



การสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัย  
ตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น



วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์  
วิทยาลัยวิศวกรรมชีวการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต  
ปีการศึกษา 2564



**LINEAR GRADIENT FILTER BASED SPECTRAL IMAGING MICROSCOPE**

**BY**

**CHUTTIMA WONGPA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF ENGINEERING IN BIOMEDICAL ENGINEERING  
COLLEGE OF BIOMEDICAL ENGINEERING**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY**

**ACADEMIC YEAR 2021**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสง  
ที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น

โดย  
ชุตินา วงศ์ภา

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต  
ปีการศึกษา 2564

ดร.ศุภนิจ พรธีระภัทร  
ประธานกรรมการสอบ

รศ. นันทชัย ทองเป็น  
กรรมการ

รศ. ดร. สือจิตต์ เพ็ชรประสาน  
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

ดร. พิชญ์สินี สุวรรณแพทย์  
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ. ร.ต.หญิง ดร. วรณี สุขสาตร)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
21 กรกฎาคม 2564

Thesis entitled

**LINEAR GRADIENT FILTER BASED SPECTRAL IMAGING MICROSCOPE**

by

CHUTTIMA WONGPA

was submitted in partial fulfillment of the requirements  
for the degree of Master of Engineering in Biomedical Engineering

Rangsit University  
Academic Year 2021

---

Supanit Porntheeraphat, Ph.D.  
Examination Committee Chairperson

Assoc. Prof. Nuntachai Thongpance  
Member

---

Assoc. Prof. Suejit Pechprasarn, Ph.D.  
Member and Advisor

Phitsini Suvarnaphaet, Ph.D.  
Member and Co – Advisor

Approved by Graduate School

(Asst. Prof. Plt. Off. Vanee Sooksatra, D.Eng.)

Dean of Graduate School

July 21, 2021

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เพราะได้รับความเมตตากรุณาและความช่วยเหลืออย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.สัจจิตต์ เพ็ชรประสาน และ ดร.พิชญ์สิทธิ์ สุวรรณแพทย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์โดยตลอด ขอขอบพระคุณในความกรุณาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ศุภนิจ พรธีระภัทร หัวหน้าห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีโฟโตนิกส์ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ได้ให้ความกรุณาในการใช้ห้องปฏิบัติการศึกษาทางด้านจุลทรรศน์ศาสตร์และโฟโตนิกส์ และช่วยเหลือด้านอุปกรณ์สำหรับการวัดค่าสเปกตรัม

ขอขอบพระคุณ ดร.สุพรรณิ ฤกษ์ระชะจร ศูนย์วิจัยนาโนโฟโตนิกส์ มหาวิทยาลัยเซินเจิ้น ประเทศจีน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องเคลือบวัสดุด้วยลำอิเล็กตรอน เพื่อเคลือบพลาสมอนิกเซนเซอร์ชนิดทองคำและนำมาใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษา

ขอขอบคุณ นายสุวิชา ศศิวิมลกุล และนางสาวชญาณิศา สุขเกษม ที่ได้คำปรึกษาและช่วยเหลือด้านความรู้และเทคนิคการเขียนโปรแกรมจำลองทางคณิตศาสตร์

ขอขอบคุณอาจารย์ประจำวิทยาลัยวิศวกรรมชีวการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิตทุกท่านที่ได้ให้การศึกษา คำแนะนำในการทำวิจัย ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการทำงานจนสำเร็จการศึกษา

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ซึ่งสนับสนุนในการศึกษาเล่าเรียน และคอยให้กำลังใจตลอดการศึกษาจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ชุตินา วงศ์ภา

ผู้วิจัย

6305264 : ชุตติมา วงศ์ภา  
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัว  
 กรองแสง ที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น  
 หลักสูตร : วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์  
 อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สือจิตต์ เพ็ชรประสาน  
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร. พิชญ์สิทธิ์ สุวรรณแพทย์

**บทคัดย่อ**

วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพโดยใช้ตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นสร้างสเปกตรัมของแสงเอกรงค์ที่มีความยาวคลื่นแบบต่อเนื่อง เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นพลาสติกโมนิกไบโอเซนเซอร์แบบอาศัยการวิเคราะห์จากภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ (BFP) สามารถวัดความยาวคลื่นที่กระตุ้นการเกิดการสั่นพ้องของพลาสมอน บนพื้นผิวได้ หากมมพลาสมอน ความหนาของพลาสติกโมนิกเซนเซอร์ และค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนได้ วิธีการดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 1) สร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ด้วยอุปกรณ์กรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นให้สเปกตรัมของแสงเอกรงค์ตั้งแต่ความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm และถ่ายภาพด้วยกล้องโมนโครมของฟิล์มบางโลหะ พลาสติกโมนิกชนิดทองคำหนา 46 nm ที่มีชั้นชั้นโครเมียม 2 nm เป็นชั้นยึดติด 2) สร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้สมการคณิตศาสตร์ของเฟรสเนล คำนวณเมทริกซ์ส่งผ่าน และการสร้างแบบจำลองของระนาบโฟกัสหลังเลนส์เพื่อเปรียบเทียบกับระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่ถ่ายจากผลการทดลอง อีกทั้งยังสามารถหาค่าความหนาของชั้นเซนเซอร์ มุมพลาสมอน และค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนของพลาสติกโมนิกเซนเซอร์ได้ โดยจากผลการทดสอบพบว่า สามารถบอกถึงภาพของระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่เกิดขึ้นได้ที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 581 nm คำนวณมุมพลาสมอน ( $n \sin \theta$ ) มีค่าเท่ากับ 1.0078 สามารถวิเคราะห์ภาพเปรียบเทียบกับผลของแบบจำลองภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ และนำมาคำนวณหาค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนได้มีค่าเท่ากับ  $0.5031 + 2.7723i$  เมื่อเปรียบเทียบกับแนวโน้มกับรายงานของจอห์นสันและคริสตี (1972) อาจเป็นผลจากการมีชั้นยึดติดของโครเมียม และหาค่าความหนาของพลาสติกโมนิกเซนเซอร์มีค่าเท่ากับ 45 nm มีความคลาดเคลื่อน 2.17% เมื่อเทียบกับค่าความหนาที่เคลือบจริง

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 69 หน้า)

คำสำคัญ: การถ่ายภาพสเปกตรัม, การถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์, พลาสติกโมนิกไบโอเซนเซอร์, เซอร์เฟสพลาสมอน, ดัชนีหักเหเชิงซ้อน

ลายมือชื่อนักศึกษา ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

6305264 : Chuttima Wongpa  
 Thesis Title : Linear Gradient Filter Based Spectral Imaging Microscope  
 Program : Master Of Engineering in Biomedical Engineering  
 Thesis Advisor : Assoc. Prof. Suejit Pechprasarn, Ph.D.  
 Thesis Co-Advisor : Phitsini Suvarnaphaet, Ph.D.

### Abstract

This thesis entitled 'Linear gradient filter based spectral imaging microscope' aims to implement the spectral imaging microscope using a linear gradient filter to provide the monochromatic light with a continuous wavelength scanning. The microscope can employ plasmonic biosensor based on back focal plane (BFP) imaging for measuring the surface plasmon excitation wavelength, the surface plasmon excitation angle, the plasmonic sensor thickness, and the complex refractive index of plasmonic sensor. In methodology of this study; 1) to invent the linear gradient filter based spectral microscope providing 300 nm to 1,100 nm wavelength monochromatic light for imaging BFP of a plasmonic gold sensor with 46 nm thick with 2 nm thick of chromium as an adhesive layer, and 2) to simulate the mathematical model of the BFP image using Fresnel's equation and transfer matrix calculation to determine the plasmonic sensor's thickness, plasmonic angle, and complex refractive index. As a result, the BFP of the plasmonic gold sensor can be imaged at the wavelength 581 nm under the spectral microscope and the plasmonic angle, was 1.0078. The complex refractive index measured in the experiment was  $0.5031 + 2.7723i$  compared with Johnson&Christy (1972). It might be due to the effect from the chromium layer in real gold sensor. The calculated thickness from the BFP image was 45 nm thick with 2.17% of error.

(Total 69 pages)

Keywords: Spectral Imaging, Back Focal Plane Imaging, Plasmonic biosensor, Surface Plasmon, Complex Refractive Index

Student's Signature ..... Thesis Advisor's Signature .....  
 Thesis Co-Advisor's Signature .....

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
<b>บทที่ 1</b>	
<b>บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	4
1.3 คำถามการวิจัย/สมมติฐานการวิจัย	4
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	5
1.5 นิยามศัพท์	6
<b>บทที่ 2</b>	
<b>ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>8</b>
2.1 หลักการสเปกโทรสโกปี	8
2.2 สเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า	10
2.3 ฟูริเยร์ออปติก (Fourier Optics)	11
2.3.1 การเกิดระนาบโฟกัสหลังเลนส์	11
2.3.2 ขั้นตอนการคำนวณสัมประสิทธิ์การสะท้อนรวมของโครงสร้าง	13
3 ชั้น	
2.3.3 ขั้นตอนคำนวณภาพหลังโฟกัสโดยใช้สมการของเฟรสเนล	15
2.4 ระบบและการถ่ายภาพสเปกตรัม	18
2.4.1 ภาพสเปกตรัม	18



## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.2 วิธีการถ่ายภาพแบบสเปกตรัม	20
2.5 การเกิดการสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว (Surface Plasmon Resonance)	22
<b>บทที่ 3</b>	
<b>ระเบียบวิธีการวิจัย</b>	<b>26</b>
3.1 การออกแบบทางเดินแสงสำหรับกล้องจุลทรรศน์	26
3.1.1 ส่วนประกอบและอุปกรณ์สำหรับทางเดินแสง	29
3.1.2 การควบคุมการเคลื่อนของตัวกรองแสงและการเก็บภาพถ่ายจากการทดลอง	31
3.2 รายละเอียดขั้นตอนการสังเคราะห์เซนเซอร์ทองคำ	32
3.3 การจำลองผลและการวิเคราะห์ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ด้วยโปรแกรมแมตแลบของเซนเซอร์ทองคำ	33
3.4 สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และวิธีการคำนวณย้อนกลับหาค่าความหนาของชั้นเซนเซอร์พลาสมอนและดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมอน	35
<b>บทที่ 4</b>	
<b>ผลการวิจัย</b>	<b>42</b>
4.1 ผลการดำเนินงานจากการออกแบบทางเดินแสง	42
4.2 ผลการทดสอบถ่ายภาพระนาบโพกัสหลังเลนส์	44
4.2.1 การถ่ายภาพโดยผ่านตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น	44
4.2.2 ผลการถ่ายภาพระนาบโพกัสหลังเลนส์ในความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน	47
4.3 ผลแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และการคำนวณย้อนกลับหาค่าความหนาของชั้นเซนเซอร์พลาสมอนและดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมอน	49

## สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 5	สรุปผลและข้อเสนอแนะ	52
	5.1 สรุปผลการวิจัย	52
	5.2 ข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม		54
ภาคผนวก		57
ภาคผนวก ก	โปรแกรมสำหรับการเคลื่อนที่ของระบบมอเตอร์แบบขั้น	58
ภาคผนวก ข	การคำนวณสมการคณิตศาสตร์ด้วยเฟรสนเอล	60
ภาคผนวก ค	การคำนวณภาพโฟกัสหลังเลนส์	62
ภาคผนวก ง	การคำนวณแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และการคำนวณย้อนกลับ หาค่าความหนาของชั้นเซินเซอร์พลาสมอนและดัชนีหักเห เชิงซ้อนของเซินเซอร์พลาสมอน	64
ประวัติผู้วิจัย		69

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงคุณสมบัติของกล้องโมโนโครม	30
3.2	ตารางแสดงค่าตัวแปรที่ใช้ในการจำลองแสดงการเกิดภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์	33
3.3	ตารางดำเนินงานวิจัย	40
4.1	แสดงผลการวัดสัญญาณตำแหน่งของภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ถูกแสงส่องผ่านบนตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นและสัญญาณสเปกตรัมของหลอดไฟ	45



## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1	5
2.1	9
2.2	9
2.3	10
2.4	10
2.5	12
2.6	14
2.7	15
2.8	16
2.9	17
2.10	19
2.11	19
2.12	20
2.13	21
2.14	23
2.15	24
2.16	25

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.1	แสดงระบบกล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพระนาบโพกัสหลังเลนส์ของการสะท้อนของตัวอย่างโดยถ่ายภาพจากกล้องโมนโครม	28
3.2	ช่วงความยาวคลื่นของหลอดไฟฮาโลเจน 300 nm ถึง 1,100 nm โดยวัดด้วยเครื่องวัดค่ากำลังงานแสงเชิงสเปกตรัม (Spectroradiometer) รุ่น Portable UV-VIS Spectroradiometer ULS4096CL-RS	29
3.3	ไดอะแกรมขั้นตอนการทำงานของระบบการเคลื่อนที่พร้อมทั้งการบันทึกภาพจากกล้องโมนโครม	31
3.4	แสดง (ก) โครงสร้างของเซนเซอร์ทองคำและ (ข) ภาพถ่ายเซนเซอร์ทองคำ	33
3.5	การจำลองการเกิดภาพหลังเลนส์จากตัวอย่างโดยเริ่มจากโพลาไรเซชัน (Polarization) เส้นประสีน้ำเงิน ตกกระทบลงตัวอย่างทำให้เกิดมุมตกกระทบของตัวอย่างส่งผ่านไปยังเลนส์ใกล้วัตถุ การจำลองการเกิดภาพโพกัสหลังเลนส์	34
3.6	ภาพโพกัสหลังเลนส์ที่ยังไม่ถูกหาค่าตำแหน่งจุดศูนย์กลางของภาพ และการแสดงตำแหน่งตำแหน่งจุดศูนย์กลางกลางของภาพโพกัสหลังเลนส์ที่ถูกทำการปรับค่ากำลังแสงให้อยู่ในช่วง 0 ถึง 1	35
3.7	การสร้างรูปวงกลมที่คำนวณจากการหาสัญญาณรบกวนเฉลี่ย ภาพโพกัสหลังเลนส์ที่ถูกลบด้วยสัญญาณรบกวน	36
3.8	การนำสัญญาณภาพเปรียบเทียบกับสัญญาณจำลองเพื่อทำการปรับปรุงสัญญาณภาพ	37
3.9	ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนการทำงานของโปรแกรมการคำนวณหาค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและดัชนีหักเหเชิงซ้อน	39
4.1	กล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัม	43
4.2	กราฟแสดงการทำให้สัญญาณจากการถ่ายภาพโพกัสหลังเลนส์ อยู่ใน ช่วง 0 ถึง 1	44
4.3	สัญญาณสเปกตรัมของภาพหลังโพกัส (เส้นสีน้ำเงิน) เปรียบเทียบกับสเปกตรัมของหลอดไฟฮาโลเจน (เส้นประสีแดง)	45
4.4	แสดงตำแหน่งภาพโพกัสกับตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น	46

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.5	ก.การจำลองภาพโพกัสหลังเลนส์ของแผ่นแก้วบางด้วยสมการของเฟรสเนล โดยจาก ข.ตำแหน่งภาพที่ 500 ที่เริ่มแสดงภาพโพกัสหลังเลนส์ที่ความยาวคลื่น 453 nm ค.ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ที่ความยาวคลื่น 581 nm ตำแหน่งภาพที่ 658 ง. ตำแหน่งภาพที่ 1,100 ที่แสดงภาพโพกัสหลังเลนส์เริ่มหายไป ที่ความยาวคลื่น 939.81 nm	47
4.6	ก.การจำลองภาพโพกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำหนา 45 nm ด้วยสมการของเฟรสเนลที่ความยาวคลื่น 581 nm ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำจากการทดสอบจริง โดยจาก ข.ตำแหน่งภาพที่ 500 ที่เริ่มแสดงภาพโพกัสหลังเลนส์ ที่ความยาวคลื่น 453 nm ค.ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ ที่ความยาวคลื่น 581 nm ตำแหน่งภาพที่ 658 ง. ตำแหน่งภาพที่ 1,100 ที่แสดงภาพโพกัสหลังเลนส์เริ่มหายไป ที่ความยาวคลื่น 939.81 nm	48
4.7	เส้นชั้นความสูง(Contour Plot) แสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและแสดงค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อน ซึ่งมาจากการคำนวณ ตำแหน่งภาพที่ 658 ความคลื่นที่ 581 nm	50
4.8	กราฟแสดงค่าสัมประสิทธิ์สะท้อนกับของโพลาริไซเซชันแบบพีโดยคำนวณจากสมการเฟรสเนลที่ความยาวคลื่น 581 nm (ก) การคำนวณย้อนกลับโดยการใช้หาค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนจากการทดสอบจริง (ข) การจำลองค่าสัมประสิทธิ์สะท้อนที่กำหนดค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนเป็นไปตามจอห์นสันและคริสตี	50
4.9	(ก) กราฟแสดงค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนจากการทดสอบจริง (เส้นประสีแดง) เปรียบเทียบกับค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนโดยจอห์นสันและคริสตี (เส้นสีแดง) (ข) กราฟแสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจริงจากการทดสอบจริง (เส้นประสีแดง) เปรียบเทียบกับค่าดัชนีหักเหส่วนจริงโดยจอห์นสันและคริสตี	51

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การถ่ายภาพแบบสเปกตรัม (Spectral Imaging) ประดิษฐ์ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับเทคโนโลยีถ่ายภาพทางอากาศและการถ่ายภาพจากดาวเทียม ซึ่งใช้สำหรับการตรวจวัดระยะไกล (Remote Sensing) (Goetz, Vane, Solomon, & Rock, 1985) ในทางภูมิศาสตร์โดยอาศัยหลักการคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่กระทำต่อวัตถุบนพื้นผิวโลกทำให้เกิดการสะท้อน (Reflectance : R) การดูดกลืน (Absorbance) การหักเห (Refraction) และการส่งผ่าน (Transmittance) ตรวจจับสัญญาณด้วยดาวเทียมเพื่อสังเกตปรากฏการณ์ทางธรรมชาติที่เปลี่ยนแปลง (Castagna, Sun, & Siegfried, 2003) และแสดงขอบเขตในแต่ละภูมิภาคได้อย่างชัดเจน ซึ่งภาพที่ทำการถ่ายนั้นถูกประมวลผล และแสดงในรูปแบบของภาพสีหรือภาพถ่ายสเปกตรัม โดยมีลักษณะข้อมูลภาพเป็น 3 มิติ ( $I(x, y, \lambda)$ ) โดยข้อมูลภาพประกอบไปด้วยมิติของรายละเอียดของภาพ (Pixel) ตามแนวแกน x และแกน y ( $I(x, y)$ ) และความยาวคลื่นที่ใช้ในการถ่ายภาพในแต่ละภาพ ( $I(\lambda)$ )

หลักการถ่ายภาพสเปกตรัมนั้น ประยุกต์มาจากพื้นฐานการถ่ายภาพโดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์และระบบสเปกโตรสโกปี (Spectroscopy) (Garini, Young, & McNamara, 2006) วัดสมบัติของตัวอย่างในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยอาศัยการวัดค่าความเข้มแสงที่ส่งผ่านตัวอย่างออกมาซึ่งเรียกว่า ค่าความเข้มแสงส่งผ่านหรือความส่งผ่าน และวัดค่าความเข้มแสงสะท้อนตัวอย่างออกมา ซึ่งเรียกว่า ค่าความเข้มแสงสะท้อนหรือความสะท้อน สามารถนำไปคำนวณเพื่อหาค่าการดูดกลืนแสงได้ เนื่องจากสสารแต่ละชนิดมีสมบัติในการดูดกลืนแสง การสะท้อนแสง และการส่งผ่านแสงโดยโมเลกุลที่แตกต่างกันทำให้เกิดสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละสสาร วิธีการนี้จึงสามารถใช้ระบุชนิดและปริมาณของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ (Clark & Rencz, 1999) ซึ่งข้อแตกต่างนี้ขึ้นอยู่กับระดับพลังงานของคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ส่งผ่านเข้าไปยังสสารเรียกว่าพลังงานกระตุ้น ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างคลื่นแสงและสสาร (Light - Matter Interaction) ซึ่งตัวอย่างเป็นไปได้หลายลักษณะ เช่น อะตอม โมเลกุล ไอออน สารละลาย และเซลล์ เป็นต้น กล่าวคือ ทำให้

เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (Electronic Transition) ในโมเลกุลโดยกระตุ้นให้มีค่าสูงขึ้น หรือ เปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (Ground State) ไปยังสถานะกระตุ้น (Excited State) ส่งผลทำให้เกิดการคายพลังงานของโมเลกุลและเกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุล (Molecular Motion) โดยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลมีรูปแบบ ดังนี้ การเคลื่อนแบบการสั่นของพันธะในโมเลกุล (Molecular Vibration) การเคลื่อนที่แบบการหมุนของพันธะในโมเลกุล (Molecular Rotation) การเคลื่อนที่แบบเลื่อนที่ (Molecular Translation) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงพลังงานเหล่านี้สามารถวัดค่าแสดงออกมาเป็นสเปกตรัมได้

ภาพถ่ายสเปกตรัมถูกนำมาประยุกต์ใช้ด้านวิศวกรรมทางการแพทย์ เพื่อสร้างอุปกรณ์สำหรับการถ่ายภาพแสดงผลทางการแพทย์ และถูกนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคพยาธิสรีรวิทยาของมะเร็ง (Cancer Pathophysiology) (Akbari, Uto, Kosugi, Kojima, & Tanaka, 2011) โดยอาศัยการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันของเนื้อเยื่อ (Panasyuk et al., 2007) สำหรับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) อีกทั้งยังนำมาประยุกต์ใช้กับการแสดงภาพขณะผ่าตัด (Image - Guided Surgery) ซึ่งสามารถช่วยศัลยแพทย์ในการมองเห็นภาพถึงความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่มีความผิดปกติแบบเรียลไทม์ (Real - Time) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบความอืดตัวของออกซิเจนในเนื้อเยื่อเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของเลือดเพื่อสังเกตอาการของผู้ป่วยอีกด้วย

เนื่องจากเทคนิคทางแสง เป็นเทคนิคที่สำคัญและจำเป็นสำหรับงานวิจัยที่หลากหลาย โดยเฉพาะทางด้านวิศวกรรมชีวการแพทย์ โดยมีงานวิจัยนิยมนำกล้องจุลทรรศน์ (Microscope) และสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) มาใช้งานร่วมกันเพื่อทดสอบและถ่ายภาพตัวอย่าง เพราะเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายวัสดุ (Non - Destructive Technique) แต่ด้วยข้อจำกัดในเรื่องของความไม่ต่อเนื่องและพลังงานต่ำของแสงเอกรงค์ (Monochromatic Light) ที่แยกด้วยปริซึมหรือเกรตติง (Strong, 1949) จึงส่งผลให้ความละเอียดเชิงพื้นที่ในการแยกแสงเอกรงค์ (Wavelength Spatial Resolution :  $\Delta\lambda$ ) ในการแบ่งแยกความยาวคลื่นแสงต่ำ ยากต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านการถ่ายภาพสเปกตรัมทางการแพทย์ กล้องจุลทรรศน์นั้นถูกนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อถ่ายภาพสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีขนาดเล็กด้วยแสงเอกรงค์แต่ละความยาวคลื่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อให้ได้ภาพที่มีความละเอียดในเชิงพื้นที่ (Image Spatial Resolution :  $\Delta x, \Delta y$ ) สูง เพื่อให้สามารถแยกแยะรายละเอียดของตัวอย่างได้



