Monro T.M. (2015), "Polymer based whispering gallery mode laser for biosensing applications", *Appl. Phys. Lett* 106, pp. 031104.
25. Fraser M.D., Höfling S., Yamamoto Y. (2016), "Physics and applications of exciton-polariton lasers", *Nat. Mater.* 15, pp. 1049.
26. Fredericks W.J., Hammonds M.C., Howard S.B., Rosenberger F. (1994), "Density, thermal expansivity, viscosity and refractive index of lysozyme solutions at crystal growth concentrations", *J. Cryst. Growth* 141, pp. 183-192.
27. Gaio M., Caixeiro S., Marelli B., Omenetto F.G., Apienza R. S. (2017), "Gain-Based Mechanism for pH Sensing Based on Random Lasing", *Phys. Rev. Appl.* 7.
28. Gao R., Ying Z., Sheng W., Zheng P. (2018), "Gas sensors based on ZnO/silk fibroin film for nitrogen dioxide detection under UV light at room temperature", *Mater. Lett.* 229, pp. 210-212.
29. Garrett C.G.B., Kaiser W., Bond W.L. (1961), "Stimulated Emission into Optical Whispering Modes of Spheres", *Physical Review* 124, pp. 1807-1809.
30. Gorodetsky M.L., Savchenkov A.A., Ilchenko V.S. (1996), "Ultimate Q of optical microsphere resonators", *Opt. Lett.* 21, pp. 453-455.
31. Hansch T W. (1971), " Laser action of dyes in gelatin", *IEEE J. Quantum Electron.* QE-7, pp. 45-46.
32. Hill M.T., Gather M.C. (2014), "Advances in small lasers", *Nat. Photonics* 8, pp. 908-918.

33. Hoi P.V., Ha C.T.T., Hung H.Q. (2005), "Long-band emission of microsphere lasers based on erbium-doped sol-gel silica-alumina glasses", *Appl. Phys. Lett* 87, 161110.
34. Humar M., Hyun Yun S. (2015), "Intracellular microlasers", *Nat. Photonics* 9, pp. 572.
35. Huntington J.A., Stein P.E. (2001), "Structure and properties of ovalbumin", *J. Chromatogr. B* 756, pp. 189-198.
36. Ilchenko V.S., Savchenkov A.A., Matsko A.B., Maleki.L. (2003), "Dispersion compensation in whispering-gallery modes", *J. Opt. Soc. Am. A* 20, pp. 157-162.
37. Johnson B.R. (1993), "Theory of morphology-dependent resonances: shape resonances and width formulas", *J. Opt. Soc. Am. A* 10, pp. 343-352.
38. Kim S.-H. Shim J. W., Lim J.-M., Lee S. Y., Yang S.-M. (2009), "Microfluidic fabrication of microparticles with structural complexity using photocurable emulsion droplets", *New J. Phys* 11, pp. 075014.
39. Kippenberg T.J.A. (2004), *Nonlinear Optics in Ultra-high-Q Whispering-Gallery Optical Microcavities*, Ph. D. Thesis, California Institute of Technology.
40. Kitamura N., Makihara M., Hamai M., Sato T., Mogi I., Awaji S., Watanabe K., Motokawa M. (2000), "Containerless Melting of Glass by Magnetic Levitation Method", *Jpn. J. Appl. Phys.* 39, pp. L324-L326.
41. Kitamura N., Makihara M., Sato T., Hamai M., Mogi I., Awaji S., Watanabe K., Motokawa M. (2001), "Glass spheres produced by magnetic levitation method", *J. Non-Cryst. Solids* 293, pp. 624-629.
42. Kovacs-Nolan J., Phillips M., Mine Y. (2005), "Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health", *J. Agric. Food Chem.* 53, pp. 8421-8431.
43. Kuwata-Gonokami M., Takeda K. (1998), "Polymer whispering gallery mode lasers", *Opt. Mater.* 9, pp. 12-17.
44. Labrador-Páez L., Soler-Carracedo K., Hernández-Rodríguez M., Martín I.R., Carmon T., Martin L.L. (2017), "Liquid whispering-gallery-mode resonator as a humidity sensor", *Opt. Express* 25, pp. 1165-1172.
