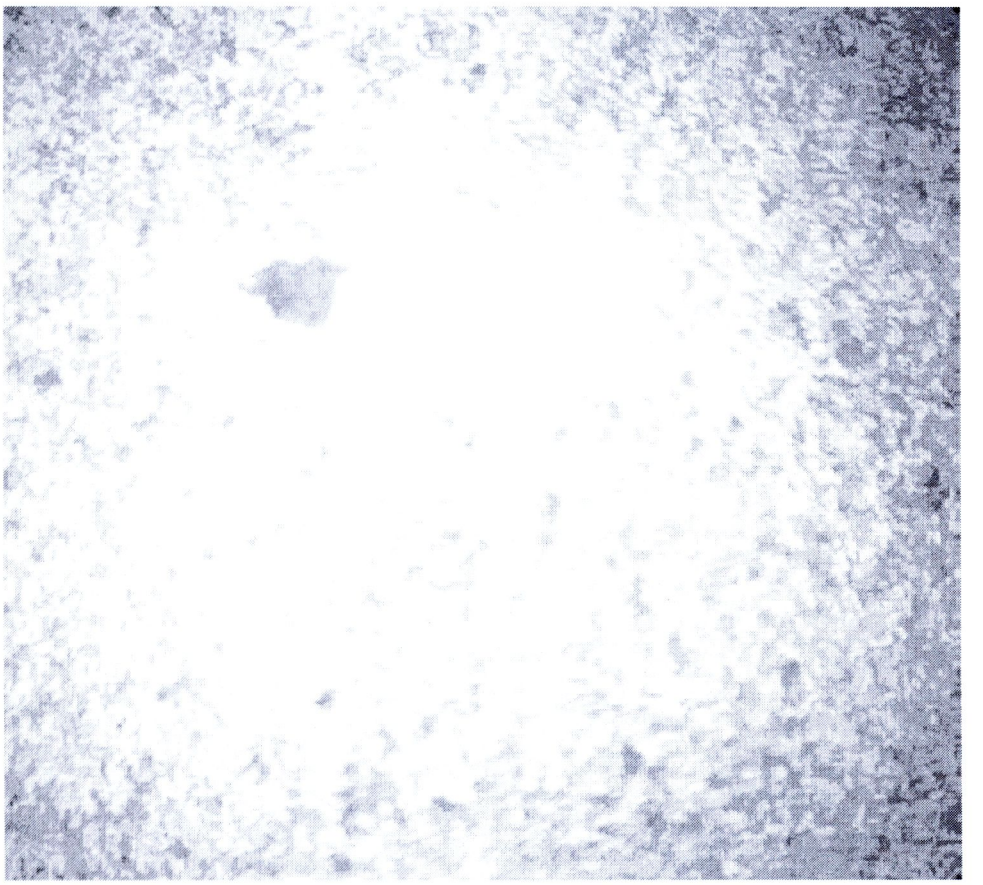
บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

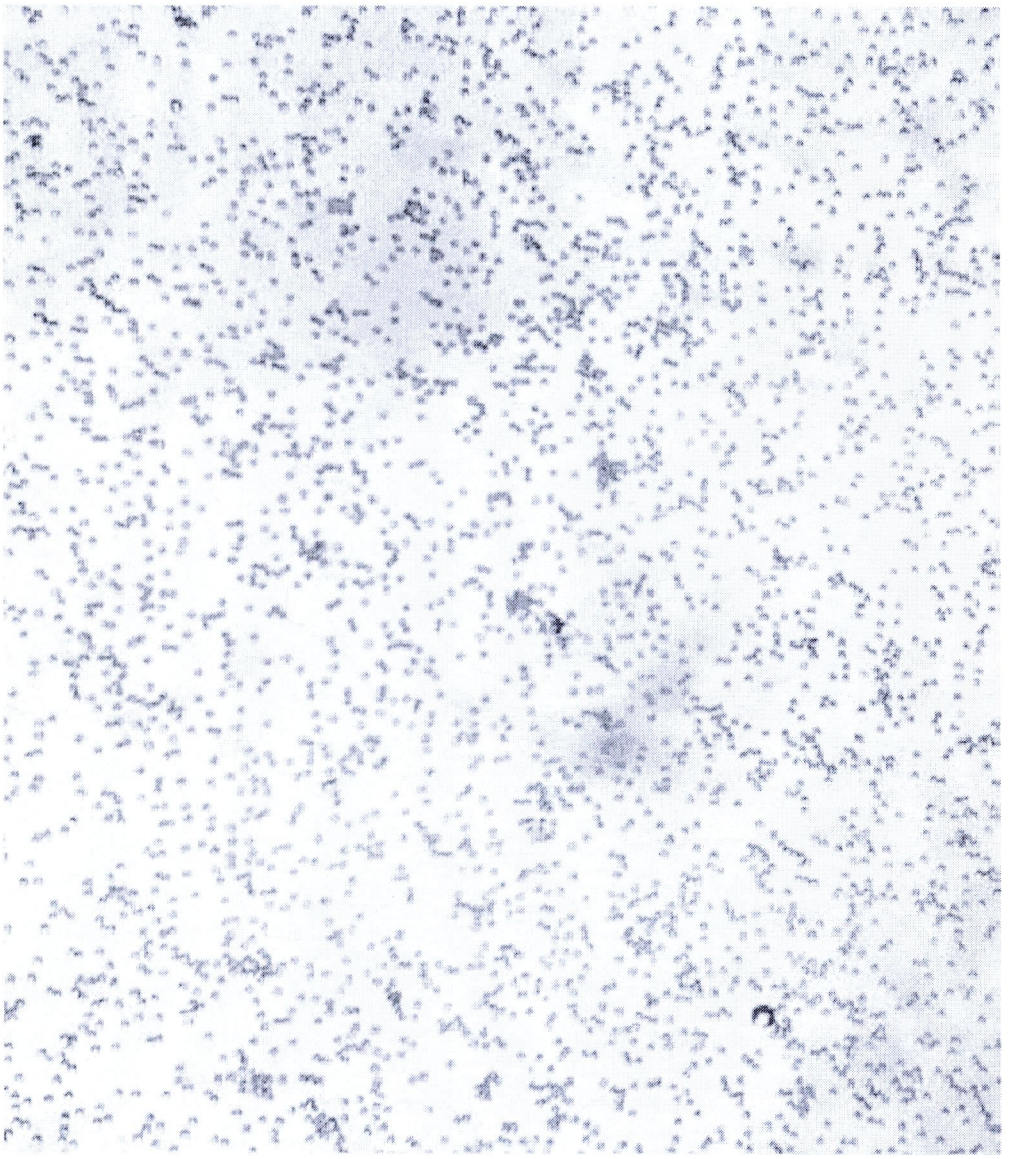
4.1 ลักษณะของสารตัวอย่างโพลีสไตรลีนที่ใช้ Inverted Microscope เลนส์ขนาดต่างๆดังนี้



