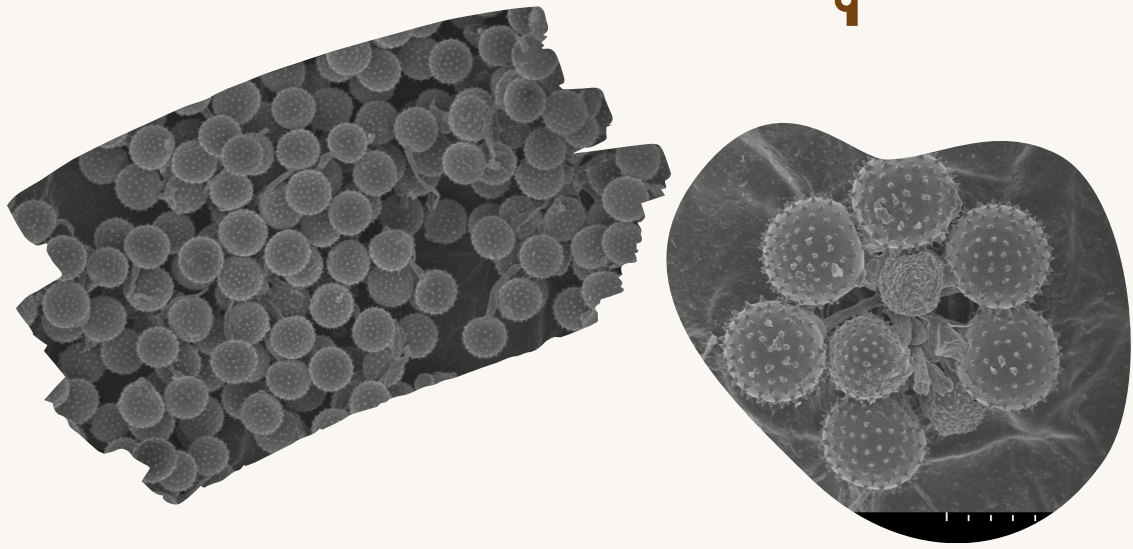


ประเด็นปัญหาที่พบบ่อยในการบันทึกภาพด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



ยุพดี เผ่าพันธุ์
นักวิจัยเชี่ยวชาญ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2567)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดมีการทำงานภายใต้สภาวะสุญญากาศ นักวิจัยส่วนใหญ่จึงต้องทำการเตรียมตัวอย่างให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำตัวอย่างเข้าไปศึกษา ซึ่งมักพบปัญหาและอุปสรรคในการบันทึกภาพหรือถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่เกิดขึ้นอยู่บ่อยครั้ง ดังนี้

1

การมีประจุไฟฟ้าสถิตย์ (charging) มากเกินไป เนื่องจากตัวอย่างมีคุณสมบัติไม่นำไฟฟ้าจะทำให้เกิด charging artifacts คือการที่ภาพมีความสว่างมากเกินไปจนทำให้ไม่สามารถเห็นรายละเอียดได้อย่างชัดเจน หรือในบางกรณีก็อาจไม่สามารถเห็นรายละเอียดของตัวอย่างได้เลย ซึ่งเกิดจากการสะสมของอิเล็กตรอนปฐมภูมิ (primary electron) บนพื้นผิวตัวอย่างเป็นจำนวนมาก อิเล็กตรอนเหล่านี้ไม่สามารถเดินทางผ่านตัวอย่างออกไปได้ การแก้ไขสามารถทำได้โดยการลดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ลง หรืออาจเพิ่มความหนาของชั้นโลหะที่พื้นผิวของตัวอย่างโดยการเคลือบโลหะซ้ำเพื่อให้ตัวอย่างมีคุณสมบัตินำไฟฟ้าได้ดีกว่าเดิมเนื่องจากการเคลือบโลหะในครั้งแรกอาจบางเกินไป และอีกประการเนื่องจากบางครั้งตัวอย่างอาจมีลักษณะรูปร่างที่ทำให้การเคลือบโลหะบนพื้นผิวตัวอย่างกับแท่นวางตัวอย่างมีความไม่ต่อเนื่อง ดังนั้นการเพิ่มวัสดุยึดตัวอย่างที่มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้า เช่น colloidal carbon paint หรือ silver paint บริเวณด้านข้างของตัวอย่างกับแท่นวางตัวอย่างจะทำให้อิเล็กตรอนเดินทางผ่านไปได้และไม่เกิดการสะสมอยู่ในบริเวณดังกล่าว

2

ลำอิเล็กตรอนทำลายตัวอย่าง (beam damage) ซึ่งเราจะสังเกตเห็นตัวอย่างเกิดการไหม้ (burn) เนื่องจากการเลือกใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า (voltage) ที่ไม่เหมาะสมกับชนิดของตัวอย่าง โดยส่วนใหญ่มักจะใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงเกินไป ดังนั้นควรศึกษาหรือทดสอบก่อนว่าเราควรเลือกใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เท่าไรจึงจะเหมาะสมและไม่ก่อให้เกิดความเสียหายกับตัวอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างทางชีวภาพที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม และมีความพรุน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าไม่สูงเกินไป