45. Lam C.C., Leung P.T., Young K. (1992), "Explicit asymptotic formulas for the positions, widths, and strengths of resonances in Mie scattering", *J. Opt. Soc. Am. B* 9, pp. 1585-1592.
46. Li H., Lei L., Zeng Q., Shi J. Ji H., Ouyang Q., Chen Y. (2010), "Laser emission from dye doped microspheres produced on a chip", *Actuator B-Chem.* 145, pp. 570-574.
47. Liu Z., Liu L., Zhu Z., Zhang Y., Wei Y., Zhang X., Zhao E., Yang J., Yuan L. (2016), "Whispering gallery mode temperature sensor of liquid microresonator", *Opt. Lett.* 41, pp. 4649-4652.
48. Liu Z.-M., Yang Y., Du Y., Pang Y. (2017), "Advances in Droplet-Based Microfluidic Technology and Its Applications", *Chin. J. Anal. Chem.* 45, pp. 282-296.

49. Maiman T.H. (1960), "Stimulated Optical Radiation in Ruby", *Nature* 187, pp. 493-494.
50. McGloin D. (2015), "Cellular lasers", *Nat. Photonics* 9, pp. 559-560.
51. Mysliwiec J., Cyprych K., Sznitko L., Miniewicz A. (2017), "Biomaterials in light amplification", *J. Opt.* 19, pp. 033003.
52. Nagayama Y., Iwamori S., Yamada Y. (2003), "Mechanical Properties of Polytetrafluoroethylene (PTFE) Thin Film Sputtered on the Metal Substrates", *shinku* 46, pp. 827-834.
53. Nguyen T.V., Ta V.D. (2020), "High-quality factor, biological microsphere and microhemisphere lasers fabricated by a single solution process", *Opt. Commun.* pp. 125647.
54. Nunzi Conti G., Chiasera A., Ghisa L., Berneschi S., Brenci M., Dumeige Y., Pelli S., Sebastiani S., Feron P., Ferrari M., Righini G. (2006), "Spectroscopic and lasing properties of Er³⁺-doped glass microspheres", *J. Non-Cryst. Solids* 352, pp. 2360-2363.
55. Oraevsky A.N. (2002), "Whispering-gallery waves", *Quantum Electron.* 32, pp. 377-400.
56. Oulton R.F., Sorger V.J., Zentgraf T., Ma R.M., Gladden C., Dai L., Bartal G., Zhang X. (2009), "Plasmon lasers at deep subwavelength scale", *Nature* 461, pp. 629-632.
57. Patra S., Kotni S., Pabbathi A., Samanta A. (2012), "Diffusion of organic dyes in bovine serum albumin solution studied by fluorescence correlation spectroscopy", *RSC Adv.* 2, pp. 6079.
58. Peng X. Song F., Jiang S., Peyghambarian N., Kuwata-Gonokami M., Xu L. (2003), "Fiber-taper-coupled L-band Er³⁺-doped tellurite glass microsphere laser", *Appl. Phys. Lett.* 82, pp. 1497-1499.
59. Polson R.C., Vardeny Z.V. (2004), "Random lasing in human tissues", *Appl. Phys. Lett.* 85, pp. 1289-1291.
60. Qian S.-X., Snow J.B., Tzeng H.-M., Chang R.K. (1986), "Lasing Droplets: Highlighting the Liquid-Air Interface by Laser Emission", *Science* 231, pp. 486-488.
61. Qin D., Xia Y., Whitesides G. (2010), "Soft Lithography for Micro- and Nanoscale Patterning", *Nat. Protoc.* 5, pp. 491-502.
62. Rayleigh L. (1910), "The problem of the whispering gallery", *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 20, pp. 1001-1004.
63. Richtmyer R.D. (1939), "Dielectric Resonators", *J. Appl. Phys.* 10, pp. 391-398.
64. Rickard D.L., Duncan P.B., Needham D. (2010), "Hydration potential of lysozyme: protein dehydration using a single microparticle technique", *Biophys. J.* 98, pp. 1075-1084.
