บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ความก้าวหน้าของวิทยาการและเทคโนโลยีต่างๆในปัจจุบันนั้นมาจากศึกษาพื้นฐานความรู้ทางวิทยาศาสตร์ ฟิสิกส์ คณิตศาสตร์ เคมี ชีววิทยา พันธุศาสตร์ หรือศาสตร์อื่นๆที่เป็นการผสมกันระหว่างศาสตร์ที่ได้กล่าวไปข้างต้นนี้ ซึ่งจะเห็นได้ชัดว่ามีความเกี่ยวข้องกัน ยิ่งนับวันเราได้ศึกษาระบบที่ยิ่งเล็กลงไปเรื่อยๆ เราก็ยิ่งจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่มีความสามารถสูง เพื่อใช้ในการศึกษาระบบเหล่านั้น ซึ่งหลักการหนึ่งที่นำมาใช้ในการศึกษาสิ่งที่เล็กมากๆหรือระบบที่เล็กมากๆ คือ การใช้แสงจับอะตอมหรืออนุภาคที่เราต้องการศึกษาซึ่งอาจจะมีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตร นาโนเมตรหรือเล็กกว่านั้น ตัวอย่างเช่น การศึกษาเซลล์ของสิ่งมีชีวิต แบคทีเรีย ไวรัส เม็ดแก้วใส หรือเม็ดโลหะขนาดเล็ก เป็นต้น ซึ่งวิธีการหนึ่งที่ใช้นั้นก็คือ วิธีการใช้แสงจับอนุภาคที่เรียกกันว่า คีมจับเชิงแสง (Optical Tweezers) หลักการนี้ถูกคิดค้นและทดลองโดย Dr. Arthur Ashkin เมื่อปี ค.ศ.1970 และในปัจจุบันหลักการของคีมจับเชิงแสงนี้เป็นวิธีการที่มักจะถูกใช้ในการศึกษาระบบทางชีววิทยาอย่างแพร่หลายอีกด้วย จึงเป็นผลดีที่เราได้นำความรู้จากหลายๆศาสตร์ซึ่งอาจดูแยกจากกันโดยเนื้อหาอย่างเช่น ฟิสิกส์และชีววิทยา แต่เราสามารถที่จะนำมาความรู้ที่ได้จากศาสตร์หนึ่งประยุกต์ใช้งานร่วมกับอีกศาสตร์หนึ่งได้อย่างลงตัวเพื่อแก้ปัญหาและสร้างนวัตกรรมจากการเรียนรู้ไปพร้อมกัน

หลักการทำงานของคีมจับเชิงแสงเป็นสิ่งที่ค่อนข้างเข้าใจได้ยากว่า ทำไมแสงถึงสามารถที่จะจับอนุภาคได้อย่างเช่นเครื่องมือเชิงกลต่างๆ นั้นอาจเป็นคำถามว่าแสงเอาแรงมาจากไหนในการจับอนุภาคเล็กๆเหล่านี้ให้หยุดอยู่กับที่ได้ ทั้งๆ ที่โฟตอน หรือ อนุภาคของแสงนั้นไม่มีมวล หลักการก็คือจะอาศัยการเปลี่ยนแปลงโมเมนตัมของสิ่งเล็กๆหรือระบบเล็กๆที่เราต้องการจับนั้นเอง

ซึ่งในกรณีนี้โมเมนตัมที่เปลี่ยนไปจะขึ้นอยู่กับชนิดของอนุภาคเล็กๆหรือระบบที่เราต้องการศึกษา หรือที่ต้องการจะจับว่ามีคุณสมบัติทางแสงเป็นอย่างไร วัตถุรอบข้างของอนุภาคก็เช่นกัน และกำลังของแสงที่ใช้ในการจับด้วย โดยที่ถ้าหากใช้แสงที่มีกำลังประมาณ 10 มิลลิวัตต์ แรงที่ได้จะอยู่ในระดับพิโคนิวตัน ซึ่งโดยทฤษฎีแล้วก็มีกำลังมากพอที่จะสามารถจับอนุภาค ในระดับไมโครถึงระดับนาโนได้

แรงที่เกิดจากแสงนี้จะเกิดขึ้นเมื่อเราโฟกัสลำแสงลงไปใกล้ๆ กับอนุภาคที่เราต้องการจะจับ ที่มีความโปร่งใสระดับหนึ่ง เพื่อให้แสงสามารถหักเหเข้าไปภายในและสะท้อนที่พื้นผิวได้ ยกตัวอย่างเช่น เมื่อแสง

หักเหจากซ้ายไปขวาผ่านเข้าไปภายในอนุภาคเล็กๆ นี้ก็จะเกิดแรงปฏิกิริยาย้อนกลับจากขวาไปซ้ายด้วยตามกฎการเคลื่อนที่ข้อที่ 3 ของนิวตัน ซึ่งเมื่อคำนวณทางคณิตศาสตร์แล้วแรงลัพธ์ที่เกิดขึ้นจะมีทิศเข้าหาจุดโฟกัสหรือจุดที่มีความเข้มสูงสุดของเลเซอร์นั้นเอง ซึ่งอนุภาคก็จะอยู่ในสภาพที่คล้ายกับว่าถูกจับเอาไว้ภายในลำเลเซอร์นั้นเอง

แรงที่เกิดขึ้นมีสองแบบ แบบแรกเป็นแรงกระเจิง (Scattering force) ที่มีทิศทางขนานกับทิศทางของแสงตกกระทบ ส่วนแรงอีกชนิดหนึ่งเรียกว่าแรงเกรเดียนท์ (Gradient force) ซึ่งมีทิศทางตั้งฉากกับ ทิศทางของแสงตกกระทบและพุ่งเข้าสู่บริเวณที่มีกำลังของแสงสูงสุด (แสงเลเซอร์ส่วนใหญ่จะมีกำลังของแสงสูงสุดที่บริเวณกลางลำแสงและค่อยๆลดลงออกมาตามแนวรัศมี) ในกรณีที่อนุภาคขนาดเล็กอยู่ในตำแหน่งที่เยื้องไปจากจุดโฟกัสของลำแสง จะทำให้มันถูกดึงเข้าไปให้อยู่ในแนวเดียวกับจุดโฟกัสของแสงด้วยแรงเกรเดียนท์ ซึ่ง ณ ตำแหน่งนี้ผลรวมของแรงเกรเดียนท์จะเป็นศูนย์ ทำให้อนุภาคขนาดเล็กเคลื่อนไปทางด้านข้างได้ยากขึ้น หลังจากที่อนุภาคขนาดเล็กอยู่ตรงกลางแล้ว เราก็สามารถใช้แรงกระเจิงมาช่วยในการทำให้อนุภาคขนาดเล็กนั้นลอยขึ้น เหนือฐานรองรับได้ ซึ่งต้องเอาชนะแรงโน้มถ่วงของโลกที่กระทำกับอนุภาคขนาดเล็กนี้ด้วย

แรงกระเจิงที่ได้จากแสงยังสามารถนำมาใช้ในลักษณะของคีมจับ คือ อนุภาคขนาดเล็กนี้อาจจะเคลื่อนที่ไปมาและเราสามารถนำคีมจับเชิงแสงนี้ มาทำให้อนุภาคเหล่านั้นหยุดและติดอยู่กับคีมจับเชิงแสงนี้ ทำให้เราสามารถเคลื่อนมันไปในที่ต่างๆที่ต้องการได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.เพื่อศึกษาหลักการพื้นฐาน ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง และการทำงานต่างๆของคีมจับเชิงแสง

2.เพื่อสามารถออกแบบการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงและการทดลองอย่างง่ายได้

3.สามารถนำอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นไปประยุกต์ใช้งานในด้านชีววิทยาในด้านต่างๆที่เกี่ยวข้อง

4.สามารถปรับปรุง แก้ไข และพัฒนาระบบคีมจับเชิงแสงให้ดีขึ้นได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในโครงงานนี้จะมุ่งเน้นการศึกษาลำแสงที่มีผลต่อการจับอนุภาคที่ต้องการศึกษา และออกแบบอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่ายเพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้จริง และสามารถวิเคราะห์ผลที่ได้จากการทดลองรวมถึงการแก้ไขปรับปรุงอุปกรณ์ให้ดีขึ้นได้

1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีดำเนินงาน

1.4.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ศึกษาทฤษฎีพื้นฐานและข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ หลักการทำงานของคีมจับเชิงแสงต่างๆว่ามีทฤษฎีใดบ้างที่เกี่ยวข้อง หลักการทำงานเบื้องต้น และอุปกรณ์พื้นฐานที่จำเป็นต้องใช้งานในการสร้าง และศึกษาผล และการทดลองที่ผ่านมา ของผู้ที่ได้ทำการทดลองมาแล้ว เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิง รวมทั้งโปรแกรมที่ใช้ในการคำนวณหรือจำลองแบบจำลองต่างๆด้วย

2. วางแผนการสร้างชุดทดลองคีมจับเชิงแสงอย่างง่าย พร้อมสรุปทฤษฎีที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ในการออกแบบการทำงานของอุปกรณ์ และออกแบบการทดลองเพื่อใช้ในการทดสอบการทำงานของอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงที่ออกแบบขึ้น

3. จัดเตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการสร้างคีมจับเชิงแสง และเริ่มทำการสร้างและติดตั้งอุปกรณ์ทางแสงต่างๆที่ใช้งานกับการสร้างคีมจับเชิงแสงที่ได้ออกแบบไว้

4. ทำการทดลองและวัดผลการทำงานของคีมจับเชิงแสงที่สร้างขึ้นและนำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับทฤษฎีหรือผลการทดลองของผู้ที่ทำการศึกษาก่อนหน้านี้เพื่อนำมาวิเคราะห์และทำการปรับปรุง แก้ไข และพัฒนาอุปกรณ์ในส่วนต่างๆเพื่อประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

5. สรุปผลการทำงานและการทดลองต่างๆและรายงานผลการทดลองที่ได้พร้อมกับอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงที่เสร็จสมบูรณ์พร้อมที่จะนำไปประยุกต์ใช้งานต่อไป

1.4.2 ตารางการดำเนินงาน

ตารางที่ 1.1 แสดงการดำเนินงานวิจัย

ระยะเวลาการดำเนินงาน	กิจกรรม
มิถุนายน 2554	ศึกษาที่มาและความสำคัญ
กรกฎาคม 2554	ศึกษาทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง
สิงหาคม 2554	วางแผนและออกแบบวิธีการดำเนินงานวิจัย
กันยายน-ตุลาคม 2554	ดำเนินการสร้างอุปกรณ์และศึกษาการทำงานจริง
พฤศจิกายน 2554	ออกแบบการจัดอุปกรณ์และการทดลอง
ธันวาคม 2554	สั่งซื้ออุปกรณ์และการศึกษาอุปกรณ์ที่ใช้งาน
มกราคม 2555	สร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสง
กุมภาพันธ์ 2555	ทำการศึกษาทดลองและแก้ไขการทำงาน
มีนาคม-เมษายน 2555	สรุปผลการทดลองและเขียนรายงาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

อุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่ายที่ใช้งานได้ เพื่อสามารถใช้ในการศึกษาระบบ ที่สำคัญต่างๆ โดยเฉพาะการประยุกต์ใช้งานด้านชีววิทยา เช่น การศึกษาทางกลศาสตร์ของเซลล์ มอเตอร์โมเลกุล ดีเอ็นเอ หรือระบบอย่างอื่นที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการทำงานของคีมจับเชิงแสงที่สามารถประยุกต์ใช้ได้ ทั้งยังสามารถปรับปรุง เปลี่ยนแปลง และแก้ไขระบบการทำงานของคีมจับเชิงแสงที่สร้างขึ้นเพื่อให้อุปกรณ์มีความสะดวกเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการใช้งานต่างๆ

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หลักการโดยทั่วไป

คีมจับเชิงแสงใช้หลักการหลักพื้นฐานในวิชาฟิสิกส์เรียกว่าความดันรังสี (radiation pressure) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยศตวรรษที่ 17 เมื่อ Johannes Kepler อธิบายปรากฏการณ์ที่หางของดาวหางชี้ไปในทิศทางตรงข้ามกับดวงอาทิตย์เสมอ ว่าแรงดันรังสีจากแสงอาทิตย์เป็นตัวผลักอนุภาคในกลุ่มหมอกเหล่านั้น โดยที่ในปี 1905 อัลเบิรต์ ไอสไตน์ได้อธิบายปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริกว่าแสงและคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าอื่นๆประกอบด้วยอนุภาคเรียกว่าโฟตอน ซึ่งมีโมเมนตัม

$$p = \frac{h}{\lambda} \qquad (2.1)$$

โดยที่ p คือ โมเมนตัมของแสง

h คือ ค่าคงที่ของพลังค์

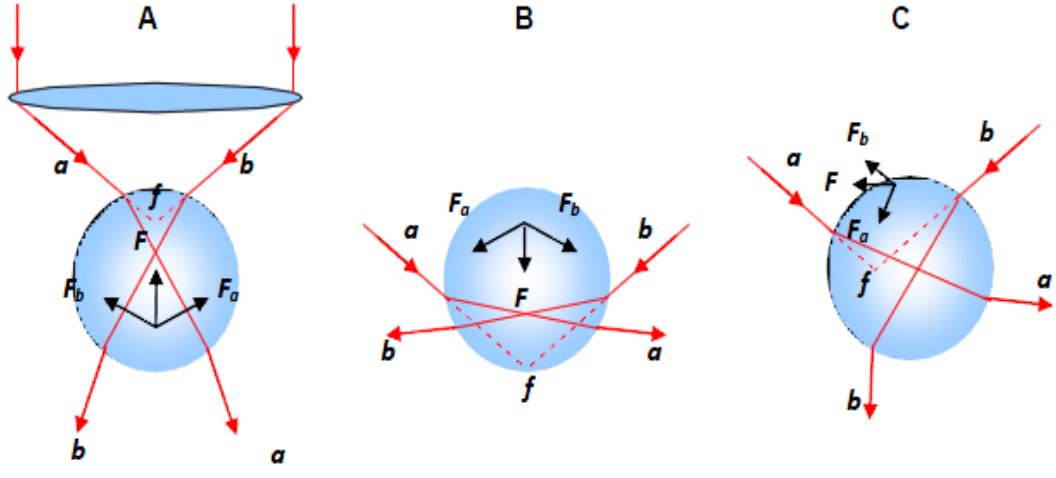
λ คือ ความยาวคลื่นแสง

เมื่อแสงตกกระทบวัตถุใดๆ จะมีการถ่ายเทโมเมนตัมของโฟตอนให้แก่วัตถุ จึงมีแรงกระทำต่อวัตถุ สำหรับแสงอาทิตย์ ที่ตกกระทบบนโลก มีความเข้มน้อย มีความดันรังสีประมาณ 0.5 nN/cm^2 เราจึงไม่รู้สึกว่าถูกแสงผลักเมื่อยืนตากแดด สำหรับคีมจับเชิงแสงใช้การโฟกัสแสงเลเซอร์ที่มี

กำลังสูงลงบนจุดเล็กๆ แรงจากความดันรังสีจึงมีค่ามากพอที่จะทำให้อนุภาคเล็กๆ เคลื่อนที่ได้ ในการอธิบายหลักการทำงานของคีมจับเชิงแสง เราจะจำแนกอนุภาคออกเป็นสองชนิดตามขนาด ได้แก่ อนุภาคมาย (Mie particle) เป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าความยาวคลื่นของแสงมากๆ ($d >> \lambda$) และอนุภาคเรย์ลีห์ (Rayleigh particle) คือ อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นของแสงมากๆ ($d << \lambda$)

2.2 อนุภาคเมียร์

อนุภาคเมียร์เป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าความยาวคลื่นของแสงมากๆ เราจะอธิบายการดักจับอนุภาคมายด้วยคีมจับเชิงแสงจากการหักเหและสะท้อนของแสงบริเวณพื้นผิวของอนุภาค จากรูปที่ 2.1 เลนส์วัตถุของกล้องจุลทรรศน์จะทำการรวมแสงเลเซอร์เข้าหาจุดโฟกัส (f) ให้พิจารณาเฉพาะรูปที่ 2.1(A) ซึ่งตำแหน่งของอนุภาค อยู่เลยจุดโฟกัสปกติของเลนส์ ไปทางด้านล่าง จะเห็นว่าลำแสง a มีการหักเหสองครั้งที่พื้นผิวทั้งสองด้านของอนุภาค (ในกรณีนี้อนุภาคที่มีดรรชนีหักเหของวัตถุมากกว่าของตัวกลางซึ่งเป็นกรณีที่มักจะเกิดขึ้นทั่วไป) เมื่อลำแสง a พุ่งออกจากอนุภาคจะมีทิศเบนไปในทิศล่างซ้ายของทิศทางเดิม แสดงว่าแสงมีโมเมนตัมเพิ่มขึ้นในทิศล่างซ้าย จากหลักการอนุรักษ์โมเมนตัมจะได้ว่าต้องมีแรงปฏิกิริยา Fa กระทำต่ออนุภาคในทิศบนขวา ในทำนองเดียวกันการหักเหของลำแสง b ทำให้เกิดแรง Fb ในทิศบนซ้าย แรงลัพธ์ F ซึ่งเกิดจากผลรวมของแรงลำแสงเลเซอร์ทั้งหมดจะมีทิศขึ้นและเข้าหาจุดโฟกัส ถ้าพิจารณาจากรูปที่ 2.1 (B และ C) จะเห็นว่าไม่ว่าอนุภาคจะอยู่ในตำแหน่งใด แรงลัพธ์ F ที่กระทำต่ออนุภาคจะมีทิศพุ่งเข้าหาจุดโฟกัสของเลนส์ ซึ่งทำให้เกิดการดักอนุภาคเข้าสู่จุดโฟกัส ในความเป็นจริงแล้วการสะท้อนของแสงที่ผิวอนุภาคทำให้เกิดแรงในทิศผลักออกจากจุดโฟกัส เพียงแต่แรงนี้มีค่าน้อย เมื่อเทียบกับแรงที่เกิดจากการหักเหของแสงเนื่องจากมีการสะท้อนน้อย



ภาพที่ 2.1 แรงที่เกิดจากการหักเหของแสงผ่านอนุภาคเมียร์

2.3 อนุภาคเรย์ลีห์

อนุภาคเรย์ลีห์ มีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับความยาวคลื่นแสง ดังนั้นแรงเนื่องจากการหักเหและการสะท้อนมีค่าน้อยมาก และค่าแรงทั้งสองแทบไม่ต่างกันเลย เราจึงต้องอธิบายการทำงานของคีมจับเชิงแสงต่ออนุภาคเรย์ลีห์โดยใช้หลักการของไดโพล ในหลักการนี้มีแรงที่เกี่ยวข้อง คือ แรงเกรเดียนท์ (gradient force) และแรงกระเจิง (scattering force)

2.3.1 แรงเกรเดียนท์

เกิดจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเหนี่ยวนำ ทำให้เกิดการแยกตัวระหว่างประจุบวกและลบภายในอนุภาค กลายเป็นไดโพล จากนั้นไดโพลจะถูกดึงดูดเข้าหาจุดที่มีความเข้มของแสงสูงซึ่งก็คือจุดโฟกัสนั่นเอง แรงเกรเดียนท์มีค่า

$$F_{grad} = \frac{\alpha}{2}\nabla\left\langle E^2 \right\rangle \tag{2.2}$$

เมื่อ

$$\alpha = n^2{}_m r^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 1} \right) \tag{2.3}$$

โดยที่ $\nabla\left\langle E^2 \right\rangle$ คือ ผลเฉลี่ยของสนามไฟฟ้ากำลังสอง n และ n_m คือดรรชนีหักเหของอนุภาค และตัวกลางตามลำดับและ m = n/nm คือ ดรรชนีหักเหเปรียบเทียบ และ r คือรัศมีของอนุภาค

2.3.2 แรงกระเจิง

เกิดจากการที่อนุภาคดูดกลืนแสง (absorption) และมีการกระเจิงของแสงออกมาจากอนุภาคใน ทุกทิศทุกทาง (scattering) ทำให้เกิดการถ่ายเทโมเมนตัมให้แก่อนุภาค แรงกระเจิงมีทิศทางเดียวกับการแผ่รังสีของแสงแต่มีค่าน้อยกว่าแรงเกรเดียนท์มาก วัตถุจึงมีแนวโน้มที่จะถูกผลักเข้าหาจุดโฟกัส แรงกระเจิงมีค่า

$$F_{scatt} = n_m \frac{\langle S \rangle \sigma}{c} \tag{2.4}$$

เมื่อ

$$\sigma = \frac{8}{3}\pi\left(kr^4\right)r^2\left(\frac{m^2-1}{m^2+1}\right)^2$$

(2.5)