งานวิจัยนี้ คำนึงถึงข้อจำกัดของการถ่ายภาพสเปกตรัมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Spectro - Microscopic Imaging) ดังที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น จึงมุ่งเน้นการสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น (Linear Variable Filter : LVF หรือ Continuous Variable Filter) ใช้แยกแสงในแต่ละความยาวคลื่นออกจากกันและให้แสงที่มีความต่อเนื่อง โดยมีกำลังแสงในแต่ละความยาวคลื่นเพียงพอต่อการถ่ายภาพตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ที่อาศัยปรากฏการณ์การสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว (Surface Plasmon Resonance Biosensor : SPR biosensor) สามารถวัดความยาวคลื่นเมื่อเกิดพลาสมอนบนพื้นผิว (Surface Plasmon Coupling Wavelength :  $\lambda_{sp}$ ) วัดมุมพลาสมอน (Surface Plasmon Coupling Angle :  $\theta_{sp}$ ) ประยุกต์ใช้ในการวัดความหนาและค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อน (Complex Refractive Index :  $n$ ) ของพลาสมอนิกเซนเซอร์ เพื่อตรวจสอบคุณภาพของเซนเซอร์พลาสมอนได้ ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น เป็นอุปกรณ์กระจกที่เคลือบด้วยวัสดุไดอิเล็กทริก (Dielectric Material) ที่มีคุณสมบัติในการกรองแสงโดยขึ้นอยู่กับตำแหน่งบนพื้นผิวของตัวกรองแสง ช่วงความยาวคลื่นแสงของระบบที่พัฒนาขึ้นนี้อยู่ในช่วง 300 nm ถึง 1,100 nm และให้ความละเอียดเชิงพื้นที่ในการแยกแ่งเอกรงค์ ( $\Delta\lambda$ ) น้อยกว่า 10 nm ส่งผ่านกล้องจุลทรรศน์ไปยังตัวอย่าง ซึ่งถ่ายภาพเป็นภาพความส่องผ่านหรือภาพความสะท้อนของตัวอย่างในแต่ละตำแหน่งความยาวคลื่นแสงตกกระทบ ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อเยื่อทางการแพทย์ต่อไปได้ ภายในระบบประกอบด้วย 1) แหล่งกำเนิดแสง ใช้หลอดฮาโลเจนและทำการเลือกความยาวคลื่นแสงเอกรงค์จากแหล่งกำเนิดแสงโดยใช้ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น นำตัวกรองแสงนี้มาติดตั้งเข้ากับสกรูบอลและมอเตอร์แบบขั้น (Stepper Motor) ทำหน้าที่ขับเคลื่อนตัวกรองแสงให้สามารถเคลื่อนที่ตัดผ่านลำแสงจากแหล่งกำเนิด ทำให้แสงที่ผ่านตัวกรองแสงนี้เป็นแสงเอกรงค์ที่มีความต่อเนื่อง 2) กล้องรับภาพแบบซิมอส (Complementary Metal Oxide Semiconductor : CMOS) ซึ่งเป็นกล้องชนิดโมโนโครม (Monochromatic Camera) ส่งภาพเข้าสู่คอมพิวเตอร์โดยทำการรวมภาพถ่าย ซึ่งถ่ายด้วยแต่ละความยาวคลื่นเป็นลักษณะสเปกตรัมของภาพความสะท้อนของตัวอย่าง และ 3) สารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบการถ่ายภาพสเปกตรัมเป็นพลาสมอนิกเซนเซอร์เคลือบด้วยวัสดุทองคำที่สามารถพัฒนาสร้างเป็นไบโอเซนเซอร์ได้ ด้วยระบบที่สร้างและพัฒนาขึ้นนี้ มีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านการถ่ายภาพทางการแพทย์ สามารถทำให้ถ่ายภาพที่มีความละเอียดเชิงพื้นที่และความละเอียดเชิงพื้นที่ในการแยกแ่งเอกรงค์ ครอบคลุมความยาวคลื่นของสเปกตรัมตั้งแต่ช่วงแสงยูวี (Ultraviolet Light : UV) ช่วงที่ตามนุษย์มองเห็นได้ (Visible Spectrum) และอินฟราเรดสั้น (Near Infrared : NIR) ในช่วงต้นได้จากความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm

## 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นให้เลือกผ่านความยาวคลื่นของแสงเอกรงค์ ซึ่งสามารถถ่ายภาพระนาบฟูเรียร์ (Fourier Plane) หรือ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าระนาบโฟกัสหลังเลนส์ (Back Focal Plane : BFP)

1.2.2 ทดสอบกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นเพื่อหาความยาวคลื่นของแสงเอกรงค์ที่กระตุ้นการเกิดปรากฏการณ์พลาสมอนในการถ่ายภาพพลาสมาโมนิกเซนเซอร์ทองคำ โดยถ่ายภาพความสะท้อนของตัวอย่างในระนาบโฟกัสหลังเลนส์ในแต่ละความยาวคลื่นแสงเอกรงค์

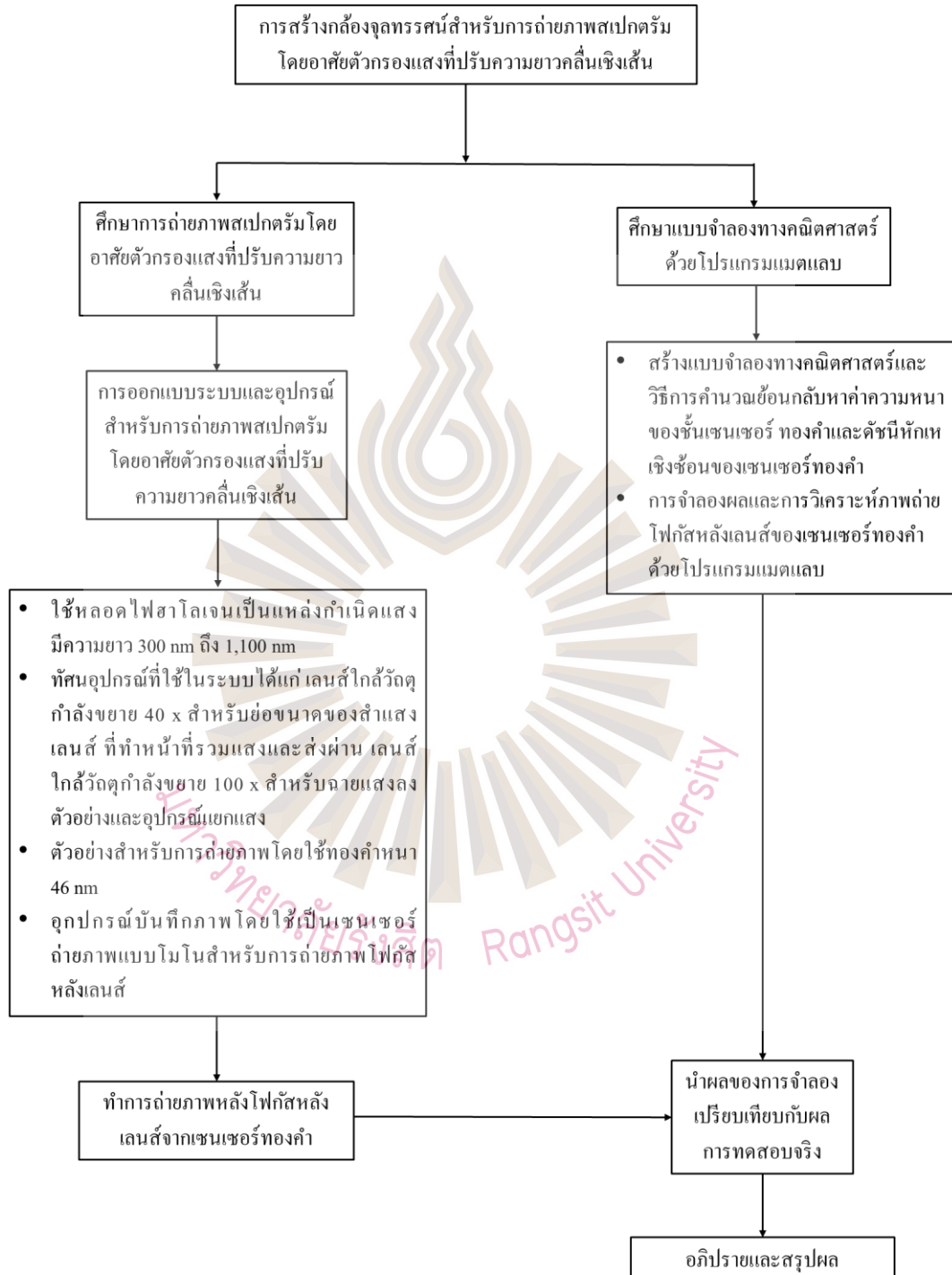
1.2.3 สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และวิธีการคำนวณย้อนกลับ เพื่อหาค่าความหนาของชั้นทองคำ มุมพลาสมอน และค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนของพลาสมาโมนิกเซนเซอร์

## 1.3 คำถามการวิจัย/สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 การสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นสามารถถ่ายภาพความสะท้อนเชิงสเปกตรัมจากตัวอย่าง โดยถ่ายได้จากระนาบโฟกัสหลังเลนส์ของเลนส์ใกล้วัตถุภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้หรือไม่

1.3.2 ภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ถ่ายได้สามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยแบบจำลองและคำนวณย้อนกลับหาค่าความหนาของชั้นพลาสมาโมนิกเซนเซอร์และค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมอนได้หรือไม่

## 1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1.1 ไคอะแกรมแสดงขั้นตอนการดำเนินงานการสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น

## 1.5 นิยามศัพท์

**สเปกตรัม (Spectrum)** คือ ช่วงความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ช่วงสเปกตรัมที่สามารถมองเห็นได้ คือ แสงขาวโดยมีความยาวคลื่นที่ต่ำไปหาความยาวคลื่นที่สูงตามลำดับดังนี้ สีม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง แสดหรือส้ม แดง

**ภาพถ่ายสเปกตรัม (Spectral Imaging)** คือ เป็นการถ่ายภาพโดยอาศัยหลักการของสเปกโตรสโกปีและการถ่ายภาพซึ่งข้อมูลของภาพอยู่ในรูปแบบ 3 มิติ ซึ่งประกอบไปด้วยรายละเอียดของภาพและความยาวคลื่นที่ถ่ายในแต่ละภาพ ( $I(x,y,\lambda)$ )

**สเปกโตรสโกปี (Spectroscopy)** คือ ศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับการกระทำของพลังงานของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่แผ่ออกมายังสสาร ความยาวคลื่นต่าง ๆ ของรังสีที่สสารหรือวัตถุดูดกลืนไว้ เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของสารหรือวัตถุนั้นดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีประโยชน์ในการใช้หาโครงสร้างของสารละลายตัวอย่าง

**โมนอโครเมเตอร์ (Monochromator)** คือ อุปกรณ์ฉายแสงแบบเอกรงค์ที่มีส่วนสำคัญในการกำหนดคุณภาพของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำหน้าที่แยกลำแสงที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องออกเป็นความยาวคลื่นเดียวโดยใช้อุปกรณ์แยกแสงซึ่งมีอุปกรณ์ดังต่อไปนี้ ปริซึม เกรตติง หรือ ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น

**แสงเอกรงค์ (Monochromatic Light)** คือ ความยาวคลื่นที่ต่อเนื่องกันถูกแยกด้วยโมนอโครเมเตอร์ให้เหลือเพียงความยาวคลื่นเดียวหรือลักษณะของแสงที่มีสีเดียว

**ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น (Linear Gradient Filter : LVF หรือ Continuous Variable Filter)** คือ ตัวกรองที่ใช้สำหรับกรองความยาวคลื่นแสงที่ส่งผ่านตำแหน่งต่าง ๆ ของตัวกรองแสง โดยที่แต่ละตำแหน่งบนตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นนั้น ถูกเคลือบด้วยวัสดุไดอิเล็กทริกบนแผ่นแก้ว โดยที่ชั้นวัสดุไดอิเล็กทริกที่เคลือบมีความหนาต่างกัน ส่งผลให้เมื่อแสงเกิดการแทรกสอดที่ไม่เท่ากันในแต่ละตำแหน่งของตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น จึงมีคุณสมบัติในการเลือกช่วงสเปกตรัมที่ต้องการตามตำแหน่งต่าง ๆ บนตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ซึ่งแต่ละตำแหน่งอนุญาตให้เพียงหนึ่งความยาวคลื่นแสงผ่าน

ไปได้เท่านั้น โดยมีความต่อเนื่องของสเปกตรัม และสามารถนำมาประยุกต์ใช้สร้างระบบ โมนิโทรมเตอร์สำหรับโครงการนี้

ความละเอียดเชิงพื้นที่ในการแยกแยะแอมพลิจูด (Wavelength Spatial Resolution :  $\Delta\lambda$ ) เมื่อ แสงผ่านอุปกรณ์แยกแอมพลิจูด เช่น เกรตติง ปริซึม หรือตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น แสงที่ผ่านอุปกรณ์เหล่านี้มีความกว้างเชิงสเปกตรัม (Spectral Bandwidth) ของกำลังแสงส่งผ่าน ซึ่ง ถ้าสเปกตรัมแคบในกรณีนี้แสงมีความเป็นแสงเอกรงค์ ในทางตรงข้ามถ้าสเปกตรัมกว้างแปลว่าเป็น แสงที่มีความยาวคลื่นอื่นออกมาด้วยไม่จัดว่าเป็นแสงเอกรงค์

ความละเอียดเชิงพื้นที่ของภาพ (Image Spatial Resolution :  $\Delta x, \Delta y$ ) คือ ความละเอียด ของภาพซึ่งสามารถแยกความแตกต่างวัตถุที่มีขนาดเล็ก หรือความสามารถแสดงผลพื้นที่แต่ละ จุดภาพ

ระนาบฟูเรียร์ (Fourier Plane) หรือระนาบโฟกัสหลังเลนส์เลนส์ (Back Focal Plane : **BFP**) คือ ระนาบที่แสงไม่เกิดเป็นภาพของตัวอย่าง ซึ่ง ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ได้กำหนดทิศของแสงที่ ผ่านเลนส์ เรียกว่า หน้าเลนส์ ดังนั้นระนาบนี้อยู่สลับกันกับระนาบตัวอย่าง ซึ่งมีความสัมพันธ์ คือ ภาพในระนาบนี้เป็นภาพที่ได้จากการแปลงฟูเรียร์ (Fourier Transform) ของภาพตัวอย่างผ่านเลนส์ ดังนั้นในทางแสงเลนส์เป็นอุปกรณ์แปลงฟูเรียร์จึงเรียกว่า ระนาบโฟกัสหลังเลนส์

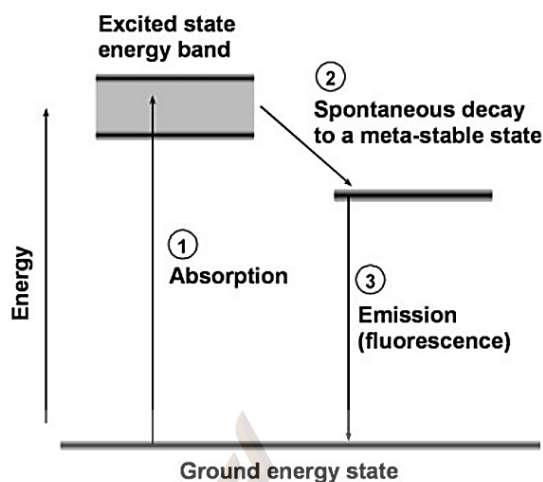
## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่อง การสร้างกล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น โดยผู้วิจัยได้กล่าวถึงหลักการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยสังเขปในบทที่ 1 ดังนั้นในบทนี้อธิบายเนื้อหาโดยละเอียดของพื้นฐาน หลักการของระบบสเปกโทรสโกปีสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า พูเรียร์ออฟติก วิธีการถ่ายภาพ และการเกิดการสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว ตามลำดับ

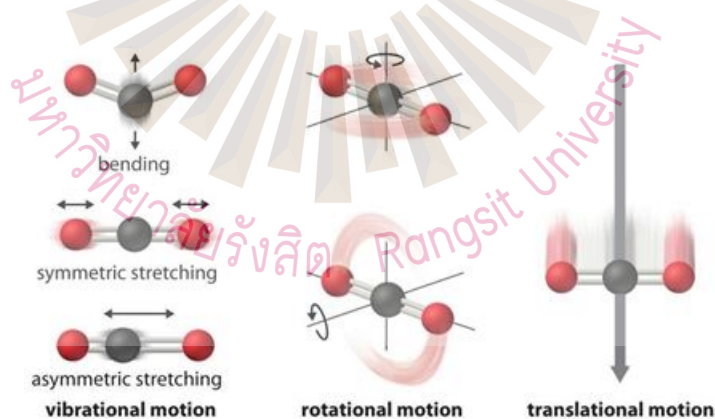
#### 2.1 หลักการสเปกโทรสโกปี

สเปกโทรสโกปี คือ ศาสตร์วิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับอันตรกิริยาระหว่างสสารกับแสง หรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Radiation) โดยการกระตุ้นอิเล็กตรอนให้เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน แสดงดังรูปที่ 2.1 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงพลังงานของอิเล็กตรอนเป็นไปได้ใน 3 ลักษณะ คือ การสั่นสะท้อน การหมุนของพันธะในโมเลกุล การเคลื่อนที่แบบเลื่อนที่ (Molecular ดังรูปที่ 2.2) เมื่อสสารเกิดอันตรกิริยากับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่แผ่ออกมายังสสาร โครงสร้างของสสารนั้นจะดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าไว้ ขึ้นอยู่กับการเคลื่อนที่เชิงเส้นและการหมุนของโมเลกุลของสสารนั้น (Nashif, Jones, & Henderson, 1985) ดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีประโยชน์ในการแยกแยะโครงสร้างของสสารตัวอย่างต่าง ๆ บ่งชี้คุณสมบัติของโมเลกุล สามารถใช้คำนวณหาความยาวพันธะ มุมพันธะ ความแข็งแรงของพันธะ และการเปลี่ยนแปลงภายในของโมเลกุล หรืออีกนัยหนึ่ง การตรวจสอบค่าของพลังงานที่เปลี่ยนไปของนิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุล พลังงานที่เปลี่ยนไปนี้เกิดจากการปล่อย (Emission) การดูดกลืน (Absorption) หรือการกระเจิง (Scattering) ของสสารเนื่องจากมีรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าตกกระทบ



รูปที่ 2.1 ภาพระดับพลังงาน หมายเลข 1 อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นจากสถานะพื้น (Ground State) ไปยังสถานะถูกกระตุ้น (Excited State) โดยการดูดพลังงาน (Absorption) จากโฟตอน หมายเลข 2 อิเล็กตรอนสลายพลังงานอย่างรวดเร็วโดยปรับระดับชั้นพลังงานให้มีความเสถียร (Meta - stable State) และหมายเลข 3 อิเล็กตรอนกลับสู่สถานะพื้นโดยการปลดปล่อยโฟตอน ซึ่งโฟตอนที่ถูกปล่อยออกมาทำให้เกิดการเรืองแสง (Fluorescence)

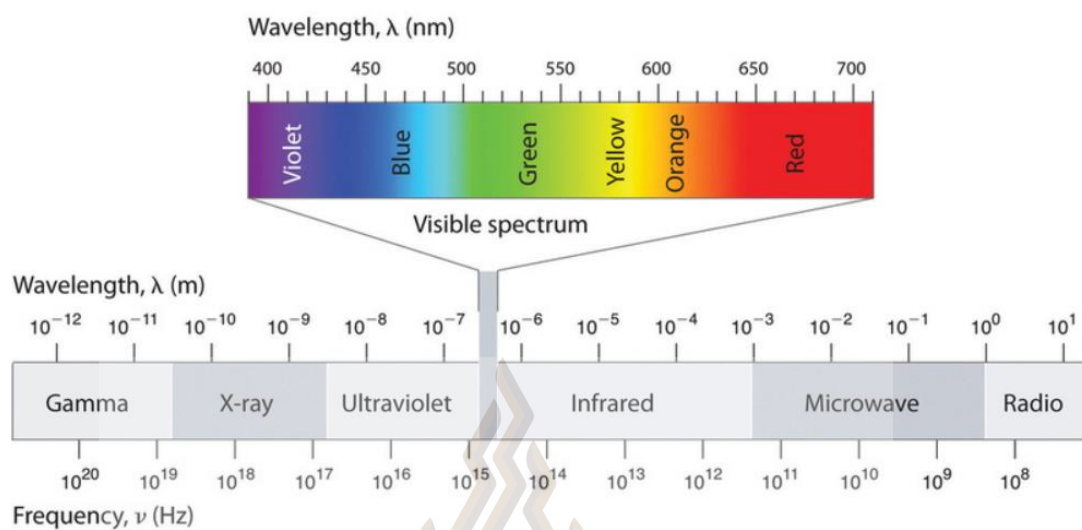
ที่มา: Garini et al., 2006



รูปที่ 2.2 แสดงการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในสสาร การสั่น (Vibrational Motion) การหมุน (Rotational Motion) และการเคลื่อนที่ (Translation Motion) เมื่อเกิดอันตรกิริยากับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

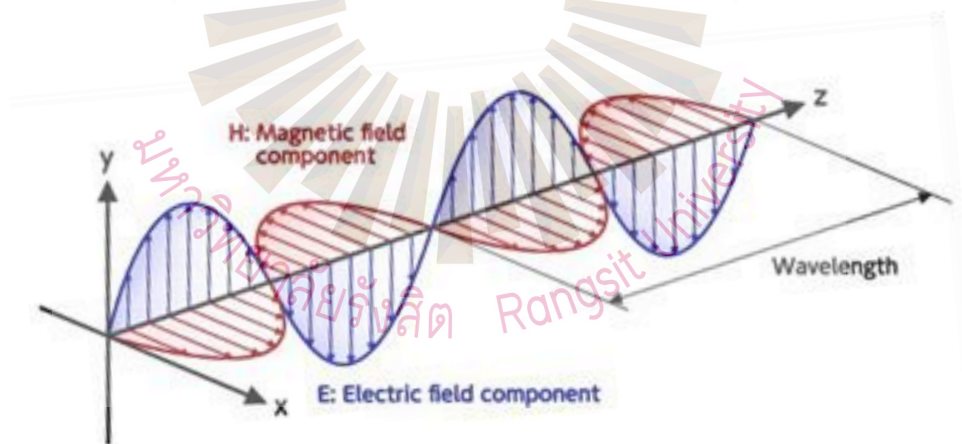
ที่มา: Anon, 2021

## 2.2 สเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Spectrum)



รูปที่ 2.3 สเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้าตั้งแต่ช่วงรังสีแกมมา (Gamma Ray) จนถึงช่วงไมโครเวฟ (Microwave) ขึ้นไป โดยส่วนที่ถูกขยายคือช่วงคลื่นที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า (Visible) ซึ่งมีความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 nm ถึง 700 nm

ที่มา: Anon, 2019.



