

การรมไอออสเมียมเตตรอกไซด์เพื่อการเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

Osmium Tetroxide Vapor Fixation for Scanning Electron Microscopy Sample Preparation

ยุพดี เผ่าพันธ์

นักวิจัยเชี่ยวชาญ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2569)

วิธีการรมไอออสเมียมเตตรอกไซด์ (osmium tetroxide) นิยมใช้กับตัวอย่างที่มีขนาดเล็กและมีความบอบบาง หรือเกิดแตกหักได้ง่ายสำหรับตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น ตัวอย่างเนื้อเยื่อพืชที่มีขนาดเล็ก ตัวอย่างที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสำหรับขนาดเล็ก เชื้อรา และแบคทีเรีย ในบางกรณีอาจใช้ในการตรึงเพื่อช่วยให้โครงสร้างของตัวอย่างมีความคงทนหรือแข็งแรง ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการตรึงด้วยสารคงสภาพเนื้อเยื่อชนิดอื่น เช่น พาราฟอร์มัลดีไฮด์ (paraformaldehyde), ฟอर्मัลดีไฮด์ (formaldehyde) และ กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) หลังจากนั้นจึงนำไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากตัวอย่าง (dehydration) การทำให้ตัวอย่างแห้ง (drying) เพื่อนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) นอกจากนี้ไอออสเมียมเตตรอกไซด์มีคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยาได้ดีกับสารในกลุ่มไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated lipids) และ ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ในเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้กับตัวอย่างอื่น ๆ ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบเพื่อช่วยตรึงไขมัน การตรึงด้วยไอออสเมียมเตตรอกไซด์มีประโยชน์อย่างมากเนื่องจากช่วยลดการสูญเสียหรือการเคลื่อนย้ายของไขมันระหว่างกระบวนการเตรียมตัวอย่าง ส่งผลให้รักษาโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพื้นผิวตัวอย่างไว้ได้ และช่วยลดการเสีรูปร่างของพื้นผิวตัวอย่างระหว่างการเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้การรมไอออสเมียมเตตรอกไซด์ยังเป็นการเพิ่มการนำไฟฟ้าให้กับตัวอย่าง ส่งผลให้ลดปัญหาการสะสมประจุ (charging effect) ซึ่งมักทำให้เกิดแถบสว่างและมีตรบกวนบนภาพ ส่งผลให้บดบังรายละเอียดของตัวอย่างไม่สามารถมองเห็นลักษณะของตัวอย่างได้อย่างชัดเจน ความเข้มข้นของไอออสเมียมเตตรอกไซด์สามารถใช้ในช่วง 1-4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับระยะเวลาที่ใช้ในการรมไอออสเมียมเตตรอกไซด์สามารถปรับเปลี่ยนไปตามชนิดและลักษณะของตัวอย่างซึ่งอาจใช้เวลาได้ตั้งแต่ 10 นาที ไปจนถึง 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามการใช้สารไอออสเมียมเตตรอกไซด์ต้องใช้ความระมัดระวังสูง ต้องทำในตู้ดูดควันสารเคมี (fume hood) สวมหน้ากาก และถุงมือป้องกันไอระเหยของสารเคมี เนื่องจากไอออสเมียมเตตรอกไซด์เป็นสารประกอบของโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อม ผู้ใช้งานจึงต้องปฏิบัติตามมาตรการความปลอดภัยและกำจัดของเสียที่มีไอออสเมียมเตตรอกไซด์ตามแนวทางมาตรฐานห้องปฏิบัติการปลอดภัย และห้ามทิ้งสารออกสู่สภาพแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

1. Barreto, M. and Meyer, J.J.M. 2007. The preservation of biofilms on macroalgae by osmium vapour. South African Journal of Botany. 73, 64-69.
2. BenchChem Technical Support Team. 2026. Application notes and protocols for osmium tetroxide staining in scanning electron microscopy. BenchChem. https://pdf.benchchem.com/58/Application_Notes_and_Protocols_for_Osmium_Tetroxide_Staining_in_Scanning_Electron_Microscopy.pdf
3. ศิริเพ็ญ เวชการณีย์, อรัญญา ตันติปัญจพร และ วิรัช ธรรมวินิจฉัย. 2535. คู่มือหลักสูตรเร่งรัดจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสำหรับงานวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 101 น.
4. อุไรวรรณ ดิลกคุณานนท์. 2531. เทคนิคทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเบื้องต้น. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง บางเขน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74 น.