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีนที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 10X

4.1.1 Inverted Microscope เลนส์กำลังขยายขนาด 10X

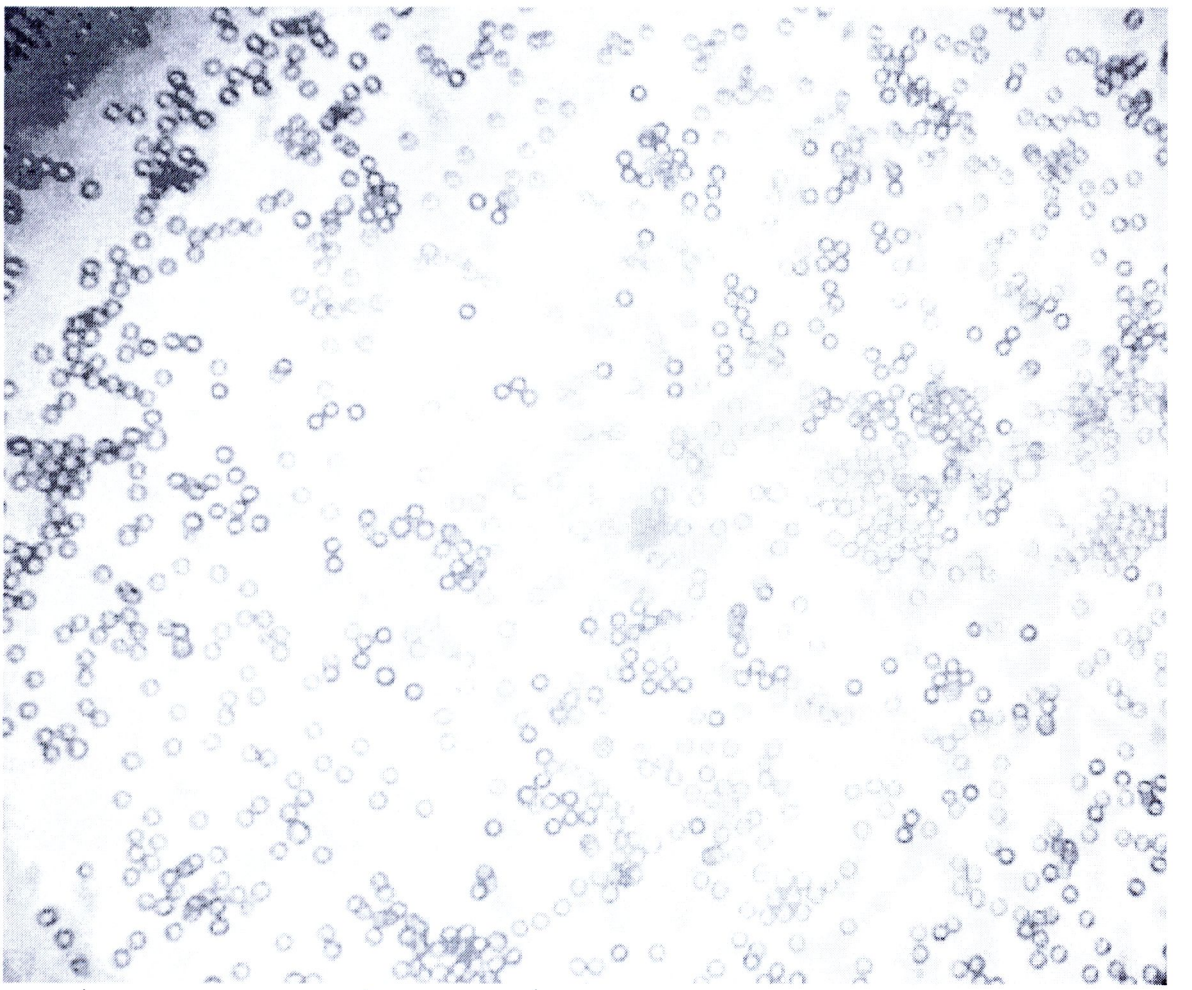
จะแสดงลักษณะการกระจายตัวของเม็ดบีดโพลีสไตรลีน (Micro Polystyrene Beads) อย่างคร่าวๆซึ่งในการส่องด้วยกำลังขยายนี้เราจะทำการทดลองเพื่อสังเกตลักษณะการกระจายตัวอย่างหยาบๆของสารตัวอย่างที่นำมาทำการทดลองและเพื่อศึกษาลักษณะภายนอกรวมทั้งการโฟกัสของตัวอย่างอุปกรณ์และเลนส์ที่ใช้ว่าสามารถใช้งานได้



ภาพ ที่ 4.2 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีนที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 20X

4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 20X

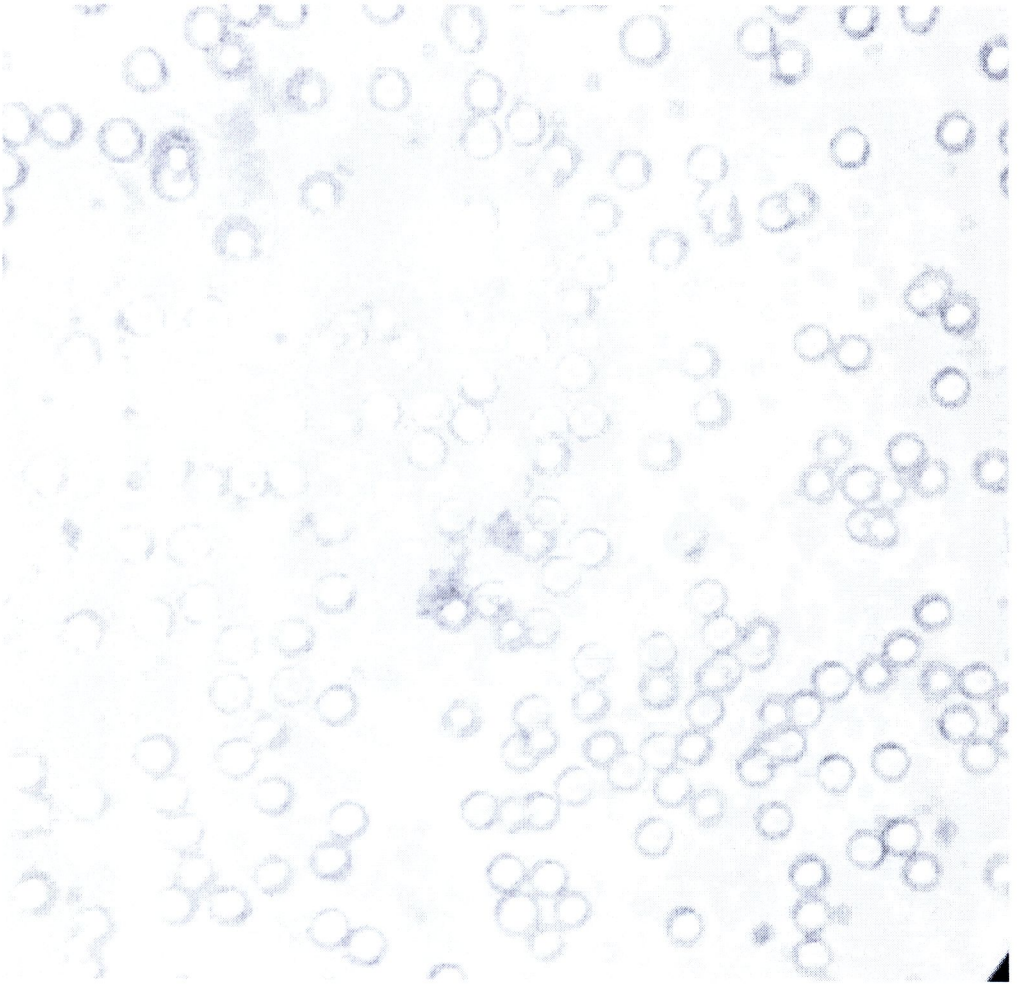
จะทำการส่องหลังจากที่ได้ลักษณะการกระจายตัวแล้วจะมองเห็นเม็ดบีดที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและสังเกตเห็นอนุภาคต่างๆได้ดีกว่ากำลังขยายคูณ 10 แต่ก็ยังไม่สามารถใช้ในการจับอนุภาคได้แต่ใช้สำหรับขยายเพื่อดูรายละเอียดของการกระจายตัวของอนุภาคที่มากขึ้นกว่าเดิมเพียงแค่นั้น



ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีนที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 40X

4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 40X

จะส่องเห็นลักษณะของอนุภาคแต่ละเม็ดได้ค่อนข้างดีมากขนาดใหญ่ขึ้นและชัดเจนมากกว่า 10x และ 20x แต่ก็ยังไม่สามารถที่จะใช้กำลังขยาย40X นี้ในการจับอนุภาคได้เนื่องจากจุดโฟกัสที่มีขนาดเล็กมากและลักษณะของอนุภาคที่โดนจับก็ไม่สามารถแยกแยะจากอนุภาคที่อยู่รอบข้างได้ชัดเจนมากนักรวมไปถึงขนาดของเม็ดบีดที่เล็กเกินกว่าที่จะสามารถบอกได้ว่าอนุภาคไหนที่ถูกจับอยู่ แต่ก็สามารถใช้ในการคาดเท่าได้แล้วว่าลักษณะการโฟกัสนั้นมีผลต่ออนุภาคมากน้อยเพียงใดโดยดูปฏิกิริยาตอบสนองของอนุภาคที่อยู่รอบๆลำแสงโฟกัสโดยรวม

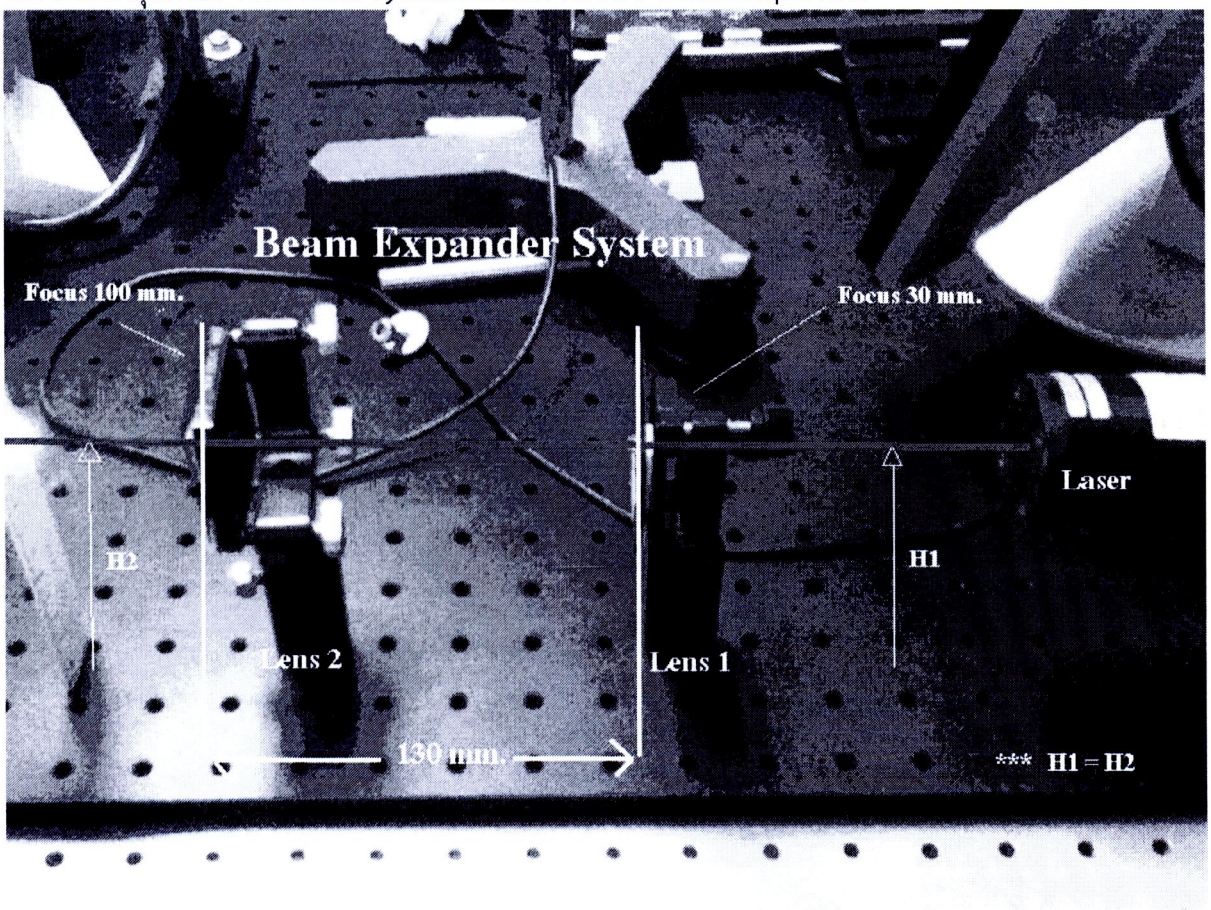


ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีนที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 100X