รูปที่ 2.4 การเคลื่อนที่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ที่มา: Kazem, 2019

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Radiation) คือ พลังงานรูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้า ซึ่งเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกัน แต่อยู่ระนาบตั้งฉากกัน (Heald & Marion, 2012) ดังที่แสดงในรูปที่ 2.3 คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าสามารถแสดงคุณสมบัติได้ 2 ประการ



คือ สามารถเป็น ได้ทั้งคลื่นและอนุภาค (Wave - particle Duality) โดยสมบัติความเป็นคลื่น (Wave) มักพบได้ในปรากฏการณ์คลื่นต่าง ๆ เช่น การหักเหของแสง การสะท้อน และการแทรกสอด (Interference) การเลี้ยวเบน (Diffraction) เป็นต้น ส่วนสมบัติความเป็นอนุภาค (Particle) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เรียกว่า โฟตอน (Photon) เป็นอนุภาคที่ไม่มีมวลสามารถส่งผ่านพลังงานระหว่างอนุภาค ประจุ และสามารถส่งผ่านอันตรกิริยากับอนุภาคประจุอื่นได้ เช่น การแผ่รังสีของวัตถุดำ (Black Body Radiation) (Sheffield, Froula, Glenzer, & Luhmann Jr, 2010) โฟตอนที่มีความถี่สูงขึ้น มีพลังงานมากขึ้น ความสัมพันธ์นี้เป็นไปตามสมการของพลังค์ตามสมการที่ 2-1

$$E = h\nu \quad (2-1)$$

โดยที่  $E$  คือ พลังงานต่อ 1 โฟตอน หน่วยเป็น J  
 $h$  คือ ค่าคงที่ของพลังค์ มีค่า  $6.626 \times 10^{-34}$  J.s  
 $\nu$  คือ ความถี่ของโฟตอน หน่วยเป็น Hz

## 2.3 ฟูเรียร์ออปติก (Fourier Optics)

### 2.3.1 การเกิดระนาบโฟกัสหลังเลนส์ (Back Focal Plane : BFP)

จากระบบกล้องจุลทรรศน์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนั้นเป็นการถ่ายภาพแบบการเกิดระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่มีลักษณะเป็นแสงที่มีโพลาไรเซชันเชิงเส้นตรง (Linear Polarization) โดยอาศัยการจำลองด้วยสมการของเฟรสเนล (Fresnel Equations) ซึ่งเป็นการอธิบายถึงหลักการของแสงที่เคลื่อนที่ไปยังตัวกลางที่มีค่าดัชนีหักเหที่ต่างกันทำให้เกิดการสะท้อนและการหักเหของแสง และวิธีการคำนวณเมทริกซ์ส่งผ่าน (Transfer Matrix Approach) ซึ่งการอธิบายถึงหลักการที่แสงเกิดการสะท้อนและการหักเหในตัวกลางที่มีมากกว่า 2 ตัวกลางขึ้นไป ซึ่งสามารถคำนวณได้จากการสะท้อนของสนามไฟฟ้าที่มาจากโพลาไรเซชันแบบพี (P - Polarization) และโพลาไรเซชันแบบเอส (S - Polarization) เป็นไปตามสมการ 2-2 และ 2-3

$$r_p = \frac{n_i \cos \theta_i - n_t \cos \theta_t}{n_i \cos \theta_i + n_t \cos \theta_t} \quad (2-2)$$

$$r_s = \frac{n_i \cos \theta_t + n_t \cos \theta_i}{n_i \cos \theta_t - n_t \cos \theta_i} \quad (2-3)$$

โดยที่  $\theta_t$  คือ มุมหักเห หน่วย rad

$\theta_i$  คือ มุมตกกระทบ หน่วย rad

$n_i$  คือ ดัชนีหักเหของตัวกลางที่แสงตกกระทบตัวที่ 1

$n_t$  คือ ดัชนีหักเหของตัวกลางตัวที่ 2

$r_p$  คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อน (Reflection Coefficient : r) ของแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบที่

$r_s$  คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อนของแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบเอส

ในการคำนวณสัมประสิทธิ์การสะท้อนจากตัวอย่างที่มีโครงสร้างหลายชั้น (Multiple Layer) นอกจากการคำนวณสัมประสิทธิ์การสะท้อนของสองระนาบตัวกลางใด ๆ ดังที่แสดงในสมการที่ 2-2 และ 2-3 แล้ว ต้องอาศัยการคำนวณหาเฟสของการเคลื่อนที่ในแต่ละชั้นและคำนวณหาสัมประสิทธิ์การสะท้อนรวมของโครงสร้างด้วยวิธีการคำนวณเมทริกซ์ส่งผ่าน (Transfer Matrix Approach) หรือการคำนวณเมทริกซ์แบบการกระเจิง (Scattering Matrix Approach) ซึ่งสามารถอธิบายเป็นสมการสำหรับ โครงสร้าง 3 ชั้นดังที่แสดงในรูป 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงภาพโครงสร้างตัวอย่าง 3 ชั้นประกอบด้วย ชั้นที่ 1 เป็นแก้ว BK7 ซึ่งมีค่าดัชนีหักเห  $n_0$  เท่ากับ 1.52 ชั้นที่ 2 เป็นชั้น โลหะที่มีค่าดัชนีหักเห  $n_m$  และความหนา  $d_m$  และ ชั้นที่ 3 เป็นชั้นตัวอย่างซึ่งมี

ค่าดัชนีหักเห  $n_s$

ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

### 2.3.2 ขั้นตอนการคำนวณสัมประสิทธิ์การสะท้อนรวมของโครงสร้าง 3 ชั้น

2.3.2.1 คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อนระหว่างดัชนีหักเห  $n_0$  และ  $n_m$  สำหรับแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบพี  $r_{1p}$  และแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบเอส  $r_{1s}$  โดยใช้สมการที่ 2-2 และสมการที่ 2-3 ตามลำดับ

2.3.2.2 คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อนระหว่างดัชนีหักเห  $n_m$  และ  $n_s$  สำหรับแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบพี  $r_{2p}$  และแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบเอส  $r_{2s}$  โดยใช้สมการที่ 2-2 และสมการที่ 2-3 ตามลำดับ

2.3.2.3 คำนวณค่าเฟสของแสงที่เปลี่ยนไปภายในตัวกลางโลหะ  $\phi_m$  ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2-4

$$\phi_m = \exp\left(\frac{i2\pi n_0 d_m \cos \theta_m}{\lambda}\right) \quad (2-4)$$

โดยที่  $\phi_m$  คือ ค่าเฟสของแสงที่เปลี่ยนไปภายในตัวกลางโลหะ

$d_m$  คือ ความหนาของชั้นโลหะ

$\lambda$  คือ ค่าความยาวคลื่น มีหน่วย nm

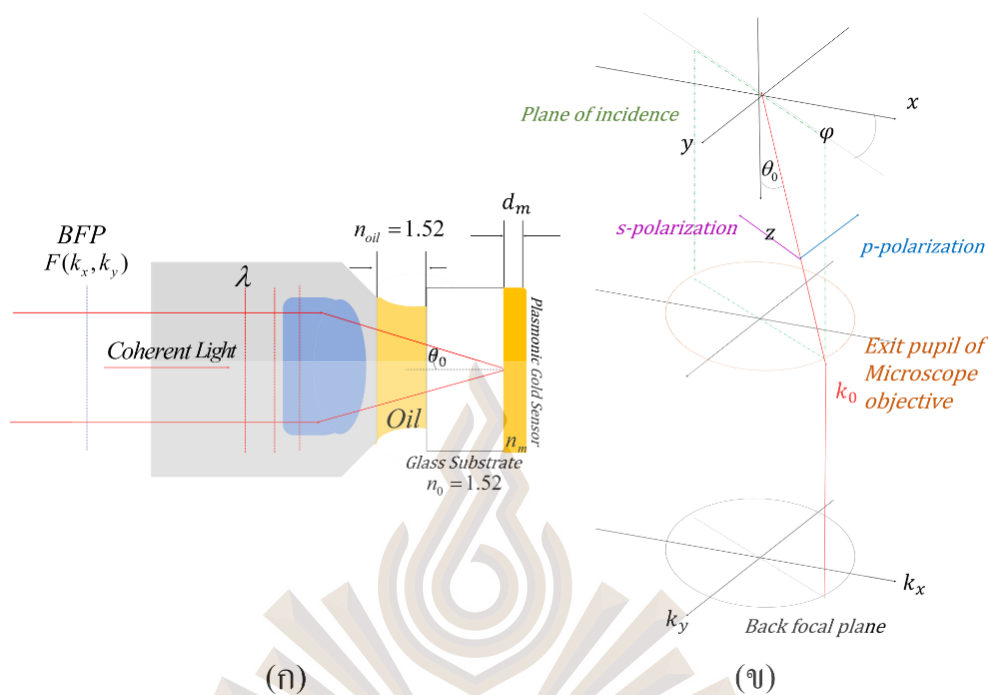
$\theta_m$  คือ มุมหักเหภายในโลหะซึ่งสามารถคำนวณได้จากกฎของสเนลล์ (Snell's Law) จากสมการที่ 2.5

2.3.2.4 คำนวณสัมประสิทธิ์การสะท้อนของโครงสร้างได้โดยใช้สมการที่ 2.5 และ 2.6 สำหรับแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบเอส และโพลาไรเซชันแบบพีตามลำดับ

$$r_s = \left(\frac{r_{1s} + r_{2s}\phi_m^2}{1 + (r_{1s}r_{2s}\phi_m^2)}\right) \quad (2-5)$$

$$r_p = \left(\frac{r_{1p} + r_{2p}\phi_m^2}{1 + (r_{1p}r_{2p}\phi_m^2)}\right) \quad (2-6)$$

ในกรณีที่โครงสร้างมีจำนวนชั้นมากกว่า 3 ชั้น สามารถเพิ่มจำนวนชั้นของสมการและคำนวณในลักษณะเดียวกับที่ได้อธิบายการคำนวณเมทริกซ์ส่งผ่านในข้างต้น โปรแกรมคำนวณสัมประสิทธิ์ของโครงสร้าง 3 ชั้น และโครงสร้าง 4 ชั้น แสดงไว้ในภาคผนวก ข.



รูปที่ 2.6 (ก) แสดงการเกิดระนาบโฟกัสที่หลัง โดยเลนส์ใกล้วัตถุแบบสะท้อน (เส้นประสีน้ำเงิน) ซึ่งแสงที่ผ่านนั้นทำการหักเหผ่านน้ำมัน ( $n_{oil}$ ) และแผ่นแก้วบาง ( $n_0$ ) ทำให้เกิดโฟกัสที่ผิวทอง ( $n_m$ ) ซึ่งมีความหนาเท่ากับ  $d_m$  (ข) การแสดงทิศการเกิดโพลาไรเซชันเชิงเส้นตรงของสนามไฟฟ้าจาก (ก) โดยที่แสงมีทิศทางการเคลื่อนที่ด้วยเวกเตอร์คลื่น ( $k_0$ ) เมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง

ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

จากรูปที่ 2.6 ก. แสงที่เข้าเลนส์ใกล้วัตถุนี้มีลักษณะเป็น แสงโคฮีเรนต์ (Coherent Light) ที่มีถูกทำให้มีหน้าคลื่นแบบสม่ำเสมอ เรียกว่า แสงขนาน (Collimated Light) โดยทำการฉายลงตัวอย่าง ทำให้เกิดทิศทางการเคลื่อนที่ของเวกเตอร์คลื่นที่ตกกระทบกับระนาบตกกระทบ (Plane of Incidence) ทำให้เกิดมุมตกกระทบ ( $\theta_i$ ) ตามแกน x ขณะเดียวกันก็ทำมุมตามแกน y ทำให้เกิด มุมแอสิมัท  $\varphi$  (Azimuthal Angle) และทิศทางของแสงโพลาไรเซชันนั้นก็ทำมุมกับระนาบตกกระทบ เช่นเดียวกันทำให้เกิดเป็นมุมโพลาไรเซชัน  $\psi$  (Polarization Angle) ดังรูปที่ 2.6 ข. เมื่อแสงที่มีถูกทำให้เป็นโพลาไรเซชันเชิงเส้นตรง ก็สามารถคำนวณภาพหลังโฟกัสได้ดังหัวข้อถัดไป

### 2.3.3 ขั้นตอนคำนวณภาพหลังโฟกัสโดยใช้สมการของเฟรสเนล

2.3.3.1 ในการคำนวณสร้างแบบจำลองภาพหลังระนาบโฟกัส มีตัวแปรที่ใช้ในการคำนวณได้แก่ ค่าความสามารถของเลนส์ (Numerical Aperture : NA) เท่ากับ 1.25 NA ค่าดัชนีหักเหของน้ำมัน ( $n_{oil}$ ) และค่าดัชนีหักเหของแก้วบาง ( $n_0$ ) มีค่าเท่ากับ 1.52 เท่ากัน

2.3.3.2 ทำการคำนวณหาค่าเวกเตอร์คลื่นทั้ง 3 แกน ได้ แกน x แกน y และ แกน z ทำให้ได้ค่า  $k_x$ ,  $k_y$  และ  $k_z$  โดยสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2-7 จากผังรูปที่ 2.6 ให้ค่าฟังก์ชันแค่  $k_x$  และ  $k_y$  จึงทำให้  $k_z$  มีค่าเท่ากับ 0

$$k_{x,max}, k_{y,max} = \frac{2\pi}{\lambda} NA = \frac{2\pi n_0}{\lambda} \sin \theta_{0,max} \quad (2-7)$$

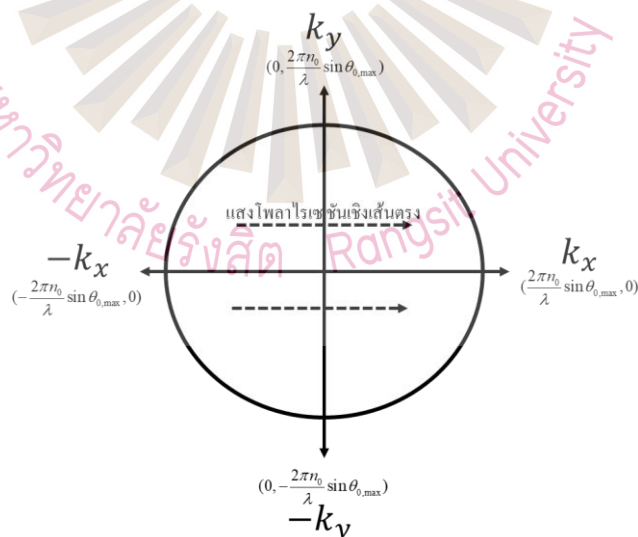
โดยที่  $k_{x,max}$  คือ ค่าเวกเตอร์คลื่นในแกน x มีหน่วย rad/m

$k_{y,max}$  คือ ค่าเวกเตอร์คลื่นในแกน y มีหน่วย rad/m

$\lambda$  คือ ค่าความยาวคลื่น มีหน่วย nm

NA คือ ค่าความสามารถในการเก็บแสงของเลนส์

$\sin \theta_{0,max}$  คือ มุมตกกระทบของเลนส์ที่สามารถทำมุมได้ มีหน่วย องศา



รูปที่ 2.7 ค่าเวกเตอร์คลื่นและแสงที่มีโพลาไรเซชันเชิงเส้นตรงที่ออกจากเลนส์ใกล้วัตถุ

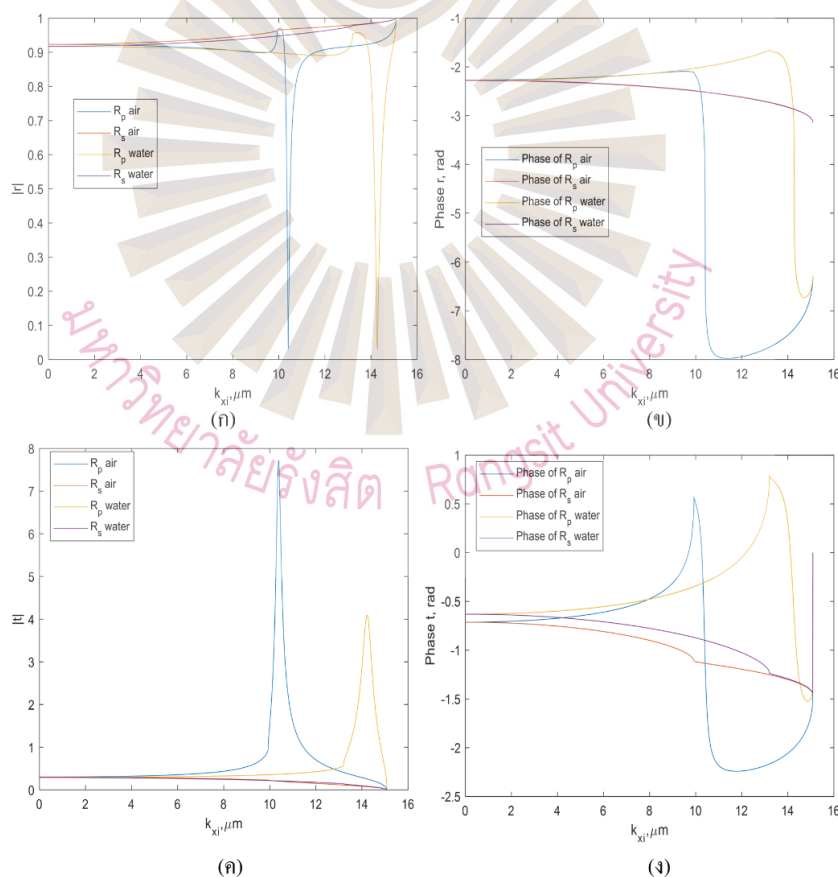
ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

2.3.3.3 ทำการหามุมตกกระทบในแต่ละเวกเตอร์คลื่น ดังรูปที่ 2.6 โดยที่  $\sin \theta_0$  สามารถคำนวณหาได้จากสมการที่ 2-8

$$\sin \theta_0 = \sqrt{\frac{k_x^2 + k_y^2}{\frac{2\pi n_0}{\lambda}}} \quad (2-8)$$

โดยที่  $\sin \theta_0$  คือ มุมที่ตกกระทบในแต่ละเวกเตอร์คลื่น มีหน่วย องศา

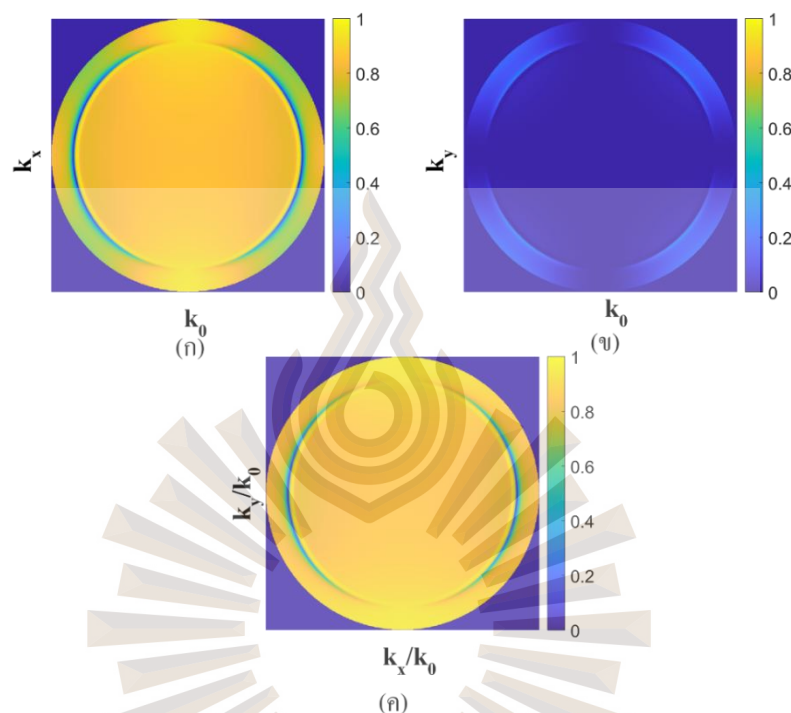
2.3.3.4 ทำการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อน ของโพลาริเซชันแบบพี และโพลาริเซชันแบบเอส โดยคำนวณด้วยสมการของเฟรสเนลและวิธีการคำนวณเมทริกซ์ส่งผ่าน ได้ค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อนดังที่แสดงในรูปที่ 2.8 ดังสมการที่ 2.2 และ 2.3



รูปที่ 2.8 แสดง (ก)  $|r_p|$  (ข) เฟสของ  $r_p$  (ค)  $|r_s|$  (ง) เฟสของ  $r_s$  สำหรับตัวอย่างทองคำหน้า 45 nm โดยทำการจำลองวัดที่ อากาศและน้ำ ทำให้เกิดมุมพลาสมอนที่ต่างกัน

ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

2.3.3.5 จากนั้นคำนวณหาสนามไฟฟ้าในแกน x และแกน y ในกรณีกล้องจุลทรรศน์มีโพลาไรเซชันแบบเส้นตรง มุมโพลาไรเซชัน  $\psi$  มีค่าเท่ากับมุมแอสิมัท  $\phi$  โดยใช้สมการที่ 2-9 และ 2-10 โดยที่ภาพที่ถ่ายได้จากระนาบโฟกัสหลังเลนส์เป็นไปตามสมการที่ 2-11



รูปที่ 2.9 ภาพการจำลองภาพ โฟกัสหลังเลนส์ (ก) ภาพการจำลองภาพ โฟกัสหลังเลนส์ที่แกน x (ข) ภาพการจำลองภาพ โฟกัสหลังเลนส์ที่แกน y (ค) ภาพการจำลองภาพ โฟกัสหลังเลนส์ทั้งแกน x และ y ดังสมการที่ 2-11

ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

$$BFP_x = (r_p * \cos(\psi) * \cos(\phi)) + (r_s * \sin(\phi) * \sin(\psi)) \quad (2-9)$$

$$BFP_y = (r_p * \cos(\psi) * \cos(\phi)) - (r_s * \sin(\phi) * \sin(\psi)) \quad (2-10)$$

$$BFP = |BFP_x|^2 + |BFP_y|^2 \quad (2-11)$$

โดยที่  $r_p$  คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อนของแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบพี

$r_s$  คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อนของแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบเอส

$BFP_x$  คือ ภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่คำนวณได้จากแกน x

$BFP_y$  คือ ภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่คำนวณได้จากแกน y

$BFP$  คือ ผลรวมภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ที่คำนวณได้จากทั้งสองแกน