3

การบิดเบี้ยวของภาพ (astigmatism) หากมีความผิดปกติหรือเกิดภาพบิดเบี้ยว ก็จะสามารถสังเกตเห็นได้ง่าย ซึ่งความผิดปกตินี้ก็จะมีผลต่อการรายงานผลการศึกษาเป็นอย่างมากเนื่องจากขนาด รูปร่าง หรือลวดลาย ก็จะผิดเพี้ยนไปจากความเป็นจริง ดังนั้นการฝึกปฏิบัติที่เพียงพอจะทำให้มีประสบการณ์และสามารถทำการวิเคราะห์ภาพได้ ในการแก้ไขปัญหาจะต้องปรับทิศทางของลำอิเล็กตรอน (electron beam) เราเรียกว่าการ alignment โดยปรับลำอิเล็กตรอนให้กลมสามารถสังเกตได้จากหน้าจอโดยการปรับทั้ง X stigma และ Y stigma เมื่อปรับลำอิเล็กตรอนได้แล้วจึงทำการปรับโฟกัส (focus) ภาพให้ชัดเจน ก็จะได้ภาพที่ให้รายละเอียดของภาพที่สมบูรณ์ ซึ่งในการปรับอาจใช้วัสดุที่มีทรงกลมหรือผลึกที่มีรูปร่างแน่นอนชัดเจน เช่น อนุภาคทองคำ อนุภาคของน้ำยาง และผลึกซิงค์ออกไซด์ เป็นต้น จะช่วยให้ปรับภาพได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

4

ภาพหรือตัวอย่างเกิดการเคลื่อนที่ (drift) เกิดได้จาก 2 สาเหตุหลักคือ

1. เกิดจากการเลื่อนของ specimen stage ในกรณีนี้มักพบปัญหาเมื่อดูภาพกำลังขยายสูง ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนให้มีระบบล็อก stage สำหรับวางตัวอย่างเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น
2. เกิดจากคุณสมบัติของตัวอย่าง เช่น ตัวอย่างยึดติดกับแท่นวางตัวอย่างไม่ดี หรือการติดตัวอย่างที่เป็นอนุภาคบนกระจก ส่วนใหญ่จะเป็นตัวอย่างที่เป็นอนุภาคที่อยู่ในลักษณะแหลมซ้อนกันเมื่อลำอิเล็กตรอนตกกระทบก็จะทำให้ตัวอย่างเกิดการเคลื่อนตำแหน่ง ในบางครั้งตัวอย่างอาจหลุดหายไปหรือตัวอย่างเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพไปเมื่ออยู่ในสภาวะสุญญากาศ และไม่สามารถทนความร้อนที่เกิดขึ้นเมื่อลำอิเล็กตรอนกราดไปบนตัวอย่าง แต่อย่างไรก็ตามการเตรียมตัวอย่างที่ดีก็สามารถลดปัญหานี้ได้โดยการทำให้ตัวอย่างปราศจากความชื้น และการเคลือบโลหะที่มีความหนาเหมาะสมไม่บางเกินไป

5

การปนเปื้อน (contamination) เรามักพบปัญหานี้เกือบทุกครั้งในการศึกษาตัวอย่างเนื่องจากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าได้ แต่เมื่อนำตัวอย่างไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแล้วพบว่า มีสิ่งแปลกปลอมอยู่ที่พื้นผิวของตัวอย่าง ทำให้สูญเสียรายละเอียดของตัวอย่างไป โดยอาจบดบังรายละเอียดของตัวอย่าง และมักพบในตัวอย่างทางชีวภาพบ่อยครั้งซึ่งทำให้ต้องเตรียมตัวอย่างใหม่ ดังนั้นการทำความสะอาดตัวอย่างก่อนการเตรียมตัวอย่างจึงเป็นสิ่งสำคัญทั้งนี้ต้องไม่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ตัวอย่าง นอกจากนี้สิ่งปนเปื้อนอาจทำให้เกิดการสะสมสารพวกไฮโดรคาร์บอนภายใน column ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งจะมีผลให้ resolution ลดลง เมื่อใช้กำลังขยายสูงจะได้ภาพที่ไม่คมชัด และไม่สามารถบอกรายละเอียดของพื้นผิวตัวอย่างได้

เอกสารอ้างอิง

1. เดโช ทองอร่าม รุจิพร ประทีปเสน และบุญเหลือ เภาถาวร. 2542. คู่มือประกอบการอบรมเรื่อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนสำหรับงานด้านวัสดุศาสตร์. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันที่ 27-28 พฤษภาคม 2542. 93 น.
2. เวคิน นพินิตย์. 2524. จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน: การประยุกต์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 99 น.
3. ศิริเพ็ญ เวชชากรันย์ อรัญญา ดันติปัญจพร และ วิรัช ธรรมวินิจัย. 2535. คู่มือหลักสูตรเร่งรัดจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสำหรับงานวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 101 น.
4. อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2531. เทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเบื้องต้น. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง บางเขนสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74 น.