4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 100X

ผลที่ได้จากการทดลองคือจากกำลังขยายนี้ทำให้เราสามารถที่จะมองเห็นอนุภาคแต่ละตัวได้อย่างชัดเจนมากสามารถระบุตำแหน่งและลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคได้ว่าเป็นไปในลักษณะใด รวมไปถึงลักษณะจุดโฟกัสที่เกิดขึ้นและกำลังของแสงโฟกัสที่มีมากพอที่จะใช้ในการจับอนุภาคจึงเป็นเหตุผลที่สำคัญที่เราใช้กำลังขยายขนาด 100X ในการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงเพื่อใช้ในการจับอนุภาคเหล่านี้

4.2 การจัดอุปกรณ์ Two Lens system เพื่อสร้างระบบ Beam Expander



ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะการจัดอุปกรณ์ Beam Expander

ผลการทดลองพบว่าอุปกรณ์สามารถใช้งานได้ดีนั้นจะต้องคำนึงถึงความละเอียดในการวางตำแหน่งของอุปกรณ์ที่ออกแบบไว้จากผลที่ได้จากการคำนวณซึ่งหากอุปกรณ์อยู่ในระยะที่ได้คำนวณเอาไว้อย่างถูกต้องจะทำให้ได้ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายออกมาจากระบบมีความคงที่สมบูรณ์และมีความคมชัดของลำแสงสูงมากจากการคำนวณระยะของอุปกรณ์จากเลนส์ทั้งสองเลนส์นั้นซึ่งเลนส์ตัวที่ 1 มีระยะโฟกัสที่ 30 มิลลิเมตรและเลนส์ตัวที่ 2 มีระยะโฟกัสที่ 100 มิลลิเมตรนั้นพบว่าระยะห่างควรจะอยู่ห่างกัน 130 มิลลิเมตรซึ่งแสงที่ได้ควรมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 6.66 มิลลิเมตรและจากการวัดขนาดของแสงที่ถูกขยายแล้วพบว่าอุปกรณ์ที่จัดขึ้นนั้นสามารถขยายแสงได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 6.65 มิลลิเมตรซึ่งอาจไม่ตรงตามการคำนวณ 100 เปอร์เซ็นต์โดยอาจจะมาจากปัญหาที่พบในการจัดอุปกรณ์อยู่ที่การปรับระนาบอุปกรณ์ของเลเซอร์นั้นจะต้องเท่ากันทั้งก่อนที่แสงจะเข้าอุปกรณ์และหลังจากที่แสงผ่านอุปกรณ์ Beam Expander ออกมาและถ้าจะให้มีความเหมาะสมที่สุดแสงเลเซอร์ที่ผ่านเลนส์ทั้งสองนั้นควรจะอยู่ตรงกลางของเลนส์ได้อย่างพอดีเพื่อลดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากเลเซอร์ตกไปยังขอบของเลนส์และระนาบที่สม่ำเสมอของเลเซอร์หลังผ่านอุปกรณ์ออกมาแล้วส่วนปัญหาที่ทำให้เกิดความบกพร่องนี้อาจจะมาจากระยะของเลนส์ที่คำนวณไว้ที่ 130 มิลลิเมตรอาจจะไม่อยู่ที่ 130 มิลลิเมตรพอดีจึงทำให้ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายนั้นมีขนาดเล็กไปหรืออาจใหญ่ไปกว่าการคำนวณที่ควรจะเป็น

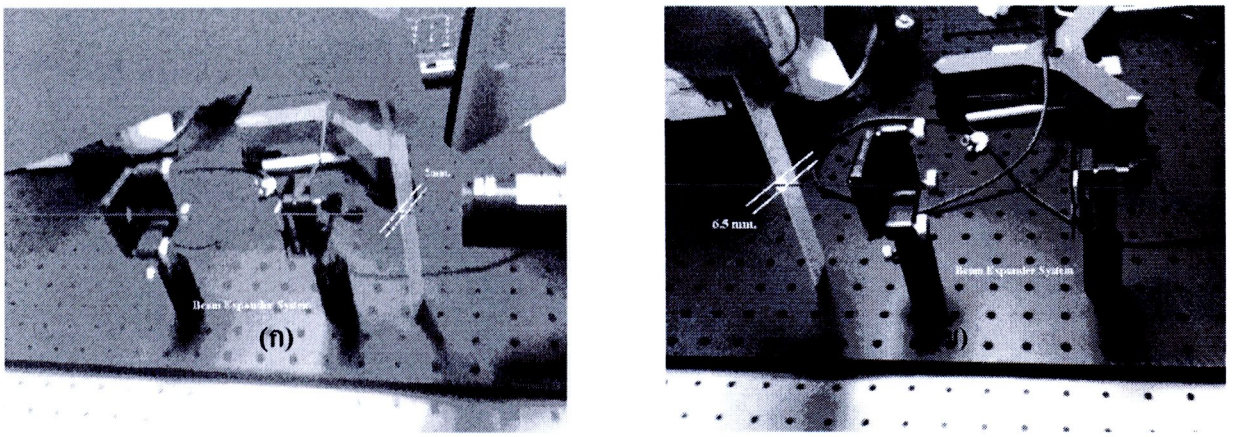
4.2.1การคำนวณระยะห่างระหว่างเลนส์

จากรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าเลนส์ 1 มีระยะโฟกัสที่ 30 มิลลิเมตรและเลนส์ 2 มีระยะโฟกัสที่10มิลลิเมตร จากระยะห่างระหว่างเลนส์ = ระยะโฟกัสของเลนส์ 1 + ระยะโฟกัสของเลนส์ 2

= 30 มิลลิเมตร + 100 มิลลิเมตร

= 130 มิลลิเมตร

4.2.2ผลการทดลองที่ได้จากการจัดอุปกรณ์ Beam expander



ภาพที่ 4.6ขนาดของแสงเลเซอร์ก่อน(ก) และหลัง(ข)จากผ่านเข้าอุปกรณ์ Beam Expander

จากผลการทดลองพบว่า

วิธีการคำนวณขนาดของเลเซอร์ที่ได้หลังจากผ่านอุปกรณ์ Beam Expander จากสมการ

ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางหลังจากการขยาย $W_2 = (F_2/F_1)*W_1$

โดยที่ ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางก่อนขยาย (W_1) = 2 มิลลิเมตร

ระยะโฟกัสของเลนส์ตัวที่ 1 (F_1) = 30 มิลลิเมตร

ระยะโฟกัสของเลนส์ตัวที่ 2 (F_2) = 100 มิลลิเมตร

ดังนั้นจากสมการจะได้ว่า W_2 = (100มิลลิเมตร/30มิลลิเมตร) * (2มิลลิเมตร)

