

เตรียมตัวอย่างทางชีวภาพอย่างไรให้แห้งและไม่เสียรูปร่าง

ยุพดี เผ่าพันธ์

นักวิจัยเชี่ยวชาญ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ธันวาคม 2565)

เนื่องจากตัวอย่างทางชีวภาพส่วนใหญ่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ และในตัวอย่างบางชนิดอาจมีน้ำเป็นองค์ประกอบสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างทางชีวภาพให้แห้งและไม่เสียรูปร่างเป็นสิ่งจำเป็นในการศึกษาลักษณะรูปร่างของตัวอย่าง เป็นที่ทราบกันดีว่าเทคนิคในการทำให้ตัวอย่างแห้งมีอยู่หลายวิธี ซึ่งแต่ละตัวอย่างอาจมีข้อจำกัดในการเตรียมตัวอย่าง ดังนั้นเราจึงสามารถที่จะเลือกวิธีการที่มีความเหมาะสมต่อตัวอย่างและข้อมูลที่ต้องการในการศึกษาตัวอย่างแต่ละชนิดที่ อาจมีความแตกต่างกันออกไป การทำให้ตัวอย่างแห้งเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธีการได้แก่

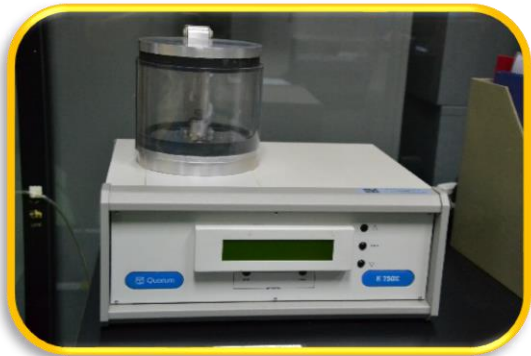
1. การทำให้ตัวอย่างแห้งในบรรยากาศปกติ (Air Drying)
2. การทำให้ตัวอย่างแห้ง ณ จุดเยือกแข็ง (Freeze Drying)
3. การทำให้ตัวอย่างแห้ง ณ จุดวิกฤต (Critical Point Drying)

การเลือกวิธีการในการทำให้แห้งขึ้นกับชนิดของตัวอย่าง ตัวอย่างบางชนิดสามารถทำให้แห้ง ณ บรรยากาศปกติ โดยน้ำจะกลายเป็นไอและระเหยออกจากตัวอย่างสู่บรรยากาศตามปกติ ซึ่งตัวอย่างทางชีวภาพหลายชนิดสามารถใช้วิธีการนี้ ในการทำให้ตัวอย่างแห้งได้โดยไม่สูญเสียรูปร่างไป โดยมากจะเป็นตัวอย่างที่มีโครงสร้างที่มีความแข็งแรง คงรูปร่างอยู่ในสภาวะบรรยากาศปกติ เช่น เส้นผม กระจก เล็บ แมลงปีกแข็ง เรณูพืชบางชนิด เนื้อไม้ และสปอร์เชื้อราบางชนิด เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้มักพบว่ามีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมาก ทำให้ตัวอย่างมีความชื้นน้อยมากอยู่แล้วจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการเตรียมตัวอย่างให้แห้งได้โดยไม่มีปัญหา

การเตรียมตัวอย่างให้แห้ง ณ จุดเยือกแข็ง เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถทำให้ตัวอย่างแห้งได้โดยอาศัยการใช้ความเย็น ณ จุดเยือกแข็งทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็ก แล้วทำให้น้ำแข็งระเหิดกลายเป็นไอออกจากตัวอย่างภายใต้สภาวะสุญญากาศ ซึ่งจะช่วยให้ตัวอย่างแห้งและคงรูปร่างอยู่ได้โดยอาศัยเครื่องมือที่เรียกว่า Freeze Dryer (ภาพที่ 1) ซึ่งระยะเวลาในการทำอาจใช้เวลาค่อนข้างนานหลายชั่วโมง ขึ้นกับคุณสมบัติและขนาดของตัวอย่าง ในบางตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบค่อนข้างสูง อาจต้องใช้เวลาจนถึง 3 วัน แม้ว่าวิธีการนี้อาจจะใช้เวลาค่อนข้างนาน แต่ก็ยังเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างให้แห้งโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางเคมีซึ่งจะช่วยลดอันตรายที่อาจจะเกิดจากสารเคมีลงได้ และนอกจากนี้ยังมีความเหมาะสมกับตัวอย่างที่ต้องการนำไปวิเคราะห์ธาตุด้วยเครื่อง Energy Dispersive X-ray Spectrometer ที่ติดตั้งอยู่กับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดอีกด้วย วิธีการนี้มักใช้ได้ดีกับตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อในปริมาณมาก

สำหรับการเตรียมตัวอย่างให้แห้ง ณ จุดวิกฤต เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมสำหรับทำให้ตัวอย่างทางชีวภาพแห้งโดยใช้ระยะเวลาสั้น ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ก็จะได้ตัวอย่างที่แห้งและคงรูปร่างอยู่ได้ โดยอาศัยเครื่อง Critical Point Dryer (ภาพที่ 2) ตามหลักการของเหลววิกฤตคือ การที่ของเหลวและก๊าซมีความหนาแน่นสมดุลกัน ณ อุณหภูมิ และความดันหนึ่ง จุดนี้ทำให้ของเหลวและก๊าซไม่มีความตึงผิว ของเหลวเปลี่ยนสถานะเป็นก๊าซ และระเหยออกจากตัวอย่าง และตัวอย่างจะสามารถยังคงรูปร่างเดิมไม่เปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากจนไม่เห็นความแตกต่าง ในปัจจุบันนี้เราใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวในการทำให้ตัวอย่างแห้ง ณ จุดวิกฤต แต่วิธีการนี้ตัวอย่างต้องนำไปผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางเคมีโดยการการคงสภาพเนื้อเยื่อ และดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วย ethanol หรือ acetone ก่อนนำมาทำให้ตัวอย่างแห้ง

แห้ง ตัวอย่างทางชีวภาพเกือบทุกชนิดสามารถใช้วิธีการนี้ได้ เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ และรวดเร็ว จึงเป็นวิธีการที่นักวิจัยส่วนใหญ่เลือกใช้ในการทำให้ตัวอย่างทางชีวภาพแห้งก่อนนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดต่อไป



ภาพที่ 1 เครื่อง Freeze Dryer (Quorum; K750X)



ภาพที่ 2 เครื่อง Critical Point Dryer (Quorum; K 850)

เอกสารอ้างอิง

Gabriel B. L. 1982. Biological Scanning Electron Microscopy. Van Nostrand Reinhold Co. 186 p.

Hayat, M.A., 1981. Principles and techniques of electron microscopy. Biological applications. Edward Arnold. 543 p.

Robinson D.G., et.al. 1987. Methods of Preparation for Electron Microscope. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 190 p.

เวคิน นพนิตย์. 2527. จุลทัศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน: Scanning Electron Microscopy การประยุกต์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 99 น.