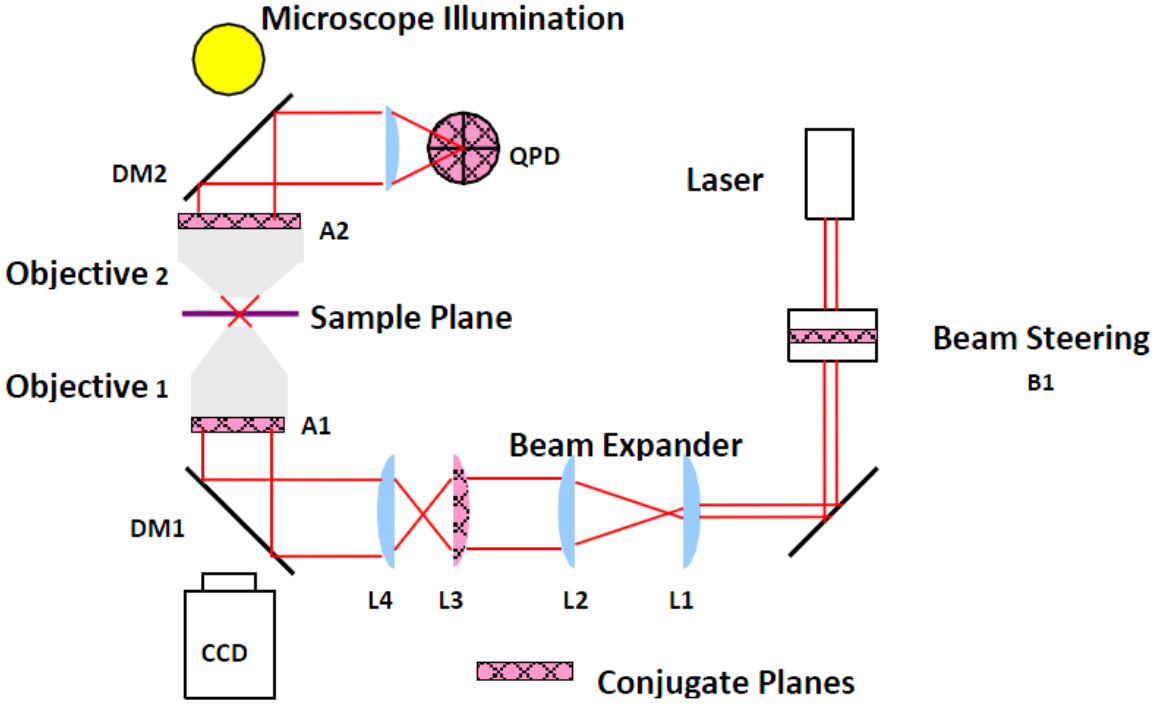
โดยที่ $\langle S \rangle$ คือ ผลเฉลี่ยของพอยติ้งเวกเตอร์ c คือความเร็วแสง และ $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ คือเลขคลื่นของ เลเซอร์ ในทางปฏิบัติอนุภาคที่ถูกดักจับจะมีขนาด 100 nm ถึง 10 μm ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่างอนุภาคเรย์ลีห์และเมียร์ ดังนั้นจะต้องนำหลักการทั้งสองอย่างมารวมกันและใช้การคำนวณทางพีชคณิต (numerical calculation)

2.4 คีมจับเชิงแสงแบบออปติกส์ในอากาศ (Free space optical tweezers)

หลักการสำคัญของคีมจับเชิงแสงแบบออปติกส์ในอากาศนี้คือ การโฟกัสลำแสงเลเซอร์ลงบนระนาบตัวอย่างโดยเลนส์วัตถุของกล้องจุลทรรศน์ รูปที่ 2.2 แสดงผังอุปกรณ์ทดลองของคีมจับเชิงแสงแบบออปติกส์ในอากาศที่ใช้กันทั่วไป สำหรับรายละเอียดของอุปกรณ์ต่างๆของคีมจับเชิงแสงในแต่ละการทดลองอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอนุภาคที่จะจับและการประยุกต์ใช้งาน แต่อุปกรณ์สำคัญๆมีดังนี้

2.4.1 เลเซอร์สำหรับจับอนุภาค

เลเซอร์ที่ใช้ควรมีโหมด TEM 00 มีกำลังตั้งแต่ 10 มิลลิวัตต์จนถึงหลายวัตต์ ความหนืบของคีมจับจะขึ้นอยู่กับกำลังของเลเซอร์ที่ใช้ โดยทั่วไปแล้วจะได้ความหนืบ 0.15 pN/nm ต่อกำลังเลเซอร์ 1 W ที่ระนาบตัวอย่าง ความยาวคลื่นของเลเซอร์ที่ใช้ขึ้นอยู่หลายปัจจัยการดูดกลืนแสงของเลนส์ตัวอย่าง และตัวกลาง



ภาพที่ 2.2 อุปกรณ์ทดลองคีมจับเชิงแสงแบบออปติกส์ในอากาศ

2.4.2 เลนส์วัตถุกล้องจุลทรรศน์

เลนส์วัตถุที่ใช้จะต้องมีค่า Numerical Aperture สูงๆ (ประมาณ1.0-1.4) กล่าวคือมีปากช่องรับแสงกว้างนั่นเองอาจเป็น เลนส์วัตถุแบบจุ่มน้ำมันหรือจุ่มน้ำ เพื่อให้รับปริมาณแสงได้มาก ทำให้มีแรงเกรเดียนท์มาก นอกจากนั้นยังลดผลจากการเบี่ยงเบน (diffraction) ทำให้จุดโฟกัสมีขนาดเล็กลงอีกด้วย

2.4.3 อุปกรณ์บังคับตำแหน่งคีมจับเชิงแสง

ในการศึกษาอนุภาคด้วยคีมจับเชิงแสง เมื่อใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาคแล้ว เราจำเป็นต้องเคลื่อนย้ายอนุภาคไปมาในทิศทางต่างๆซึ่งทำได้หลายวิธีได้แก่

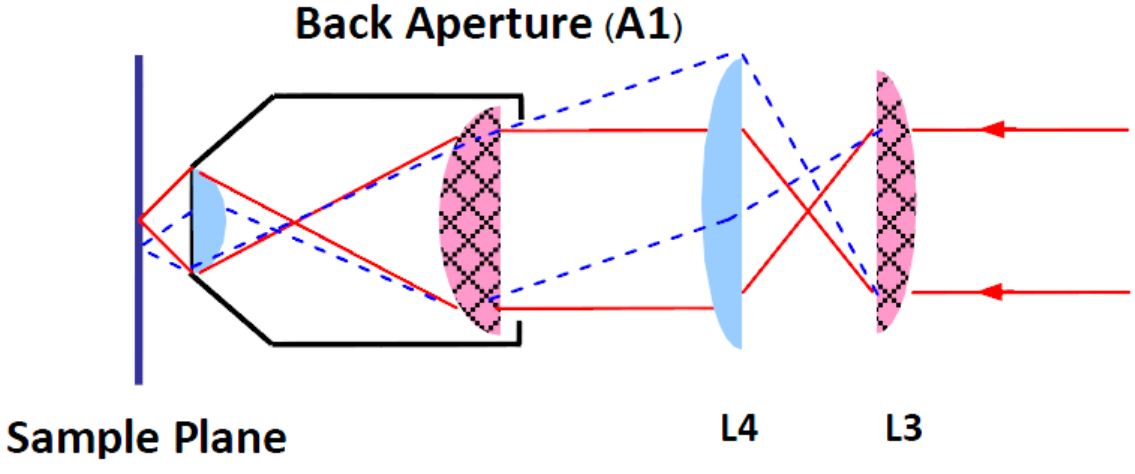
2.4.3.1 การเลื่อนระนาบตัวอย่าง (Sample Stage Movement)

เป็นการเคลื่อนตัวอย่างทั้งระนาบไป โดยการวางระนาบตัวอย่างบนเครื่องเพียโซอิเล็กทริค (Piezoelectric) ซึ่งควบคุมการเคลื่อนที่ด้วยไฟฟ้า ขณะที่คีมจับชิงแสงจับอนุภาค

อันหนึ่งอยู่กับที่ วิธีนี้สามารถบังคับทิศทางได้สามมิติแต่มีข้อเสียคือมีคีมจับได้เพียงอันเดียว นอกจากนั้นยังมีข้อจำกัดอื่นๆคือ ความกว้าง (Bandwidth) และความละเอียด (Resolution) ของเครื่องกลเพียโซอิเล็กทริค

2.4.3.2การบังคับทิศทางของลำแสง (Beam Beflection)

ในหลักการแสงเชิงเรขาคณิต (Geometrical Optics) ตำแหน่งโฟกัสของแสงบนระนาบตัวอย่างจะขึ้นอยู่กับทิศทางของลำแสงที่เข้าสู่ช่องด้านหลังของเลนส์วัตถุ (A1) ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ดังนั้น ถ้าเราติดตั้งอุปกรณ์โดยให้ระนาบทั้งหมดที่แรเงากากบาทในรูปที่ 2.2 เป็นระนาบภาพซึ่งกันและกัน (Image Planes หรือ Conjugate Planes) ได้แก่ระนาบ B1, L3, A1, A2 และ QPD เราก็จะสามารถบังคับคีมจับเชิงแสงได้โดยเพียงขยับเลนส์ L3 หรือไม่ก็บังคับทิศทางของลำแสงที่ระนาบ B1 โดยใช้กระจกหรือเครื่องบังคับทิศทางลำแสงแบบอะคุสโตออปติกส์ (Acousto-Optic Modulator) หรือ AOM การใช้AOM มีข้อดีคือสามารรถสร้างคีมจับเชิงแสงได้หลายอันโดยใช้เลนส์วัตถุอันเดียว มีแบนวิดท์ประมาณ 100 kHz แต่มีข้อเสีย คือ มีการสูญเสียกำลังแสงมากและแสงที่สแกนไปตามมุมต่างๆมีกำลังไม่เท่ากัน



ภาพที่ 2.3 การบังคับตำแหน่งของคีมจับเชิงแสงโดยการเปลี่ยนทิศทางของแสงที่เข้าสู่ช่องด้านหลังของเลนส์วัตถุโดยการขยับเลนส์ L3

2.4.3.3 การใช้วิธีการโฮโลกราฟิก

เป็นการสร้างภาพโฮโลแกรม ที่ระนาบตัวอย่างนั่นเอง คีมจับเชิงแสงแบบนี้เรียกว่า คีมจับเชิงแสงแบบโฮโลกราฟิก (Holographic Optical Tweezers หรือ HOT) วิธีการนี้จะทำการแปลงแสงที่ระนาบ B1 เช่นเดียวกัน แต่จะใช้เครื่องแปลง

แสง ตามพื้นที่หน้าตัดสองมิติ (Spatial Light Modulator) หรือ SLM ทำการแปลงแอมพลิจูดและเฟสของลำแสงตามพื้นที่หน้าตัด ภาพที่แปลงโดยเครื่อง SLM จะถูกฉายลงที่ช่องด้านหลังของเลนส์วัตถุ (ระนาบA1) และจากหลักการฟูเรียออปติกส์ ภาพที่ระนาบโฟกัส (ในที่นี้ได้แก่ระนาบตัวอย่าง) จะเท่ากับผลการแปลงฟูเรียหรือความถี่เชิงพื้นที่ (Spatial Frequency) ของภาพที่ระนาบ A1 การแปลงที่เครื่อง SLM จึงเป็นการแปลงที่อาณาจักรความถี่ (Spatial Frequency Domain) นั่นเอง ข้อดีที่เด่นชัดของวิธีนี้คือรูปร่างของคีมจับไม่ได้เป็นได้เพียงจุด เราสามารถสร้างคีมจับเป็นรูปต่างๆได้ เช่นรูปวงแหวน รูปวอลเท็กซ์ รูปโดนัท รูปฟังก์ชั่นเบสเซิล เป็นต้น ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลายอย่าง เครื่อง SLM ที่ใช้อาจเป็นแบบสะท้อนหรือส่งผ่านก็ได้

2.4.4 อุปกรณ์บันทึกภาพและตำแหน่งของอนุภาค

2.4.4.1 บันทึกภาพระนาบตัวอย่างโดยตรงคือการโดยใช้กล้องวีดีโอ CCD ดังใน รูปที่ 2.2 วิธีนี้ต้องมีการส่องสว่าง (Illumination) จากอีกด้านหนึ่งของกล้อง CCD เพื่อให้แสงเพียงพอ สังเกตกระจก DM1 และ DM2 จะเป็นกระจกแบบไดโครอิก (Dichroic mirror) คือจะสะท้อนแสงเลเซอร์ที่ใช้ดักอนุภาคและส่งผ่านแสงที่ใช้ในการบันทึกภาพ อย่างไรก็ตามความละเอียดของภาพขึ้นอยู่กับจำนวนพิคเซลในกล้อง CCD แล้วยังถูกจำกัดด้วยความยาวคลื่นแสงอีกด้วย ความละเอียดสูงสุดประมาณ 0.2 m

2.4.4.2 การบันทึกตำแหน่งที่ระนาบโฟกัสด้านหลัง

เป็นการวัดการแทรกสอดที่ระนาบโฟกัสด้านหลังระหว่างแสงที่กระเจิงจากอนุภาคไปด้านหน้ากับแสงเลเซอร์ ที่วิ่งผ่านคีมจับไปด้านหน้าโดยไม่กระทบกับอนุภาค โดยมากจะนิยมใช้เครื่องตรวจจับแสงแบบควอแดรนท์ (Quadrant Photo Detector) หรือเครื่อง QPD แล้วนำผลต่างระหว่างปริมาณแสงแต่ละด้านของเครื่อง QPD มาคำนวณตำแหน่งของอนุภาค ให้ความละเอียดของตำแหน่งสูงสุดถึง 1 nm อย่างไรก็ตาม สำหรับอนุภาคที่มีขนาดเล็ก แสงที่กระเจิงออกมาจะมีค่าน้อยมาก เมื่อเทียบกับแสงที่ผ่านไปโดยไม่กระทบอนุภาค แสงด้านหลัง (background light) นี้ทำให้มีค่าอัตราส่วนของสัญญาณต่อคลื่นรบกวนต่ำ(signal to noise ratio)

2.5 การใช้คีมจับเชิงแสงในการวัดแรง

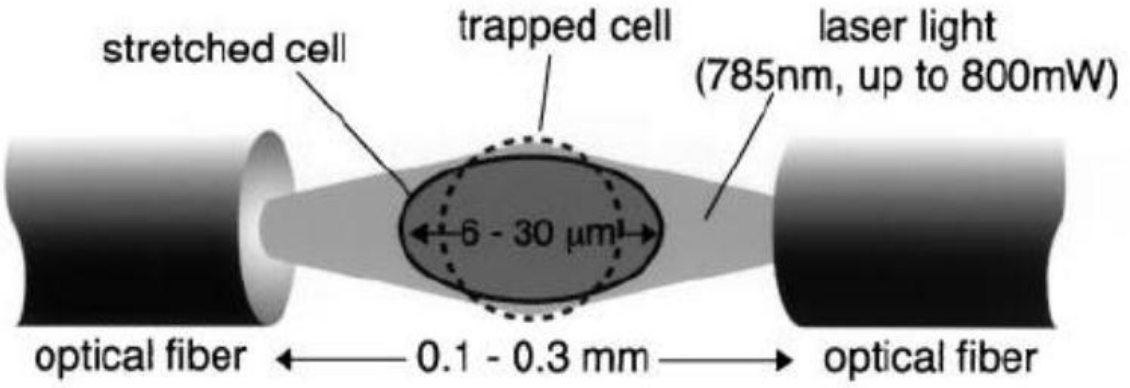
คีมจับเชิงแสงใช้เป็นเครื่องมือในการวัดแรงในระดับตั้งแต่ 0.1 พิโคนิวตัน ถึง หลายร้อยพิโคนิวตัน โดยสามารถวัดแรงได้สูงสุดหลายร้อยพิโคนิวตัน และให้ความละเอียดของสเกลต่ำกว่า 1 พิโคนิวตัน ซึ่งมีประโยชน์ในการศึกษาแรงจากชีวโมเลกุล เซลล์ และ อนุภาคสารแขวนลอย

เมื่ออนุภาคอยู่ที่ตรงบริเวณคีมจับเชิงแสงจะถูกแรงจากแสงดึงเข้าหาจุดโฟกัสคีมจับเชิงแสงจึงเปรียบเสมือนสปริงสามมิติ ที่มีจุดโฟกัสเป็นจุดสมดุล ความสัมพันธ์ระหว่างแรง และระยะห่างจากจุดโฟกัสเป็นแบบเชิงเส้นเพียงระยะสั้นๆเท่านั้น (ประมาณไม่เกิน 100 nm จากจุดโฟกัส) โดยทั่วไปแล้วคีมจับเชิงแสงจะมีค่าความหนืบตั้งแต่ 0.01-1 pN/nm การวัดแรงทำได้โดยผูกอนุภาคที่จะวัดแรงไว้กับเม็ดแก้วแล้วดักเม็ดแก้วด้วยคีมจับเชิงแสง เมื่อมีแรงดึงที่อนุภาค เม็ดแก้วจะเคลื่อนไปอยู่จุดที่แรงดึงสมดุลกับแรงของคีมจับ เราก็สามารถหาแรงได้จากระยะที่เม็ดแก้วเคลื่อนที่ไป ในบางการทดลองมีกลไกลย้อนกลับ (feedback) เพื่อเคลื่อนคีมจับเชิงแสงตามอนุภาคไปเพื่อให้ได้ระยะที่แรงกับระยะทางมีความสัมพันธ์แบบเชิงเส้นทำให้สามารถวัดแรงได้อย่างต่อเนื่อง

การหาค่าความหนืบคีมจับแต่ละอัน (Force Calibration) โดยวิธีวัดแรง และระยะทางเช่นเดียวกับสปริงกลนั้นทำได้ยากเพราะมีปัจจัยอื่นๆ มาประกอบด้วยเช่น แรงต้านจากของเหลว และการเคลื่อนที่แบบ บราวเนียน เราสามารถหาค่าความหนืบได้ง่ายกว่าโดยวิธีการ Power Spectrum คือวัดกำลังของการสั่นของอนุภาคในคีมจับแล้วแก้สมการในอาณาจักรความถี่แทน (Fourier Domain)

2.6 คีมจับเชิงแสงแบบใช้ใยแก้วนำแสง (Fiber Optical tweezers)

การใช้ใยแก้วนำแสงในการดักจับอนุภาคมีทั้งแบบที่ใช้เส้นใยแก้วเส้นเดียว 4 หรือสองเส้น 5-7 เส้นใยแก้วที่นามาใช้อาจเป็นแบบโหมดเดียวหรือแบบปลายแหลมก็ได้ (tapered fiber) เมื่อแสงเลเซอร์ออกมาจากปลายเส้นใยแก้วแสงจะแผ่ออกเนื่องจากบริเวณนี้ไม่ถูกจำกัดโดยท่อนำแสงดังรูปที่ 2.4 บริเวณที่ปลายเส้นใยแก้วจะมีความเข้มแสงมากที่สุด ดังนั้นแรง เกรเดียนท์จะดึงดูดอนุภาคเข้าหาปลายท่อนำแสง ในกรณีดักอนุภาคด้วยใยแก้วเส้นเดียววัตถุจะวิ่งมาติดกับปลายท่อนำแสงซึ่งไม่ค่อยนิยม คีมจับเชิงแสงแบบใช้ใยแก้วส่วนใหญ่จะใช้ใยแก้วสองเส้นมาวางบนแกนเดียวกัน หันปลายเข้าหากัน ห่างกันประมาณ 100-300 m เส้นใยแก้วทั้งสองข้างไม่จำเป็นต้องใช้เลเซอร์ความถี่เดียวกัน อนุภาคจะถูกดึงเข้าหาใยแก้วทั้งสองข้างเปรียบเสมือนมีสปริงสองอันมาดึงอนุภาคอยู่สองด้าน อนุภาคถูกดักอยู่บริเวณที่แรงจากใยแก้วทั้งสองข้างมีค่าเท่ากัน การเคลื่อนอนุภาคตามแนวแกน x สามารถทำได้โดยปรับความเข้มของแสงคีมจับเชิงแสงด้านใดด้านหนึ่ง คีมจับเชิงแสงมักจะถูกเรียกว่าเครื่องตรึงเชิงแสง (optical stretcher) เนื่องจากอนุภาคที่จับจะถูกแรงทั้งสองข้างดึงให้ยืดออก และถูกใช้ในการศึกษาความยืดหยุ่นของอนุภาคหรือเซลล์



ภาพที่ 2.4 คีมจับเชิงแสงแบบใช้ใยแก้วนำแสง

2.7 คีมจับเชิงแสงแบบติดตั้งในเซลล์ของไหล

ในการนำคีมจับเชิงแสงไปประยุกต์ใช้งาน เช่นการทำเครื่องตรวจจับ มีความจำเป็นต้องย่อขนาดคีมจับเชิงแสงให้มีขนาดเล็ก โดยการนำคีมจับเชิงแสงมาย่อขนาดแล้วฝังอยู่ในชิพซึ่งมีของไหลไหลผ่านให้เป็น Integrated Optics สำหรับช่องที่ของไหลผ่าน อาจจะมีขนาดตั้งแต่ ระดับไมโครเมตรจนถึงระดับนาโนเมตร คีมจับเชิงแสงแบบนี้มีทั้งที่ใช้เลนส์วัตถุ และแบบที่ใช้ใยแก้วนำแสง คีมจับเชิงแสงแบบติดตั้งในเซลล์ของไหลนี้กำลังได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและคาดว่าจะแพร่หลายในอนาคตอันใกล้เนื่องจากสามารถนำไปประยุกต์ทำอุปกรณ์ต่างๆได้มากมาย