65. Righini G., Dumeige Y., Feron P., Ferrari M., Nunzi Conti G., Ristić D., Soria S. (2011), "Whispering Gallery Mode microresonators: Fundamentals and applications", *La Rivista del Nuovo Cimento* 34, pp. 435.

66. Righini G., Soria S. (2016), "Biosensing by WGM Microspherical Resonators", *Sensors* 16.
67. Rogers J.A., Nuzzo R.G. (2005), "Recent progress in soft lithography", *Materials Today* 8, pp. 50-56.
68. Romanoff A.L., Sullivan R.A. (1937), "Refractive Index of Egg Albumen: Changes with Age, Season, and Development", *Ind. Eng. Chem. Res.* 29, pp. 117-120.
69. Schäfer J., Mondia J.P., Sharma R., Lu Z.H., Susha A.S., Rogach A.L., Wang L.J. (2008), "Quantum Dot Microdrop Laser", *Nano Lett.* 8, pp. 1709-1712.
70. Schubert M., Steude A., Liehm P., Kronenberg N., Karl M., Campbell E., Powis S., Gather M. (2015), "Lasing within Live Cells Containing Intracellular Optical Microresonators for Barcode-Type Cell Tagging and Tracking", *Nano Lett.* 15.
71. Shan D., Gerhard E., Zhang C., Tierney J.W., Xie D., Liu Z., Yang J. (2018), "Polymeric biomaterials for biophotonic applications", *Bio. Mat.* 3, pp. 434-445.
72. Siddique M., Yang L., Wang Q.Z., Alfano R.R. (1995), "Mirrorless laser action from optically pumped dye-treated animal tissues", *Opt. Commun.* 117, pp. 475-479.
73. Soria S., Berneschi S., Brenchi M., Cosi F., Nunzi Conti G., Pelli S., Righini G. (2011), "Optical Microspherical Resonators for Biomedical Sensing", *Sensors (Basel, Switzerland)* 11, pp. 785-805.
74. Stevens L. (1991), "Egg white proteins", *Comp. Biochem. Physiol. B* 100, pp. 1-9.
75. Su J. (2017), "Label-Free Biological and Chemical Sensing Using Whispering Gallery Mode Optical Resonators: Past, Present, and Future", *Sensors (Basel)* 17, pp. 540.
76. Su J.T., Needham D. (2013), "Mass transfer in the dissolution of a multicomponent liquid droplet in an immiscible liquid environment", *Langmuir* 29, pp. 13339-13345.
77. Sun Y.-L., Hou Z.-S., Sun S.-M. Zheng B.-Y., Ku J.-F., Dong W.-F. Chen Q.-D., Sun H.-B. (2015), "Protein-Based Three-Dimensional Whispering-Gallery-Mode Micro-Lasers with Stimulus-Responsiveness", *Sci. Rep* 5, pp. 12852.
78. Ta D. Yang S., Wang Y. Gao Y., He T., Chen R., Demir H., Sun H. (2015), "Multicolor lasing prints", *Appl. Phys. Lett* 107, pp. 221103.
79. Ta D., Chen R., Sun H. (2013), "Tuning Whispering Gallery Mode Lasing from Self-Assembled Polymer Droplets", *Sci. Rep* 3, pp. 1362.
80. Ta V. D., Chen R., Ma L., Jun Ying Y., Dong Sun H. (2013), "Whispering gallery mode microlasers and refractive index sensing based on single polymer fiber", *Laser Photon. Rev.* 7, pp. 133-139.
81. Ta V.D., Caixeiro S., Fernandes F.M., Sapienza R. (2017), "Microsphere Solid-State Biolasers", *Adv. Opt. Mater* 5, pp. 1601022.
82. Ta V.D., Chen R., Nguyen D.M., Sun H.D. (2013), "Application of self-assembled hemispherical microlasers as gas sensors", *Appl. Phys. Lett* 102, pp. 031107.