นอกจากนี้ภาพของระนาบหลังโฟกัสยังมีความสอดคล้องกับการคำนวณหาภาพของระนาบระนาบโฟกัสหน้า (Front Focal Plane : FFP) ซึ่งเป็นระนาบที่แสงตัดกันจริงเกิดเป็นภาพของการแสดงตัวอย่างภาพ โดยสามารถบันทึกภาพได้ด้วยกล้องดิจิทัล จากความสัมพันธ์ฟูเรียร์ย้อนกลับ (Inverse Fourier Transform) โดยที่ความสัมพันธ์ระหว่างระนาบโฟกัสหน้าและโฟกัสหลังเลนส์เป็นตามสมการดัง 2-10 ถึง 2-16

$$E_x(x, y) = \int_{k_x=-k_{x,\max}}^{k_{x,\max}} \int_{k_y=-k_{y,\max}}^{k_{y,\max}} BFP_x(k_x, k_y) \exp(ik_x + ik_y) dx dy \quad (2-12)$$

$$E_x(x, y) = F^{-1}\{BFP_x(k_x, k_y)\} \quad (2-13)$$

$$E_y(x, y) = \int_{k_x=-k_{x,\max}}^{k_{x,\max}} \int_{k_y=-k_{y,\max}}^{k_{y,\max}} BFP_y(k_x, k_y) \exp(ik_x + ik_y) dx dy \quad (2-14)$$

$$E_y(x, y) = F^{-1}\{BFP_y(k_x, k_y)\} \quad (2-15)$$

$$I(x, y) = |E_x(x, y)|^2 + |E_y(x, y)|^2 \quad (2-16)$$

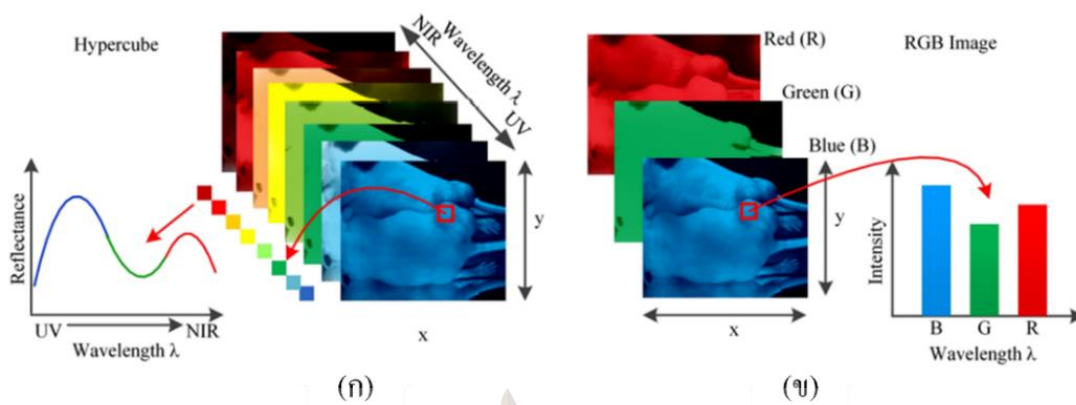
โดยที่  $E_x(x, y)$  คือ ฟังก์ชันฟูเรียร์ของความเข้มแสงในแกน x  
 $E_y(x, y)$  คือ ฟังก์ชันฟูเรียร์ของความเข้มแสงในแกน y  
 $I(x, y)$  คือ ฟังก์ชันฟูเรียร์ในการเกิดภาพ

## 2.4 ระบบและการถ่ายภาพสเปกตรัม

### 2.4.1 ภาพสเปกตรัม

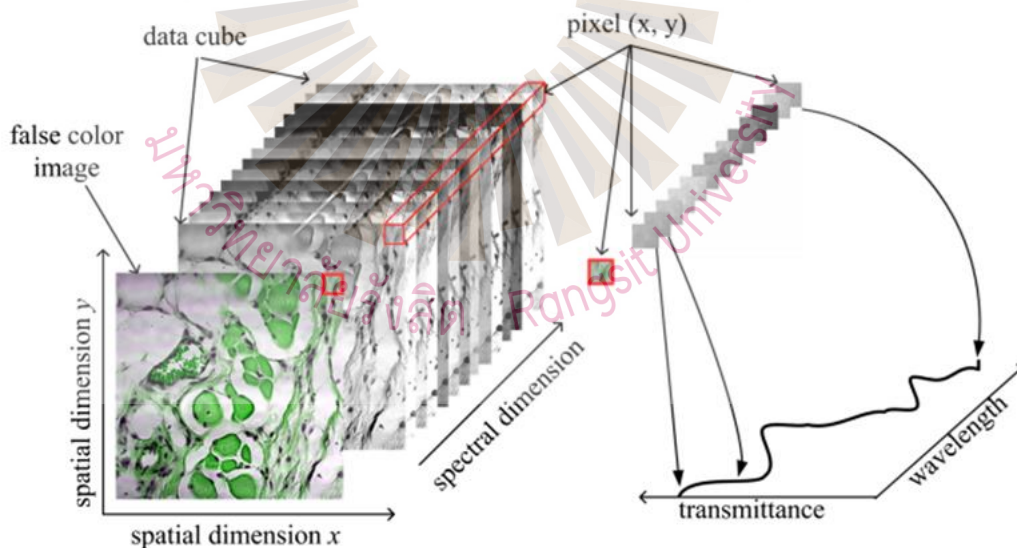
การถ่ายภาพสเปกตรัมเป็นการรวมหลักการของสเปกโทรสโกปีและการถ่ายภาพ ในขณะที่การถ่ายภาพนั้น ให้ข้อมูลแบบพิกเซลของภาพ  $I(x, y)$  และสเปกโตรมิเตอร์เป็นการวัดความยาวคลื่น  $I(\lambda)$  แต่การถ่ายภาพสเปกตรัมกลับให้ความยาวคลื่นในแต่ละพิกเซล  $I(x, y, \lambda)$  ทำให้ชุดข้อมูลอยู่ในรูปแบบของ 3 มิติ และสามารถดูข้อมูลได้แบบลูกบาศก์ของข้อมูลได้ทั้งนี้สามารถพิจารณา  $I(x, y, \lambda)$  (Goetz, Vane, Solomon, & Rock, 1985) ที่เกิดจากการรวมภาพที่แต่ละความยาวคลื่นในแต่ละภาพพิกเซลดังรูปที่ 2.10 ก. และ รูปที่ 2.11 ซึ่งเปรียบเทียบกับกรณีการถ่ายภาพด้วยระบบ 3 สี RGB ดังที่แสดงในรูปที่ 2.10 ข.





รูปที่ 2.10 การเปรียบเทียบระหว่างภาพถ่ายสเปกตรัม (ก) ตั้งช่วงความยาวคลื่น UV จนถึง NIR และการถ่ายภาพแบบ RGB (ข) โดยเป็นชุดข้อมูลแบบสามมิติ ภายในชุดข้อมูลประกอบไปด้วยความละเอียดของภาพ  $I(x,y)$  ซึ่งในแต่ละภาพนั้นถูกถ่ายด้วยความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบความต่อเนื่องของความยาวคลื่น การถ่ายภาพสเปกตรัมให้ความต่อเนื่องของความยาวคลื่นได้ดีกว่าการถ่ายภาพแบบ RGB

ที่มา: Lu & Fei, 2014

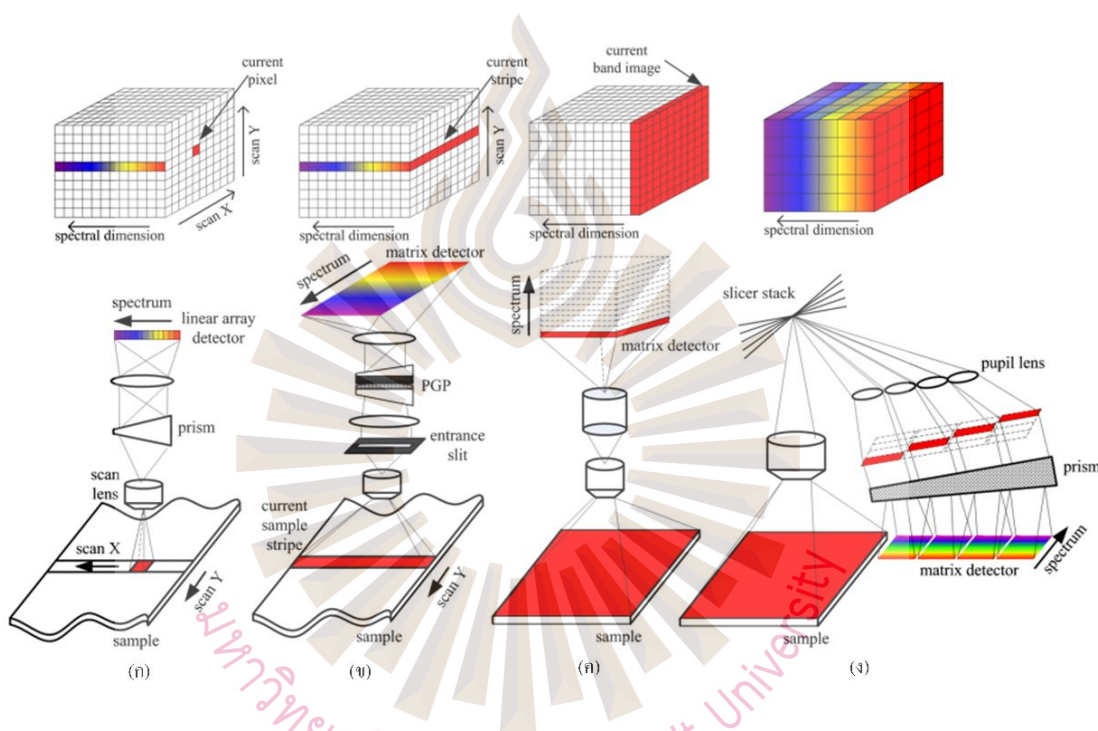


รูปที่ 2.11 การอธิบายถึงข้อมูลของภาพถ่ายสเปกตรัมในรูปแบบของสามมิติ ได้มาจากฟิสิกเซลในหนึ่งภาพถ่ายในขณะที่ถ่ายภาพในทุกๆความยาวคลื่น

ที่มา: Li et al., 2013

## 2.4.2 วิธีการถ่ายภาพแบบสเปกตรัม

ในการเก็บภาพถ่ายสเปกตรัมนั้นต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขในการใช้อุปกรณ์ที่มีความละเอียดเชิงพื้นที่ในการแยกแยะเอกรงค์และความละเอียดเชิงพื้นที่ของภาพสูง ซึ่งอุปกรณ์ที่มักใช้บันทึกภาพนั้นมักเป็นกล้องซีซีดี (Charge Coupled Device : CCD) หรือกล้องซีมอสทำให้ข้อมูลภาพนั้นอยู่ในรูปแบบสองมิติ โดยมีวิธีการถ่ายภาพดังวิธีการต่อไปนี้



รูปที่ 2.12 วิธีการถ่ายภาพสเปกตรัมโดยมีวิธีดังนี้ (ก) การถ่ายภาพแบบจุดต่อจุด (ข) การถ่ายภาพแบบจุดต่อจุด (ค) การถ่ายภาพแบบสแกนเชิงเส้น (ง) การถ่ายภาพแบบสแกนพื้นที่

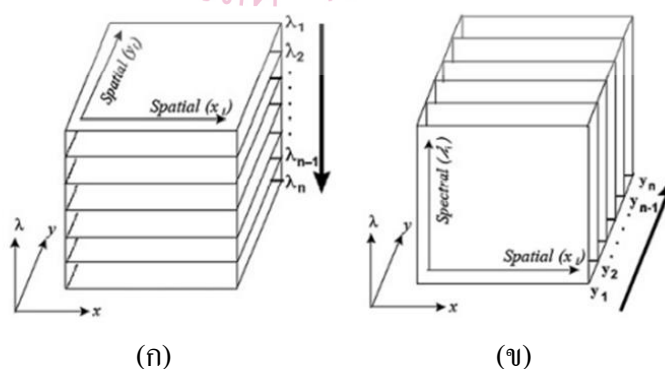
ที่มา: ปรับปรุงจาก Li et al., 2013

2.4.2.1 การถ่ายภาพแบบจุดต่อจุด (Point-scan Imaging) เป็นการถ่ายภาพแบบใช้ตัวกรองเอกรงค์แบบปริซึมทำให้ภาพที่ได้นั้นมีคุณภาพแสงที่ไม่ดีเท่าที่ควร ด้วยวิธีการนี้จึงใช้การสแกนแบบสแกนทีละพิกเซลเพื่อทำให้การถ่ายภาพสเปกตรัมที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น นอกจากนี้ อุปกรณ์สำหรับตรวจพบความยาวคลื่น ยังสามารถตรวจจับภาพตัวอย่างสำหรับแต่ละความยาวคลื่น โดยข้อมูลถูกบันทึกไว้โดยใช้เซนเซอร์ขนาดเล็กซึ่งสามารถเคลื่อนย้ายได้ เพื่อสะดวกต่อการ

ตรวจจับความเข้มแสงบนตัวอย่างต่อเนื่องทุกจุดครอบคลุมทั้งภาพ (Chao, Mehl, & Chen, 2002) ภาพถูกบันทึกด้วยขั้นตอนการสแกนสองครั้ง โดยครั้งที่ 1 คือโดเมนความยาวคลื่น

ครั้งที่ 2 โดเมนเชิงพื้นที่  $(x,y)$  การออกแบบนี้มักใช้สำหรับการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ ด้วยการเคลื่อนย้ายตัวอย่างอย่างเป็นระบบในสองมิติเชิงพื้นที่ จึงสามารถรับภาพได้อย่างละเอียด แต่อย่างไรก็ตามวิธีการถ่ายภาพแบบนี้ใช้เวลาและหน่วยความจำในการบันทึกข้อมูลที่สูงเช่นเดียวกันดังแสดงในรูปที่ 2.12 ก.

2.4.2.2 การถ่ายภาพแบบสแกนเชิงเส้น (Line-scan Imaging) การถ่ายภาพด้วยอุปกรณ์สแกนเชิงเส้นนั้น ทำการบันทึกภาพทั้งบรรทัดแทนที่การบันทึกภาพเดี่ยวแบบที่ละพิกเซล โดยใช้เกรตติงและอุปกรณ์ถ่ายภาพ เมื่อทำการถ่ายภาพรูปแบบการสแกนภาพเป็นแบบเส้นบนแถวพิกเซลบนตัวอย่าง (Keith, 2020) ทั้งนี้ความยาวคลื่นที่ทำการบันทึกแต่ละจุดบนเส้นถูกบันทึกไปพร้อมกับการถ่ายภาพเช่นเดียวกัน ดังนั้นภาพถ่ายสเปกตรัมจึงมีความยาวคลื่นที่แน่นอนไม่เกิดการคลาดเคลื่อน นอกจากนี้เครื่องมือต้องมีช่องรับแสงทางเข้าเพื่อทำให้ขณะถ่ายภาพเกิดการโฟกัสภาพที่ตัวอย่าง ดังนั้นตัวอย่างที่ถูกถ่ายภาพบนช่องรับแสงถูกบันทึกเป็นฟังก์ชันของสเปกตรัมทั้งหมดและตำแหน่งบนตัวอย่างดังที่แสดงในรูปที่ 2.12 ข. การถ่ายภาพแบบกราดเชิงเส้นนั้นมี 2 วิธีได้แก่ การสแกนตามความยาวคลื่น (Wavelength-scanning Mode) จากรูปที่ 2.13 ก. เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้เพื่อให้ได้ลำดับมิติของภาพนั้นเกิดตามความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน และการสแกนเชิงพื้นที่ (Spatial-scanning Mode) (Meyers, Ferreira, Fomitchov, & Filkins, 2011) ซึ่งทำการเคลื่อนตัวอย่างในแต่ละครั้ง ดังที่แสดงในรูปที่ 2.13 ข. ภาพที่ทำการถ่ายมีความละเอียดของพิกเซลมากกว่าการสแกนตามความยาวคลื่น วิธีการนี้เหมาะสมกับแสดงภาพแบบเวลาจริง (Kim, Chen, & Mehl, 2001)



รูปที่ 2.13 การแสดงวิธีการถ่ายสแกนเชิงเส้น จากลูกศรเป็นการบ่งบอกถึงตำแหน่งที่เปลี่ยนในการถ่ายภาพแต่ละครั้ง (ก) การสแกนความยาวคลื่น (ข) การสแกนเชิงพื้นที่

ที่มา: Li et al., 2013

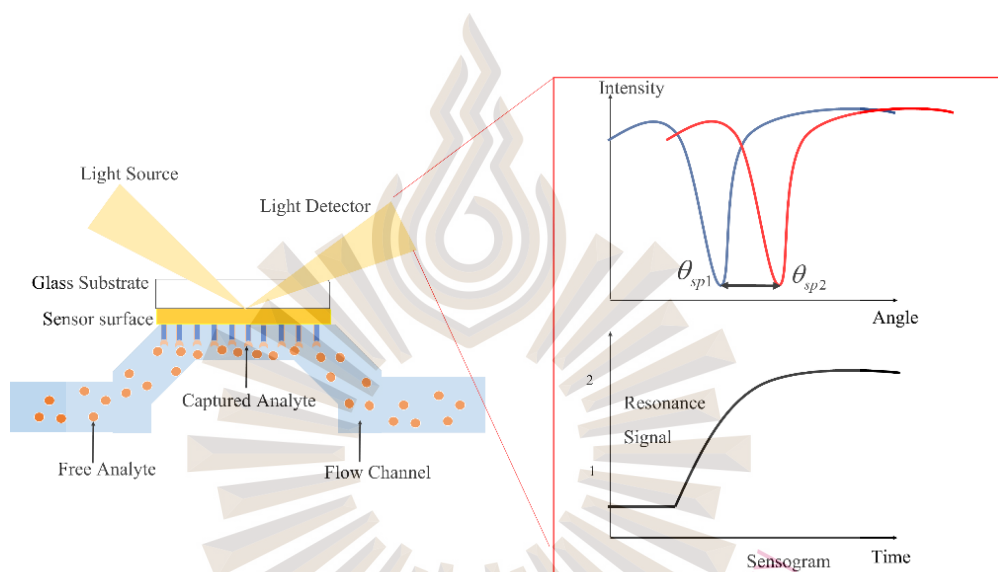
2.4.2.3 การถ่ายภาพแบบสแกนพื้นที่ (Area - scanning Imaging) อุปกรณ์ถ่ายภาพถ่ายในระนาบขนานกับพื้นผิวของตัวอย่าง ดังที่แสดงในรูปที่ 2.12 ค. โดยทำการสแกนโดเมนสเปกตรัม และทำการบันทึกภาพในแต่ละความยาวคลื่น วิธีการนี้อาศัยอุปกรณ์ตัวกรองแสงเอกรงค์ ได้แก่ เช่น ตัวกรองแสงแบบผลึกเหลว (Liquid Crystal Tunable Filter : LCTF) ตัวกรองแสงแบบอะคูสติก - ออปติก (Acousto - Optic Tunable Filters : AOTF) วิธีการนี้ถูกสร้างเพื่อใช้แทนการถ่ายภาพด้วยแสงแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Qin, Chao, & Kim, 2010) ซึ่งตัวอย่างถูกกระตุ้นให้เกิดการเรืองแสงโดยการเปลี่ยนความยาวคลื่นโดยอุปกรณ์ตัวกรองแสงเอกรงค์ที่สามารถปรับเปลี่ยนช่วงความยาวคลื่นได้ แต่วิธีการถ่ายภาพแบบสแกนพื้นที่นั้นอาจสร้างความเสียหายให้กับตัวอย่างที่เป็นสารจำพวกชีวภาพได้ เนื่องจากความร้อนที่เกิดจากไฟส่องสว่างอย่างต่อเนื่องจากแหล่งกำเนิดในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการนี้ในการสร้างอุปกรณ์กล้องจุลทรรศน์เพื่อถ่ายภาพสเปกตรัม

2.4.2.4 การถ่ายภาพฉับไว (Snapshot) การถ่ายภาพฉับไวเป็นวิธีการถ่ายภาพโดยทำการบันทึกทั้งข้อมูลเชิงพื้นที่และความยาวคลื่นบนอุปกรณ์ตรวจจับด้วยการถ่ายภาพเพียงครั้งเดียว (Single-shot) (Weitzel et al., 1996) จากรูปที่ 2.12 ง เป็นเทคนิคที่ไม่อาศัยการสแกน ด้วยเหตุนี้วิธีการนี้ถูกสร้างมาเพื่อแก้ปัญหาของการถ่ายภาพแบบสแกนเชิงเส้นและการถ่ายภาพแบบสแกนพื้นที่ แต่การบันทึกภาพของวิธีการนี้มีข้อจำกัดคือความละเอียดเชิงพื้นที่ของสเปกตรัม เนื่องจากจำนวนพิกเซลในกล้องซีซีดีทั้งหมดต้องไม่เกินขนาดความกว้างของภาพในแต่ละความยาวคลื่น ดังนั้นสำหรับกล้องซีซีดีจึงแก้ปัญหานี้ด้วยการทำการเลือกพื้นที่บริเวณตัวอย่างที่สนใจ (Region of Interest : ROI) ในการถ่ายภาพให้มีความเหมาะสมกับขนาดของกล้อง (Li et al., 2013)

## 2.5 การเกิดการสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว (Surface Plasmon Resonance : SPR)

เมื่อแสงมีโพลาไรเซชันแบบพีสะท้อนจากปริซึมซึ่งมีเซนเซอร์ฟิล์มโลหะบางในระดับนาโนอยู่บนปริซึม แสงสะท้อนจากฟิล์มโลหะบางมีมุมตกกระทบบางช่วงซึ่งความเข้มแสงนั้นหายไปหรือลดน้อยลง ตำแหน่งที่แสงสะท้อนหายไปหรือลดลงนี้เรียกว่า เรียกว่า มุมพลาสมอน (Plasmonic Angle :  $\theta_{sp}$ ) ปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นเนื่องจากเมื่อโฟตอนของแสงที่มีโพลาไรเซชันแบบพีกระตุ้นอิเล็กตรอนบน โลหะบางทำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนซึ่งเป็นการสั่นพ้องของความถี่ธรรมชาติของอิเล็กตรอนและความถี่ของแสงตกกระทบ ความเข้มของแสงสะท้อน ณ ตำแหน่งมุมตกกระทบที่กระตุ้นให้เกิดการสั่นพ้องสูญเสียความเข้มของแสงไปเนื่องจากกระบวนการกระตุ้นการสั่นพ้องของคลื่นพลาสมอนพื้นผิว (Homola, 1999) ดังแสดงในรูปที่ 2.14 ซึ่งมักนิยมใช้เป็น

ทองคำ เนื่องจากเป็น โลหะที่นำไฟฟ้าได้ดีและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Harté, 2014 ) อีกทั้งยังเสถียรไม่เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) ได้ง่าย (Jung, 1998 ) โดยกระบวนการกระตุ้นพลาสมอนบนพื้นผิวขึ้นอยู่กับดัชนีหักเหของตัวกลางด้านบนของพื้นผิวโลหะเมื่อดัชนีหักเหบนพื้นผิวโลหะเปลี่ยนไปมมพลาสมอนก็เปลี่ยนไปด้วย เช่น เมื่อมีโปรตีนมาเกาะอยู่บนพื้นผิวของเซนเซอร์ทำให้เซนเซอร์มีค่าดัชนีหักเหสูงขึ้นทำให้มมพลาสมอนนั้นเลื่อนไปที่ตำแหน่งมมที่สูงขึ้นดังที่แสดงในรูปที่ 2.14 วิธีการนี้จึงนิยมใช้ในการประดิษฐ์เซนเซอร์ทางชีวการแพทย์ (Shankaran, 2007) โดยไม่อาศัยการติดฉลาก (Label - free sensor)