2.8 การประยุกต์ใช้งานคีมจับเชิงแสง

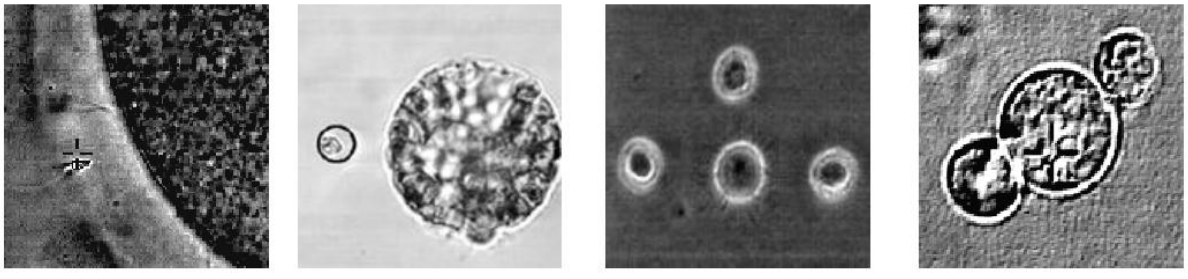
คีมจับเชิงแสงถูกนำไปประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสาขาต่างๆมากมายทั้งใน สาขาชีววิทยา เคมี การแพทย์และอื่นๆ ตัวอย่างการนำคีมจับเชิงแสงไปประยุกต์ใช้มี ดังนี้

2.8.1 การศึกษาด้านชีววิทยาในระดับเซลล์

ความสามารถของคีมจับเชิงแสงในการจับเซลล์และเคลื่อนย้ายเซลล์ และออกแรงกระทำต่อเซลล์เช่น บิด ยืด ทำให้มีการนำคีมจับเชิงแสงไปใช้ในทางชีววิทยาอย่างมากมาย นอกจากนั้นเรายังสามารถดักจับและออกแรงกระทำต่อส่วนประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์เช่น นิวเคลียส คลอโรพลาสต์ อีกด้วย ห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาส่วนใหญ่จะมีคีมจับเชิงแสงแบบแบบสำเร็จรูปหรือไม่ก็เป็นแบบประกอบขึ้นเอง คีมจับเชิงแสงที่ใช้ในทางชีววิทยาจะใช้เลเซอร์ในย่านอินฟราเรด 750-1200 nm เพราะ เซลล์และเนื้อเยื่อมีการดูดกลืนต่ำ ทำให้ไม่เกิดความเสียหาย โดยมากจะนิยมใช้เลเซอร์

Nd:YAG ที่ความยาวคลื่น 1064 nm และบางครั้งจะใช้ร่วมกับกรรไกรเชิงแสง (optical scissors) หรือ มีดตัดเชิงแสง(optical scalpel) เราสามารถทำ สิ่งต่างๆได้มากมายต่อเซลล์ เช่น จับเซลล์มาเซลล์หนึ่งแล้วศึกษาการแบ่งตัวหรือการเจริญเติบโตของเซลล์เซลล์นั้น ขอยกตัวอย่างการประยุกต์ใช้เพียงบางส่วนดังนี้

การคัดแยกเซลล์และเชื้อแบคทีเรีย เราสามารถใช้คีมจับเชิงแสง พาเชื้อแบคทีเรียทีละตัวไปยังปลายท่อไมโครแคปปิลารี่โดยตรงโดยใช้คนบังคับคีมจับเชิงแสงโดยตรง



A B C D

ภาพที่ 2.5 การประยุกต์ใช้คีมจับเชิงแสงในเซลล์สิ่งมีชีวิต (A) การนำสเปิร์มเข้าสู่ไข่ (B) การนำครอโรพลาสต์ออกมาจากเซลล์พืช (C) การศึกษาปฏิกิริยาทางไฟฟ้าระหว่างเซลล์ประสาท (D) การนำเซลล์ฆ่ามะเร็งไปสัมผัสกับเซลล์มะเร็ง (A,B,C,D เรียงจากซ้ายไปขวา)

การช่วยปฏิสนธิมนุษย์ มีการทดลองใช้คีมจับเชิงแสงเป็นตัวนำสเปิร์มไปสัมผัสกับไข่เพื่อช่วยในการปฏิสนธิ อีกการทดลองหนึ่งใช้กรรไกรเชิงแสงตัดผนังรังไข่เสียก่อน จากนั้นจึงใช้คีมจับเชิงแสงนำตัวสเปิร์มเข้าสู่ไข่ผ่านทางผนังที่ตัดดังในรูปที่ 2.5 (A)

การศึกษาส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ เช่น การใช้กรรมไกรเชิงแสงตัดผนังเซลล์พืชแล้วใช้คีมจับเชิงแสงนำครอโรพลาสต์ออกมานอกเซลล์ดังในรูปที่ 2.5 (B)

การศึกษาเซลล์ประสาท (nerve cells) มีการนำเซลล์ประสาทมาวางเรียงกันเป็นรูปต่างๆ ดังในรูป แล้วศึกษาสัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นและสร้างวงจรไฟฟ้าจากเซลล์ประสาท อีกด้วยดังในรูปที่ 2.5 (C)

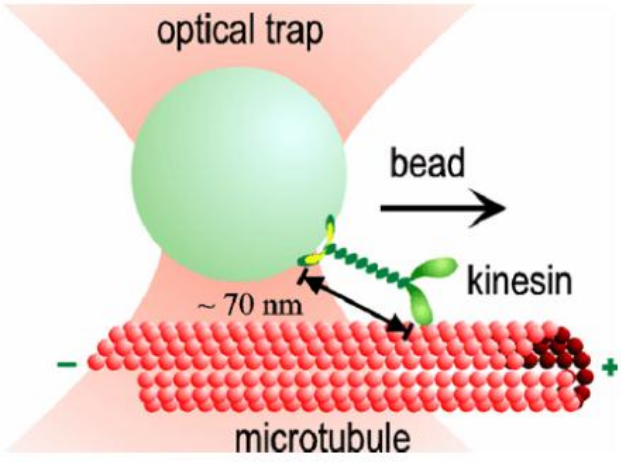
การศึกษาเกี่ยวกับมะเร็ง มีการนำเซลล์มะเร็งไปติดกับเซลล์ที่ฆ่ามะเร็ง (killer cell) เพื่อทำลายเซลล์มะเร็งดังในรูป 2.5(D)

การผสานเซลล์ นักวิทยาศาสตร์สามารถผสานเซลล์ 2 เซลล์เข้าด้วยกันโดยไม่ใช้วิธีการทางเคมีหรือไฟฟ้ามาช่วย โดยเพียงใช้มีดตัดเชิงแสงตัดผนังเซลล์ทั้งสองเซลล์ แล้วใช้คีมจับเชิงแสงนำเซลล์ทั้งสองมาสัมผัสกัน

2.8.2 การศึกษาด้านชีววิทยาระดับโมเลกุล

นอกจากจะใช้คีมจับเชิงแสงในการจับเซลล์และส่วนต่างๆของเซลล์แล้ว ยังสามารถนำคีมจับมาศึกษาชีวโมเลกุลซึ่งส่วนใหญ่จะศึกษาโมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecule) เช่น DNA โครโมโซม และมอเตอร์โมเลกุลต่างๆ เนื่องจากเราไม่สามารถใช้คีมเชิงแสงจับโดยตรง เพราะมีขนาดเล็กเกินไป จึงต้องเชื่อมโมเลกุลกับเม็ดแก้วโดยการฉาบสารบางอย่างเช่น สาร Biotin และ streptavidin เป็นต้น แรงที่สารนี้เกาะกับเม็ดแก้วมีค่าประมาณ 300-400 pN ซึ่งมีค่ามากกว่าแรงเนื่องจากโมเลกุลที่จะทำการวัด (น้อยกว่า 100pN)

การประยุกต์ใช้คีมจับเชิงแสงในทางชีววิทยาที่สำคัญที่สุด อย่างหนึ่งคือ การศึกษามอเตอร์โมเลกุล (molecular motor) ชนิดต่างๆ มอเตอร์โมเลกุลที่เป็นโปรตีนซึ่งจะทำหน้าที่เป็นเสมือนเครื่องจักร ดึงพลังงานอิสระที่ได้จากกระบวนการไฮโดรลิซิสของ ATP มาเป็นพลังงานกล สิ่งที่หน้าสนใจอย่างหนึ่งเกี่ยวกับมอเตอร์โมเลกุลก็คือมันทำงานในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เสถียร มีการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน มีการกวัดแกว่งของพลังงานแวดล้อมประมาณ 1kbT ที่ 25 C ซึ่งไม่น้อย เมื่อเทียบกับพลังงานอิสระประมาณ 20 kbT ที่ได้จากการสลายตัวของ ATP หนึ่งโมเลกุล 18 มอเตอร์โมเลกุลดึงพลังงานอิสระและพลังงานแวดล้อมที่ไร้ทิศทาง แล้วมาทำให้ตนเองเคลื่อนที่ ไปในทิศทางที่ต้องการดังที่เรียกว่ากระเดื่องความร้อน (thermal ratchet) ที่นักชีววิทยากาลังพยายามศึกษาว่า กระบวนนี้เกิดขึ้นได้อย่างไร มอเตอร์โมเลกุลนับว่าเป็นเครื่องจักรที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่า เครื่องจักรที่มนุษย์เคยประดิษฐ์มา การศึกษามอเตอร์โมเลกุลนอกจากจะมีประโยชน์ด้านการศึกษาทางชีววิทยาแล้วยังมีประโยชน์ต่อเทคโนโลยีระดับนาโนหลายๆอย่าง ที่จะเกิดขึ้นในอนาคต เช่น การฝังชิพที่มียารักษาโรคไว้ใต้ผิวหนังมนุษย์แล้วใช้มอเตอร์โมเลกุลเป็นตัวนำโมเลกุลของยาไปสู่เซลล์เป้าหมายทีละน้อยเป็นมอเตอร์โมเลกุลที่นำมาศึกษามีหลายชนิดเช่น ไมโอซิน ไคเนซิน และ RNAP เป็นต้น



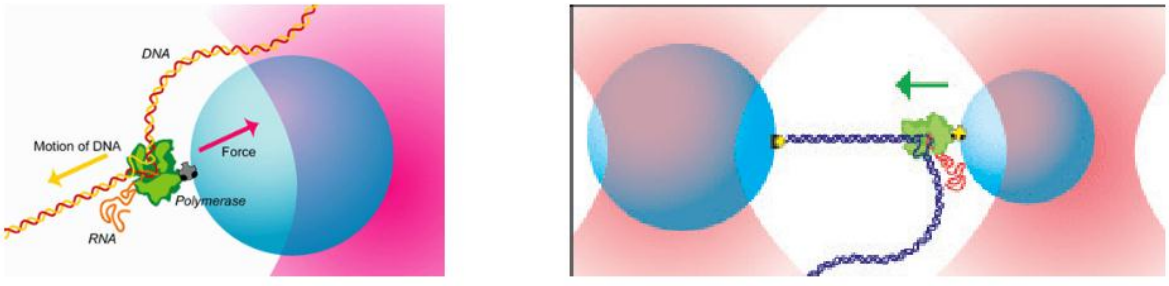
ภาพที่ 2.6 การศึกษาการเคลื่อนที่ไปตามท่อไมโครทูบูลของไคเนซิน

2.8.3 การศึกษาไคเนซิน

ไคเนซิน (kinesin) เป็นมอเตอร์โมเลกุลชนิดหนึ่งที่มี การศึกษากันอย่างแพร่หลาย มีหน้าที่ลำเลียงโครโมโซม วีซิเคิลและสารอื่นๆ ไปตามท่อไมโครทิวบูลภายในเซลล์ มีลักษณะเป็นโปรตีนสองสายขดกัน ปลายข้างหนึ่งจะจับสารที่จะลำเลียง ปลายอีกด้านหนึ่งมีลักษณะเป็นเหมือนขาสองข้างเกาะกับผนังท่อไมโครทูบูลดังในรูปที่ 6 ไคเนซินเคลื่อนที่โดยใช้ขาสองข้างเกาะผนังไมโครทิวบูลสลับกันไปคล้ายการเดิน การศึกษาไคเนซินทำได้โดยเชื่อมปลายข้างที่ใช้จับสารไว้กับเม็ดแก้วขนาดประมาณ 70 nm แล้วดักเม็ดแก้วด้วยคีมจับเชิงแสง เมื่อไคเนซินเคลื่อนที่ไป เราสามารถสังเกตจังหวะการเคลื่อนที่และแรงได้จากเม็ดแก้ว พบว่าไคเนซินสามารถแบกน้ำหนักได้สูงสุด 5-7 pN และเคลื่อนที่ประมาณ 8 nm ต่อหนึ่งก้าวโดยการสลาย ATP หนึ่งโมเลกุล Dr.Block จากมหาวิทยาลัยสแตนฟอร์ดยังทำการทดลองใช้เม็ดแก้วดึงไคเนซินทาง ด้านข้าง และด้านหลังอีกด้วย ปรากฏว่าทำให้ไคเนซินเคลื่อนที่ช้าลง แต่ที่น่าทึ่งก็คือเมื่อดึงไปด้านหน้า กลับไม่ทำให้มันเคลื่อนที่เร็วขึ้นเลย

2.8.4 การศึกษาอาร์เอ็นเอ พอลิเมอเรส

อาร์เอ็นเอ พอลิเมอเรส (RNA polymerase หรือ RNAP) เป็นมอเตอร์โมเลกุลชนิดหนึ่ง มันจะเกาะไปตามสาย DNAแล้วทำการคัดลอกรหัสพันธุกรรมจาก DNA ลงสู่ RNA (RNA transcribing) Dr.Block ทำการทดลองวัดแรงและความเร็วในการเคลื่อนที่ของ RNAP ไปตาม DNA ในเซลล์ Escherichia Coli โดยเชื่อม RNAP ไว้กับเม็ดแก้วขนาด 0.5 m แล้วดักด้วยคีมจับเชิงแสง ขณะที่ปลายของ DNA ก็เชื่อมกับเม็ดแก้วอีกเม็ดหนึ่งแล้วดักด้วยคีมจับเชิงแสงเช่นกันดังรูปที่ 2.7 ปรากฏว่าวัดแรงดึงได้ 15-30 pN



A B

ภาพที่ 2.7 การศึกษาอาร์เอ็นเอ พอลิเมอเรสA การตรึง RNAP ไว้กับเม็ดแก้วโพลิสไตรีน B เมื่อ RNAP คัดลอกรหัสพันธุกรรมจะดึงเม็ดแก้วทั้งสองเข้าหากัน

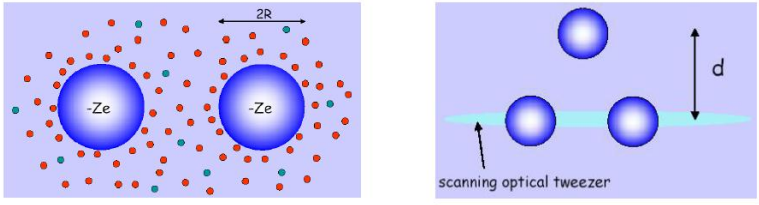
นอกจากที่กล่าวมาแล้วยังสามารถประยุกต์ใช้คีมจับเชิงแสงในทางชีววิทยาอื่นๆ ดังตัวอย่างต่อไปนี้ การผสมพันธ์พืช,วิศวกรรมอาหาร,ศัลยกรรมระดับไมครอน, การวิเคราะห์ความผิดปกติของเส้นประสาท,การวิเคราะห์กระบวนการกระตุ้นประสาท,คัดแยกสารปนเปื้อนในเลือด ,การวินิจฉัยโรค, การศึกษาภูมิคุ้มกัน,การรักษาทางพันธุกรรม,การช่วยฟักตัวของตัวอ่อน ,การศึกษาการเจริญเติบโตของตัวอ่อน,การวินิจฉัยก่อนการผ่าตัดเปลี่ยนอวัยวะ ,การคัดแยกโครโมโซม

2.8.5 การประยุกต์ใช้ในทางเคมี

ในทางเคมี มีการประยุกต์ใช้คีมจับเชิงแสงในหลายๆด้าน ที่สำคัญคือ การศึกษาเกี่ยวกับสารคอลลอยด์และการสร้างโครงสร้างระดับไมโคร/นาโน ดังตัวอย่างต่อไปนี้

2.8.5.1 การศึกษาเกี่ยวกับคอลลอยด์

คอลลอยด์ คือ อนุภาคที่กระจัดกระจายกันอยู่ในตัวกลาง อนุภาคคอลลอยด์แต่ละอนุภาคไม่ได้มีโมเลกุลเดียวแต่มีหลายๆโมเลกุลรวมตัวกันอยู่ อนุภาคคอลลอยด์เป็นได้ทั้งของแข็ง ของเหลว และก๊าซ มีขนาดตั้งแต่ 100 nm จนถึง 10 m แรงดึงดูดของโลกมีผลต่ออนุภาคคอลลอยด์น้อยมาก เนื่องจากมีขนาดเล็ก ในการศึกษาคอลลอยด์ ทำได้โดยใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาคคอลลอยด์แต่ละอนุภาคได้ จากนั้นนำมาใกล้กันหรือสัมผัสกันแล้วสังเกตสิ่งทีเกิดขึ้น เช่นวัดแรงดูดกันหรือผลักกันของอนุภาคคอลลอยด์ การทดลองที่ง่ายที่สุดคือจับอนุภาคคอลลอยด์ อันหนึ่ง 2 อนุภาคมาอยู่ใกล้กันแล้วดูผลที่เกิดขึ้นดังรูปที่ 2.8(A) หรือจับอนุภาคคอลลอยด์ 2 ตัวแล้วนาอนุภาคอีกดันหนึ่งมาใกล้ดังใน รูปที่2.8(B) และ 2.8(C) เราสามารถวัดแรงระหว่างอนุภาคทั้งสองได้ด้วย



A B

ภาพที่ 2.8 การศึกษาแรงที่เกิดขึ้นระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ โดย (A) ใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาคหนึ่งแล้วนำอีกอนุภาคมาอยู่ใกล้ (B) ใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาค 2 ตัวแล้วนำอีกอนุภาคหนึ่งมาอยู่ใกล้

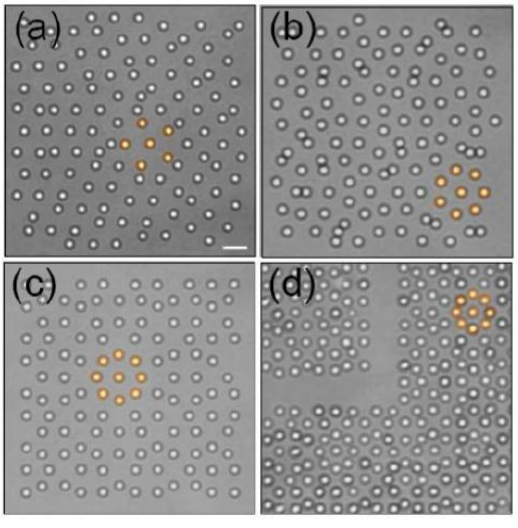


Fig. 1. Two-dimensional colloidal quasicrystals organized with holographic optical traps. (a) 5-fold. (b) 7-fold. (c) 8-fold. (d) An octagonal quasicrystal with an embedded structured defect. The scale bar in (a) indicates 5 μm.