= 6.66 มิลลิเมตร

จากผลการทดลองแสดงโดยรูปที่ 4.6

ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายจะเท่ากับ 6.65 มิลลิเมตร

คำนวณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน

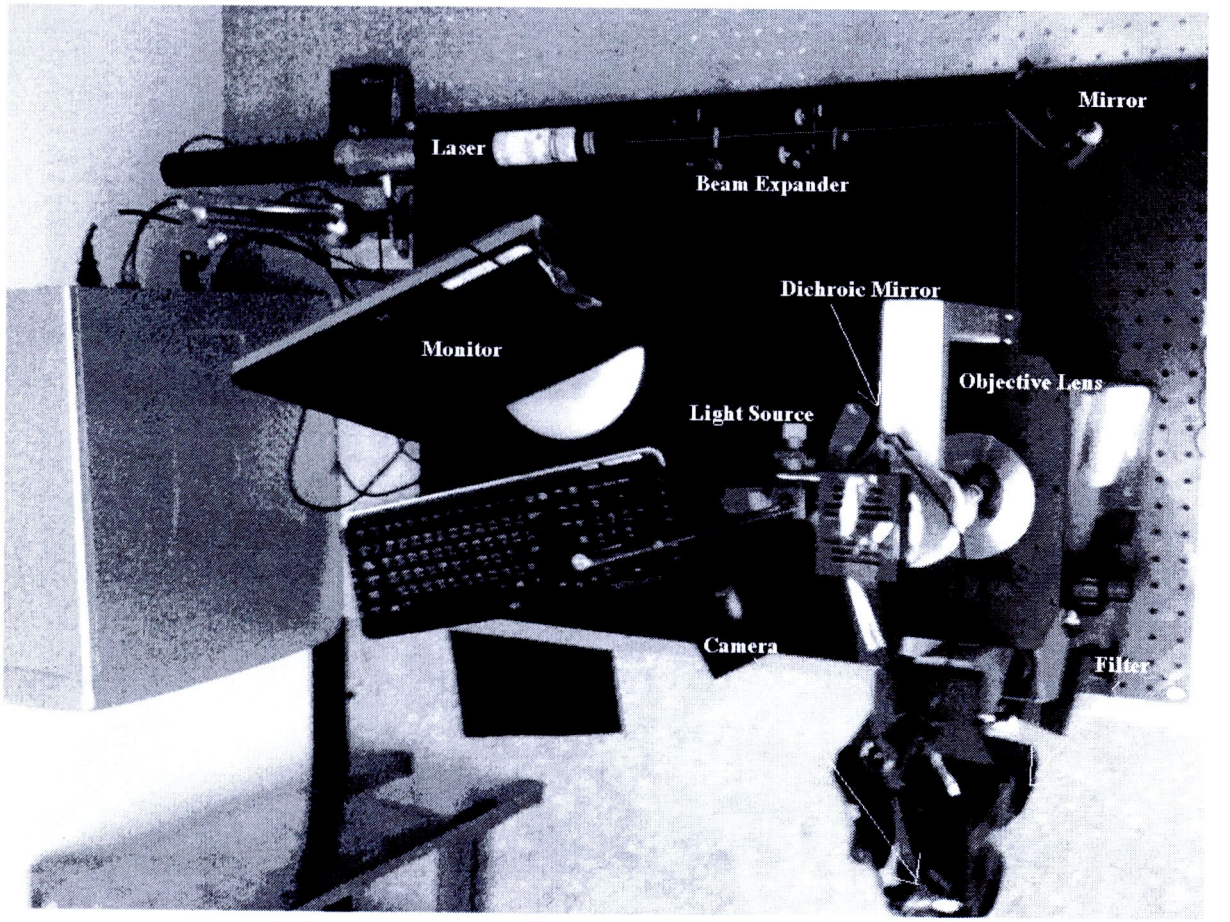
= (ค่าจากทฤษฎี-ค่าจากการทดลอง)/ค่าจากทฤษฎี * 100

= (6.66 มิลลิเมตร – 6.65 มิลลิเมตร)/6.66 มิลลิเมตร * 100

= 0.1501 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการวัดของอุปกรณ์จะเท่ากับ 0.1501