83. Ta V.D., Chen R., Sun H.D. (2012), "Self-Assembled Flexible Microlasers", *Adv. Mater* 24, OP60-OP64.
84. Ta V.D., Wang Y., Sun H. (2019), "Microlasers Enabled by Soft-Matter Technology", *Adv. Opt. Mater* 0, pp. 1900057.
85. Tang S., Derda R., Quan Q., Loncar M., Whitesides G. M. (2011), "Continuously tunable microdroplet-laser in a microfluidic channel", *opt. express* 19, pp. 2204-2215.
86. Tanyeri M., Perron R., Kennedy I.M. (2007), "Lasing droplets in a microfabricated channel", *Opt. Lett.* 32, pp. 2529-2531.
87. Toropov N., Cabello G., Serrano M.P., Gutha R.R., Rafti M., Vollmer F. (2021), "Review of biosensing with whispering-gallery mode lasers", *Light Sci. Appl* 10, pp. 42.
88. Venkatakrisnarao D., Mohiddon M.A., Chandrasekar R. (2017), "The Photonic Side of Curcumin: Microsphere Resonators Self-Assembled from Curcumin Derivatives Emitting Visible/Near-Infrared Light", *Adv. Opt. Mater* 5, pp. 1600613.
89. Vollmer F., Arnold S. (2008), "Whispering-gallery-mode biosensing: label-free detection down to single molecules", *Nat. Methods* 5, pp. 591.
90. Wan L., Chandrahilim H., Chen C., Chen Q., Mei T., Oki Y. Nishimura N., Guo L., Fan X. (2017), "On-chip, high-sensitivity temperature sensors based on dye-doped solid-state polymer microring lasers", *Appl. Phys. Lett* 111, pp. 061109.
91. Wang Y., Li H., Zhao L., Wu B., Liu S., Liu Y. (2016), "A review of droplet resonators: Operation method and application", *Opt. Laser. Technol.* 86, pp. 61-68.
92. Wang Y., Ta V.D., Leck K.S., Tan B.H.I., Wang Z., He T., Ohl C.-D., Demir H.V., Sun H. (2017), "Robust Whispering-Gallery-Mode Microbubble Lasers from Colloidal Quantum Dots", *Nano Lett.* 17, pp. 2640-2646.
93. Ward J., Benson O. (2011), "WGM microresonators: sensing, lasing and fundamental optics with microspheres", *Laser Photon. Rev.* 5, pp. 553-570.
94. Wei Y., X Lin., Wei C., Zhang W., Yan Y., Zhao Y.S. (2017), "Starch-Based Biological Microlasers", *ACS nano* 11, pp. 597-602.
95. Whitesides G. (2006), "Whitesides, G.M. The origins and the future of microfluidics. Nature 442, 368-373", *Nature* 442, pp. 368-373.
96. Whitesides G.M. (1998), "soft lithography", *Annu. Rev. Mater. Res.* 28, pp. 153-184.
97. Yang S., Wang Y., Sun H. (2015), "Advances and Prospects for Whispering Gallery Mode Microcavities", *Adv. Opt. Mater* 3, pp. 1136-1162.
98. Yeh C.-H., Lin Y.-C. (2008), "Using a cross-flow microfluidic chip for monodisperse UV-photopolymerized microparticles", *Microfluid. Nanofluidics* 6, pp. 277-283.
99. Yin D.C., Inatomi Y., Wakayama N.I., Huang W.D. (2003), "Measurement of temperature and concentration dependences of refractive index of hen-egg-white lysozyme solution", *Cryst. Res. Technol.* 38, pp. 785-792.

100. Zhang W., Liu F., NindoC ., Tang J. (2013), "Physical properties of egg whites and whole eggs relevant to microwave pasteurization", *J. Food Process Eng.* 118, pp. 62-69.
101. Zhao L., Wang Y., Yuan Y., Liu Y., Liu S., Sun W., Yang J., Li H. (2017), "Whispering gallery mode laser based on cholesteric liquid crystal microdroplets as temperature sensor", *Opt. Commun.* 402, pp. 181-185.