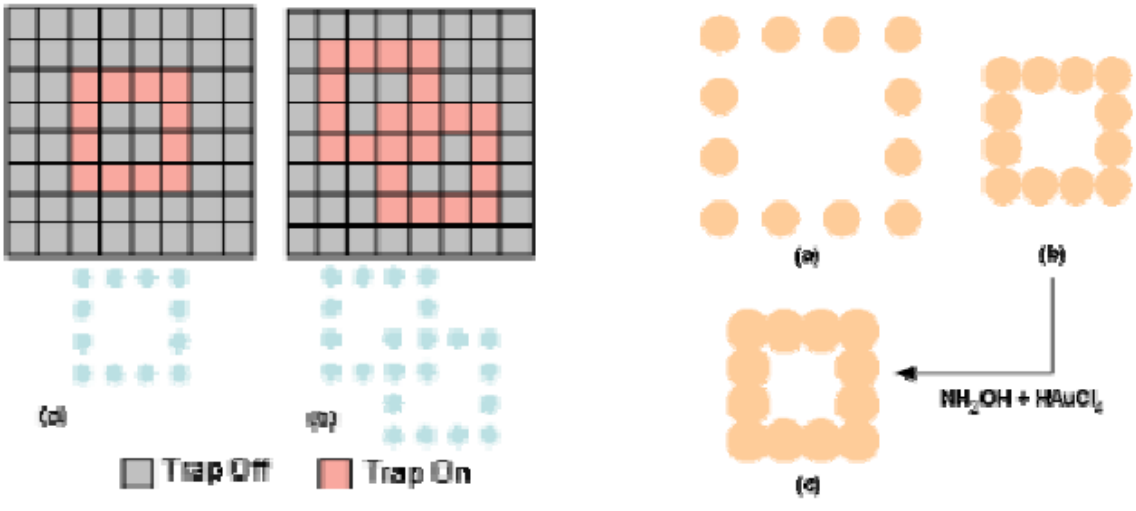
ภาพที่ 2.9 การจัดเรียงอนุภาคคอลลอยด์เป็นรูปทรงสามมิติ 5 เหลี่ยมถึง 8 เหลี่ยมด้วย HOT

ทีมของ Dr. Grier ที่มหาวิทยาลัยนิวยอร์กใช้คีมจับเชิงแสงแบบโฮโลกราฟิก เรียงอนุภาคคอลลอยด์เป็นรูป 5 เหลี่ยม จนถึง 8 เหลี่ยมสามมิติ ดังรูปที่ 9(A) นอกจากจะสามารถเรียงอนุภาคคอลลอยด์ได้แล้วยังสามารถศึกษาแรงและการจัดเรียงตัวของอนุภาครอบๆ อนุภาคที่ถูกเรียงอีกด้วย

2.8.5.2 การสร้างโครงสร้างระดับไมโครและนาโน(micro/nanostructures)

ทีมของ Metin Sitti ที่มหาวิทยาลัยคาร์เนกี เมลอน ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้คีมจับเชิงแสงแบบโฮโลกราฟิกร่วมกับ วิธีการทางเคมีเพื่อใช้ในการสร้าง โครงสร้างระดับไมโครและนาโน(micro/nanostructures) โดยทดลองสร้างโครงสร้างจากอนุภาคทองคา สำหรับรูปแบบของ HOT จะเป็นคีมจับหลายอันเรียงกันเป็นผลึก 2-3 มิติ ขั้นตอนแรกจะนำอนุภาค

ผ่านเซลล์ของไหลเข้าสู่ HOT แล้วเปิดคีมจับเป็นรูปต่างๆ เช่นสี่เหลี่ยมดังรูปที่ 2.10(A) อนุภาคจะมารวมตัวกัน ณ คีมจับที่เปิดอยู่ จากนั้นจะทำการล้างอนุภาคที่ตกค้างที่อื่นโดยใช้ของเหลวพาไป อนุภาคที่จับในการทดลองนี้มีไอออนของ Au3+ เป็นองค์ประกอบ จากนั้นจะดึงคีมจับมาติดกัน แล้วนำสาร NH2OH และ HAuCl2 ผ่านเข้าไปในเซลล์ของไหล สารนี้จะไปทำปฏิกิริยา รีดักชั่นกับไอออนของทองคำทำให้เปลี่ยนเป็น Au แล้วเกิดพันธะโลหะระหว่างอะตอมของ Au เกิดโครงสร้างรูปสี่เหลี่ยมดังรูปที่ 2.10(B)



ภาพที่ 2.10 ตัวอย่างการสร้างโครงสร้างระดับไมโคร/นาโน (A) การเปิดคีมจับใน HOT เป็นรูปต่างๆ (B) การทำให้อนุภาคทองคำ สร้างพันธะโลหะด้วยวิธีการทางเคมี

การสร้างโครงสร้างระดับนาโนไมโครนี้มีแนวโน้มจะได้รับการพัฒนาต่อไปซึ่งมีประโยชน์ต่อ การพัฒนาเทคโนโลยีระดับนาโนในอนาคต

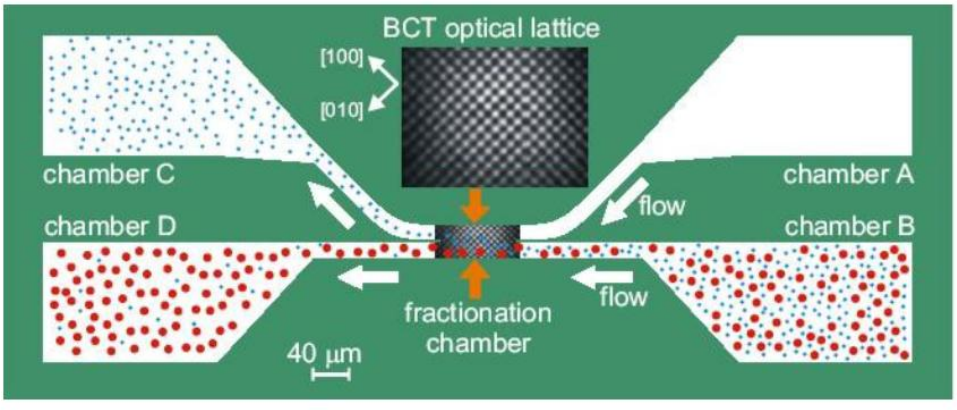
2.8.5.3 การทำสเปกโตรสโกปีกับโมเลกุล

คีมจับเชิงแสงช่วยให้เราสามารถทำ การวิเคราะห์สเปกตรัมของสารโดยวิเคราะห์เพียงโมเลกุล เดียวได้โดยใช้คีมจับเชิงแสงจับโมเลกุลไว้ การทำสเปกโตรโกปีร่วมกับคีมจับเชิงแสงสามารถ ทำได้ทั้งแบบรามัน (Raman Spectroscopy) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์การสั่น การหมุน จากแสงมีความยาว คลื่นเปลี่ยนไปเนื่องจาก พลังงานของโฟตอนเปลี่ยนไปเป็นโฟนอนหรือรวมกับโฟนอน หรืออาจจะทำสเปกโตรโกปีแบบฟลูออเรสเซนต์ธรรมดาก็ได้

2.9 เทคโนโลยีอื่นที่น่าสนใจเกี่ยวกับคีมจับเชิงแสง

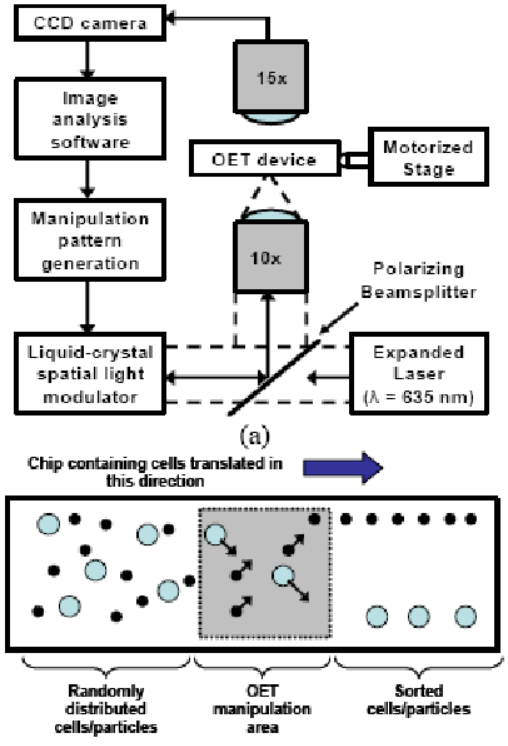
คีมจับเชิงแสงในการทาเครื่องคัดแยกอนุภาคอัตโนมัติ ระดับไมโคร-นาโนเมตร (Optical Sorting) การคัดแยกอนุภาคด้วยคีมจับเชิงแสง โดยการใช้คนในการตัดสินใจเลือก อนุภาคทีละชิ้นใช้ได้ เฉพาะในห้องทดลองเมื่อมีจำนวนอนุภาคน้อย ในการใช้งานจริงสามารถสร้างเครื่องคัดแยกอนุภาค อัตโนมัติโดยใช้คีมจับเชิงแสงคัดแยกอนุภาคขนาดเล็กเช่นเซลล์และอนุภาคขนาดไมครอนจนถึงนาโนเมตร เครื่องคัดแยกอนุภาคอาจมีรูปแบบต่างกัน ขึ้นอยู่กับการออกแบบ และการใช้งาน ตัวอย่างของเครื่องคัดแยกอนุภาคโดยใช้คีมจับเชิงแสงมีดังนี้

พัฒนาโดยทีมวิจัยที่มหาวิทยาลัยเซนต์แอนดรู มีรูปร่างดังรูปที่ 2.10 ของเหลวจะไหลจากปล่อง A และ B เข้าสู่ปล่องคัดแยก (Fractionation Chamber) โดยที่ของเหลวในปล่อง B มีอนุภาคที่ต้องการคัดแยกขณะที่ในปล่อง A เป็นของเหลวเปล่าๆ ตามทฤษฎีของเรย์โนด์ถ้าปล่องมีขนาดเล็กถึงระดับหนึ่ง จะมีเลขเรย์โนลด์ต่ำ ของเหลวจะไหลแบบต่อเนื่องเรียบๆ (Laminar Flow) คือของอนุภาคที่อยู่ในเหลวจากปล่อง B จะไหลไปสู่ปล่อง D ทั้งหมดและจากปล่อง A ไหลสู่ปล่อง C ทั้งหมด ภายในปล่องคัดแยกมีกับดักเชิงแสงหลายอันเรียงกันใน 3 มิติสร้างจากกับดักเชิงแสงแบบโฮโลกราฟิกเรียกว่าผลึกเชิงแสง (Optical Lattice หรือ Optical Peritalsis) เราสามารถเข้าใจหลักการทำงานของเครื่องคัดแยกอนุภาคโดยให้มองคีมจับเชิงแสงว่าเป็นหลุมความต่างศักย์อันหนึ่ง โดยที่กำลังของแสงแปรผันสอดคล้องกับความลึกของหลุม อนุภาคที่มีขนาดใหญ่มีพลังงานมากกว่าความลึกของหลุมจะไม่ถูกจับโดยกับดักเชิงแสงและไหลเข้าสู่ปล่อง D อนุภาคขนาดเล็กจะถูกจับโดยกับดักเชิงแสงซึ่งเคลื่อนที่ขึ้นด้านบนอย่างต่อเนื่อง และไหลไปยังปล่อง C เครื่องคัดแยกอนุภาคเชิงแสงแบบนี้จึงไม่ต้องมีการวิเคราะห์อนุภาค (passive) ถ้าของเหลวมีอนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงกันเปอร์เซ็นต์การแยกจะน้อยเราอาจนาของเหลวในปล่อง D ไหลวนเข้ามาที่ปล่อง B อีกหลายๆครั้งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดแยก นอกจากนั้นถ้าต้องการแยกอนุภาคหลายๆขนาด เราอาจผ่านของเหลวเข้าสู่ปล่องคัดแยกหลายๆปล่องต่อเนื่องกันไปโดยคัดเลือกอนุภาคขนาดเล็กก่อนแล้วเพิ่มขนาดขึ้นตามลำดับ (cascading) นอกจากนี้ยังประยุกต์ใช้การคัดแยกเซลล์ได้โดยนำเม็ดแก้วขนาดต่างๆกันไปเคลือบสารที่เกาะกับเซลล์ต่างชนิดกัน เซลล์แต่ละชนิดก็จะเคลื่อนไปตามเม็ดแก้วขนาดนั้นๆ



ภาพที่ 2.11 แผนผังเครื่องคัดแยกอนุภาคระดับไมโคร-นาโนเมตร ของมหาวิทยาลัยเซนต์แอนดรูส์

เครื่องคัดแยกอนุภาคแบบมีการวิเคราะห์อนุภาค (Active Sorting) ตัวอย่างของเครื่องคัดแยกอนุภาคสร้างโดยทีมจากมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย ที่ Berkeley มีรูปแบบดังในรูปที่ 2.12 เป็นการผ่านของเหลวที่มีอนุภาคที่จะคัดแยกผ่านเซลล์ของเหลวขนาดเล็ก ภาพของช่องของไหลนี้จะถูกฉายลงบนจอภาพ CCD จากนั้นมีการวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของอนุภาคที่ผ่านมาโดยคอมพิวเตอร์ โดยอาศัยข้อมูลจากแสงที่ตกลงบนพิกเซลต่างๆ จากนั้นคอมพิวเตอร์จะสั่งเครื่อง HOT จับอนุภาคและติดตามอนุภาคไปยังช่องที่กำหนดดังในรูป 2.12 (b) ในการทดลองนี้สามารถคัดแยกเม็ดแก้วโพลิสไตรีนขนาดต่างๆ และคัดแยกเซลล์เฮลาได้อีกด้วย (Hela Cell)



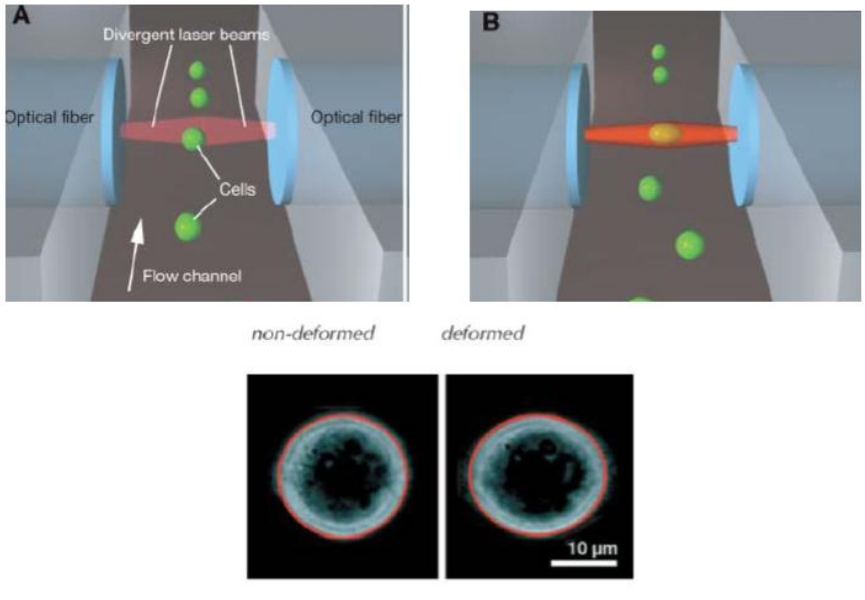
ภาพที่ 2.12 แผนผังเครื่องคัดแยกอนุภาคจากมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย

2.9.2 คีมจับเชิงแสงในการทำเครื่องตรวจจับ (Sensors)

คีมจับเชิงแสงสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องตรวจจับอนุภาคขนาดเล็กได้อีกด้วย โดยมักใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาคที่ต้องการในของเซลล์ของไหล ตัวอย่างเครื่องตรวจจับที่ใช้คีมจับเชิงแสงมีดังนี้

2.9.3 เครื่องตรวจหาเซลล์มะเร็ง (Leipzig)

ต้นแบบเครื่องตรวจหาเซลล์มะเร็งโดยใช้เครื่องตรึงเชิงแสงถูกพัฒนาขึ้นโดยทีมของ ศาสตราจาย์ Josef Kas ที่มหาวิทยาลัยไลป์ซิก (Leipzig) ในประเทศเยอรมันนีในปี 2005 โดยอาศัย หลักการที่ว่าเซลล์มะเร็งจะมีความยืดหยุ่นสูงเมื่อถูกตรึงด้วยเครื่องตรึงเชิงแสง คณะนักวิจัยยังอ้างว่า เครื่องนี้เป็นเครื่องตรวจหาเซลล์มะเร็งที่มีความละเอียดที่สุดในโลกในปัจจุบัน นอกจากนั้นยังตรวจง่าย มีราคาถูกกว่าแบบเดิม และไม่ต้องใช้การฉีดสีเหมือนเครื่องตรวจแบบดั้งเดิม ปกติแล้วภายในเซลล์ ต่างๆจะมีไซโตสเกลเลอทอน (cytoskeleton) เป็นชีวโพลิเมอร์ซึ่งมีความแข็ง อยู่ในไซโตพลาซึม (cytoplasm) ทำหน้าที่กำหนดรูปร่างของเซลล์ เปรียบเสมือนเป็นโครงกระดูกของเซลล์ เมื่อเซลล์ถูกดัก จะถูกแรงยืดจากเครื่องตรึงเชิงแสง ในเซลล์มะเร็งหรือเซลล์เนื้อร้ายไซโตสเกลเลอทอนจะสูญเสีย คุณสมบัติความแข็งและทำให้เซลล์มีความยืดหยุ่นสูงกว่าเซลล์ปกติ การทำงานของเครื่องตรวจหามะเร็งจะนำตัวอย่างเซลล์จากชิ้นเนื้อผ่านเข้าสู่เซลล์ของไหล ซึ่งมีเครื่องตรึงเชิงแสงดังรูป 2.13(A) เมื่อถูกตรึงอยู่ระหว่างเครื่องตรึงเซลล์มะเร็งจะยืดออกมากกว่าเซลล์ทั่วไปดังในรูปที่ 2.13(B) และ (C) เครื่องตรวจหาเซลล์มะเร็งต้องการตัวอย่างเพียง 50 เซลล์จากชิ้นเนื้องอกในการตรวจหา ขณะที่การตรวจ เซลล์มะเร็งแบบเก่าต้องใช้เซลล์จำนวน 10,000-100,000 เซลล์ จากชิ้นเนื้องอก

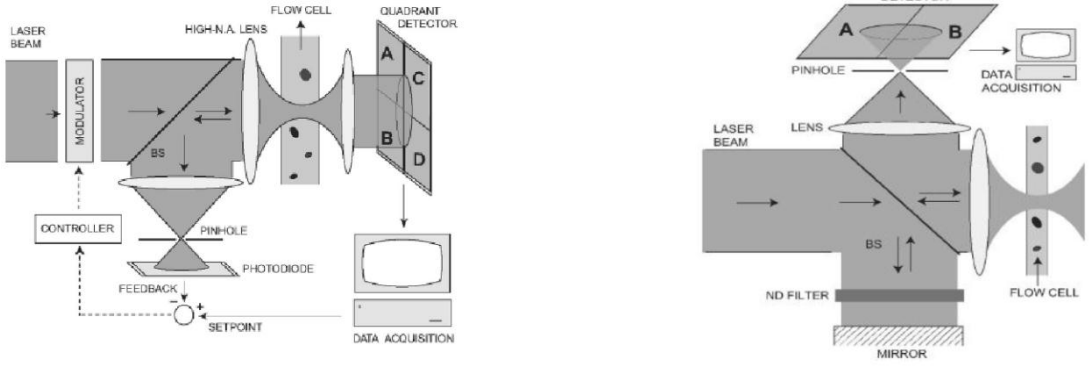


ภาพที่ 2.13 (A) ผังเครื่องตรวจหาเซลล์มะเร็งด้วยเครื่องตรึงเชิงแสง (B)การยืดออกของเซลล์มะเร็งเมื่อถูกตรึง (C) ตัวอย่างภาพถ่ายของเซลล์ปกติและเซลล์ที่เปลี่ยนรูปร่างไป

เครื่องนี้ยังสามารถระบุเซลล์มะเร็งที่อยู่ในสถานะเมทาสติก (metastatic cancer cell) ได้อีก ด้วย เซลล์มะเร็งชนิดนี้มีความยืดหยุ่นสูงมาก จึงสามารถเคลื่อนที่ไปทั่วทั้งร่างกาย เป็นสาเหตุทำให้เกิดเนื้อร้ายในที่อื่นๆตามมา (secondary tumor) ซึ่งก่อนหน้านี้การตรวจหาเนื้องอกนี้ทำได้ยากมากโดยการตรวจหาจากที่อื่นๆในร่างกายเท่านั้น ประโยชน์ของการตรวจหาเนื้อร้ายชนิดเมทาสติกนี้คือ ทำให้ผู้ป่วยโรคมะเร็ง (เช่นมะเร็งเต้านม) แต่ไม่มีเซลล์เนื้อร้ายชนิดนี้ไม่ต้องรับการรักษาแบบเคมีบำบัดทั่วร่างกายซึ่งต้องได้รับความทุกข์ทรมานมาก นอกจากนั้นเทคนิคเดียวกันนี้ยังสามารถคัดแยกสเต็มเซลล์ จากตัวอย่างเลือดมนุษย์เนื่องจากไซโตสเกลเลอทอนในสเต็มเซลล์มีความอ่อนตัวสูงเพราะยังไม่มีการพัฒนารูปร่างไปเป็นแบบใดแบบหนึ่ง มีการนำสเต็มเซลล์ที่ได้จากวิธีนี้ไปรักษาแผลเรื้อรังจากผู้ป่วย เทคนิคนี้จึงเป็นวิทยาการใหม่ในการศึกษาเกี่ยวกับสเต็มเซลล์อีกด้วย