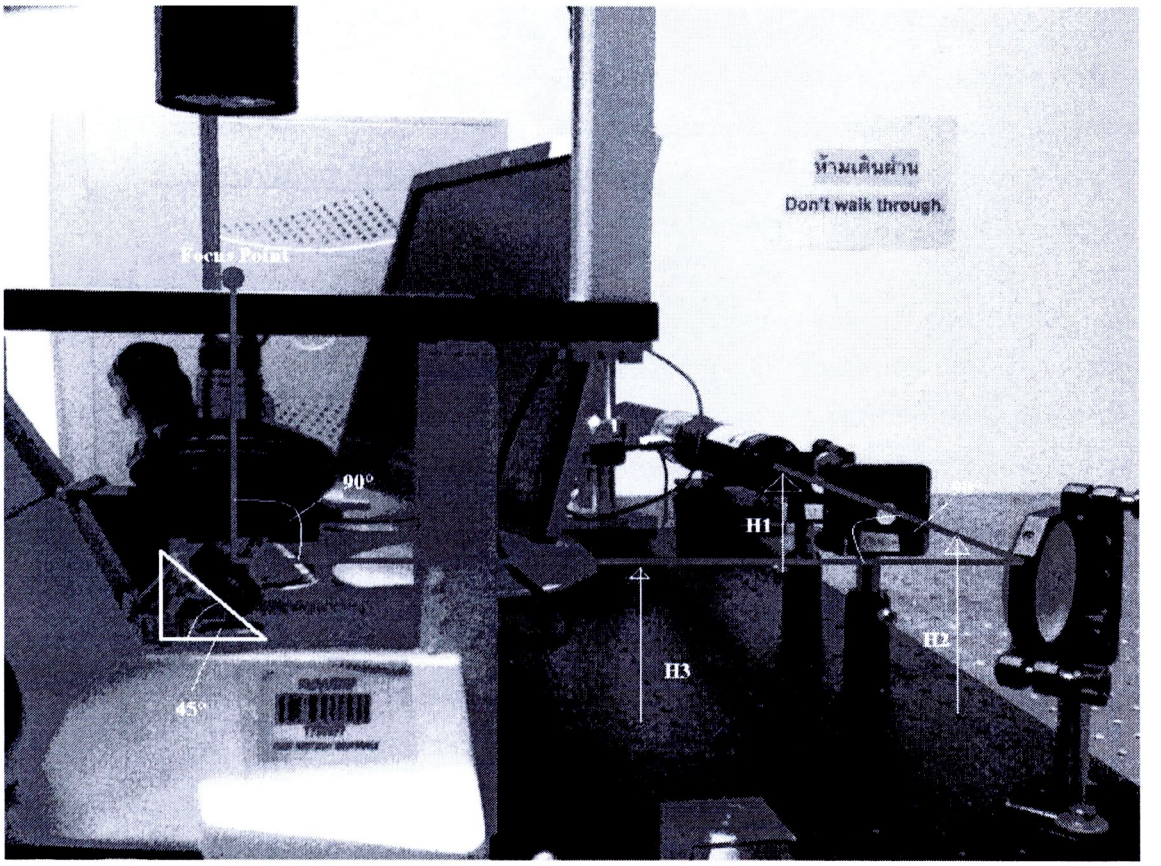
4.3 ระบบ Optical Tweezers System



ภาพที่4.7 แสดงอุปกรณ์ Optical Tweezers ที่จัดทำขึ้น

จากการทดลองการจัดอุปกรณ์ตามที่ได้ออกแบบไว้จากรูปที่ 3.1 นั้นผลที่ได้เป็นไปตามรูปที่ 4.7 ซึ่งเป็นการวางตำแน่งอุปกรณ์ต่างๆโดยประยุกต์เข้ากับกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องขึ้นซึ่งประกอบไปด้วยระบบต่างๆที่ประกอบขึ้นจากที่ได้ออกแบบไว้ทั้งระบบ Beam Expander อุปกรณ์ที่ใช้เฝ้าดูระบบกล้องจุลทรรศน์ที่ทำการประยุกต์แล้วและอื่นๆซึ่งประกอบขึ้นด้วยกันเป็นอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่าย

4.3.1 การจัดแนวของแสงและวิเคราะห์ปัญหาที่พบจากการจัดอุปกรณ์



ภาพที่ 4.8 ลักษณะการวางตำแหน่งและการจัดมุมของอุปกรณ์ต่างๆ

จากการทดลองการจัดตำแหน่งและการวางอุปกรณ์พบว่าเริ่มต้นอุปกรณ์จากการที่เมื่อแสงผ่านออกมาจากอุปกรณ์ Beam Expander ออกมาแล้วซึ่งจากรูปที่ 4.8 จะเห็นว่าความสูงของลาแสง H1 , H2 ที่ออกมาจากอุปกรณ์ Beam Expander จะต้องเท่ากันและเมื่อแสงผ่านมาที่กระจกสะท้อนแสงออกไปนั้นความสูง H3 ก็จะต้องเท่ากับความสูงของลำแสง H1 และ H2 ด้วยการปรับระดับให้เท่ากันนี้เพื่อไม่ทำให้แสงถูกงัดขึ้นหรือถูกกดลงนั้นเองคือลำแสงที่ผ่านออกมาจะต้องอยู่ในระนาบ 180 องศาพอดี

ซึ่งหากไม่ได้180องศาพอดีนั้นจะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนต่ออุปกรณ์ชิ้นต่อไปด้วยและในขณะเดียวกันกระจกสะท้อนแสงก็จะต้องทำมุม 45 องศากับแสงที่ออกมาจาก Beam Expander เพื่อให้แสงที่เข้ามายังกระจกสะท้อนแสงและแสงที่ออกจากการะจกสะท้อนแสงทำมุม 90 องศากันพอดีทั้งนี้ก็เพื่อลดความผิดพลาดในการจัดอุปกรณ์ของระบบต่อไปนั้นก็คืออุปกณ์ Dichroic Mirror

เมื่อเราได้ลำแสงที่ทั้งระยะของความสูงและระยะของมุมที่ใช้ได้แล้วลำแสงจะถูกส่งไปที่ Dichroic Mirror ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากที่สุดชิ้นหนึ่งเลยทีเดียวเมื่อแสงผ่านเข้ามายัง Dichroic Mirror การจัดอุปกรณ์นี้คือเริ่มจากอุปกรณ์จะต้องทำมุม 45 องศากับแสงที่เข้ามา 180 องศาซึ่งจะทำให้อุปกรณ์นี้สะท้อนแสงขึ้นไป 90 องศาพอดีแต่ลำแสงจะต้องปรับให้อยู่ตรงกลางเลนส์มากที่สุดและในขณะเดียวกันระยะของความสูงและระยะของตำแหน่งของอุปกรณ์ Dichroic Mirror จะต้องอยู่ตรงกลางระหว่างกล้องที่ต่อกับเลนส์ใกล้ตา

ที่อยู่ด้านล่างและอุปกณ์ Objective Lens ที่อยู่ด้านบนพอดีซึ่งอุปกรณ์ 2 ตัวนี้ไม่สามารถปรับให้เคลื่อนที่ได้เนื่องมาจากถูกติดตั้งเข้ากับอุปกรณ์ของกล้องจุลทรรศน์แบบส่องขึ้นชนิดนี้อยู่โดยปกติของอุปกรณ์อยู่แล้วและนี้คือปัญหาที่สำคัญที่สุดของการจัดอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงเลยก็ว่าได้เนื่องจากว่าการจัดอุปกรณ์นั้น Dichroic Mirror ทั้งตำแหน่งและระยะจะต้องอยู่ตรงกลางที่สุดและพร้อมกับทำมุม 45 องศาและจะต้องไม่เบนเข้าหรือออกด้วยเนื่องจากว่าหากแสงที่ผ่านอุปกรณ์ออกไปนั้นก็จะไม่ทำให้เกิดการโฟกัสที่อุปกรณ์ Objective lens ได้ซึ่งหมายความว่าจะทำให้เราไม่สามารถจับอนุภาคได้ด้วยเช่นกันนี้จึงเป็นปัญหาใหญ่และสำคัญมากในการสร้างคีมจับเชิงแสง

