

การเตรียมแผ่นฟิล์มบางสำหรับรองรับตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

## Ultra Thin Film Preparation for Transmission Electron Microscope

ปิยนันท์ ถนอมชาติ

นักวิจัยชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ปี 2564)

ฟอร์มวา (formvar) หรือโพลีไวนิลฟอร์มัลดีไฮด์ (polyvinyl formaldehyde) เป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) ที่ทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม (chloroform) โดยฟอร์มวาเป็นสารที่นิยมใช้ในการเตรียมฟิล์มแบบบางสำหรับเคลือบกริดเนื่องจากมีความเรียบของฟิล์มสูง ไม่ค่อยเกิดการยับย่น ที่เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในการเตรียมวัสดุรองรับตัวอย่างสำหรับศึกษาตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope) ความเข้มข้นของสารละลายฟอร์มวาที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มแบบบางจะอยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.10-0.50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย มีขั้นตอนการเตรียมแผ่นฟิล์มบางดังต่อไปนี้

(1) นำกริดมาทำความสะอาดโดยแช่ในอะซิโตน (acetone) พร้อมนำไปเข้าเครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic) ครั้งละ 5 นาที 3 ครั้ง นำกริดใส่ในจานเพาะเชื้อ (petri dish) ที่รองด้วยกระดาษกรองเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (desiccator) ก่อนนำไปใช้งาน

(2) นำแผ่นสไลด์สะอาดจุ่มลงในสารละลายฟอร์มวาประมาณ  $\frac{3}{4}$  ส่วน

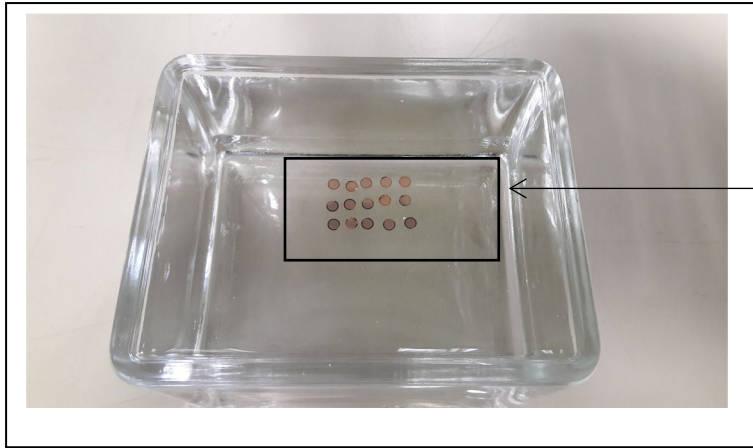
(3) จุ่มแผ่นสไลด์ที่มีฟิล์มของสารละลายฟอร์มวาเคลือบอยู่เอียง 45 องศา กดลงบนน้ำสะอาดจนกระทั่งแผ่นฟิล์มแยกหลุดจากสไลด์ลอยอยู่บนผิวน้ำ

(4) วางกริดลงบนแผ่นฟิล์มแบบบางที่ได้ ดังรูปที่ 1 ใช้กระดาษกรองสัมผัสลงบนแผ่นฟิล์มและกริดดังกล่าวจะติดอยู่บนกระดาษกรอง นำมาเก็บใส่ตู้ดูดความชื้น ประมาณ 1-2 วัน จนแห้ง

(5) นำกริดที่เคลือบแผ่นฟิล์มบางที่ได้แล้วไปเคลือบทับด้วยไอคาร์บอนด้วยเครื่องเคลือบผิวตัวอย่างด้วยคาร์บอน (Vacuum Evaporator) เพื่อเพิ่มความทนทานต่อความร้อนที่เกิดขึ้นจากลำอิเล็กตรอน

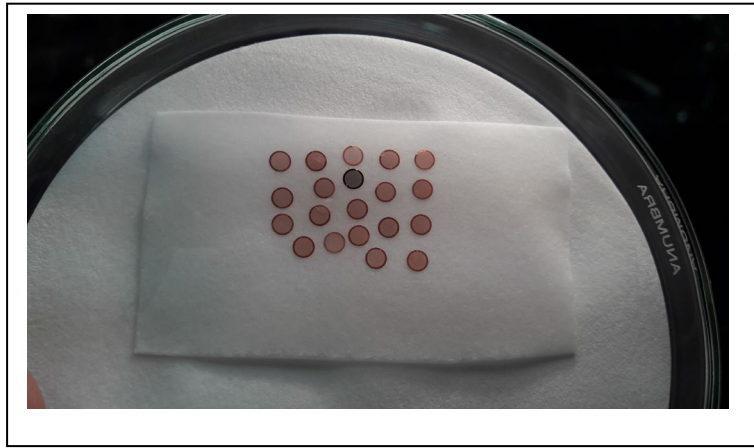
(6) นำกริดที่เคลือบแผ่นฟิล์มบางไปลดประจุด้วยเครื่อง Sputter coater ในโหมด discharge เพื่อให้แผ่นฟิล์มบางที่เคลือบบนกริดมีสภาพชอบน้ำ (hydrophilic)

(7) เก็บกริดที่เตรียมไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อนำไว้ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านต่อไป ดังรูปที่ 2



นำกริดมาวางบน  
ฟอร์มวาฟิล์ม

รูปที่ 1 กริดที่วางลงบนแผ่นฟิล์มแบบบางที่ลอยอยู่บนผิวน้ำ



รูปที่ 2 กริดที่เคลือบแผ่นฟิล์มแบบบางของสารละลายฟอร์มวาที่เตรียมเสร็จแล้วพร้อมใช้งาน

#### เอกสารอ้างอิง

1. อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2540. ข้อคิดและเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาพ I. ตัวอย่างทางชีววิทยา. ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ สถาบันผลิตผลการเกษตรฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 44 น.
2. Dykstra M.J. and Reuss L.E. 2003. Biological Electron Microscopy Theory, Techniques, and Troubleshooting. Second edition. Kluwer Academic, United States of America. 534 pp.
3. Hayat, M.A. 2000. Principles and Techniques of Electron Microscopy Biological Applications. Fourth Edition. Cambridge University Press, United States of America. 543 pp.
4. Hoppert M. and A. Holzenburg. 1998. Electron in Microbiology. BIOS Scientific Publishers, United States of Kingdom. 112 pp.