2.9.4 เครื่องตรวจจับเชื้อไวรัสและอนุภาคระดับนาโนเมตร

ในปี 2006 Lukas Novotny จากมหาวิทยาลัยโรเชสเตอร์ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ทำการทดลองใช้คีมจับเชิงแสงในการตรวจหาเชื้อไวรัสและอนุภาคระดับนาโนเมตร 32 โดยใช้สองวิธีดังรูปที่ 2.14 การทดลองทั้งสองวิธีเหมือนกันตรงที่เป็นการโฟกัสคีมจับเชิงแสงในเซลล์ของเหลวซึ่งมีอนุภาคระดับนาโนเมตรไหลผ่านแต่ต่างกันตรงที่วิธีการบันทึกตำแหน่งของอนุภาค ในการทดลองนี้เราไม่ใช้คีมจับเชิงแสงจับอนุภาคระดับนาโนเมตร เพียงแต่ใช้แรงจากคีมจับเชิงแสงในการเร่งและชะลออนุภาคที่ผ่านเข้ามา เมื่ออนุภาคไหลผ่านบริเวณคีมจับเชิงแสง อนุภาคจะถูกแรงเกรเดียนท์กระทำ โดยขณะที่อนุภาคไหลเข้าหาจุดโฟกัส อนุภาคจะถูกเร่งทำให้เคลื่อนที่เร็วขึ้น และหลังจากที่ไหลผ่านจุดโฟกัสอนุภาคจะถูกแรงเกรเดียนท์ดึงกลับเข้าหาจุดโฟกัสทำให้ไหลช้าลง ยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็กเท่าไร แรงจากคีมจับก็จะมีผลน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับแรงของของไหล (Stroke force) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความเร็วน้อย การวิเคราะห์การเคลื่อนที่ทำให้ทราบขนาดของอนุภาคที่ไหลผ่าน



ภาพที่ 2.14 แผนผังแสดงเครื่องตรวจจับเชื้อไวรัสและอนุภาคระดับนาโนเมตรโดย (A) วัดการแทรกสอดของที่ระนาบโฟกัสด้านหลัง (B) วัดในรูปแบบเครื่องวัดการแทรกสอดแบบไมเคิลสัน

การทดลองแรกใช้เครื่องตรวจวัดแสงแบบควอแรนท์ในการระบุตำแหน่งของอนุภาค โดยวัดการแทรกสอดระหว่างแสงเลเซอร์ที่ไปข้างหน้าปกติกับแสงที่กระเจิงจากอนุภาคไปด้านหน้า ตามรูป 2.14(A) ผลการทดลองปรากฏว่าสัญญาณที่ได้ไม่ค่อยดี เนื่องจากแสงเลเซอร์ที่ไปด้านหน้ามีปกติมีความเข้มมาก ส่วนแสงที่กระเจิงจากอนุภาคไปด้านหน้ามีความเข้มน้อยไม่สมดุลกันเพราะอนุภาคมีขนาดเล็ก การทดลองที่สองแก้ปัญหานี้โดยใช้รูปแบบการแทรกสอดแบบไมเคิลสันดังรูปที่ 2.14 (B) การวัดตำแหน่งกระทำโดยใช้เครื่องตรวจวัดแสงแบบสองข้าง (Split Detector) วัดการแทรกสอดระหว่างแสงที่กระเจิงจากอนุภาคไปด้านหลังกับแสงเลเซอร์ที่แยกไปที่แขนอีกด้านหนึ่ง วิธีนี้เราสามารถใส่ฟิลเตอร์ที่แขนที่แยกไปดังกล่าวเพื่อให้ความเข้มเท่ากัน (Background Free) การทดลองครั้งหลังนี้สามารถจับตรวจอนุภาคขนาดต่างๆได้โดยตรวจพบเม็ดแก้วโพลิสไตรีนขนาดเล็กถึง 15 nm และ อนุภาคทองคาขนาด 7 nmได้ นอกจากนี้ยังทดลองตรวจไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด Influenza AX-31 ได้อีกด้วย

2.10 แนวโน้มการพัฒนาคีมจับเชิงแสง

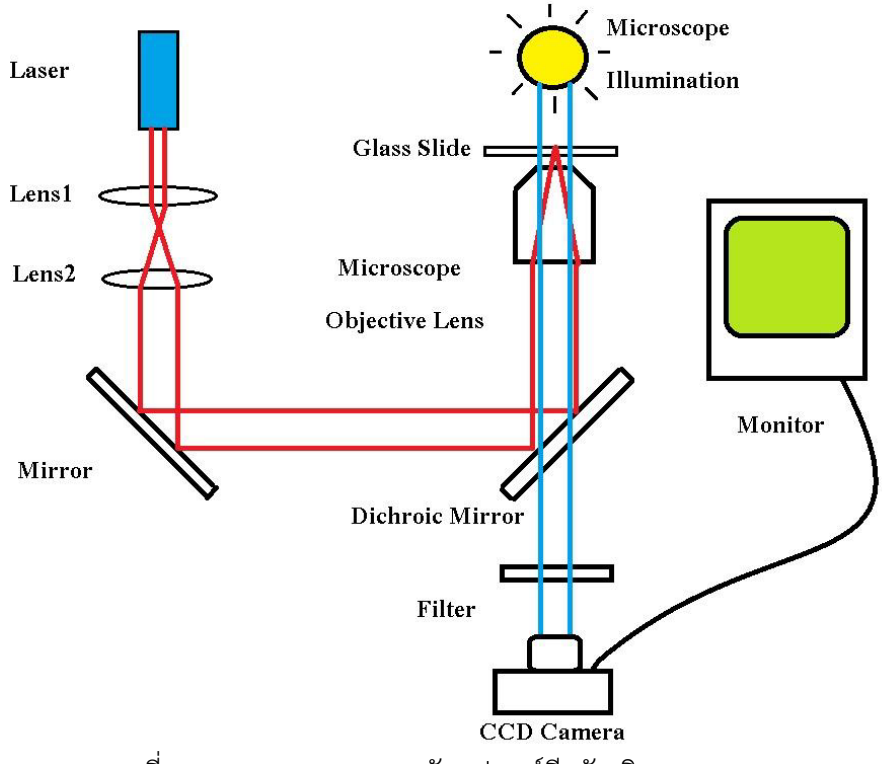
ในอนาคตคาดว่าจะมีการใช้คีมจับเชิงแสงในการศึกษา และในอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาและเคมี เช่นมอเตอร์โมเลกุลและเซลล์สิ่งมีชีวิตต่างๆ การศึกษาสารคอลลอยด์และสารเคมีอื่นๆ จะมีเพิ่มขึ้นซึ่งมีประโยชน์ต่อวงการแพทย์และเทคโนโลยีอื่นๆ ในทาง

อุตสาหกรรมคีมจับเชิงแสงจะมีแนวโน้มจะถูกย่อขนาดให้เล็กลงและมีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยใช้คีมจับแบบโฮโลกราฟิกและแบบใยแก้วนำแสง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำเป็นชิพร่วมกับเซลล์ของไหลเพื่อทำเป็นเครื่องตรวจจับและเครื่องคัดแยกวัตถุต่างๆ นอกจากนี้คีมจับเชิงแสงยังจะมีบทบาทเพิ่มขึ้นในการสร้างโครงสร้างระดับไมโคร หรือนาโนอีกด้วย

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

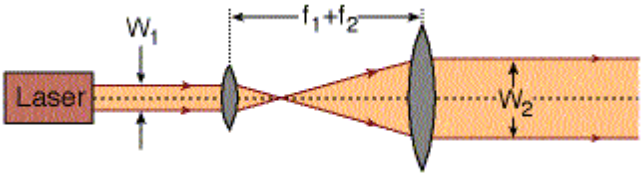
3.1 ออกแบบและวางแผนการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสง

ในการออกแบบการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงนี้ จะแสดงการสร้างและการจัดอุปกรณ์หลักที่จำเป็นต้องใช้ในการออกแบบและการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่าย โดยจะคำนึงถึงอุปกรณ์ที่มีอยู่เป็นหลักเพื่อนำอุปกรณ์ที่มีอยู่นี้มาประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบการทำงานของคีมจับเชิงแสงอย่างง่าย จากรูปที่ 3.1 จะแสดงไดอะแกรมของการออกแบบระบบคีมจับเชิงแสงอย่างง่าย



ภาพที่ 3.1 แสดงแผนภาพการจัดอุปกรณ์คีมจับเชิงแสง

3.2 การออกแบบและการคำนวณระบบ Beam Expander



ภาพที่ 3.2 แสดงการทำงานของ Beam Expander

ในการออกแบบระบบ Beam Expander ของโครงงานพิเศษนี้ จากรูปเลนส์ตัวที่ 1(นับจากซ้ายมือ) จะมีจุดโฟกัสที่ 30 mm เลนส์ตัวที่ 2 จะมีจุดโฟกัสอยู่ที่ 100mm ดังนั้นในการคำนวณระยะห่างจากเลนส์ทั้งสอง คือ ระยะห่างของเลนส์ = (จุดโฟกัสของเลนส์ตัวที่ 1) +(จุดโฟกัสของเลนส์ตัวที่ 2)

= 30 mm + 100 mm

= 130 mm

ดังนั้นเราจะต้องวางเลนส์ทั้งสองตัวให้ห่างจากกันเป็นระยะ 130 มิลลิเมตร จากนั้นจะคำนวณขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของแสงหลังจากที่ถูกขยายแล้ว ซึ่งจากรูปที่ 3.2 คือW2 นั้นเอง ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก

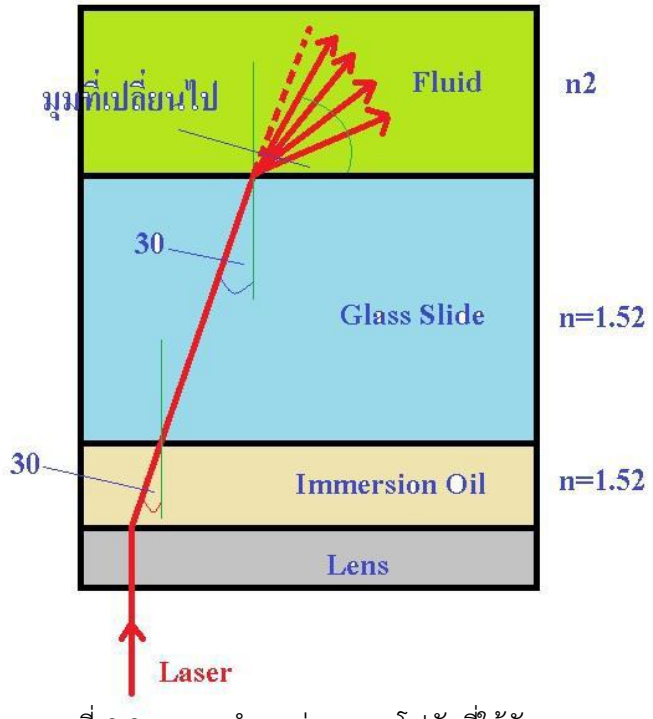
$$W_2 = \left(\frac{f_2}{f_1} \right) W_1$$

(1)

จากการคำนวณตามสมการที่ (3.1)

จะได้เส้นผ่านศูนย์กลางของแสงหลังขยายแล้ว 6.66 มิลลิเมตร

3.3 การหาตำแหน่งของอนุภาคที่จุดโฟกัส



ภาพที่ 3.3 การหาตำแหน่งของจุดโฟกัสที่ใช้จับอนุภาค

3.3.1การคำนวณมุมที่หักเหไปของจุดโฟกัส

จากสมการ

$$n_1 \sin\theta_1 = n_2 \sin\theta_2$$
$$1.52 \sin 30 = n_2 \sin\theta_2$$

ดังนั้น

$$\theta_2 = \sin^{-1}\left(\frac{1.52 \sin 30}{n_2}\right)$$

ซึ่งมุม θ_2 จะเปลี่ยนแปลงตามดัชนีหักเหแสงที่ต่างกันตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ผลที่ได้จากการหักเหของลำแสงเมื่อ $\theta_1 = 30^\circ$ และ $n_1 = 1.52$

n_2	θ_2
1.52	30.000°
1.45	30.610°
1.33(water)	34.849°
1.20	39.296°
1.10	43.702°
1.00(air)	49.464°

3.4 การเตรียมอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 เลเซอร์สีแดง กำลังขนาด 20 มิลลิวัตต์

3.4.2 เลนส์นูนระยะโฟกัส 100 มิลลิเมตร (Convex Lens)

3.4.3 เลนส์นูนระยะโฟกัส 30 มิลลิเมตร (Convex Lens)

3.4.4 กระจกสะท้อนแสง (Mirror)

3.4.5 กระจกไดโครอิค (Dichroic Mirror)

3.4.6 กล้องจุลทรรศน์แบบส่องขึ้น(Inverted Microscope) Olympus CK30/CK40

3.4.7 เลนส์ใกล้วัตถุ (Microscope Objective Lens) กำลังขยายขนาด 10x

3.4.8 เลนส์ใกล้วัตถุ (Microscope Objective Lens) กำลังขยายขนาด 20x

3.4.9 เลนส์ใกล้วัตถุ (Microscope Objective Lens) กำลังขยายขนาด 40x

3.4.10 เลนส์ใกล้วัตถุแบบใช้น้ำมัน (Oil Immersion Objective Lens) กำลังขยายขนาด 100x

3.4.11 กล้องเว็บแคม(Logitech Webcam Camera)หรือ กล้อง CCD

3.4.12 แว่นตัดแสงสีแดงหรือฟิลเตอร์ (Filter)ตัดแสงสีแดง

3.4.13 คอมพิวเตอร์หรืออุปกรณ์มอนิเตอร์สำหรับการเฝ้าดู

3.4.14 อุปกรณ์จับเลนส์ (Lens Mount)

3.4.15 เม็ดบีตโพลีสไตรลีนขนาดไมโครเมตร(Micro Polystyrene Beads)

3.4.16 น้ำมันอีมัลชั่น(Oil Immersion)

3.4.17 แผ่นสไลด์และที่ปิดแผ่นสไลด์(Glass Slide and Glass Cover Slip)

3.4.18 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดต่างๆเช่น ไม้บรรทัด อุปกรณ์เวอร์เนียคาลิปเปอร์(Vernier Caliper)

3.4.19 โปรแกรมที่ใช้สาหรับกล้องเว็บแคม (Logitech Webcam Software)

3.5 วิธีการและขั้นตอนการดำเนินงาน

3.5.1 วางแผนการทำงานและระยะเวลาในการทดลองพร้อมทั้งวางตารางการทำงานของแต่ละช่วงของการทดลองทั้งหมดก่อนการทดลอง

3.5.2 ศึกษาทฤษฎีและหลักการพื้นฐานของระบบคีมจับเชิงแสงและหลักการทางฟิสิกส์ที่ใช้ในการอธิบายการทำงานของคีมจับเชิงแสง พร้อมทั้งศึกษาการทำงานและผลการทดลองของผู้ที่ได้ทำการศึกษามาก่อนหน้านี้เพื่อช่วยในการออกแบบระบบและการวางแผนการทดลอง

3.5.3 ออกแบบระบบคีมจับเชิงแสงอย่างง่ายทั้งระบบ (Simple Optical Tweezers System) ซึ่งในการออกแบบนี้จะต้องขึ้นอยู่กับศักยภาพและความพร้อมของอุปกรณ์ที่มีอยู่เท่านั้น โดยจะยึดถือการทำงานพื้นฐานของระบบคีมจับเชิงและนำอุปกรณ์ที่มีอยู่เท่านั้นมาประยุกต์ใช้งาน โดยจะแสดงอยู่ในรูปที่ 3.1

3.5.4 เริ่มการทดลองการติดตั้งอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงจาก การติดตั้งระบบ Beam Expander System และทำการวัดระยะความสูงของลำแสงและขนาดของลำแสงพร้อมทั้งคำนวณขนาดและระยะที่ถูกต้องของการจัดวางอุปกรณ์ตามที่ได้ออกแบบไว้

3.5.5 จัดลำแสงที่ได้จากระบบ Beam Expander เข้าไปยังกระจกไดโครอิค (Dichroic Mirror)ซึ่งจะต้องวางอยู่ในตำแหน่งและมุมที่ถูกต้องตามการออกแบบการทดลองและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานของอุปกรณ์ พร้อมทั้งจัดให้แสงที่ได้เข้าไปโฟกัสที่เลนส์ใกล้วัตถุพร้อมทั้งสังเกตผลการทดลอง

3.5.6 จัดอุปกรณ์ที่ใช้สาหรับการเฝ้าดูการทำงานโดยการวางฟิลเตอร์หรือแว่นตัดแสงสีแดงและกล้องเว็บแคมไว้ในตำแหน่งที่ถูกต้องจากการออกแบบและจะต้องอยู่ในระยะที่เหมาะสมของการโฟกัสของกล้องด้วย

3.5.7 ต่อกล้องเว็บแคมเข้ากับอุปกรณ์มอนิเตอร์หรือคอมพิวเตอร์และทำการลงโปรแกรมการทำงานของกล้องเพื่อใช้ในการเฝ้าดูและบันทึกการทำงานของระบบที่สร้างขึ้น

3.5.8 เมื่ออุปกรณ์ทุกอย่างอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมแล้ว ทำการตรวจสอบอุปกรณ์และแก้ไขในส่วนที่ยังไม่ถูกต้องทั้งระยะและตำแหน่งของอุปกรณ์ที่ได้จัดทำเอาไว้ต่างๆ

3.5.9 ทำการทดลองอุปกรณ์โดยการจับอนุภาคของเม็ดบีดที่เตรียมไว้และทำการการบันทึกผลของการจับโดยการบันทึกวิดีโอและทำการปรับอุปกรณ์และแก้ไขที่ตำแหน่งต่างๆหากอุปกรณ์ยังไม่สามารถที่จะจับได้จนกว่าจะสามารถปรับให้อุปกรณ์ทำการจับอนุภาคได้

3.5.10 สรุปผลการทำงานและการทดลองของอุปกรณ์

3.5.11 เสนอแนะวิธีการทดลองและการปรับปรุงอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น พร้อมทั้งออกแบบระบบที่ดีขึ้นโดยจะยึดจากระบบการทำงานที่ได้ทำการทดลองไปพร้อมทั้งเสนอแนะแนวทางแก้ไขปัญหาและวิธีการพัฒนาของอุปกรณ์ที่จะสร้างต่อไปในอนาคต

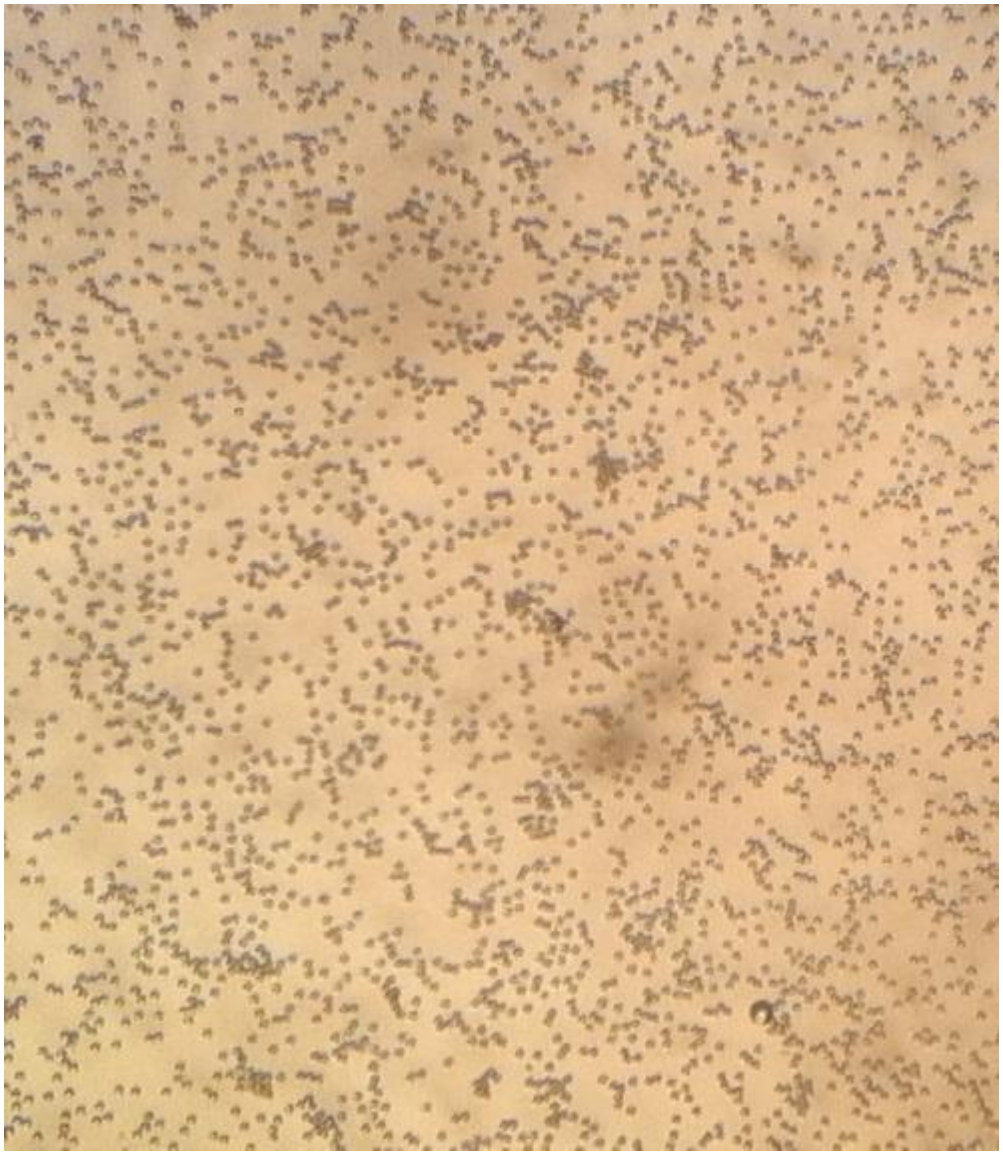
บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ลักษณะของสารตัวอย่างโพลีสไตรลีน ที่ใช้ Inverted Microscope เลนส์ขนาดต่างๆดังนี้