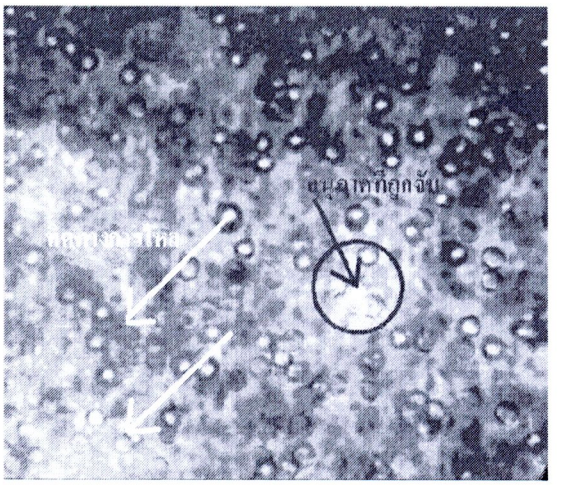
และหลังจากที่เราสามารถที่จะทำให้อุปกรณ์ทุกอย่างอยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้องแม่นยำและสามารถทำให้แสงโฟกัสได้แล้วนั้นก็จะเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการดูการทำงานของคีมจับเชิงแสงนั้นก็คืออุปกรณ์มอนิเตอร์เราจะสามารถมองดูการทำงานของคีมจับเชิงแสงโดยการที่มองจากกล้องที่ต่อกับเลนส์ใกล้ตาซึ่งจะต้องใช้ฟิลเตอร์ (filter) ในการกรองแสงก่อนเข้ากล้องเพื่อให้สามารถมองเห็นลักษณะของสารตัวอย่างที่ต้องการจับและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นหากไม่มีตัวกรองแสงเราก็ไม่สามารถมองเห็นอนุภาคและลักษณะการโฟกัสของลำแสงได้เลยซึ่งจากการทดลองอย่างง่ายนี้ผู้ทดลองได้ใช้กล้องเว็บแคม (Web Cam) ปกติโดยนำตัวกรองแสงสีแดงที่มีวางไว้ด้านหน้าของกล้องแล้วต่อเข้ากับจอคอมพิวเตอร์โดยเราจะทำการมองผ่านจอมอนิเตอร์ของคอมพิวเตอร์แทนการมองโดยตรงผ่านเลนส์ใกล้ตาเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดลองได้ซึ่งจากการทดลองใช้อุปกรณ์อย่างง่ายที่กล่าวไปนี้พบว่าอุปกรณ์ค่อนข้างมีประสิทธิภาพดีในการเฝ้าดูและสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้จริงเลยทีเดียว

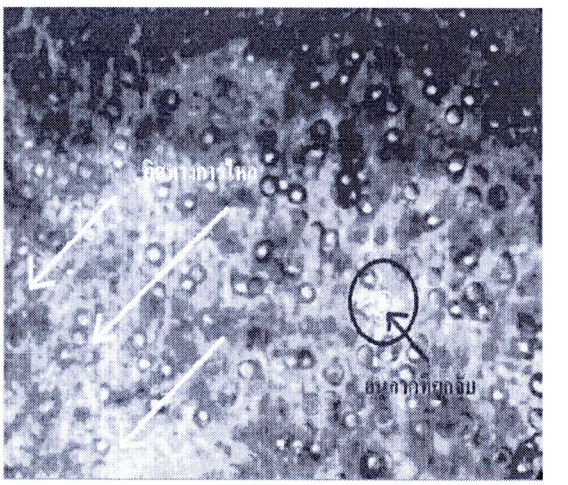
ต่อเมื่อเราจัดอุปกรณ์เสร็จแล้วเราต้องการทำการทดลองในการจับอนุภาคจริงๆนั้นเราจะต้องใช้ Objective lens ที่มีกาลังขยาย100Xขึ้นไปในการจับอนุภาคเนื่องจากมีกำลังที่สูงพอและสามารถที่จะเห็นอนุภาคที่จับรวมทั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไดอย่างชัดเจนแต่เนื่องจากการทดลองนี้ต้องประยุกต์เข้ากับกล้องจุลทรรศน์แบบส่องขึ้นซึ่งโดยปกติแล้วกำลังขยายของเลนส์ที่ใช้กับกล้องชนิดนี้ก็ไม้ถึงขนาด 100X ดังนั้น Objective Lens ขนาด 100X จึงมีความยาวของตัวอุปกรณ์มากกกว่าจึงควรระวังในการติดตั้งและการทดลองเนื่องจากตัวเลนส์ที่มีความยาวกว่าอาจจะขูดเข้ากับอุปกรณ์ด้านบนได้และอีกอย่างหนึ่งก็คือเมื่อเราทำการติดตั้ง Objective Lens เลนส์แล้วสารตัวอย่างที่ต้องการดูหรือจับโดยเลนส์ขนาด 100X จะต้องอยู่บนแผ่นสไลด์ที่มีความหนาไม่เกิน 1 มิลลิเมตรเท่านั้นเนื่องจากเลนส์ใกล้วัตถุขนาด 100X นี้จะต้องจุ่มน้ำมันก่อนและจะต้องอยู่ใกล้กับสารตัวอย่างที่นำมาทดลองมากๆนั้นเนื่องจากระยะทำงานของตัวอุปกรณ์เองที่สั้นมากๆซึ่งจากการศึกษาทดลองนั้นพบว่ากลาสไสลด์แบบปกติไม่สามารถใช้งานได้เนื่องจากมีความหนามากเกินไปและปัญหาที่พบเมื่อเราทำการปล่อยเลเซอร์และทำการทดลองไปสักระยะหนึ่งจะสังเกตเห็นว่าสารตัวอย่างของเราซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในของเหลวนั้นจะเริ่มแห้งและจะแห้งลงเร็วมากในที่สุดของเหลวก็จะระเหยไปหมดเหลือแค่อนุภาคที่จับตัวกันเป็นก้อนซึ่งไม่สามารถจะจับหรือทำการทดลองต่อไปได้อีกเพราะฉะนั้นในการทำการทดลองควรจะมีตัวเก็บสารตัวอย่างหรืออุปกรณ์ Container ที่ดีที่ใช้ในการกักเก็บตัวอย่างทดลองซึ่งคุณสมบัติคือต้องสามารถกับเก็บของเหลวได้และมีความบางมากพอเพื่อใช้ในการทดลองนั้นหากไม่เช่นนั้นเมื่อเราทำการ

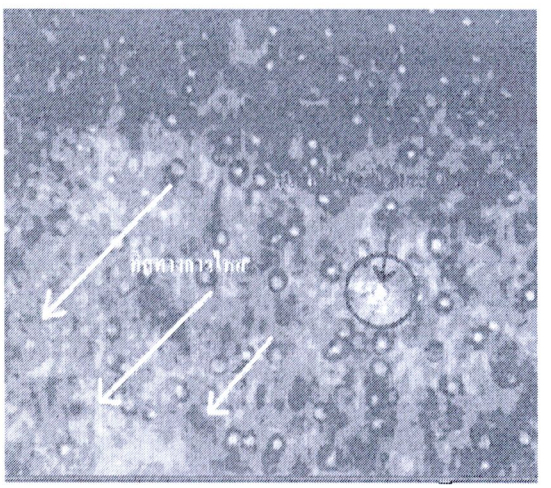
ทดลองไปแค่สักระยะหนึ่งของเหลวที่เป็นตัวแปรหนึ่งในการทดลองก็จะเปลี่ยนสภาพไปและลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคในของเหลวก็จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วยทำให้ยากต่อการทดลองและการวัดผลใดๆ