รูปที่ 2.14 ปฏิกิริยาระหว่าง โมเลกุลบนพื้นผิวเซนเซอร์ และคู่จับในสารละลาย จะได้รับการตรวจสอบแบบทันทีโดยวิธีการ SPR จากนั้น ใช้การสะท้อนแสงเพื่อวัดการเปลี่ยนระหว่างโมเลกุลบนพื้นผิวเซนเซอร์ และทำให้ความเข้มของแสงสะท้อนที่มุม  $\theta_{sp}$  พื้นผิวเซนเซอร์ลดลง เมื่อโมเลกุลจับตัวกัน ดัชนีหักเหของแสงใกล้กับพื้นผิวจะเปลี่ยนไป ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในมมที่มีความเข้มแสงสะท้อนต่ำสุดซึ่งตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของมมตามฟังก์ชันของเวลา

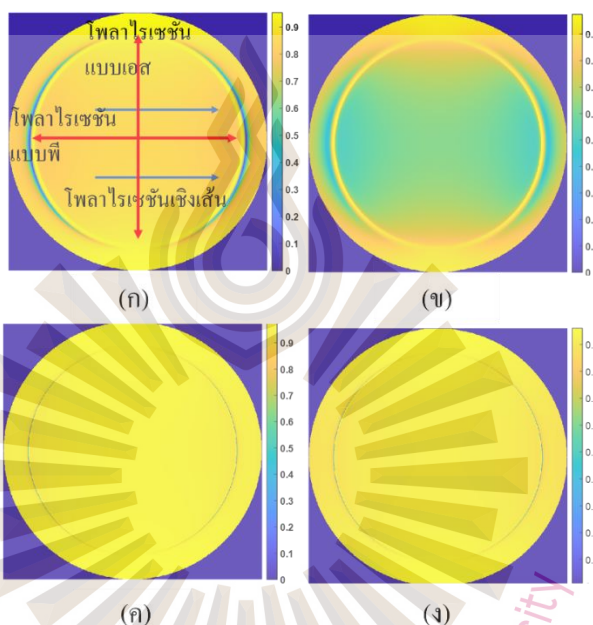
ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

จากรูปที่ 2.15 สังกัดได้ว่าขนาดของมมพลาสมอนในแต่ละความยาวคลื่นแสงแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากค่าความยินยอมเชิงซ้อน (Complex Permittivity:  $\epsilon$ ) ของโลหะในแต่ละความยาวคลื่นแตกต่างกันดังที่แสดงในรูปที่ 2.16 สำหรับทองคำ โดยความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีหักเหและความยินยอมเป็นไป ดังที่แสดงในสมการที่ 2-17

$$\varepsilon = n^2 \quad (2-17)$$

โดยที่  $n$  คือ ค่าดัชนีหักเห ซึ่งไม่มีหน่วย

$\varepsilon$  คือ ค่าความยินยอมเชิงซ้อน ซึ่งไม่มีหน่วย

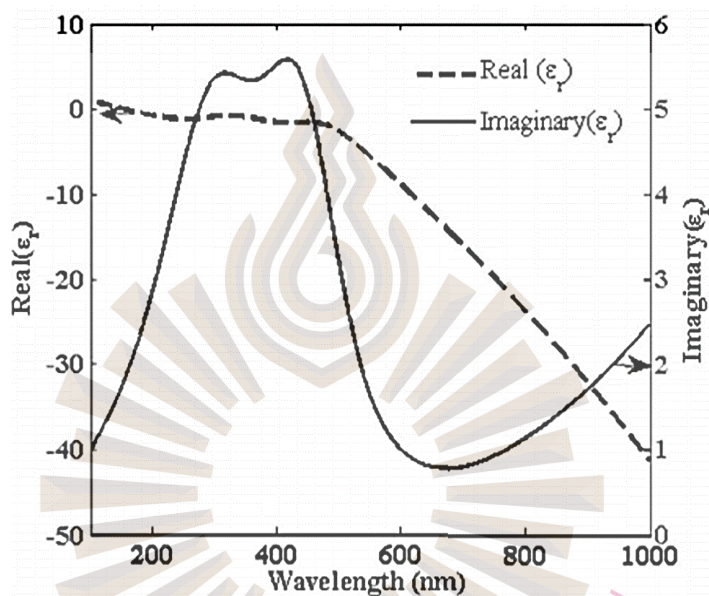


รูปที่ 2.15 แสดงผลการจำลองภาพโฟกัสหลังเลนส์สำหรับเลนส์ใกล้วัตถุที่มีค่า NA 1.25 เมื่อแสงตกกระทบบนโพลาไรเซชันเส้นตรงตามแนวแกน x (ก) สำหรับทองคำหนา 46 nm และความยาวคลื่นตกกระทบบน 633 nm (ข) สำหรับทองคำหนา 25 nm และความยาวคลื่นตกกระทบบน 633 nm (ค) สำหรับทองคำหนา 46 nm และความยาวคลื่นตกกระทบบน 1,100 nm และ (ง) สำหรับทองคำหนา 46 nm มีชั้นยึดติด (Adhesion Layer) ระหว่างทองคำและแก้วเป็นชั้นโครเมียม (Chromium : Cr) หนา 2 nm และความยาวคลื่นตกกระทบบน 1,100 nm

ที่มา: ผู้วิจัย, 2564

ในทางวิศวกรรมทัศนูปกรณ์มุมพลาสมอนนั้นสามารถวัดได้บนระนาบโพกัสหลังเลนส์ซึ่งหากใช้โพลาไรเซชันเชิงเส้นจะทำให้สามารถวัดปรากฏการณ์การสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิวได้ชัดเจน อีกทั้งยังสามารถเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่มีพลาสมอนตามแนวทิศทางของแสงที่ไม่มีโพลาไรเซชันแบบที่อีกด้วย ดังที่แสดงในรูปที่ 2.16 ซึ่งจากภาพเห็นได้ว่าตามแนวแกน x ซึ่งมีโพลาไร

เซชันแบบพีมีการลดลงของกำลังแสงอย่างชัดเจนเกิดมูมพลาสมอน แต่ตามแนวแกน  $y$  ซึ่งมีโพลาไรเซชันแบบเอสไม่มีการลดลงของกำลังแสงเลย ทั้งนี้ความกว้างของมูมพลาสมอนที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับความหนาของชั้นโลหะ ชั้นยึดติดและความยาวคลื่นตกกระทบ ซึ่งในโครงการวิจัยนี้ศึกษาการจัดเรียงกล้องจุลทรรศน์เพื่อถ่ายภาพสเปกตรัมของเซนเซอร์แบบพลาสมอนและวัดปริมาณค่าต่างๆ ของเซนเซอร์ก่อนนำเซนเซอร์ไปใช้งานจริง



รูปที่ 2.16 แสดงค่าส่วนจริงและส่วนจินตภาพของค่าความยินยอมเชิงซ้อนของทองคำ

ในแต่ละความยาวของคลื่นแสงตกกระทบ

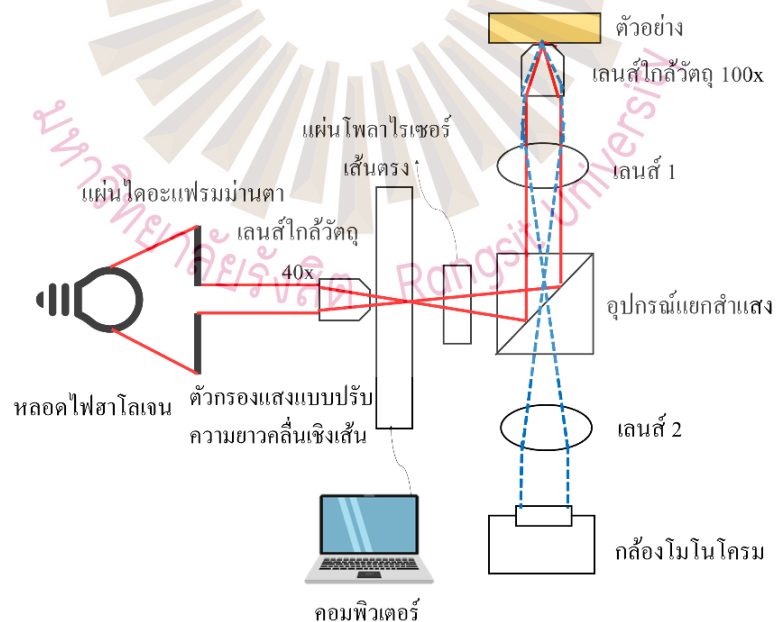
ที่มา: Attaran, 2014

### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีการวิจัย

การสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ซึ่งให้แสงที่ความต่อเนื่องของความยาวคลื่น เพื่อนำมาใช้ถ่ายภาพ โฟกัสหลังเลนส์ของพลาสติกโมนิกไบโอเซนเซอร์ สามารถใช้วัดความยาวคลื่นที่กระตุ้นการสั่นพ้องของพลาสติกโมนิกบนพื้นผิว มุมที่เกิดพลาสติกมอน วัดความหนา และ คำนวณค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนของโลหะพลาสติกโมนิกได้ โดยอาศัยสมการของเฟรสเนล การคำนวณเมทริกซ์ย้อนกลับ และการคำนวณภาพโฟกัสหลังเลนส์ดังที่ได้อธิบายโดยละเอียดในบทที่ 2 โดยงานวิจัยนี้มีวิธีการดำเนินการดังนี้ โดยกล้องจุลทรรศน์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้สามารถถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ได้ด้วยการสแกนด้วยความยาวคลื่น (Wavelength Scanning) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพของไบโอเซนเซอร์แบบเซอร์เฟสพลาสติกมอน

#### 3.1 การออกแบบทางเดินแสงสำหรับกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 3.1 แสดงระบบกล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ของการสะท้อนของตัวอย่าง โดยถ่ายภาพจากกล้องโมโนโครม



กล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพสเปกตรัมความสะท้อนของตัวอย่างที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้นมีลักษณะดังที่แสดงในรูปที่ 3.1 ซึ่งมีรายละเอียดของอุปกรณ์ดังนี้ กล้องจุลทรรศน์นี้มีโหมดการถ่ายภาพ คือ ถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์โดยถ่ายภาพจากกล้องโมโนโครม โดยแสงจากแหล่งกำเนิดแสงใช้หลอดไฟฮาโลเจนเป็นแสงขาวเคลื่อนที่ผ่านไดอะแฟรมมาตามเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เพื่อจำกัดความกว้างของแนวรังสีของแสงให้มีขนาดเล็กลงเพียงพอกับขนาดของขนาดรูมาตามตาออกของเลนส์ใกล้วัตถุ (Exit Pupil of Objective Lens) ซึ่งเลนส์ใกล้วัตถุนี้เป็นเลนส์ประเภทตั้งยุคจำกัด (Finite Conjugate Lens) ซึ่งกำลังขยาย 40x และมีค่า NA 0.65 โดยเลนส์ใกล้วัตถุนี้ทำการย่อขนาดของลำแสงที่ผ่านไดอะแฟรมมาตามเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125  $\mu\text{m}$  ซึ่งอยู่ในขอบเขตกำลังความสามารถของเลนส์ใกล้วัตถุตั้งสมการที่ 3-1 โดยใช้สมการของเรย์ลี (Rayleigh's Criterion)

$$d = \frac{1.22\lambda}{NA} \quad (3-1)$$

โดยที่  $d$  คือ ความละเอียดของภาพ

$\lambda$  คือ ความยาวคลื่น มีหน่วย nm

NA คือ ค่าความสามารถของเลนส์ในการรวมแสง

จากสมการที่ 3.1 เมื่อทำการคำนวณแทนค่าในตัวแปรโดยที่ ความยาวคลื่น ( $\lambda = 1,100$  nm) NA ของเลนส์ใกล้วัตถุ จึงทำให้ทราบว่าลำแสงนั้นที่ถูกย่อขนาดลง จนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125  $\mu\text{m}$  ถูกฉายลงบนผิวหน้าของตัวกรองแสงเชิงเส้น แสงขาวจะถูกกรองให้เป็นแสงที่มีช่วงความยาวคลื่นสั้น ๆ หรือมีช่วงความกว้างของสเปกตรัมสั้น ๆ มาก (Wavelength Bandwidth :  $\Delta\lambda$ ) ซึ่งคำนวณได้จากความยาวตัวกรองแสงเชิงเส้น 200 mm ซึ่งครอบคลุมความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm หรือ ช่วงความยาวคลื่นทั้งหมด 800 nm ดังนั้นเมื่อเทียบกับขนาดของลำแสงที่ถูกย่อขนาดลงจนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125  $\mu\text{m}$  ได้ว่าลำแสงนี้มีช่วงความกว้างสเปกตรัมเท่ากับ 0.5 nm ซึ่งต่อไปนี้เรียกว่า แสงเอกรงค์ ซึ่งความยาวคลื่นของแสงเอกรงค์นั้น สามารถควบคุมได้โดยการเลื่อนตำแหน่งของตัวกรองแสงเชิงเส้น ซึ่งเชื่อมต่อบนมอเตอร์แบบขั้น สามารถทำการเลื่อนตัวกรองแสงเชิงเส้นทำให้สามารถควบคุมความยาวคลื่นของแสงที่ออกจากตัวกรองแสงเชิงเส้นได้ จากนั้นแสงเอกรงค์นี้ถูกส่งผ่านไปยังแผ่นโพลาไรเซอร์ทำให้เหลือเพียงโพลาไรเซชันเดียวตามแนวแกน x จากนั้นแสงเอกรงค์โพลาไรเซชันเชิงเส้นนี้ถูกแบ่งออกเป็น 2 ทางด้วยตัวแยกแสง (Beam Splitter) ซึ่งเป็นชนิดไม่ทำให้เกิดการโพลาไรซ์ของแสง (Non - polarizing) ซึ่งแยกแสงออกเป็น 2 ทางด้วย

อัตราส่วนกำลัง 50:50 แสงในแนวตั้งฉากกับแนวทางเดินแสงเดิม ส่งผ่านเลนส์ที่ 1 โดยเป็นเลนส์นูน ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm และความยาวโฟกัส 175 mm ดังนั้นค่า NA ของเลนส์ที่ 1 ดังสมการที่ 3.2

$$NA = n \sin(\tan^{-1}(\frac{D}{2f})) \quad (3-2)$$

โดยที่ NA คือ ค่าความสามารถในการรวมแสงของเลนส์

$n$  คือ ค่าดัชนีหักเหของตัวกลางบริเวณในอากาศ โดยมีเท่ากับ 1.00

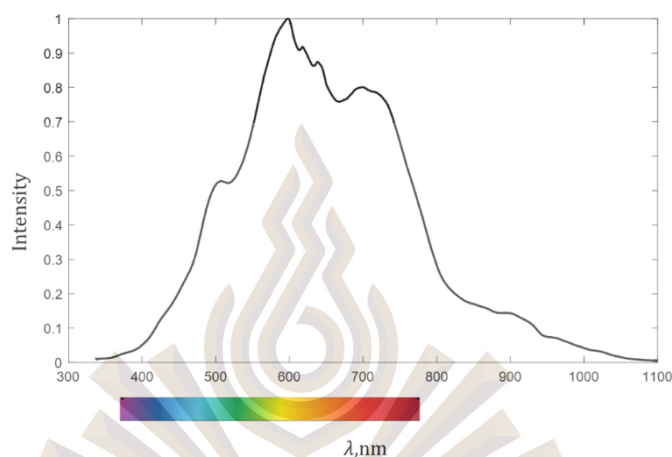
$D$  คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของเลนส์ หน่วย mm

$f$  คือ ความยาวโฟกัสของเลนส์ หน่วย mm

จากสมการที่ 3.2 เมื่อทำการแทนค่าตัวแปร ทำให้ทราบค่า NA ของเลนส์ที่มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm และความยาวโฟกัสเท่ากับ 175 mm เท่ากับ 0.0712 ซึ่งสามารถถ่ายภาพวัตถุที่เล็กที่สุดได้เมื่อแทนค่าในสมการที่ 3.1 ทำให้ได้ความละเอียดของแสงเท่ากับ 18.8483  $\mu\text{m}$  ซึ่งเลนส์นี้สามารถฉายภาพของแสงเอกรงค์โพลาไรเซชันเดียวให้ผ่านเลนส์ที่ 1 และปรากฏเป็นลำแสงเอกรงค์โพลาไรเซชันเดียวเป็นแสงขนานขนาดลำแสงเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm ส่งผ่านเลนส์ใกล้วัตถุซึ่งเป็นเลนส์ประเภทสังยุคอนันต์ (Infinite Conjugate Lens) ซึ่งมีกำลังขยาย 100x และมีค่า NA 1.25 ซึ่งต้องกับน้ำมันจุ่มหน้าเลนส์ (Oil Immersion) ซึ่งมีค่าดัชนีหักเห 1.52 ซึ่งมีค่าตรงกับแผ่นแก้วชนิด BK7 ที่ใช้ในการสังเคราะห์เลนเซอร์ทองคำบางสำหรับการกระตุ้นพลาสมอนบนพื้นผิว จากนั้นแสงเอกรงค์โพลาไรเซชันเดียวโฟกัสและฉายลงบนเลนเซอร์ทองคำผ่านชั้นน้ำมันจุ่มเลนส์และแก้ว BK7 และสะท้อนกลับมาผ่านเลนส์ใกล้วัตถุเดิม แสงสะท้อนจากตัวอย่างนี้เคลื่อนที่ผ่านเลนส์ที่ 1 และตัวแยกแสง และผ่านเลนส์นูนที่ 2 ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนเลนส์นูนตัวที่ 1 และผ่านไปยังกล้องไมโครโครม ซึ่งเป็นกล้องชิมอสทำการบันทึกถ่ายภาพระนาบ โฟกัสหลังเลนส์ของเลนเซอร์ทองคำ ซึ่งมีข้อมูลมูพลาสมอนของหนึ่งความยาวคลื่นแสงเอกรงค์ จากนั้นทำการเลื่อนมอเตอร์ที่ควบคุมความยาวคลื่นแสงของแสงเอกรงค์และทำการบันทึกภาพ โฟกัสหลังเลนส์เช่นนี้จนกว่าจะครบทุกความยาวคลื่นที่ตัวกรองแสงแบบปรับค่าได้สามารถกรองได้

### 3.1.1 ส่วนประกอบและอุปกรณ์สำหรับทางเดินแสง

3.1.1.1 แหล่งกำเนิดแสงของระบบ คือ หลอดไฟฮาโลเจนที่มีกำลัง 50 W ให้ ความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ช่วงความยาวคลื่นของหลอดไฟฮาโลเจน 300 nm ถึง 1,100 nm โดยวัดด้วยเครื่องวัดค่า กำลังงานแสงเชิงสเปกตรัม (Spectroradiometer) รุ่น Portable UV-VIS Spectroradiometer ULS4096CL-RS

3.1.1.2 เลนส์ใกล้วัตถุ (Objectives Lens) จากรูปที่ 3.1 เลนส์ใกล้วัตถุแบบสังยุค จำกัด (Finite Conjugate Lens) กำลังขยายเท่ากับ 40x และมีค่าความสามารถของเลนส์ (Numerical Aperture : NA) เท่ากับ 0.625 เพื่อย่อขนาดของแสงให้มีขนาด 0.55 mm ซึ่งได้จากการคำนวณขนาด ของตัวอย่างที่ระบบกล้องจุลทรรศน์สามารถมองเห็น (Field of View: FOV) (สื่อจัดเก็บเพื่อเผยแพร่ , 2558) ดังที่แสดงในสมการที่ 3.1 และเลนส์ใกล้วัตถุแบบสังยุคอนันต์ (Infinite Conjugate Lens) กำลังขยายเท่ากับ 100x และค่า NA เท่ากับ 1.25 ดังนั้นขนาดของแสงที่ถูกย่อเท่ากับ 0.24 mm สมการ ที่ 3-3

$$FOV = \frac{F.N.}{M} \quad (3-3)$$

โดยที่  $FOV$  คือ ขนาดของตัวอย่างที่ระบบกล้องจุลทรรศน์มองเห็น

$F.N.$  คือ ค่าหมายเลขสนาม (Field Number : F.N.) ในหน่วย mm ซึ่งในระบบกล้อง จุลทรรศน์มีค่า F.N.ของกำลังขยาย 40x และกำลังขยายของ 100x เท่ากับ 22 mm ถึง 24 mm

$M$  คือ กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ

3.1.1.3 แผ่นโพลาไรเซอร์เส้นตรง (Linear Polarizer) เป็นอุปกรณ์ที่สามารถทำให้สนามไฟฟ้าที่ผ่านแผ่นโพลาไรเซอร์มีทิศทางของสนามไฟฟ้าไปในทางเดียวกัน

3.1.1.4 แผ่นไดอะแฟรมม่านตา (Iris Diaphragm) เป็นอุปกรณ์สำหรับปรับขนาดลำแสงด้วยกลไกครีป (Fin)

3.1.1.5 ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น (Linear Variable Filter: LVF) ที่มีช่วงสเปกตรัม 300 nm ถึง 1,100 nm

3.1.1.6 เลนส์หลอด (Tube Lens) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm ความยาวโฟกัส 175 mm จากรูปที่ 3.1 เลนส์ที่ใช้ในระบบมีทั้งหมดจำนวน 3 ชิ้น โดยเลนส์ตัวที่ 1 มีหน้าที่รับแสงที่ผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ กำลังขยายเท่ากับ 40x แสงที่ผ่านนั้นมีลักษณะเป็นจุดโฟกัส จึงถูกปรับให้เป็นแสงขนาน (Collimated Beam) เพื่อเข้าเลนส์ใกล้วัตถุซึ่งมีกำลังขยายเท่ากับ 100x ทำให้แสงที่ส่องผ่านตัวอย่างนั้นเป็นแสงโฟกัสตั้งที่แสดงเส้นทางเดินแสงสีแดงในรูปที่ 3.1 เมื่อแสงโฟกัสลงบนตัวอย่างเกิดการสะท้อนกลับจากตัวอย่าง ซึ่งแสงสะท้อนกลับออกมาจากตัวอย่างผ่านเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100x อีกครั้ง ถูกทำให้เป็นแสงขนานและถูกรับด้วยเลนส์ตัวที่ 1 ครั้งนี้เลนส์ตัวที่ 1 ทำหน้าที่ เปลี่ยนแสงขนานเป็นจุดโฟกัสแทน นำเลนส์ตัวที่ 2 มารับแสงเพื่อทำให้เป็นแสงขนานโดยแสงขนานนี้สามารถรับภาพได้โดยกล้องโมโนโครมตัวที่ 1 ภาพที่แสดงนั้นจึงเป็นภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ตั้งที่ทางเดินแสงด้วยเส้นประสีน้ำเงิน ส่วนกล้องโมโนโครมตัวที่ 2 ใช้สำหรับรับภาพระนาบภาพ จากนั้นทำการแบ่งแสงด้วยอุปกรณ์แยกลำแสงและนำเลนส์ตัวที่ 3 มารับเพื่อให้ได้แสงโฟกัสจากนั้นจึงนำกล้องโมโนโครมมารับภาพดังที่แสดงในเส้นทางเดินแสงเส้นประสีส้ม