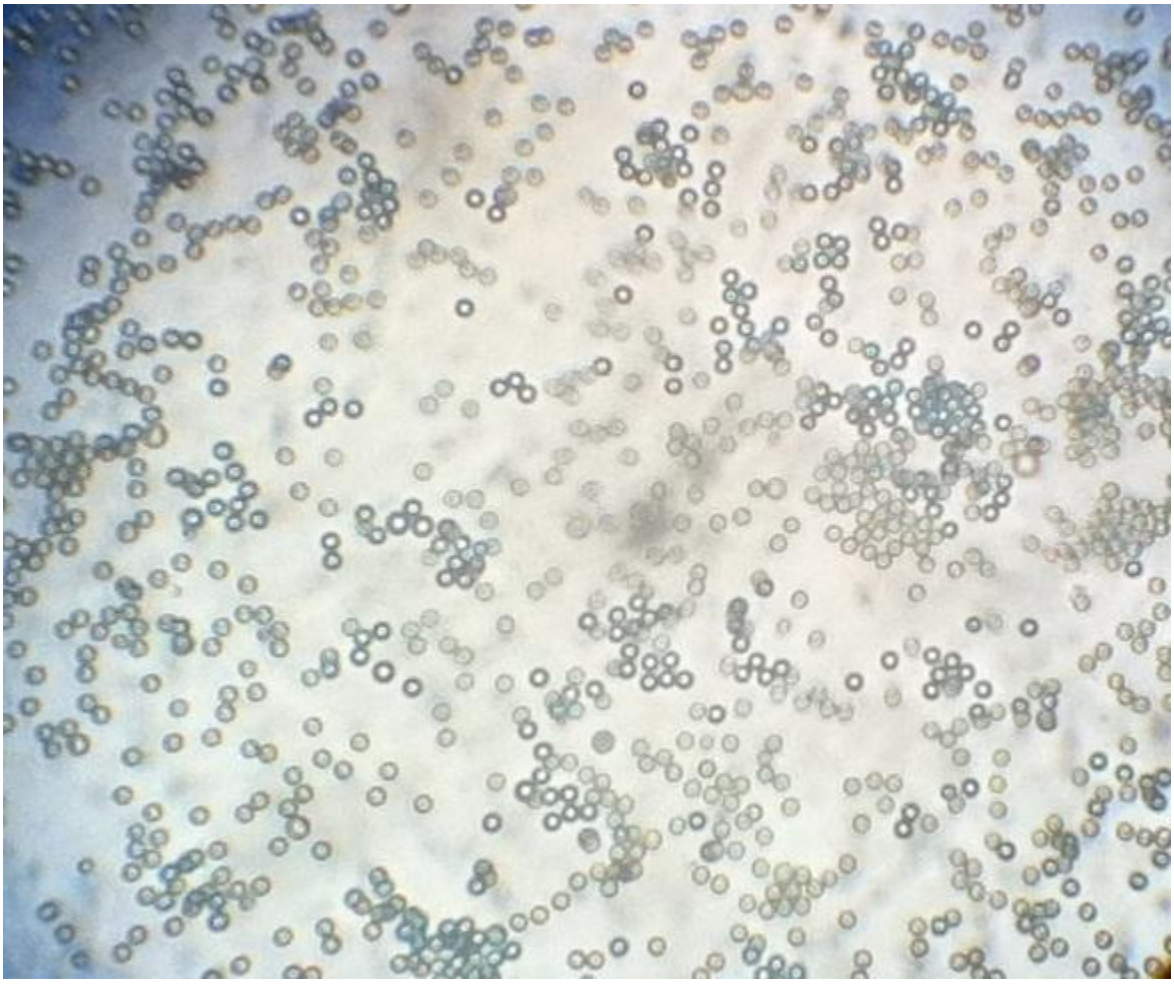
ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีนที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 10X

4.1.1 Inverted Microscope เลนส์กำลังขยายขนาด 10X

จะแสดงลักษณะการกระจายตัวของเม็ดบีดโพลีสไตรลีน (Micro Polystyrene Beads) อย่างคร่าวๆ ซึ่งในการส่องด้วยกำลังขยายนี้ เราจะทำการทดลองเพื่อสังเกตลักษณะการกระจายตัวอย่างหยาบๆของสารตัวอย่าง ที่นำมาทำการทดลองและเพื่อศึกษาลักษณะภายนอกรวมทั้งการโฟกัสของตัวอย่างอุปกรณ์และเลนส์ที่ใช้ว่าสามารถใช้งานได้



ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีน ที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 20X



4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 20X

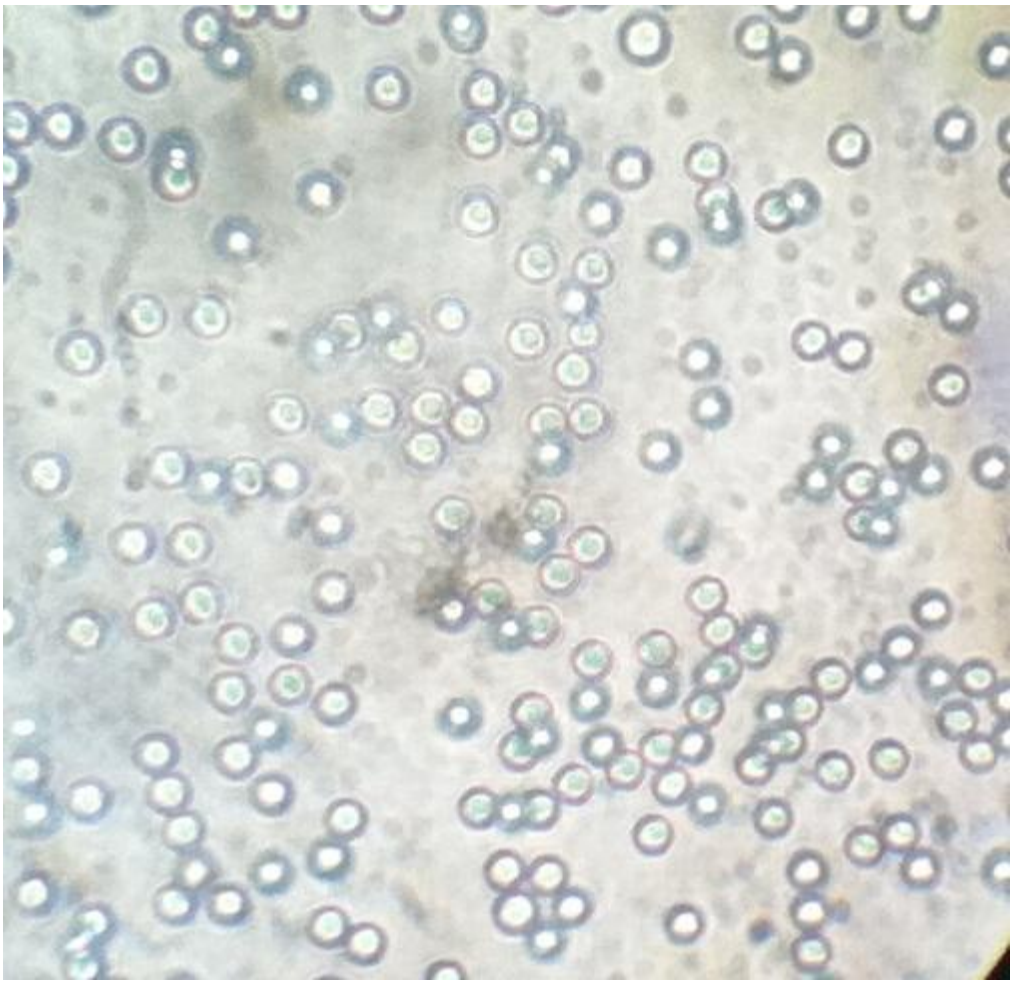
จะทำการส่องหลังจากที่ได้ลักษณะการกระจายตัวแล้วจะมองเห็นเม็ดบีดที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และสังเกตเห็นอนุภาคต่างๆได้ดีกว่ากำลังขยายคูณ 10 แต่ก็ยังไม่สามารถใช้ในการจับอนุภาคได้ แต่ใช้สำหรับขยายเพื่อดูรายละเอียด ของการกระจายตัวของอนุภาคที่มากขึ้นกว่าเดิมเพียงแค่นั้น

ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีน ที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 40X

4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 40X

จะส่องเห็นลักษณะของอนุภาคแต่ละเม็ดได้ค่อนข้างดีมาก ขนาดใหญ่ขึ้นและชัดเจนมากกว่า 10x และ 20x แต่ก็ยังไม่สามารถที่จะใช้กำลังขยาย40X นี้ในการจับอนุภาคได้ เนื่องจากจุด

โฟกัสที่มีขนาดเล็กมาก และลักษณะของอนุภาคที่โดนจับก็ไม่สามารถแยกแยะจากอนุภาคที่อยู่รอบข้างได้ชัดเจนมากนัก รวมไปถึงขนาดของเม็ดบีดที่เล็กเกินกว่าที่จะสามารถบอกได้ว่าอนุภาคไหนที่ถูกจับอยู่ แต่ก็สามารถใช้ในการคาดเท่าได้แล้วว่าลักษณะการโฟกัสนั้นมีผลต่ออนุภาคมากน้อยเพียงใด โดยดูปฏิกิริยาตอบสนองของอนุภาค ที่อยู่รอบๆลำแสงโฟกัสโดยรวม

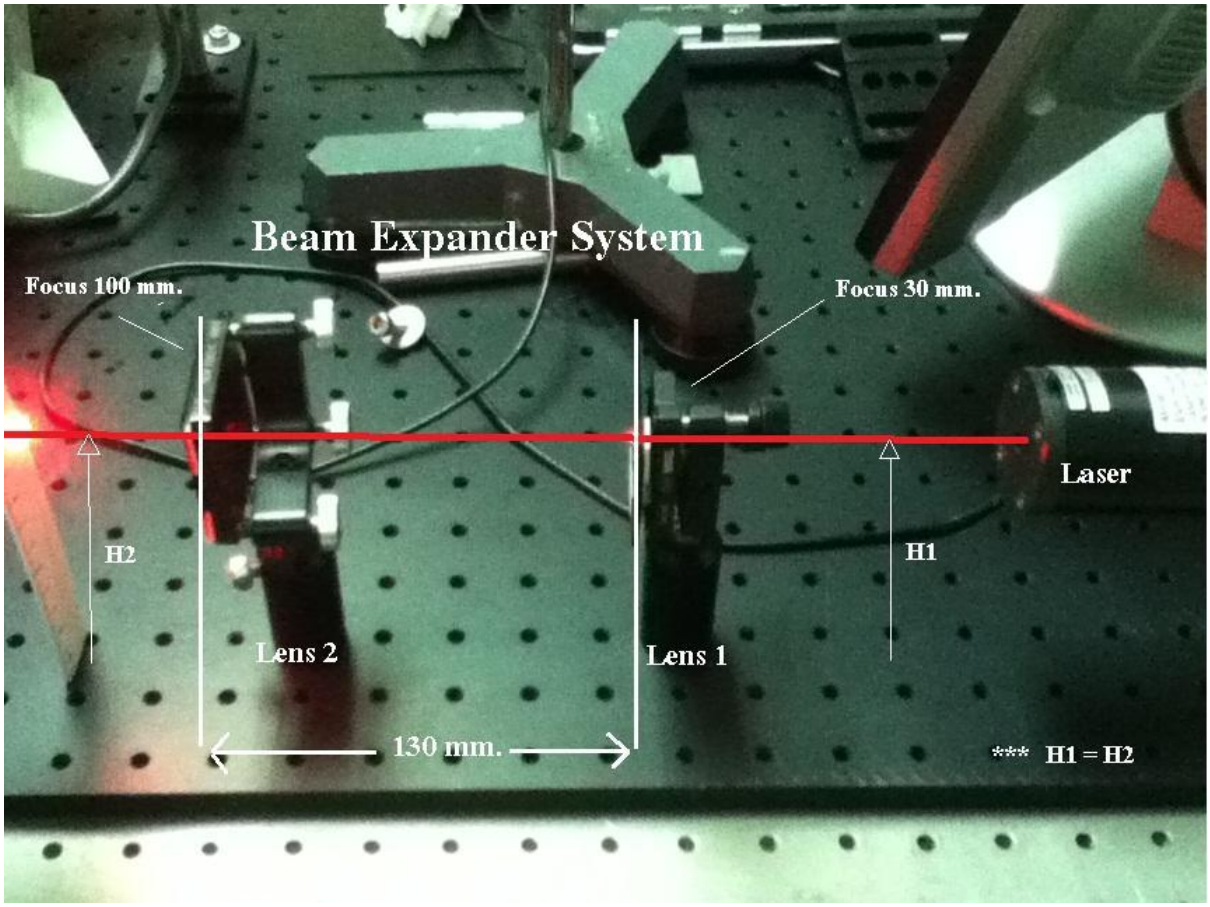


ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะของเม็ดโพลีสไตรลีน ที่ส่องด้วย Inverted Microscope เลนส์ขนาด 100X

4.1.2 Inverted Microscope เลนส์ขนาด 100X

ผลที่ได้จากการทดลองคือ จากกำลังขยายนี้ทำให้เราสามารถที่จะมองเห็นอนุภาคแต่ละตัวได้อย่างชัดเจนมาก สามารถระบุตำแหน่ง และลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคได้ว่าเป็นไปในลักษณะใด รวมไปถึงลักษณะจุดโฟกัสที่เกิดขึ้น และกำลังของแสงโฟกัสที่มีมากพอที่จะใช้ในการจับอนุภาค จึงเป็นเหตุผลที่สำคัญที่เราใช้กำลังขยายขนาด 100X ในการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงเพื่อใช้ในการจับอนุภาคเหล่านี้

4.2 การจัดอุปกรณ์ Two Lens system เพื่อสร้างระบบ Beam Expander



ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะการจัดอุปกรณ์ Beam Expander

ผลการทดลองพบว่า อุปกรณ์สามารถใช้งานได้ดีนั้น จะต้องคำนึงถึงความละเอียด ในการวางตำแหน่งของอุปกรณ์ที่ออกแบบไว้ จากผลที่ได้จากการคำนวณ ซึ่งหากอุปกรณ์อยู่ในระยะที่ได้คำนวณเอาไว้อย่างถูกต้องจะทำให้ได้ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายออกมาจากระบบ มีความคงที่สมบูรณ์ และมีความคมชัดของลำแสงสูงมาก จากการคำนวณระยะของอุปกรณ์จากเลนส์ทั้งสองเลนส์นั้น ซึ่งเลนส์ตัวที่ 1 มีระยะโฟกัสที่ 30 มิลลิเมตรและเลนส์ตัวที่ 2 มีระยะโฟกัสที่ 100 มิลลิเมตรนั้น พบว่า ระยะห่างควรจะอยู่ห่างกัน 130 มิลลิเมตร ซึ่งแสงที่ได้ควรมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 6.66 มิลลิเมตร และจากการวัดขนาดของแสงที่ถูกขยายแล้วพบว่าอุปกรณ์ที่จัดขึ้นนั้น สามารถขยาย

แสงได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 6.65 มิลลิเมตร ซึ่งอาจไม่ตรงตามการคำนวณ 100 เปอร์เซ็นต์โดยอาจจะมาจาก ปัญหาที่พบในการจัดอุปกรณ์อยู่ที่การปรับระนาบอุปกรณ์ของเลเซอร์นั้น จะต้องเท่ากันทั้งก่อนที่แสงจะเข้าอุปกรณ์และหลังจากที่แสงผ่านอุปกรณ์ Beam Expander ออกมา และถ้าจะให้มีความเหมาะสมที่สุด แสงเลเซอร์ที่ผ่านเลนส์ทั้งสองนั้น ควรจะอยู่ตรงกลางของเลนส์ได้อย่างพอดี เพื่อลดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากเลเซอร์ตกไปยังขอบของเลนส์ และระนาบที่สม่ำเสมอของเลเซอร์หลังผ่านอุปกรณ์ออกมาแล้ว ส่วนปัญหาที่ทำให้เกิดความบกพร่องนี้ อาจจะมาจาก ระยะของเลนส์ที่คำนวณไว้ที่ 130 มิลลิเมตร อาจจะไม่อยู่ที่ 130 มิลลิเมตรพอดี จึงทำให้ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายนั้น มีขนาดเล็กไปหรืออาจใหญ่ไปกว่าการคำนวณที่ควรจะเป็น

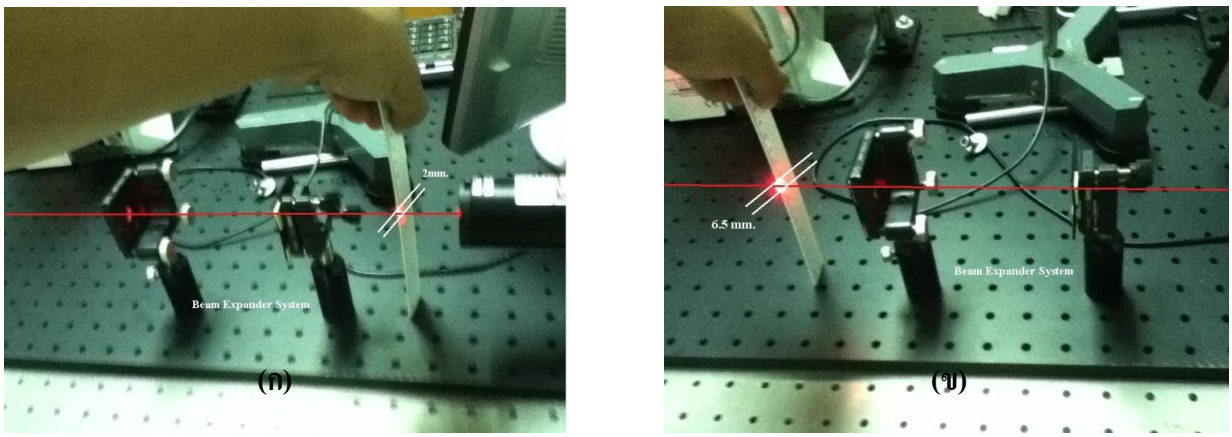
4.2.1การคำนวณระยะห่างระหว่างเลนส์

จากรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าเลนส์ 1 มีระยะโฟกัสที่ 30 มิลลิเมตร และเลนส์ 2 มีระยะโฟกัสที่ 100มิลลิเมตร จากระยะห่างระหว่างเลนส์ = ระยะโฟกัสของเลนส์ 1 + ระยะโฟกัสของเลนส์ 2

= 30 มิลลิเมตร + 100 มิลลิเมตร

= 130 มิลลิเมตร

4.2.2ผลการทดลองที่ได้จากการจัดอุปกรณ์ Beam expander



ภาพที่ 4.6 ขนาดของแสงเลเซอร์ก่อน(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

ดังนั้น จากสมการจะได้ว่า W_2 = (100มิลลิเมตร/30มิลลิเมตร) * (2มิลลิเมตร)