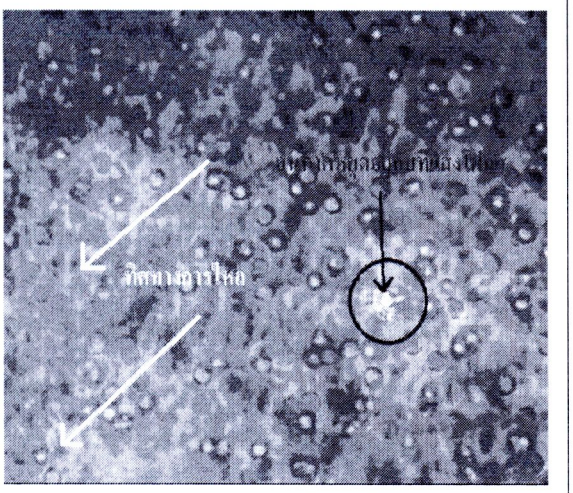
4.4 การจับอนุภาค

ตารางที่ 4.1 ผลการทดลองแสดงภาพลักษณะอนุภาคที่ถูกจับ ณ เวลาต่างๆ

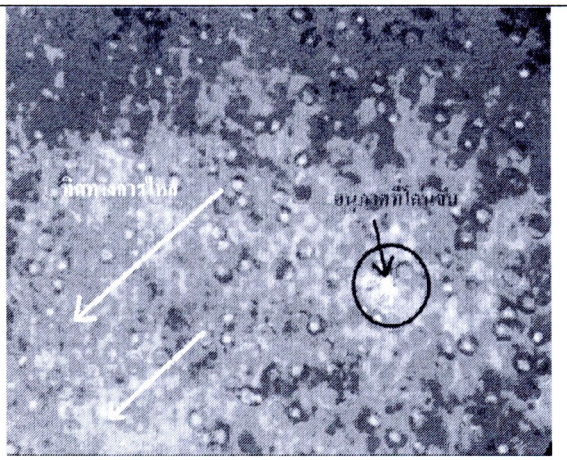
<table>
<tr>
<td> 

1.) วินาทีที่ 0 อนุภาคที่เคลื่อนที่ในของไหลโดนจับเมื่อเริ่มเปิดเลเซอร์</td>
<td> 

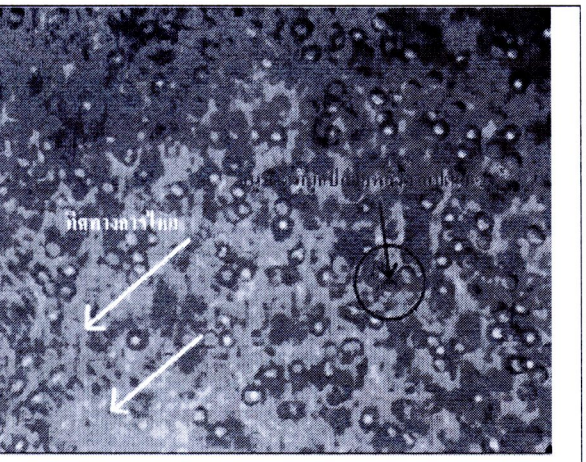
2.) วินาทีที่ 3 อนุภาคที่อยู่ใกล้จุดโฟกัสถูกจับไว้ในลำแสง</td>
</tr>
<tr>
<td> 

3.) วินาทีที่ 5 อนุภาคที่ถูกจับเอาไว้จะมีลักษณะสั่นอยู่ภายในจุดโฟกัส</td>
<td> 

4.) วินาทีที่ 7 อนุภาคยังคงถูกจับอยู่ในจุดโฟกัสส่วนอนุภาคอื่นๆก็เคลื่อนที่ผ่านไป</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</table>



5.) วินาทีที่ 9 อนุภาคที่อยู่ใกล้สุดบางตัวก็ถูกดึงดูดเข้าหาจุดโฟกัส



6.) วินาทีที่ 11 เมื่อปิดแสงเลเซอร์จะเห็นอนุภาคที่ตำแหน่งของจุดโฟกัส

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.1 นั้นพบว่าเมื่อเราทำการจัดอุปกรณ์และสามารถสร้างลำแสงโฟกัสได้แล้วนั้นเมื่อเราปล่อยแสงเข้าไปในของเหลวที่มีอนุภาคเคลื่อนที่อยู่เริ่มต้นจากรูปที่ 1 ในตารางที่ 1 จะพบว่าอนุภาคอย่างน้อยหนึ่งตัวจะถูกจับเอาไว้ในลำแสงโฟกัสแต่เนื่องจากลeแสงโฟกัสนั้นมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคที่จับได้เล็กน้อยจึงส่งผลต่ออนุภาคที่อยู่ใกล้ที่สุดรอบข้างของอนุภาคที่ถูกจับประมาณสองถึงสามอนุภาคด้วยโดยถูกอิทธิพลของแรงที่เกิดจากแสงนี้ดึงดูดเข้าหาจุดโฟกัสแต่ก็ไม่มากพอที่จะจับเอาไว้ให้อยู่กับที่ได้จากการสังเกตต่อมาในรูปที่ 2 อนุภาคที่อยู่ภายในลำแสงโฟกัสจะหยุดและมีลักษณะสั่นไปมาอยู่ภายในลำแสงโฟกัสแต่ไม่ได้เคลื่อนที่ไปตามลักษณะการเคลื่อนที่ของของเหลวที่อนุภาคตัวอื่นบรรจุอยู่ซึ่งจะเห็นได้เนื่องจากอนุภาคที่ไม่ได้อยู่ในลำโฟกัสนั้นจะเคลื่อนที่ไปเรื่อยๆตามกระแสเคลื่อนที่ของของเหลวที่บรรจุแต่อนุภาคที่ถูกจับได้ในลำโฟกัสนั้นจะอยู่กับที่เช่นเดียวกับรูปที่ 3 4 และ 5 นั้นเองแต่จะพบว่าเมื่ออนุภาคที่เคลื่อนที่เข้ามาใกล้กับลำแสงโฟกัสก็จะโดนหน่วงโดยลำแสงให้เคลื่อนที่ช้าลงมากกว่าอนุภาคที่ไม่ได้เข้าใกล้ลำแสงเลยนั้นแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าแรงเนื่องจากแสงนั้นมีผลต่ออนุภาคอย่างเห็นได้ชัดตามหลักการและทฤษฎีที่ได้ทาการศึกษามาและจากรูปที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ 6 แล้วจะสังเกตได้ว่าจากรูปที่ 5 นั้นยังคงมีเลเซอร์จับอนุภาคอยู่แต่เมื่อเราทำการปิดเลเซอร์ตามรูปที่ 6 แล้วจะเห็นอนุภาคที่เคยโดนจับอยู่เคลื่อนที่ออกไปจากตำแหน่งที่เคยอยู่เดิมนั้นแสงให้เห็นว่าอุปกรณ์ที่จัดทำขึ้นรวมถึงวิธีการที่ได้ใช้ในการทดลองจับอนุภาคของอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่ายนี้มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุภาคได้ตามทฤษฎีที่วางไว้นั้นเอง