3.1.1.7 กล้องโมโนโครม เป็นอุปกรณ์สำหรับบันทึกภาพโดยภายในระบบได้ทำการใช้กล้องทั้ง 2 ตัว โดยที่กล้องแต่ละตัวก็มีหน้าที่ดังที่กล่าวไปใน 3.1.1.6 คุณสมบัติของกล้องที่ใช้ในการทดลองเป็นดังที่แสดงในตารางที่ 3.1

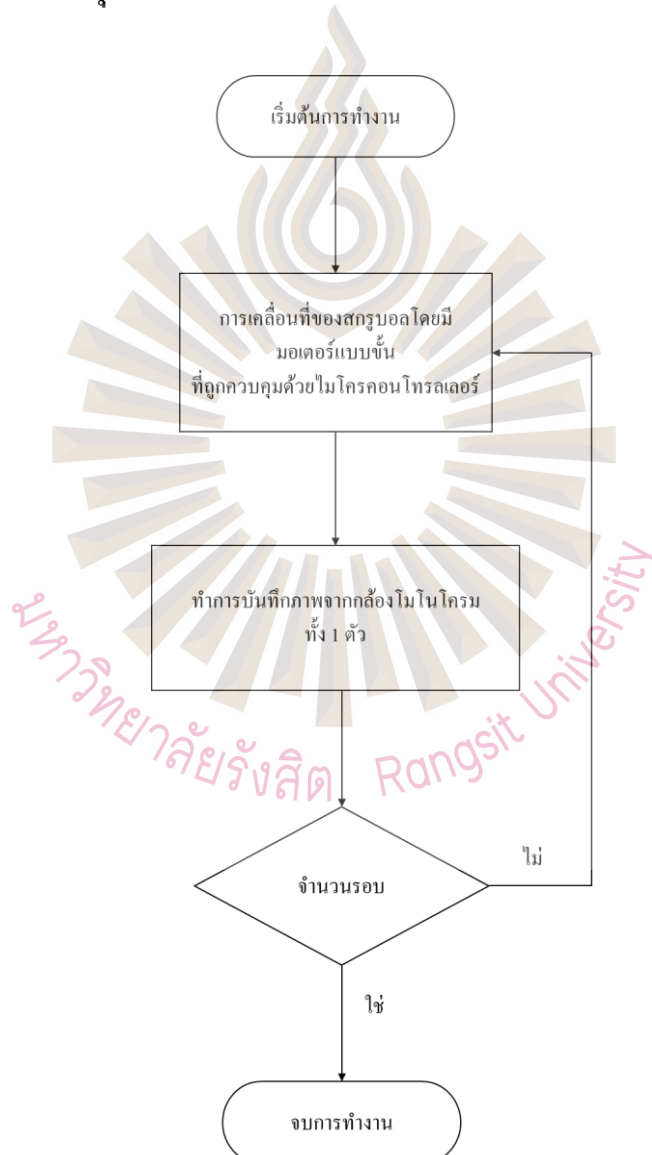
ตารางที่ 3.1 แสดงคุณสมบัติของกล้องโมโนโครม

ชื่อ	UB500M
ประเภทเซนเซอร์	เซนเซอร์ซีมอส 1/2.5 นิ้ว
ความละเอียด	2592 x 1944 (5MP)
เฟรมเรต (Frame rate) (Frame per second : FPS)	2592 x 1944 @ 9 FPS 1280 x 960 @ 21 FPS 640 x 480 @ 75FPS

ตารางที่ 3.1 แสดงคุณสมบัติของกล้องโมโนโครม (ต่อ)

ความลึกของบิต	12 bit
สีที่แสดง	Monochrome
สภาพไฟ	1.75V/lux-s 550 nm
ประเภทชัตเตอร์	Rolling

## 3.1.2 การควบคุมการเคลื่อนที่ของตัวกรองแสงและการเก็บภาพถ่ายจากการทดลอง



รูปที่ 3.3 ไคอะแกรมขั้นตอนการทำงานของระบบการเคลื่อนที่พร้อมทั้งการบันทึกภาพจากกล้องโมโนโครม

การควบคุมการเคลื่อนที่ของตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นที่ถูกติดตั้งอยู่บนสกรูบอลที่มีความยาว 200 mm ระบบวางนี้สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยการหมุนของมอเตอร์แบบขั้นที่ถูกสั่งการด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์โดยสามารถกำหนดระยะเวลาในการเคลื่อนที่ได้ แสงจากหลอดไฟฮาโลเจนส่งผ่านตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นเลือกความยาวคลื่นนี้ครอบคลุมช่วงกว้างความยาวคลื่น 800 nm ชุดบอลสกรูมีความยาวของแต่ละเกลียว (Pitch Distance) เท่ากับ 5 mm มีความยาวของเกลียวทั้งหมด 500 mm

ซึ่งครอบคลุมความยาวของตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น นอกจากนี้มอเตอร์ชนิดที่ควบคุมมอเตอร์แบบขั้นนั้นสามารถแบ่งการหมุน 1 รอบ ของมอเตอร์แบบขั้นได้ 200 ขั้นย่อย ดังนั้น 1 ขั้นย่อย สามารถเคลื่อนที่ได้ระยะทาง 0.025 mm ซึ่งคิดจากความยาวเกลียว 5 mm ถูกแบ่งเคลื่อนที่ 200 ขั้น และต้องใช้จำนวนขั้นทั้งหมด 8,000 ขั้นในการเคลื่อนที่ให้ไ้ระยะทาง 20 cm ตามความยาวของตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ส่วนการบันทึกภาพถูกทำการบันทึกภาพจากกล้องโมโนโครมทั้ง 2 ตัว โดยกล้องที่ 1 ทำการบันทึกภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ ส่วนกล้องตัวที่ 2 ทำการบันทึกภาพระนาบภาพ การบันทึกภาพในแต่ละครั้งนั้นมีความสอดคล้องกับการเคลื่อนที่ของสกรูบอลซึ่งมีการทำงานดังรูปที่ 2.3

### 3.2 รายละเอียดขั้นตอนการสังเคราะห์พลาสมาโพลิเมอร์ชนิดทองคำ

พลาสมาโพลิเมอร์ชนิดทองคำ เตรียมในห้องสะอาด (Clean Room) ระดับ 100 (Class 100) ที่ห้องทดลองสำหรับสร้างโครงสร้างระดับไมโครและนาโน (Micro-nano Fabrication) ที่มหาวิทยาลัยเซินเจิ้น เมืองเซินเจิ้น ประเทศจีน ผ่านความร่วมมือระหว่าง 2 มหาวิทยาลัย โดยมีขั้นตอนการเตรียมการและอุปกรณ์ ดังนี้

3.2.1 ทำความสะอาดแผ่นแก้วสำหรับปิดสไลด์เบอร์ 0 (Glass Coverslip No.0) ด้วยเอทานอล เมทานอล และอะซิโตน จากนั้นเป่าให้แห้งด้วยลมไนโตรเจน

3.2.2 แผ่นแก้วสำหรับปิดสไลด์เบอร์ 0 ที่ทำความสะอาดแล้วบรรจุลงในแท่นวางตัวอย่างสำหรับเคลือบวัสดุด้วยลำอิเล็กตรอน (Electron Beam Sputtering) จากนั้นทำการดูดอากาศออกจากเครื่องเคลือบวัสดุด้วยลำอิเล็กตรอนให้เป็นระบบสุญญากาศ

3.2.3 ให้ความร้อนแก่วัสดุชนิดที่ 1 ซึ่งคือ โครเมียมโดยการยิงอิเล็กตรอนไปที่วัสดุให้วัสดุเกิดร้อนจนกลายเป็นไอของโครเมียมเคลือบลงบนผิวแผ่นแก้วสำหรับปิดสไลด์เบอร์ 0

ซึ่งในภายในแท่นวางตัวอย่างติดตั้งเครื่องใช้แบบแก้วควอทซ์ (Quartz Microbalance) ซึ่งชั่งน้ำหนักของชั้นที่เคลือบลงบนแก้ว และสามารถเทียบเป็นความหนาของชั้นที่เคลือบได้อีกด้วย โดยในการสร้างเซนเซอร์ที่ใช้ในการศึกษานี้ได้เคลือบให้ใช้โครเมียมมีความหนา 2 nm จากนั้นจึงหยุดลำอิเล็กตรอนไม่ให้เกิดการเคลือบชั้นโครเมียมเพิ่มเติม

3.2.4 ให้ความร้อนแก่วัสดุชนิดที่ 2 ซึ่งคือ ทองคำในลักษณะเดียวกับที่อธิบายในขั้นตอนที่ 3 โดยกำหนดวัดให้ทองคำมีความหนา 46 nm โดยรายละเอียดของโครงสร้างเซนเซอร์ทองคำเป็นไปตามจอห์นสันและคริสตี (Johnson & Christy, 1972) เป็นดังที่แสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แสดง (ก) โครงสร้างของเซนเซอร์ทองคำ และ (ข) ภาพถ่ายเซนเซอร์ทองคำ

### 3.3 การจำลองโมเดลทางคณิตศาสตร์ และการวิเคราะห์ภาพถ่ายโฟกัสหลังเลนส์ด้วยโปรแกรมเมตแลบของเซนเซอร์ทองคำ

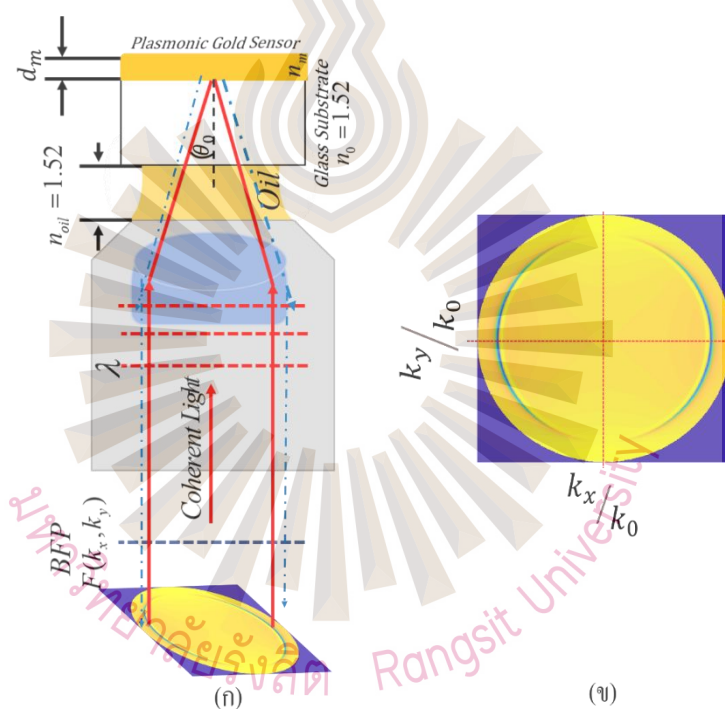
ตารางที่ 3.2 ตารางแสดงค่าตัวแปรที่ใช้ในการจำลองแสดงการเกิดภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์

ตัวแปร	ช่วงค่าของตัวแปรที่ต้องการศึกษา
ความยาวคลื่น	300 nm ถึง 1,100 nm
ความหนาของชั้นยึดติด (Chromium : Cr)	2 nm
ความหนาทองคำ	46 nm
ค่าความสามารถของเลนส์ (NA)	1.25
ค่าดัชนีหักเหของอากาศ ( $n_s$ )	1

ตารางที่ 3.2 ตารางแสดงค่าตัวแปรที่ใช้ในการจำลองแสดงการเกิดภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ (ต่อ)

ค่าดัชนีหักเหของทองคำ ( $n_{Au}$ )	เป็นไปตามที่รายงานโดยจอห์นสันและคริสตี
ค่าดัชนีหักเหของโครเมียม ( $n_{Cr}$ )	เป็นไปตามที่รายงานโดยจอห์นสันและคริสตี
ค่าดัชนีหักเหของน้ำมัน ( $n_{oil}$ )	1.52

โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่จัดทำขึ้นเพื่อถ่ายภาพโฟกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำ และเปรียบเทียบกับภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ได้จากการคำนวณภาพโฟกัสด้วยสมการเฟรสเนล และวิธีเมทริกซ์ส่งผ่านดังที่ได้อธิบายไว้โดยละเอียดแล้วในบทที่ 2 และแสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 (ก) การจำลองการเกิดภาพโฟกัสหลังเลนส์จากตัวอย่าง โดยเริ่มจากโพลาไรเซชัน (Polarization) เส้นประสีน้ำเงิน ตกกระทบลงตัวอย่างทำให้เกิดมุมตกกระทบของตัวอย่างส่งผ่านไปยังเลนส์ใกล้วัตถุ (ข) การจำลองการเกิดภาพโฟกัสหลังเลนส์

จากการจำลองภาพหลังเลนส์จากรูปที่ 3.1 แสงถูกทำให้เป็นโพลาไรเซชันเชิงเส้นภายหลังตำแหน่งตัวกรองแสงปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นด้วยแผ่นโพลาไรเซอร์ แสงที่ถูกโพลาไรซ์นั้นส่องผ่านตัวอย่าง โดย ซึ่งตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบคือแผ่นแก้วเคลือบทองคำหนา 46 nm ซึ่งจากรูปที่ 3.4 ก. เมื่อเลนส์ใกล้วัตถุรับภาพจากแสงโพลาไรเซชันที่ตกกระทบลงตัวอย่างทำให้เกิดมุม



ดังต่อไปนี้ มุม  $\phi$  (Azimuthal Angle) มุม คือมุมที่แสงตกกระทบบลงตัวอย่าง และมุม  $\theta$  คือมุมหักเห จากตัวอย่าง โดยงานวิจัยนี้ได้กำหนดมุมที่ทำโพลาไรเซชัน  $\psi$  (Polarization Angle) เท่ากับ 0 องศา

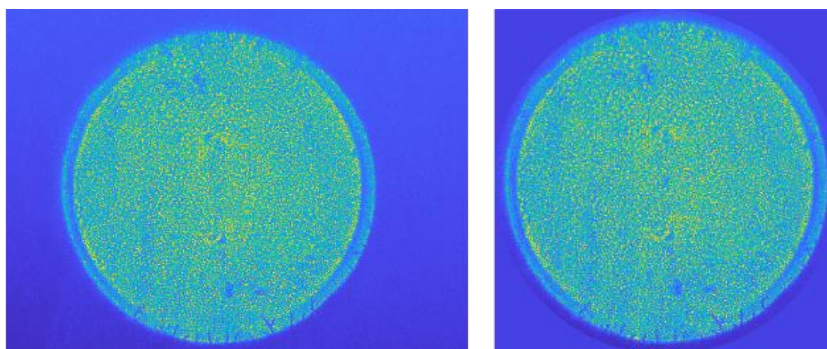
จากนั้นนำกล้องโมโครมมารับภาพ แต่เนื่องจากแสงเดินทางผ่านตัวกลางที่ 1 ไปยัง ตัวกลางที่ 2 จึงใช้สมการของเฟรสเนลในการหาสมการที่ใช้อธิบายและการคำนวณสัมประสิทธิ์การ สะท้อนและสัมประสิทธิ์การส่งผ่านที่ตกกระทบบระหว่างช่วงรอยต่อของตัวกลางที่ 1 จนถึงตัวกลาง ที่ 2 สมการของเฟรสเนลจึงเหมาะสมกับการคำนวณหาโพลาไรเซชันกับตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผิว เรียบ (Uniform) โดยมีตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาตามตารางที่ 2.2 ดังนั้นเมื่อทำการจำลองการเกิดภาพ หลังเลนส์จึงเข้าสู่กระบวนการทำให้รูปอยู่ในหน่วยเดียวกัน (Normalized) จากรูปที่ 3.4 ข ดังสมการ ที่ 2.2 ที่ได้กล่าวไว้ในส่วนบทที่ 2

### 3.4 การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และวิธีการคำนวณย้อนกลับหาค่าความหนา ของชั้นพลาสมาโมนิกเซนเซอร์และดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมามอน

เมื่อทำการถ่ายภาพโพกัสหลังเลนส์ตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm นำ สัญญาณเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ โดยมีขั้นตอนการคำนวณค่าความหนาของชั้นพลาสมาโมนิกเซน เซอร์ และดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมามอนย้อนกลับ ประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.4.1 การนำสัญญาณภาพเข้าสู่กระบวนการปรับค่ากำลังแสงในภาพให้มีค่าอยู่ในช่วง ระหว่าง 0 ถึง 1 (Normalization) โดยคำนวณจากกำลังแสงหลังมุมวิกฤตและปริมาณสัญญาณ ครอบคลุมในภาพ และหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งภาพโพกัสหลังเลนส์ให้มีความ สอดคล้องกับความยาวคลื่นจากตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น

3.4.2 นำสัญญาณภาพ ดังรูปที่ 3.6 ก. ระบุตำแหน่งค่า NA สูงสุดของภาพที่ถ่ายได้ และ ระบุจุดศูนย์กลางของภาพโดยการหาจุดศูนย์กลางของภาพ (Center of Gravity: CG) โดยการคำนวณ แต่ละพิกเซลให้มีความสัมพันธ์กับจุดกึ่งกลางของภาพวัตถุ ดังที่แสดงในรูปที่ 3.6 ข.



(ก)

(ข)

รูปที่ 3.6 (ก) ภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ยังไม่ถูกหาตำแหน่งจุดศูนย์กลางของภาพ (ข) การแสดงตำแหน่งตำแหน่งจุดศูนย์กลางของภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ถูกทำการปรับค่ากำลังแสงให้อยู่ในช่วง 0 ถึง 1

3.4.3 ปรับขนาดของภาพโฟกัสหลังเลนส์ให้มีขนาด 1501 x 1501 พิกเซล เพื่อลดปัญหาการสุ่มที่น้อยเกินไป (Under Sampling) โดยการใช้ฟังก์ชันปรับขนาดภาพ (Image Resize) โดยไม่สร้างความถี่เพิ่มเติมให้ภาพ กล่าวคือเป็นการคำนวณปรับขยายขนาดภาพโดยการทำอินเทอร์โพลลาไลเซชันแบบเส้นตรง (Linear Interpolation)

3.4.4 ทำการคูณด้วยขอบของภาพรูวงกลม ดังรูปที่ 3.7 ก. (Circular Aperture) เพื่อลบสัญญาณรบกวน (Noise) โดยการคำนวณจากการสัญญาณรบกวนค่าเฉลี่ยของภาพด้านนอกลบด้วยภาพถ่ายโฟกัสหลังเลนส์ รูปที่ 3.7 ข.



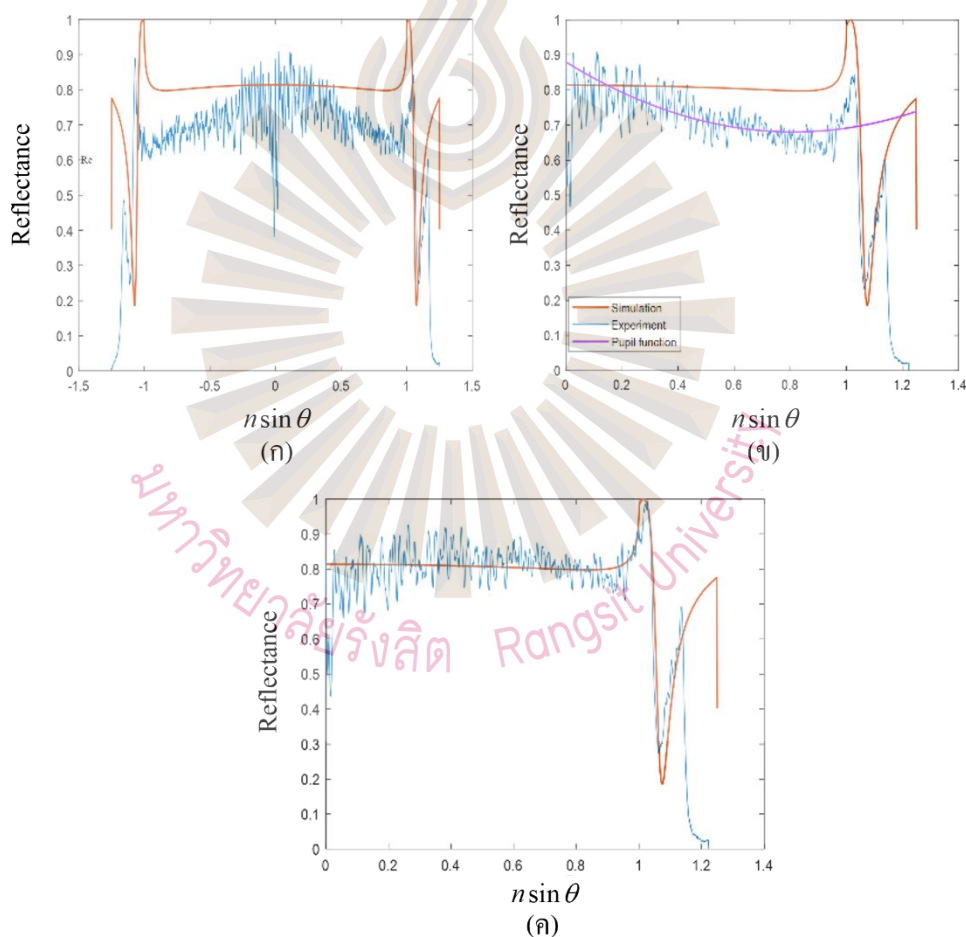
(ก)

(ข)

รูปที่ 3.7 (ก) การสร้างรูวงกลมที่คำนวณจากการหาสัญญาณรบกวนเฉลี่ย (ข) ภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ถูกลบด้วยสัญญาณรบกวน

3.4.5 นำภาพถ่ายจากการทดลองจริงมาวิเคราะห์ผลและเปรียบเทียบกับผลจำลองภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ความยาวคลื่น 581 nm ดังรูปที่ 3.8 ก. ซึ่งนำมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้ค่าคงที่  $\alpha$

เท่ากับ 0.995 สมการที่ 3-4 เพื่อให้สัญญาณจากการทดสอบจริงเข้าใกล้กับสัญญาณภาพจำลองมากที่สุด โดยการนำค่า  $\alpha$  คูณกับภาพสัญญาณจริงดังสมการที่ 3-5 ดังรูปที่ 3.8 ข. สุดท้ายทำการเพิ่มฟังก์ชันของ Pupil (Pupil Function) ทำให้สัญญาณจากผลการทดสอบเข้าใกล้สัญญาณจากการจำลองดังรูปที่ 3.8 ค. จากนั้นทำการกำหนดค่าคงที่ความหนาของชั้นโลหะ โดยกำหนดให้ค่าความหนาของเซนเซอร์ทองคำเท่ากับ 45 nm เปลี่ยนดัชนีหักเหส่วนจริงและดัชนีหักเหส่วนจินตภาพโดยการเขียนคำสั่งคำนวณแบบวนซ้ำ (Loop) และมีสมการที่ใช้ในการคำนวณดังสมการที่ 3-6 ถึง 3-8 จนกว่าจะได้ภาพที่ใกล้เคียงกับภาพที่คำนวณได้จากผลการทดลองโดยการคำนวณหาค่าความแตกต่างระหว่างภาพจากการทดลองและภาพจากแบบจำลอง