= 6.66 มิลลิเมตร

จากผลการทดลองแสดงโดยรูปที่ 4.6

ขนาดของลำแสงที่ถูกขยายจะเท่ากับ 6.65 มิลลิเมตร

คำนวณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน

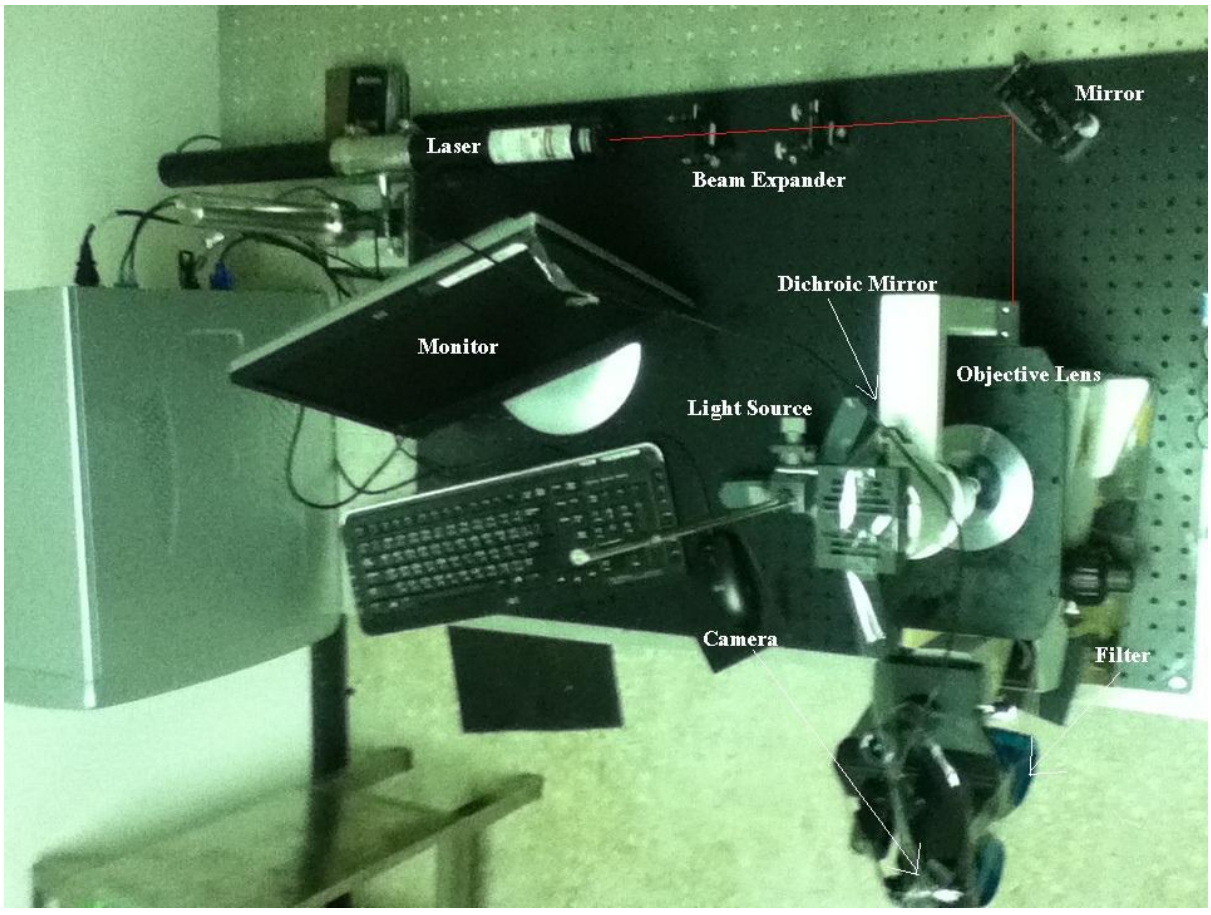
= (ค่าจากทฤษฎี-ค่าจากการทดลอง)/ค่าจากทฤษฎี * 100

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

= 0.1501 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการวัดของอุปกรณ์จะเท่ากับ 0.1501

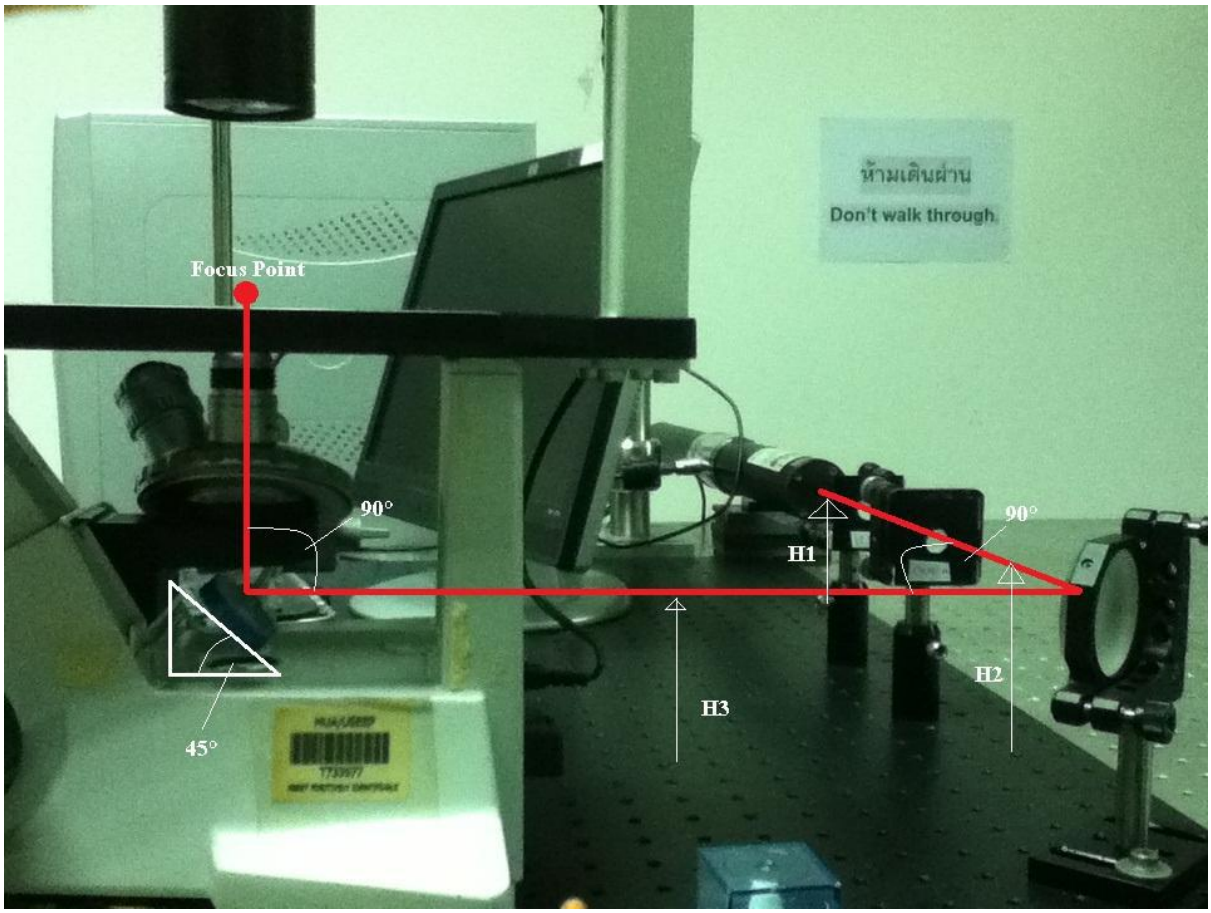
4.3 ระบบ Optical Tweezers System



ภาพที่4.7 แสดงอุปกรณ์ Optical Tweezers ที่จัดทำขึ้น

จากการทดลองการจัดอุปกรณ์ตามที่ได้ออกแบบไว้จากรูปที่ 3.1 นั้นผลที่ได้เป็นไปตามรูปที่ 4.7 ซึ่งเป็นการวางตำแน่งอุปกรณ์ต่างๆโดยประยุกต์เข้ากับกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องขึ้นซึ่งประกอบไปด้วยระบบต่างๆที่ประกอบขึ้นจากที่ได้ออกแบบไว้ ทั้งระบบ Beam Expander อุปกรณ์ที่ใช้เฝ้าดูระบบกล้องจุลทรรศน์ที่ทำการประยุกต์แล้ว และอื่นๆ ซึ่งประกอบขึ้นด้วยกันเป็นอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่าย

4.3.1 การจัดแนวของแสงและวิเคราะห์ปัญหาที่พบจากการจัดอุปกรณ์



ภาพที่ 4.8 ลักษณะการวางตำแหน่งและการจัดมุมของอุปกรณ์ต่างๆ

จากการทดลองการจัดตำแหน่งและการวางอุปกรณ์พบว่า เริ่มต้นอุปกรณ์จากการที่เมื่อแสงผ่านออกมาจากอุปกรณ์ Beam Expander ออกมาแล้วซึ่งจากรูปที่ 4.8 จะเห็นว่าความสูงของลาแสง H1 , H2 ที่ออกมาจากอุปกรณ์ Beam Expander จะต้องเท่ากัน และเมื่อแสงผ่านมาที่กระจกสะท้อนแสงออกไปนั้น ความสูง H3 ก็จะต้องเท่ากับความสูงของลำแสง H1 และ H2 ด้วย การปรับระดับให้เท่ากันนี้เพื่อไม่ทำให้แสงถูกงัดขึ้นหรือถูกกดลงนั้นเอง คือลำแสงที่ผ่านออกมาจะต้องอยู่ในระนาบ 180 องศาพอดี

ซึ่งหากไม่ได้180องศาพอดีนั้น จะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนต่ออุปกรณ์ชิ้นต่อไปด้วย และในขณะเดียวกัน กระจกสะท้อนแสงก็จะต้องทำมุม 45 องศากับแสงที่ออกมาจาก Beam Expander เพื่อให้แสงที่เข้ามายัง กระจกสะท้อนแสงและแสงที่ออกจากการะจกสะท้อนแสงทำมุม 90 องศากันพอดี ทั้งนี้ก็เพื่อลดความผิดพลาดในการจัดอุปกรณ์ของระบบต่อไปนั้นก็คือ อุปกณ์ Dichroic Mirror

เมื่อเราได้ลำแสงที่ ทั้งระยะของความสูงและระยะของมุมที่ใช้ได้แล้ว ลำแสงจะถูกส่งไปที่ Dichroic Mirror ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากที่สุดชิ้นหนึ่งเลยทีเดียว เมื่อแสงผ่านเข้ามายัง Dichroic Mirror การจัดอุปกรณ์นี้คือ เริ่มจากอุปกรณ์จะต้องทำมุม 45 องศากับแสงที่เข้ามา 180 องศาซึ่งจะทำให้อุปกรณ์นี้สะท้อนแสงขึ้นไป 90 องศาพอดี แต่ลำแสงจะต้องปรับให้อยู่ตรงกลางเลนส์มากที่สุด และในขณะเดียวกัน ระยะของความสูงและระยะของตำแหน่งของอุปกรณ์ Dichroic Mirror จะต้องอยู่ตรงกลางระหว่างกล้องที่ต่อกับเลนส์ใกล้ตาที่อยู่ด้านล่างและอุปกณ์ Objective Lens ที่อยู่ด้านบนพอดี ซึ่งอุปกรณ์ 2 ตัวนี้ไม่สามารถปรับให้เคลื่อนที่ ได้เนื่องมาจากถูกติดตั้งเข้ากับอุปกรณ์ของกล้องจุลทรรศน์แบบส่องขึ้นชนิดนี้อยู่โดยปกติของอุปกรณ์อยู่แล้ว และนี้คือปัญหาที่สำคัญที่สุดของการจัดอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงเลยก็ว่าได้ เนื่องจากว่าการจัดอุปกรณ์นั้น Dichroic Mirror ทั้งตำแหน่งและระยะจะต้องอยู่ตรงกลางที่สุด และพร้อมกับทำมุม 45 องศา และจะต้องไม่เบนเข้าหรือออกด้วย เนื่องจากว่าหากแสงที่ผ่านอุปกรณ์ออกไปนั้น ก็จะไม่ทำให้เกิดการโฟกัสที่อุปกรณ์ Objective lens ได้ ซึ่งหมายความว่าจะทำให้เราไม่สามารถจับอนุภาคได้ด้วยเช่นกัน นี้จึงเป็นปัญหาใหญ่และสำคัญมากในการสร้างคีมจับเชิงแสง

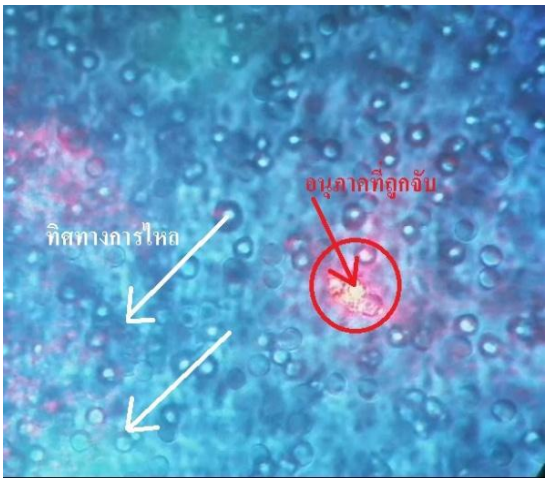
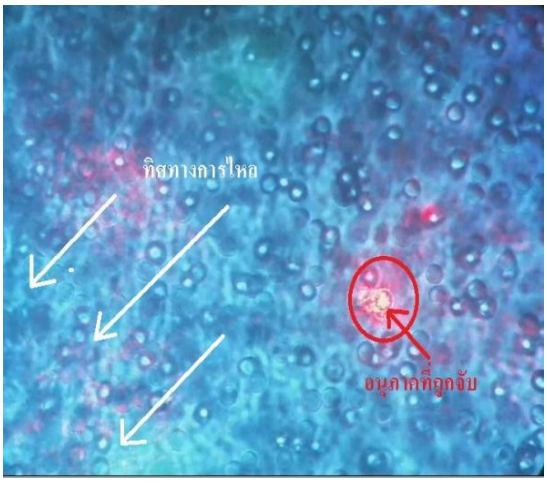
และหลังจากที่เราสามารถที่จะทำให้อุปกรณ์ทุกอย่าง อยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้องแม่นยำ และสามารถทำให้แสงโฟกัสได้แล้วนั้น ก็จะเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการดูการทำงานของคีมจับเชิงแสงนั้นก็คือ อุปกรณ์มอนิเตอร์ เราจะสามารถมองดูการทำงานของคีมจับเชิงแสงโดยการที่มองจากกล้องที่ต่อกับเลนส์ใกล้ตา ซึ่งจะต้องใช้ฟิลเตอร์ (filter) ในการกรองแสงก่อนเข้ากล้องเพื่อให้สามารถมองเห็นลักษณะของสารตัวอย่างที่ต้องการจับและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นหากไม่มีตัวกรองแสง เราก็ไม่สามารถมองเห็นอนุภาคและลักษณะการโฟกัสของลำแสงได้เลย ซึ่งจากการทดลองอย่างง่ายนี้ผู้ทดลองได้ใช้กล้องเว็บแคม (Web Cam) ปกติโดยนำตัวกรองแสงสีแดงที่มีวางไว้ด้านหน้าของกล้อง แล้วต่อเข้ากับจอคอมพิวเตอร์โดยเราจะทำการมองผ่านจอมอนิเตอร์ของคอมพิวเตอร์ แทนการมองโดยตรงผ่านเลนส์ใกล้ตาเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดลองได้ ซึ่งจากการทดลองใช้อุปกรณ์อย่างง่ายที่กล่าวไปนี้พบว่า อุปกรณ์ค่อนข้างมีประสิทธิภาพดีในการเฝ้าดูและสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้จริงเลยทีเดียว

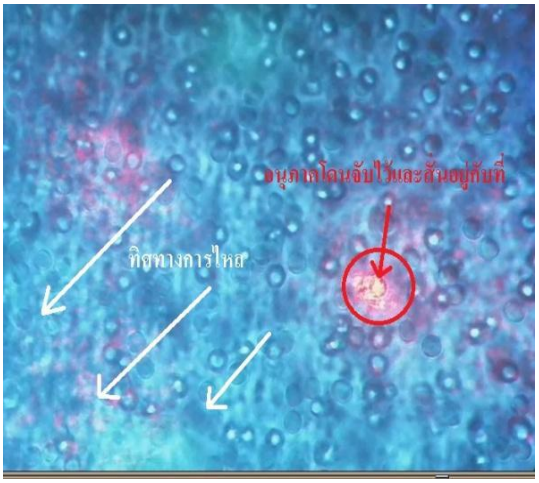
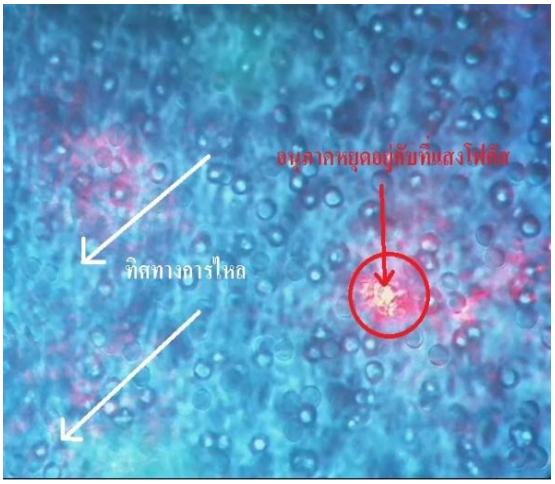
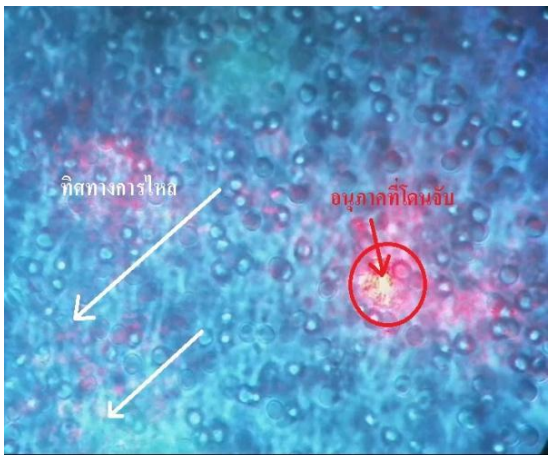
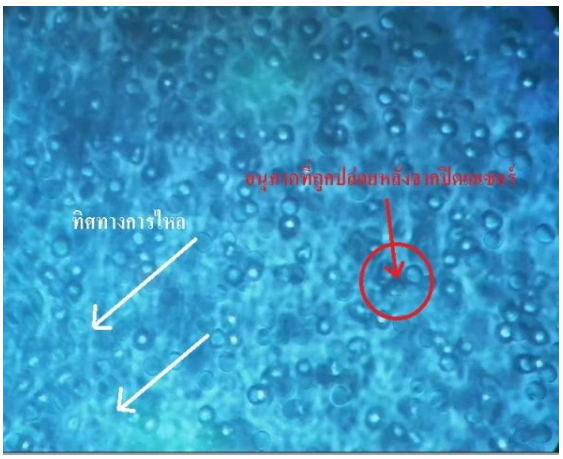
ต่อเมื่อเราจัดอุปกรณ์เสร็จแล้ว เราต้องการทำการทดลองในการจับอนุภาคจริงๆนั้นเราจะต้องใช้ Objective lens ที่มีกาลังขยาย100Xขึ้นไป ในการจับอนุภาคเนื่องจากมี

กำลังที่สูงพอและสามารถที่จะเห็นอนุภาคที่จับ รวมทั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไดอย่างชัดเจน แต่เนื่องจากการทดลองนี้ต้องประยุกต์เข้ากับกล้องจุลทรรศน์แบบส่องขึ้น ซึ่งโดยปกติแล้วกำลังขยายของเลนส์ที่ใช้กับกล้องชนิดนี้ก็ไม้ถึงขนาด 100X ดังนั้น Objective Lens ขนาด 100X จึงมีความยาวของตัวอุปกรณ์มากกกว่าจึงควรระวังในการติดตั้งและการทดลองเนื่องจากตัวเลนส์ที่มีความยาวกว่าอาจจะขูดเข้ากับอุปกรณ์ด้านบนได้ และอีกอย่างหนึ่งก็คือเมื่อเราทำการติดตั้ง Objective Lens เลนส์แล้ว สารตัวอย่างที่ต้องการดูหรือจับโดยเลนส์ขนาด 100X จะต้องอยู่บนแผ่นสไลด์ที่มีความหนาไม่เกิน 1 มิลลิเมตรเท่านั้นเนื่องจากเลนส์ใกล้วัตถุขนาด 100X นี้จะต้องจุ่มน้ำมันก่อนและจะต้องอยู่ใกล้กับสารตัวอย่างที่นำมาทดลองมากๆนั้นเนื่องจากระยะทำงานของตัวอุปกรณ์เองที่สั้นมากๆซึ่งจากการศึกษาทดลองนั้นพบว่ากลาสไสลด์แบบปกติไม่สามารถใช้งานได้เนื่องจากมีความหนามากเกินไป และปัญหาที่พบเมื่อเราทำการปล่อยเลเซอร์และทำการทดลองไปสักระยะหนึ่งจะสังเกตเห็นว่าสารตัวอย่างของเรา ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในของเหลวนั้นจะเริ่มแห้งและจะแห้งลงเร็วมากในที่สุดของเหลวก็จะระเหยไปหมด เหลือแค่อนุภาคที่จับตัวกันเป็นก้อนซึ่งไม่สามารถจะจับหรือทำการทดลองต่อไปได้อีก เพราะฉะนั้นในการทำการทดลองควรจะมีตัวเก็บสารตัวอย่างหรืออุปกรณ์ Container ที่ดีที่ใช้ในการกักเก็บตัวอย่างทดลอง ซึ่งคุณสมบัติคือต้องสามารถกับเก็บของเหลวได้และมีความบางมากพอเพื่อใช้ในการทดลองนั้น หากไม่เช่นนั้นเมื่อเราทำการทดลองไปแค่สักระยะหนึ่งของเหลวที่เป็นตัวแปรหนึ่งในการทดลองก็จะเปลี่ยนสภาพไป และลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคในของเหลวก็จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วยทำให้ยากต่อการทดลองและการวัดผลใดๆ