รูปที่ 3.8 (ก) การนำสัญญาณภาพเปรียบเทียบกับสัญญาณจำลองเพื่อทำการปรับปรุงสัญญาณภาพ  
 (ข) การทำให้สัญญาณภาพมีความใกล้เคียงกับสัญญาณจำลองโดยการคูณด้วยฟังก์ชันของ Pupil  
 (ค) สัญญาณภาพถูกทำให้มีความใกล้เคียงกับสัญญาณจำลอง และ พร้อมนำเข้าสู่การคำนวณหาค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ

$$\alpha = \frac{\overline{BFP}_{\text{model}}}{\overline{BFP}_{\text{normalized}}} \quad (3-4)$$

โดยที่  $\overline{BFP}_{\text{model}}$  คือค่าเฉลี่ยของภาพจำลองโพกัสหลังเลนส์  
 $\overline{BFP}_{\text{normalized}}$  คือค่าเฉลี่ยของภาพโพกัสหลังเลนส์จากผลการทดสอบจริง

$$BFP_{\text{normalized}} = \alpha * BFP_{\text{normalized}} \quad (3-5)$$

โดยที่  $BFP_{\text{normalized}}$  คือสัญญาณที่ถูกทำให้อยู่ในช่วง 0 ถึง 1

$$\varepsilon_{\text{model}} = \varepsilon_{\text{real}} + (1i * \varepsilon_{\text{imag}}) \quad (3-6)$$

โดยที่  $\varepsilon_{\text{real}}$  คือค่าดัชนีหักเหส่วนจริงที่ได้ทำการกำหนดช่วงเพื่อทำการคำนวณ

$\varepsilon_{\text{imag}}$  คือค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพที่ได้ทำการกำหนดช่วงเพื่อทำการคำนวณ

$$Max_{\text{difference}} = \sum |BFP_{\text{model}} - BFP_{\text{normalized}}| \quad (3-7)$$

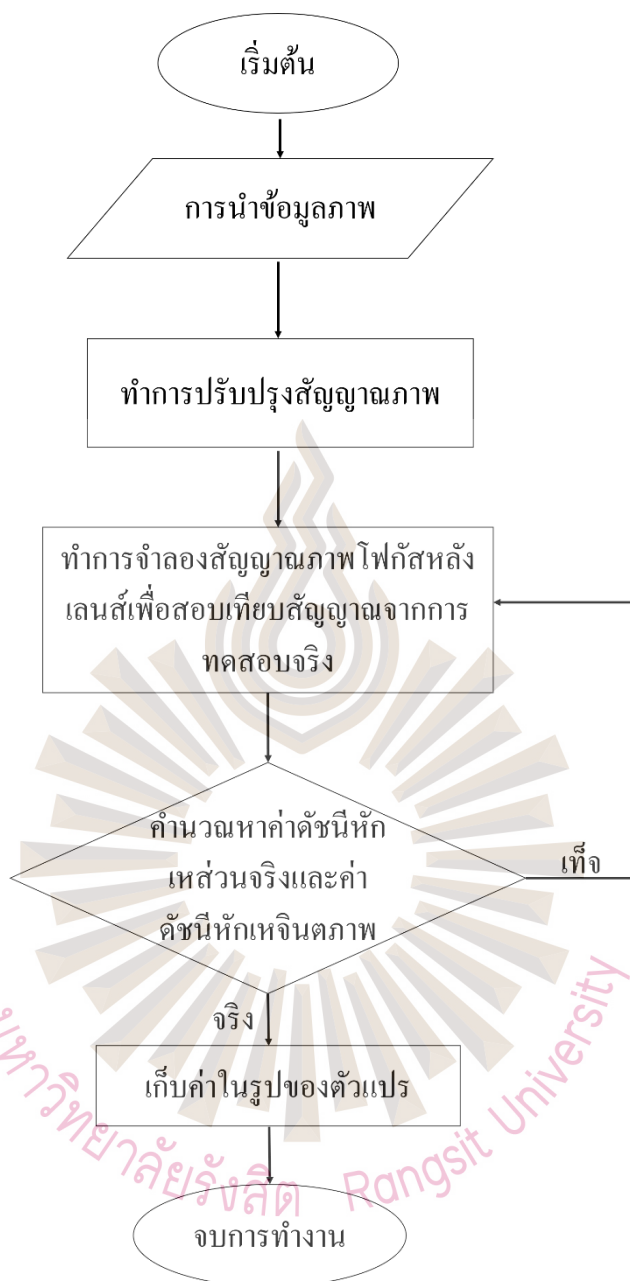
โดยที่  $BFP_{\text{model}}$  คือสัญญาณจำลองภาพโพกัสหลังเลนส์

3.4.6 ทำการคำนวณซ้ำโดยมีหลักการทำงานดังรูปที่ 3.9 จากนั้นทำการวิเคราะห์ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ของทุกความยาวคลื่น เพื่อหาผลลัพธ์ค่าดัชนีหักเหส่วนจริง และ ค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ คำสั่งตามภาคผนวกที่ ง.

$$\varepsilon_{\text{cal}} = \sqrt{\varepsilon_{\text{real}_{ex}} + (1i * \varepsilon_{\text{imag}_{ex}})} \quad (3-8)$$

โดยที่  $\varepsilon_{\text{real}_{ex}}$  คือค่าดัชนีหักเหส่วนจริงที่ได้จากการคำนวณจากผลการทดสอบ

$\varepsilon_{\text{imag}_{ex}}$  คือค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพที่ได้จากการคำนวณจากผลการทดสอบ



รูปที่ 3.9 ไคอะแกรมแสดงขั้นตอนการทำงานของโปรแกรมการคำนวณหาค่าดัชนีหักเหส่วนจริง และดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ

### 3.5 ตารางดำเนินงานวิจัย

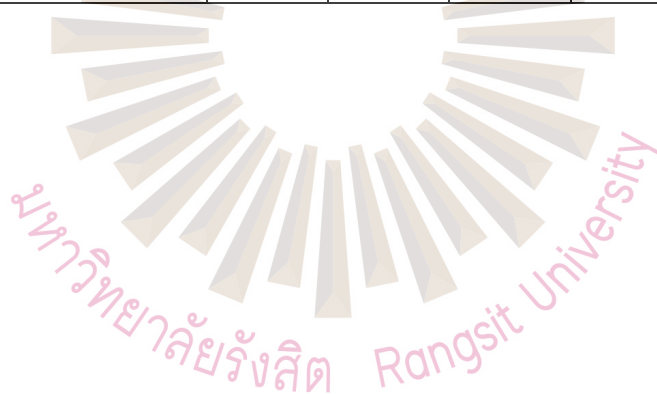
การดำเนินการวิจัยแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ตารางการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอน	เดือน					
	ส.ค- ก.ย.	ต.ค.- พ.ย.	ธ.ค.- ม.ค.	ม.ค.- ก.พ.	มี.ค- เม.ย.	เม.ย. พ.ค.
1) ทำการศึกษาต่อจากระบบสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบสแกนความยาวคลื่นและแปลงเป็นระบบการถ่ายเป็นกล้องจุลทรรศน์						
2) จำลองการเกิดภาพโฟกัสหลังเลนส์โดยใช้โปรแกรม MATLAB เพื่อศึกษาตัวแปรที่ใช้แบบสแกนความยาวคลื่น และสร้างแบบจำลองในการวัดค่าความหนาและดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซมิคอนดักเตอร์						
3) เขียนบทความวิจัยตีพิมพ์และนำเสนอในงาน RSUCON 2021						
4) ทำการทดสอบระบบกล้องจุลทรรศน์ ถ่ายภาพความสะท้อนในระนาบโฟกัสหลังเลนส์ของตัวอย่างเซมิคอนดักเตอร์ทองคำในช่วงสเปกตรัม 300 nm ถึง 1,100 nm และทำการคำนวณหาค่าย้อนกลับทางทฤษฎีว่าเซมิคอนดักเตอร์นั้นมีความหนาและค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนเท่าใด						

ตารางที่ 3.3 ตารางการดำเนินงานวิจัย (ต่อ)

ขั้นตอน	เดือน					
	ส.ค- ก.ย.	ต.ค.- พ.ย.	ธ.ค.- ม.ค.	ม.ค.- ก.พ.	มี.ค- เม.ย.	เม.ย. พ.ค.
5) เก็บผลการทดสอบถ่ายความสะท้อนในระนาบโพกัสหลังเลนส์ของตัวอย่างเช่นเซอร์พลาสมอนทองคำ นำผลที่ได้เข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์และประมวลผลภาพ						
6) อธิบาย วิเคราะห์ และสรุปผลการทดสอบเพื่อนำมาเขียนรายงานการวิจัยตลอดจนการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์						



## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

ในบทนี้กล่าวถึงผลการทดสอบในวิทยานิพนธ์เรื่องการสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ซึ่งให้แสงที่ความต่อเนื่องของความยาวคลื่น มีการทดสอบความสามารถของอุปกรณ์และระบบที่สร้างขึ้นในส่วนต่าง ๆ แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ส่วนตามรายละเอียดการทดลองดังที่ได้อธิบายไว้แล้วในท้ายบทที่ 3

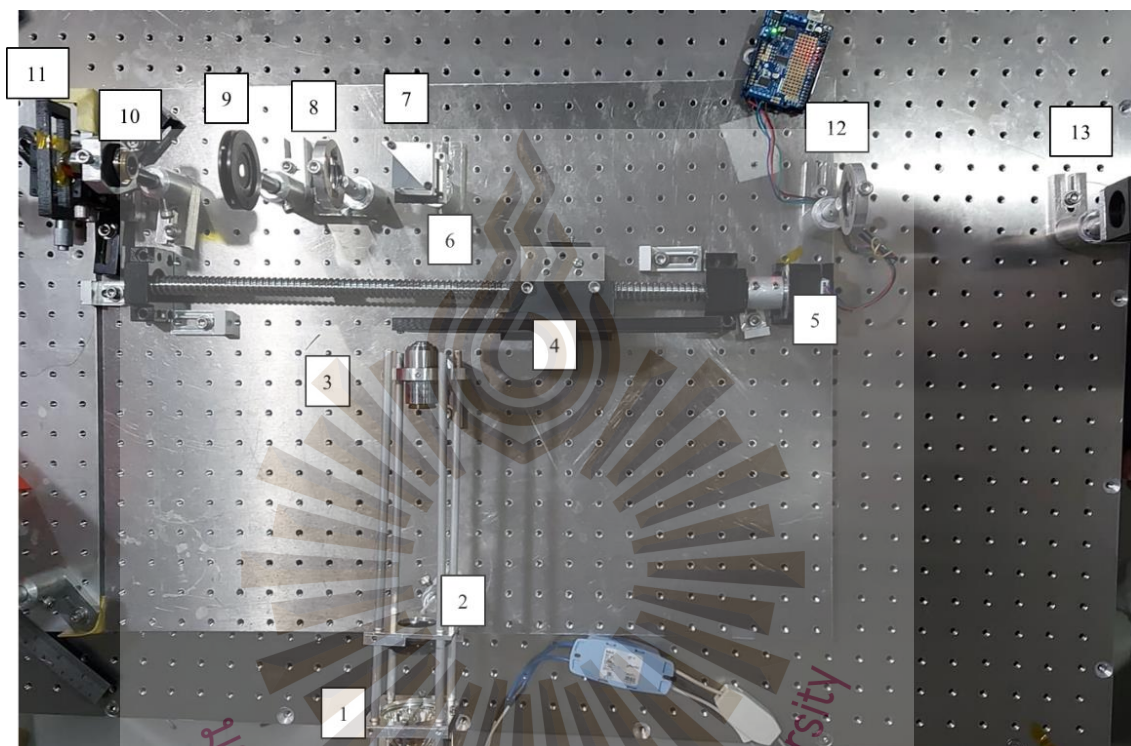
#### 4.1 ผลการดำเนินงานจากการออกแบบทางเดินแสง

ผลการทดสอบของวิทยานิพนธ์เรื่องการออกแบบและการสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ได้จัดทำารเรียงอุปกรณ์สำหรับทางเดินแสงเสร็จสมบูรณ์ ดังรูปที่ 4.1

ส่วนของอุปกรณ์สำหรับการสร้างกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นใช้ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นมีความยาว 200 mm ได้ถูกวางไว้บนมอเตอร์แบบขั้นและระบบรางที่มีความยาว 8000 mm ในแกนแนวนอนเป็นตัวขับเคลื่อนตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น เพื่อให้ลำแสงที่ผ่านตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น นั้นมีความราบเรียบในการแยกแสงเอกรงค์โดยตัวอย่างที่ใช้ในระนาบโฟกัสหลังเลนส์แผ่นทองทำหนา 46 mm ดังรูปที่ 3.4 ข. โดยบันทึกภาพด้วยกล้องซีมอส แบบโมนโครมจากรูปที่ 4.1 ได้แก่ หมายเลข 1 แหล่งกำเนิดแสงหลอดฮาโลเจนติดตั้งในราง เชื่อมต่อกับ หมายเลข 2 แผ่นไดอะแฟรมมันตา ตัวที่ 1 ควบคุมแสงให้ผ่านเข้า หมายเลข 3 เลนส์ใกล้วัตถุ ใช้กำลังขยาย 40x เพื่อย่อแสงเข้าสู่ หมายเลข 4 ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ทำให้ได้แสงเอกรงค์สเปกตรัมช่วงความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm โดยใช้ หมายเลข 5 มอเตอร์และระบบรางสำหรับควบคุมตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น เข้าสู่ หมายเลข 6 แผ่นโพลาไรเซอร์เส้นตรง และใช้ หมายเลข 7 อุปกรณ์แยกแสง ทำหน้าที่แยกแสงเข้าสู่ หมายเลข 8 เลนส์หลอด และ หมายเลข 9 แผ่นไดอะแฟรมมันตา ตัวที่ 2 หมายเลข 10 เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า ให้แสงผ่านเข้าสู่ตัวอย่างพลาสติกโมนิคเซนเซอร์ทอง หมายเลข 11 ตัวอย่างสำหรับการถ่ายภาพ หมายเลข 12 เลนส์เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm ความยาวโฟกัส 175 mm รับภาพด้วย หมายเลข 13 กล้องซีมอส การ



บันทึกภาพถูกควบคุมพร้อมกับการเคลื่อนที่ของระบบรางที่ควบคุมผ่าน โปรแกรมแมทแลบ ดังรูปที่ 3.3 ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นในส่วนบทที่ 3 หัวข้อ 3.1.2 จากนั้นทำการบันทึกภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ด้วยแผ่นแก้วบางและเซนเซอร์ทองคำถูกบันทึกภาพด้วยกล้องซีมอสที่หมายเลขอุปกรณ์ที่ 13 เมื่อทำการบันทึกภาพก็นำเข้าสู่กระบวนการสอบเทียบและการวิเคราะห์ผลดังหัวข้อต่อไป



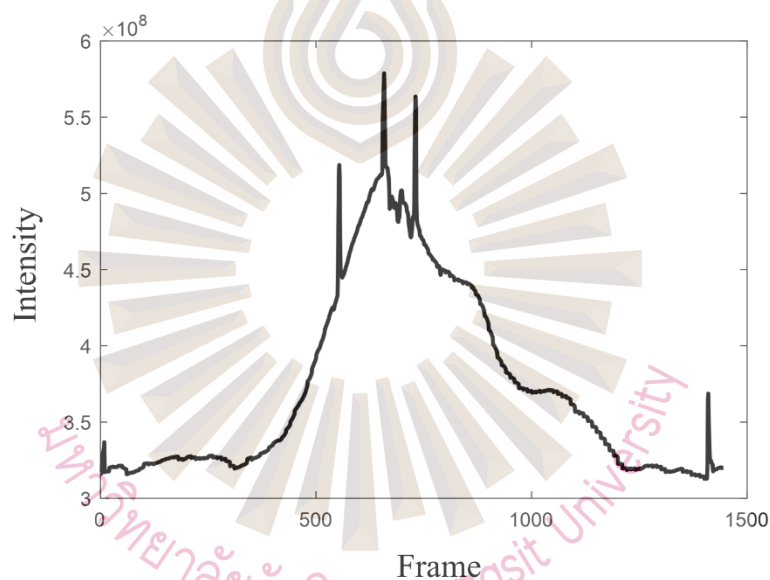
รูปที่ 4.1 กล้องจุลทรรศน์สำหรับการถ่ายภาพสเปกตรัมซึ่งมีอุปกรณ์ซึ่งภายในระบบประกอบไปด้วยอุปกรณ์ หมายเลข 1 แหล่งกำเนิดแสง หมายเลข 2 แผ่นไดอะแฟรมมาตรฐานตัวที่ 1 หมายเลข 3 เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 40x หมายเลข 4 ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น หมายเลข 5 มอเตอร์และระบบรางสำหรับการควบคุมตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น หมายเลข 6 แผ่นโพลาริซอร์เส้นตรง หมายเลข 7 อุปกรณ์แยกแสงตัวที่ 1 หมายเลข 8 เลนส์หลอด หมายเลข 9 แผ่นไดอะแฟรมมาตรฐานตัวที่ 2 หมายเลข 10 เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า หมายเลข 11 ตัวอย่างสำหรับการถ่ายภาพ หมายเลข 12 เลนส์เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm ความยาวโฟกัส 175 mm หมายเลข 13 กล้องซีมอส

#### 4.2 ผลการทดสอบถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์

#### 4.2.1 การถ่ายภาพโดยผ่านตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น

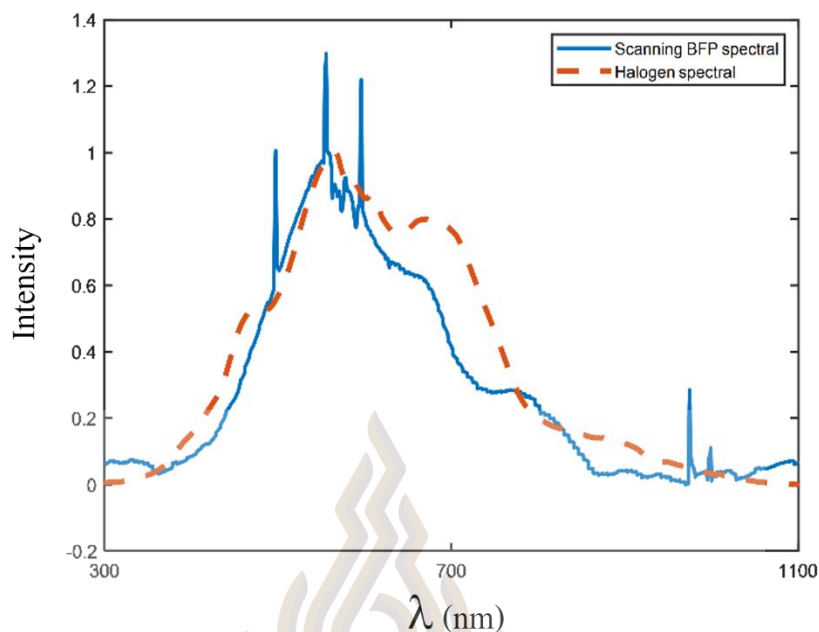
ทำการทดสอบถ่ายภาพโดยทำการสแกนตั้งช่วงความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm โดยให้ครอบคลุมตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น จากนั้นทำสอบเทียบสัญญาณจากสเปกตรัมของหลอดไฟฮาโลเจน ดังรูปที่ 3.2 ในหัวข้อที่ 3.1.1 ดังนั้นเมื่อทำการทดสอบจึงได้

สัญญาณสเปกตรัมขณะทำการถ่ายภาพและการทำนอร์มอลไลซ์สัญญาณ (Normalization) ซึ่งทำการหารด้วยค่าที่มากที่สุดเพื่อให้สัญญาณอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 ดังรูปที่ 4.2 แสดงความเข้มของแสงของภาพจำนวน 1,445 เฟรม



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงการทำให้สัญญาณจากการถ่ายภาพโพกัสหลังเลนส์ อยู่ในช่วง 0 ถึง 1 โดยแสดงค่าในรูปของค่าความเข้มแสง (Intensity) ซึ่งมีตำแหน่งภาพทั้งหมด 1,445 ภาพ

เมื่อได้สัญญาณจากภาพโพกัสหลังเลนส์ นำสัญญาณมาสอบเทียบกับสัญญาณสเปกตรัมของหลอดไฟฮาโลเจน ดังรูปที่ 4.3 ทำให้สามารถหาความสัมพันธ์แบบเชิงเส้นระหว่างตำแหน่งภาพและความยาวคลื่น ดังตารางที่ 4.1

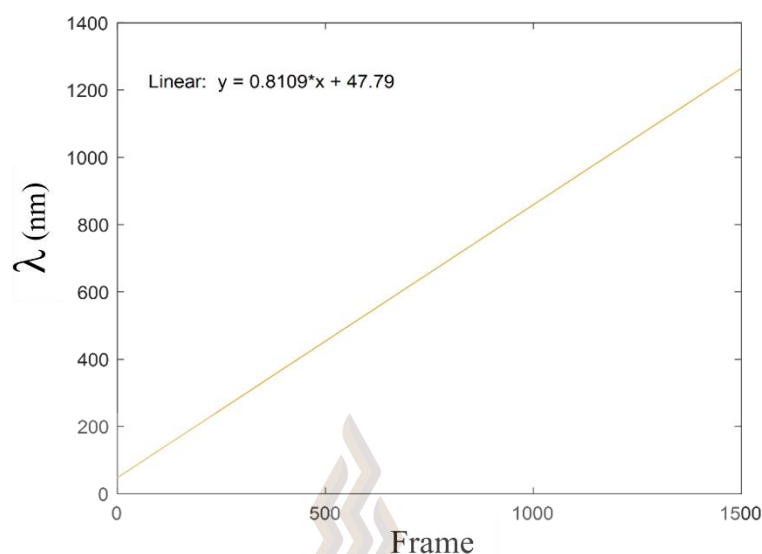


รูปที่ 4.3 สัญญาณสเปกตรัมของภาพหลังโฟกัส (เส้นสีน้ำเงิน) เปรียบเทียบกับสเปกตรัมของหลอดไฟฮาโลเจน (เส้นประสีแดง)

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวัดสัญญาณตำแหน่งของภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่ถูกแสงส่องผ่านบนตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นและสัญญาณสเปกตรัมของหลอดไฟ

ตำแหน่งภาพ	ความยาวคลื่นของหลอดไฟ (nm)
554	502
660	595
846	697.7
1004	872
1042	897
1100	954.6