4.4 การจับอนุภาค

ตารางที่ 4.1 ผลการทดลองแสดงภาพลักษณะอนุภาคที่ถูกจับ ณ เวลาต่างๆ

	
1.) วินาทีที่ 0 อนุภาคที่เคลื่อนที่ในของไหลโดนจับ	2.) วินาทีที่ 3 อนุภาคที่อยู่ใกล้จุดโฟกัสถูกจับไว้ใน

เมื่อเริ่มเปิดเลเซอร์	ลำแสง
	
3.) วินาทีที่ 5 อนุภาคที่ถูกจับเอาไว้จะมีลักษณะสั่นอยู่ภายในจุดโฟกัส	4.) วินาทีที่ 7 อนุภาคยังคงถูกจับอยู่ในจุดโฟกัสส่วนอนุภาคอื่นๆ ก็เคลื่อนที่ผ่านไป
	
5.) วินาทีที่ 9 อนุภาคที่อยู่ใกล้สุดบางตัวก็ถูกดึงดูดเข้าหาจุดโฟกัส	6.) วินาทีที่ 11 เมื่อปิดแสงเลเซอร์จะเห็นอนุภาคที่ตำแหน่งของจุดโฟกัส

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.1 นั้นพบว่า เมื่อเราทำการจัดอุปกรณ์และสามารถสร้างลำแสงโฟกัสได้แล้วนั้น เมื่อเราปล่อยแสงเข้าไปในของเหลวที่มีอนุภาคเคลื่อนที่อยู่ เริ่มต้นจากรูปที่ 1 ใน

ตารางที่ 1 จะพบว่าอนุภาคอย่างน้อยหนึ่งตัวจะถูกจับเอาไว้ในลำแสงโฟกัสแต่เนื่องจากลeแสงโฟกัสนั้นมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคที่จับได้เล็กน้อย จึงส่งผลต่ออนุภาคที่อยู่ใกล้ที่สุดรอบข้าง ของอนุภาคที่ถูกจับ ประมาณสองถึงสามอนุภาคด้วย โดยถูกอิทธิพลของแรงที่เกิดจากแสงนี้ ดึงดูดเข้าหาจุดโฟกัสแต่ก็ไม่มากพอที่จะจับเอาไว้ให้อยู่กับที่ได้ จากการสังเกตต่อมาในรูปที่ 2 อนุภาคที่อยู่ภายในลำแสงโฟกัสจะหยุดและมีลักษณะสั่นไปมา อยู่ภายในลำแสงโฟกัส แต่ไม่ได้เคลื่อนที่ไปตามลักษณะการเคลื่อนที่ของของเหลวที่อนุภาคตัวอื่นบรรจุอยู่ ซึ่งจะเห็นได้เนื่องจากอนุภาคที่ไม่ได้อยู่ในลำโฟกัสนั้นจะเคลื่อนที่ไปเรื่อยๆ ตามกระแสเคลื่อนที่ของของเหลวที่บรรจุ แต่อนุภาคที่ถูกจับได้ในลำโฟกัสนั้นจะอยู่กับที่ เช่นเดียวกับรูปที่ 3 4 และ 5 นั้นเอง แต่จะพบว่าเมื่ออนุภาคที่เคลื่อนที่เข้ามาใกล้กับลำแสงโฟกัสก็จะโดนหน่วงโดยลำแสงให้เคลื่อนที่ช้าลงมากกว่าอนุภาคที่ไม่ได้เข้าใกล้ลำแสงเลย นั้นแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าแรงเนื่องจากแสงนั้น มีผลต่ออนุภาคอย่างเห็นได้ชัดตามหลักการและทฤษฎีที่ได้ทาการศึกษามา และจากรูปที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ 6 แล้ว จะสังเกตได้ว่า จากรูปที่ 5 นั้นยังคงมีเลเซอร์จับอนุภาคอยู่แต่เมื่อเราทำการปิดเลเซอร์ตามรูปที่ 6 แล้วจะเห็นอนุภาคที่เคยโดนจับอยู่เคลื่อนที่ออกไปจากตำแหน่งที่เคยอยู่เดิม นั้นแสงให้เห็นว่า อุปกรณ์ที่จัดทำขึ้นรวมถึงวิธีการที่ได้ใช้ในการทดลองจับอนุภาคของอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่ายนี้ มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุภาคได้ตามทฤษฎีที่วางไว้นั้นเอง

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

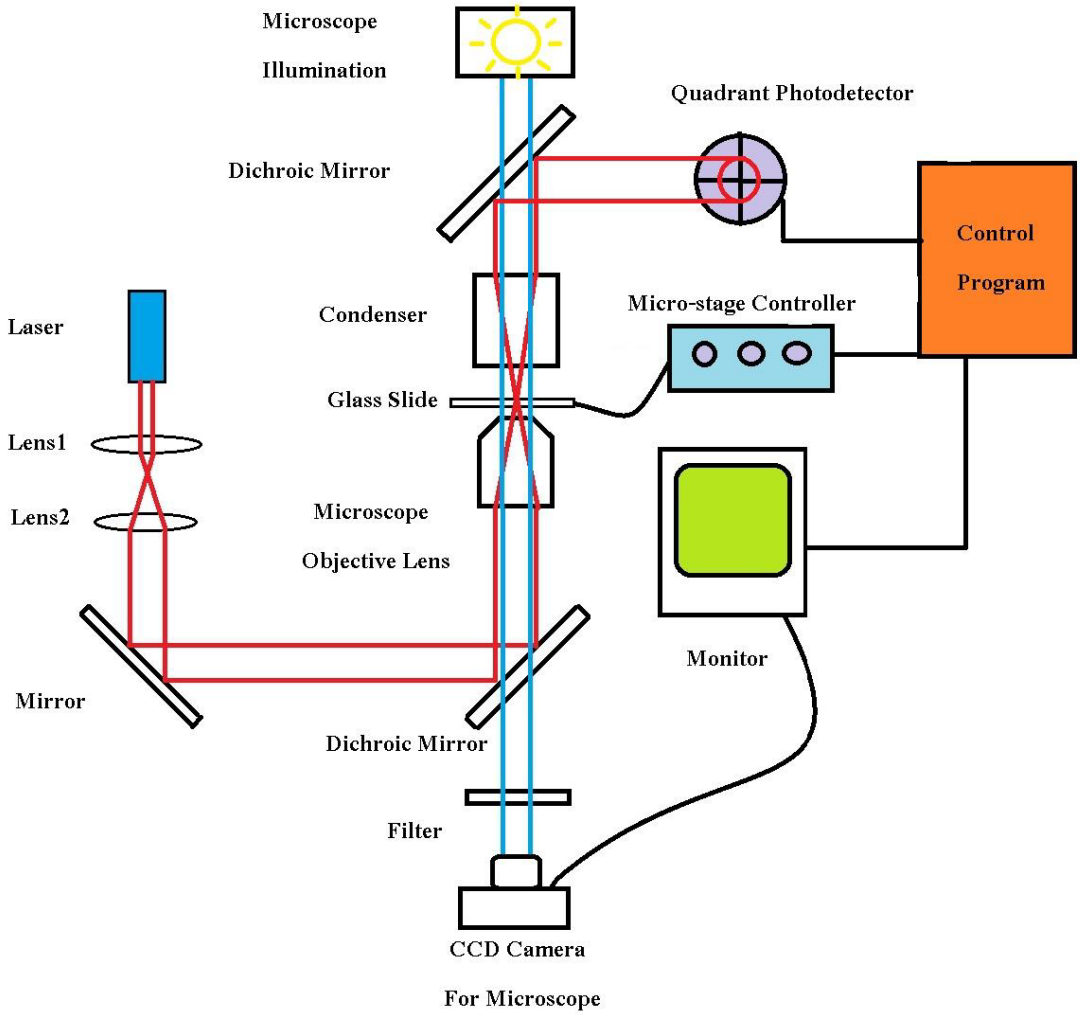
5.1สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองและผลการทดลองในการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงอย่างง่ายเพื่อทำการจับอนุภาคขนาดเล็กในระดับไมครอนนี้พบว่า เนื่องจากเป็นการศึกษา และทดลองสร้างอุปกรณ์จากอุปกรณ์อย่างง่ายและประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ทางแสงต่างๆที่มีและผู้ทดลองสามารถหาได้นั้น พบว่าเกิดปัญหามากมายในการสร้างและการจัดอุปกรณ์ทั้งปัญหาที่เกิดจากการวัด การเฝ้าดู และการตรวจจับตำแหน่งหรือการปรับเพื่อประยุกต์ใช้งานต่างๆ ซึ่งเป็นผลให้ต้องมีการปรับปรุงอุปกรณ์และวิธีการอย่างมาก แต่ผลที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ทั้งวิธีการออกแบบระบบที่ได้ทาการ

ออกแบบไว้และวิธีการจัดอุปกรณ์รวมไปถึงอุปกรณ์อย่างง่ายที่ผู้ทดลองนามาประยุกต์ใช้ในการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงนี้รวมถึงวิธีการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นนั้นประสบความสำเร็จในการจับอนุภาคและถือว่าเป็นการเริ่มต้นที่ดีในการสร้างอุปกรณ์คีมจับเชิงแสงที่มีประสิทธิภาพในระดับสูงต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะในการสร้างอุปกรณ์ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เนื่องจากการทดลองที่ผ่านมานี้อยู่ในขั้นเริ่มต้นของการศึกษาทดลองโดยเริ่มจากทฤษฎีและนำไปสู่การสร้างอุปกรณ์จริงในระยะเริ่มแรกนั้นก็คือ พิสูจน์ให้เห็นได้แล้วว่าจากทฤษฎีที่ได้ศึกษามานั้นสามารถให้วิธีการต่างๆในการจับอนุภาคได้ด้วยแสง นั้นคือเป้าหมายหลักของโครงงานนี้ และเนื่องจากประสบความสำเร็จในการเริ่มต้นจากการจับอนุภาคได้แล้วนั้น จึงนำไปสู่การวางแผนในการสร้างอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพในการวัดผลและตรวจสอบรวมทั้งนำไปสู่การประยุกต์ใช้งานได้จริงทั้งในระบบอุตสาหกรรมและการประยุกต์ใช้งานเพื่อแก้ปัญหาในด้านต่างๆ หรือนำไปสู่การศึกษาค้นคว้าใหม่ การที่อุปกรณ์จะไปสู่จุดนั้นได้นั้นจะต้องทำการปรับปรุงแก้ไขอุปกรณ์ให้มีความเที่ยงตรงและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นโดยการเพิ่มระบบต่างๆเข้าไป ซึ่งผู้ทดลองจะอ้างอิงข้อเสนอแนะจากโครงงานนี้เท่านั้นและจะคำนึงถึงอุปกรณ์ที่ควรจะมีมากที่สุดเป็นลำดับไปเพื่อการสร้างอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดทั้งในด้านการศึกษาทดลองและยังช่วยการลดต้นทุนในการสร้างอุปกรณ์ การออกแบบระบบคีมจับเชิงแสงโดยอ้างอิงจากการออกแบบคีมจับเชิงแสงอย่างง่ายของโครงงานนี้เป็นไปตามรูปที่ 5.1

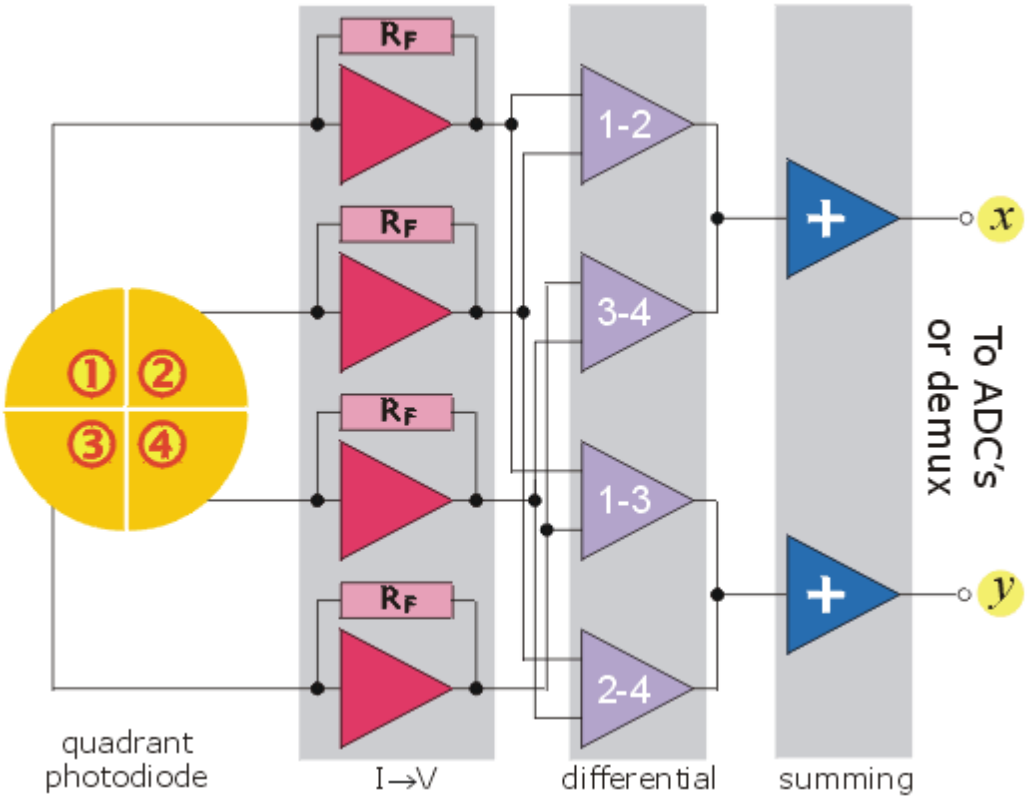


ภาพที่ 5.1 การออกแบบเพื่อปรับปรุงระบบคีมจับเชิงแสงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

จากรูปที่ 5.1 แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นโดยเริ่มจากอุปกรณ์ปกติที่ใช้ในการเฝ้าดูนั้นก็คือ กล้อง CCD Camera ที่เหมาะสมกับกล้องจุลทรรศน์ Olympus CK30/CK40 ที่ผู้ทดลองนามาใช้เนื่องจากอุปกรณ์ที่ผู้ทดลองนำมาใช้ในการเฝ้าดูในโครงงานนี้เป็นกล้องWeb Cam ธรรมดามากซึ่งให้ภาพและความละเอียดในการเฝ้ามองค่อนข้างต่ำและอีกอย่างหนึ่งก็คือ ผู้ทดลองใช้การมองของกล้อง Web Cam ผ่านระบบ Eye Pieces ของกล้องจุลทรรศน์เท่านั้นทำให้การปรับโฟกัสและระยะของภาพรวมไปถึงการปรับระดับของภาพมีข้อจำกัดเป็นอย่างมาก ซึ่งหากปรับปรุงอุปกรณ์ที่ใช้เฝ้าดูจากกล้องWeb Cam ปกติเป็นกล้อง CCD ที่เฉพาะเจาะจงกับระบบของกล้องจุลทรรศน์ที่ผู้ทดลองได้นำมาศึกษานี้ จะทำให้เกิดประสิทธิภาพในการเฝ้าดูมากยิ่งขึ้นแน่นอน ซึ่งจะเห็นได้ว่าหากต้องการที่จะทำให้อุปกรณ์มีประสิทธิมากยิ่งขึ้นนั้นระบบในการเฝ้าดูนั้นเป็นสิ่งที่จำเป็นเป็นลำดับต้นๆของการสร้างอุปกรณ์เลยที่เดียวเนื่องจากหากเราไม่สามารถที่จะเห็นการ

เปลี่ยนแปลงหรือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในขณะที่ทำการการจับอนุภาคได้นั้นแน่นอนว่าการแก้ไขปัญหาในส่วนอื่น ย่อมจะยากขึ้นอย่างแน่นอน

ต่อมาส่วนที่เพิ่มขึ้นจากการเฝ้าดูนั้นก็คืออุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดตำแหน่งของเลเซอร์ว่าอยู่ในตำแหน่งตรงกลางหรือไม่นั้นก็คือ อุปกรณ์Photo Detector ซึ่งจะทำหน้าที่ในการตรวจวัดตำแหน่งของลำแสงเลเซอร์ที่โฟกัสว่าอยู่ที่ตำแหน่งใดซึ่งจากการออกแบบจากรูปที่ 5.1 นั้น ผู้ทดลองได้ออกแบบให้ระบบตรวจวัดตำแหน่งนี้สามารถช่วยให้ผู้ทดลองรู้ว่าตำแหน่งโฟกัสของอุปกรณ์นั้นอยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้องหรือไม่เพื่อทำการปรับปรุงและเปลี่ยนแปลงหากไม่อยู่ในระยะที่ถูกต้องเพราะหากว่าแสงเลเซอร์ไม่อยู่ในระยะที่ถูกต้องก็จะมีผลต่อการดักจับและประสิทธิภาพในการจับอนุภาคเช่นเดียวกันซึ่งจากรูปที่ 5.2 จะแสดงลักษณะวงจรตัวอย่าง ของอุปกรณ์ตรวจจับตำแหน่งโดยทั่วไปซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการสร้างให้อุปกรณ์คีมจับเชิงแสงนี้มีประสิทธิภาพในการจับอนุภาคมากขึ้นไปด้วยเช่นกัน



ภาพที่ 5.2 แสดงไดอะแกรมของวงจรตรวจจับตำแหน่งของแสงเลเซอร์

ต่อมาจากรูปที่ 5.1 ส่วนที่ควรเพิ่มเติมที่ออกแบบไว้ก็คือ ตัวควบคุมการเคลื่อนที่ของ stage แล้วเมื่อเราสามารถทำการจับอนุภาคได้แล้วนั้น อนุภาคที่จับได้ก็จะอยู่ในจุดโฟกัสของแสงเลเซอร์ ซึ่งอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นควรที่จะสามารถเคลื่อนที่เพื่อเปลี่ยนตำแหน่งของอนุภาคที่ทำการจับอยู่ โดยแทนที่เราจะเคลื่อนย้ายเลเซอร์ไปตาม

ตำแหน่งต่างๆ ก็เปลี่ยนเป็นเราเคลื่อนย้าย Stage แทน ซึ่งในการเคลื่อนย้ายนี้จะต้องเคลื่อนย้ายความละเอียดอยู่ในระดับไมครอนเนื่องจากอนุภาคที่เราทำการจับอยู่ในสเกลนี้ ดังนั้นแน่นอนว่า เราจะใช้มือในการเคลื่อนย้ายไม่ได้อย่างแน่นอน เพราะจะทำให้เกิดความผิดพลาด เราจึงจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่สามารถเคลื่อนย้ายได้ในระดับไมครอนรวมไปถึงโปรแกรมที่ควรออกแบบไว้ในการจัดการกับการเคลื่อนย้ายไปตำแหน่งต่างๆ ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการเพิ่มศักยภาพของอุปกรณ์นี้ให้มากขึ้น

จากการออกแบบและปรับปรุงอุปกรณ์ตามที่ผู้ทำการทดลองได้ให้ข้อเสนอแนะนี้ไว้ หากสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงหรือปรับปรุงแก้ไขตามที่ผู้ทำการทดลองได้เสนอแนะไว้แล้ว จะทำให้อุปกรณ์คีมจับเชิงแสงนี้สามารถนำไปใช้งานได้จริงในด้านต่างๆ โดยจุดประสงค์หลักของอุปกรณ์นี้คือประยุกต์ในด้านชีววิทยาขนาดเล็ก และแน่นอนว่าอุปกรณ์นี้สามารถช่วยในการแก้ไขปัญหาพร้อมทั้งสามารถสร้างสรรค์ความรู้ใหม่ๆได้อีกมากมาย

บรรณานุกรม/เอกสารอ้างอิง

Miles J. Padgett , Justin E. Molloy and David McGloin , “Optical Tweezers Methods and Applications ”, Taylor & Francis Group , New York ,2000

พ.ต.สุวัฒน์วงศ์ จันทร์ฉายแสง และคณะ , “คีมจับเชิงแสง:อีกนวัตกรรมสำคัญในการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ” , กันยายน-ตุลาคม 2551

Svoboda K., Block S. M. "Biological applications of optical forces." , Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structures , Princeton University , 1994

Smith S. P., Bhalotra S. R., Brody A. L., Brown B. L., Boyda E. K., Prentiss M. "Inexpensive optical tweezers for undergraduate laboratories." , Harvard University , 1998

H.Daniel Ou-Yang.,Ming-Tzo Wei.”Complex Fluids : Probing Mechanical Properties of Biological Systems With Optical Tweezers” Lehigh University , 2010

[online].Available : www.en.wikipedia.org/wiki/Optical_tweezers