จากผลการทดสอบในตารางที่ 4.1 สามารถนำมาวิเคราะห์ช่วงความยาวคลื่นของภาพถ่ายโฟกัสหลังเลนส์ที่ผ่านตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นนี้โดยมีความสัมพันธ์กับสเปกตรัมของหลอดไฟฮาโลเจน สามารถนำสัญญาณวิเคราะห์หาสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) ดังที่แสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 แสดงตำแหน่งภาพโฟกัสที่สอดคล้องกับตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น และความยาวคลื่นที่ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นอนุญาตให้แสงผ่านได้ สามารถนำมาคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น

จะได้สมการที่เป็นตัวแทนของข้อมูลชุดนี้ มีรายละเอียดดังนี้

$$y(\lambda) = 0.810941 * (\text{frame}) + 47.788 \quad (4-1)$$

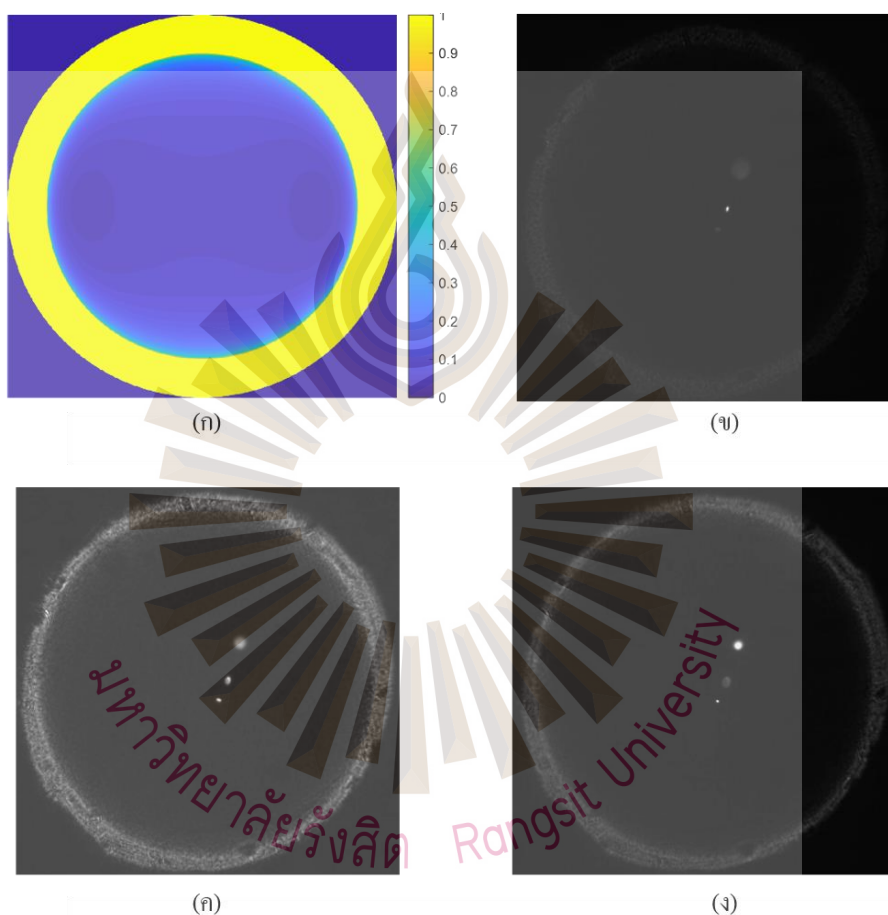
โดยที่  $y(\lambda)$  คือ ความยาวคลื่นที่ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้นนี้อนุญาตให้แสงผ่านในหน่วย nm

$\text{frame}$  คือ ลำดับตำแหน่งของภาพโฟกัสหลังเลนส์ที่มีจำนวนภาพทั้งหมด 1,445 ภาพ

จากการคำนวณการถดถอยเชิงเส้นพบว่าสมการที่ 4-1 มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.98 เมื่อคำนวณหาความยาวคลื่นที่ผ่านได้ตัวกรองแสงแบบปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ณ ตำแหน่ง  $y$  โดยมีความยาวคลื่นที่มีความสอดคล้องกับความยาวคลื่นของหลอดไฟฮาโลเจน ตั้งแต่ 300 nm ถึง 1,100 nm เท่ากับตำแหน่งของภาพโฟกัสหลังเลนส์ ดังตารางที่ 4.1 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจำนวนภาพทั้งหมด 1,445 ภาพนั้นอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ 300 nm ถึง 1,100 nm

#### 4.2.2 ผลการถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ในความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน

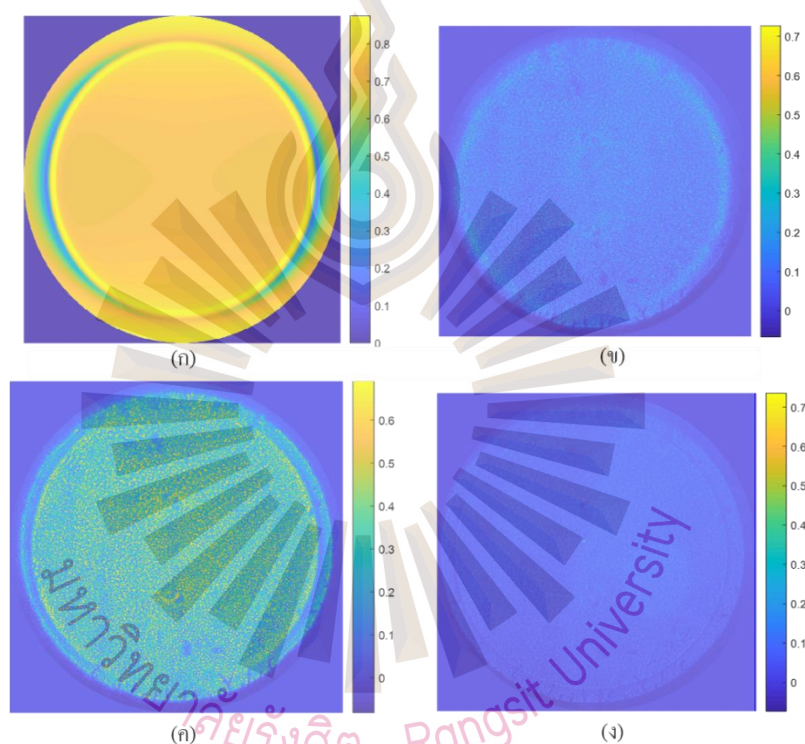
เมื่อทำการติดตั้งอุปกรณ์ครบดังรูปที่ 4.5 ทำการทดสอบถ่ายภาพโฟกัสหลังเลนส์ด้วยแผ่นแก้วบางโดยทำการจำลองภาพถ่ายของแผ่นแก้วบางเพื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบจริง จากนั้นนำแผ่นแก้วบางทำการทดสอบถ่ายภาพเพื่อให้ระยะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 (ก) การจำลองภาพโฟกัสหลังเลนส์ของแผ่นแก้วบางด้วยสมการของเฟรสเนล โดยจาก (ข) ตำแหน่งภาพที่ 500 ที่เริ่มแสดงภาพโฟกัสหลังเลนส์ ที่ความยาวคลื่น 453 nm (ค) ภาพถ่ายโฟกัสหลังเลนส์ที่ความยาวคลื่น 581 nm ตำแหน่งภาพที่ 658 ง. ตำแหน่งภาพที่ 1,100 ที่แสดงภาพโฟกัสหลังเลนส์เริ่มหายไป ที่ความยาวคลื่น 939.81 nm

โดยจากผลการทดสอบเมื่อทำการถ่ายภาพ โฟกัสหลังเลนส์ซึ่งเริ่มจากให้แสงผ่านตัวกรองแสงตั้งแต่ความยาวคลื่น 300 nm จนถึง 1,100 nm ซึ่งจากการทดสอบถ่ายภาพโดยใช้วิธีการถ่ายภาพแบบสแกนเชิงเส้นด้วยความยาวคลื่นทำให้พบว่า เป็นไปตามสมการของเฟรสเนลที่ได้ทำ

การจำลองภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ดังรูปที่ 4.5 ก. ซึ่งเมื่อสังเกตว่าในการถ่ายแต่ละความยาวคลื่นไม่มีการเปลี่ยนของรูปร่างของภาพโพกัสหลังเลนส์แต่สิ่งที่เปลี่ยนแปลง คือความเข้มแสงในแต่ละความยาวคลื่นดังรูปที่ 4.5 ข. ถึง ง. โดยจากการทดสอบถ่ายภาพแก้วบางนั้นไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการสั่นพ้องของคลื่นที่พื้นผิวพลาสมอนได้เนื่องจากโครงสร้างดังกล่าวไม่มีโลหะบางในระดับนาโนทำการถ่ายภาพระนาบโพกัสของเซนเซอร์ทองคำหนา 46 nm ซึ่งจำนวนภาพทั้งหมดเท่ากับ 1,445 ภาพ โดยทำการคัดแยกให้เหลือ 988 ภาพ เนื่องจากเป็นช่วงที่ภาพเริ่มแสดงภาพโพกัสหลังเลนส์จนไปถึงภาพโพกัสหลังเลนส์เริ่มหายไป



รูปที่ 4.6 (ก) การจำลองภาพโพกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำหนา 45 nm ด้วยสมการของเฟรสเนลที่ความยาวคลื่น 581 nm ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำจากการทดสอบจริง โดยจาก (ข) ตำแหน่งภาพที่ 500 ที่เริ่มแสดงภาพโพกัสหลังเลนส์ ที่ความยาวคลื่น 453 nm (ค) ภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ที่ความยาวคลื่น 581 nm ตำแหน่งภาพที่ 658 (ง) ตำแหน่งภาพที่ 1,100 ที่แสดงภาพโพกัสหลังเลนส์เริ่มหายไป ที่ความยาวคลื่น 939.81 nm

เมื่อสังเกตได้ว่าตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นที่สนใจที่ความยาวคลื่น 453 nm ถึง 939.81 nm นั้นเกิดการกระตุ้นให้เกิดการสั่นพ้องของคลื่นที่พื้นผิวพลาสมอนได้เนื่องจากโครงสร้างดังกล่าวมีชั้นโลหะบางที่ประกอบไปด้วยชั้นทองคำหนา 45 nm ชั้นของโครเมียมที่เป็นชั้นยึดติดกับชั้นทองคำและชั้นแก้ว ที่มีความหนา 2 nm โดยเริ่มสังเกตจากรูปที่ 4.5 ข. ที่เริ่มแสดงปรากฏการณ์ภาพ

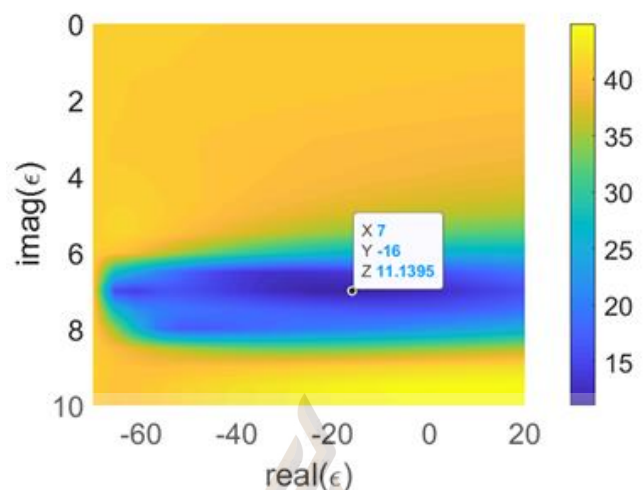
โพกัสหลังเลนส์ ที่ความยาวคลื่น 453 nm ณ ตำแหน่งภาพที่ 500 เมื่อภาพถูกสแกนจนถึง ความยาวคลื่น 581 nm ณ ตำแหน่งภาพที่ 600 ดังรูปที่ 4.5 ค. จึงนำภาพเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ โดยขอก้าวในหัวข้อต่อไป จนกระทั่งภาพหลังโพกัสเริ่มไม่ปรากฏพลาสมอน ดังรูปที่ 4.5 ง. ณ ตำแหน่งภาพที่ 1,100 ที่ความยาวคลื่น 939.81 nm

#### 4.3 ผลแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และการคำนวณย้อนกลับหาค่าความหนาของชั้นพลาสมอนิกเซนเซอร์และดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมอน

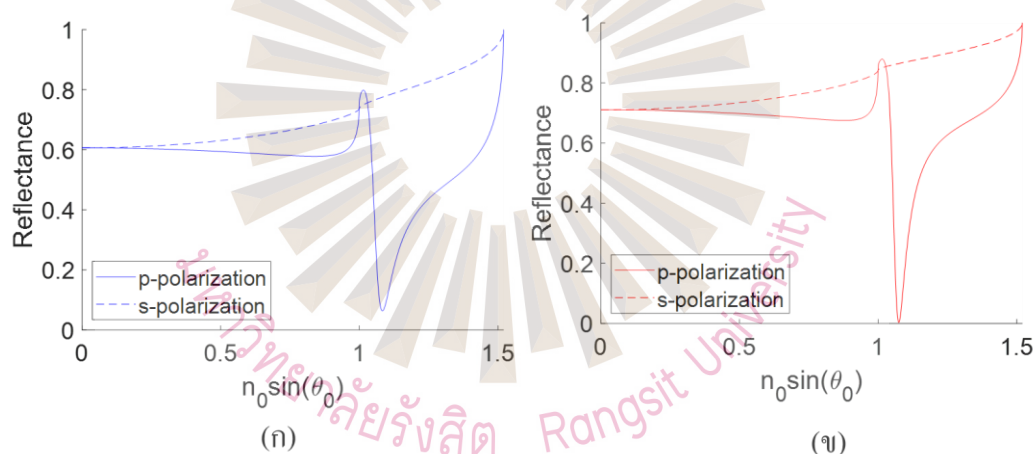
ผลจากการทดสอบเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MATLAB โดยทำการเปรียบเทียบกับผลการจำลองภาพ โพกัสหลังเลนส์จากสมการเฟรสเนล โดยทำการหาตัวสนใจตัวแปรได้แก่ ความหนาของเซนเซอร์ทองคำ ( $d_m$ ) เท่ากับ 45 nm

ค่าดัชนีหักเหส่วนจริงของเซนเซอร์ทองคำ และค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพของเซนเซอร์ทองคำ จากการนำภาพถ่ายโพกัสหลังเลนส์ที่ได้จากการทดสอบจริงทำการคำนวณหาค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพของเซนเซอร์ทองคำ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการสนใจที่ตำแหน่งภาพที่ 658 ความยาวคลื่นที่ 581 nm ดังรูปที่ 4.6 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความเข้มแสงของภาพระนาบโพกัสหลังเลนส์สูงที่สุด โดยอ้างอิงจากรูปที่ 4.3 หากจากสมการที่ 4.1

จากผลการทดสอบถ่ายภาพโพกัสหลังเลนส์ของเซนเซอร์ทองคำที่มีความหนา 45 nm การนำสัญญาณภาพมาปรับปรุงภาพด้วยการทำให้กำลังแสงในภาพให้มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0 ถึง 1 จึงนำสัญญาณที่ปรับปรุงนั้น ไปสอบเทียบกับภาพจากแบบจำลอง ซึ่งได้อธิบายโดยละเอียดในหัวข้อที่ 3.4.5 จากนั้นนำสัญญาณค่าความแตกต่างระหว่างภาพจากการทดลองและภาพจากแบบจำลองมาคำนวณหาดัชนีหักเห ที่มีค่าเท่ากับ  $0.5031 + 2.7723i$  ที่ความหนาของเซนเซอร์ทองคำ 45 nm ดังรูปที่ 4.7 เมื่อได้ค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ จึงนำมาคำนวณย้อนกลับด้วยสมการของเฟรสเนลดังรูปที่ 4.8 ก. ซึ่งทำการวัดด้วยเซนเซอร์ทองคำที่มีชั้นของโครเมียมยึดเกาะกับแผ่นแก้วบาง ที่ตำแหน่ง  $n \sin \theta$  เท่ากับ 1.0078 โดยทำการเปรียบเทียบกับผลการจำลองที่ชั้นทองและแก้วเท่านั้นรูปที่ 4.8 ข. ซึ่งความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากการเคลือบทองจริง 2.17% อาจเกิดจากการที่พลาสมอนิกเซนเซอร์มีชั้นบาง ๆ ของโครเมียม



รูปที่ 4.7 เส้นชั้นความสูง (Contour Plot) แสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและแสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ ซึ่งมาจากการคำนวณ ตำแหน่งภาพที่ 658 ความยาวคลื่นที่ 581 nm



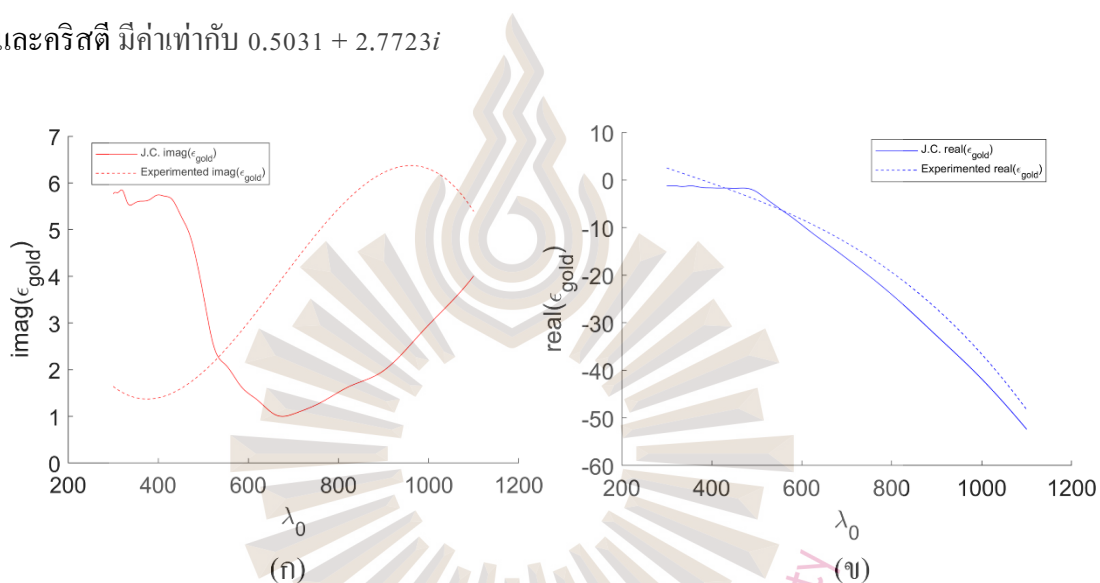
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าสัมประสิทธิ์สะท้อนกับของโพลาไรเซชันแบบพีโดยคำนวณจากสมการเฟรสเนลที่ความยาวคลื่น 581 nm (ก) การคำนวณย้อนกลับโดยการใช้ค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนจากการทดสอบจริง (ข) การจำลองค่าสัมประสิทธิ์สะท้อนที่กำหนดค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนเป็นไปตามจอห์นสันสันและคริสตี

จากผลการทดสอบวิเคราะห์ภาพโฟกัสหลังเลนส์ทั้งหมด 988 ภาพ และทำตามขั้นตอนที่ 4.4.1 ถึง 4.4.6 ในหัวข้อที่ 4.4 ทำให้ได้ความสัมพันธ์ของดัชนีหักเหเชิงซ้อนของพลาสติกเซนเซอร์ชนิดทองคำตั้งแต่ความยาวคลื่น 300 nm ถึง 1,100 nm ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ดัชนีหักเห



ส่วนจินตภาพดังรูปที่ 4.9 ก. ที่ลักษณะของกราฟเป็นไปตามรูปแบบของจอห์นสันและคริสตี เมื่อทำการสังเกตลักษณะจุดต่ำของกราฟ (Dip) และค่าดัชนีหักเหส่วนจริง ดังรูปที่ 4.9 ข.

การเลื่อนของกราฟอาจจะเป็นผลมาจากโครงสร้างของเซนเซอร์ที่ใช้ในการทดสอบซึ่งมีชั้นของโครเมียมอยู่ ด้วยเหตุผลนี้จึงทำให้กราฟเกิดความแตกต่างกัน จากการเปรียบกับค่าดัชนีหักเหของทองโดยจอห์นสันและคริสตี เมื่อสังเกตจากแนวโน้มของกราฟทำให้สรุปได้ว่า ในส่วนของดัชนีหักเหเชิงซ้อนนั้นมีแนวโน้มความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับค่าดัชนีหักเหของทองโดยจอห์นสันและคริสตี มีค่าเท่ากับ  $0.5031 + 2.7723i$



รูปที่ 4.9 (ก) กราฟแสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพจากการทดสอบจริง (เส้นประสีแดง) เปรียบเทียบกับค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนโดยจอห์นสันและคริสตี (เส้นสีแดง) (ข) กราฟแสดงค่าดัชนีหักเหส่วนจริงจากการทดสอบจริง (เส้นประสีแดง) เปรียบเทียบกับค่าดัชนีหักเหส่วนจริงโดยจอห์นสันและคริสตี

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

วิทยานิพนธ์เรื่องกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยอาศัยตัวกรองแสงที่ปรับความยาวคลื่นเชิงเส้น ซึ่งให้แสงที่ความต่อเนื่องของความยาวคลื่น เพื่อนำมาใช้ถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ของพลาสติกโมนิคไบโอเซนเซอร์ สามารถใช้วัดความยาวคลื่นที่กระตุ้นการสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว มุมที่เกิดพลาสมอน วัดความหนาและดัชนีหักเหเชิงซ้อนของโลหะมีสกุลโดยอาศัยสมการของเฟรสเนล การคำนวณเมทริกซ์ย้อนกลับ และการคำนวณภาพโฟกัสหลังเลนส์ โดยงานวิจัยนี้มีวิธีการดำเนินการดังนี้ โดยกล้องจุลทรรศน์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้สามารถถ่ายได้ระนาบโฟกัสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพของไบโอเซนเซอร์แบบเซอร์เฟสพลาสมอน กล้องจุลทรรศน์ที่สร้างสามารถถ่ายภาพสเปกตรัมโดยใช้แสงเอกรงค์ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 300 nm ถึง 1,100 nm ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงเส้น  $y(\lambda) = 0.810941 * (frame) + 47.788$  มีความสอดคล้องกับความยาวคลื่นและตำแหน่งของภาพถ่าย ซึ่งมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.998 โดยมีจำนวนภาพทั้งหมด 988 ภาพที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ความยาวคลื่นทำให้เกิดมุมพลาสมอน ที่มุม  $n \sin \theta$  เท่ากับ 1.0078 และใช้ถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ เกิดที่ตำแหน่ง 581 nm โดยอาศัยหลักการของเฟรสเนลและวิธีการคำนวณย้อนกลับ เพื่อหาค่าดัชนีหักเหเชิงซ้อนของเซนเซอร์พลาสมอนที่ความยาวคลื่น 581 nm นี้ได้ค่าดัชนีหักเหส่วนจริงและค่าดัชนีหักเหส่วนจินตภาพ มีค่าเท่ากับ  $0.5031 + 2.7723i$  ซึ่งมีความใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของจอห์นสันและคริสตี (Johnson & Christy, 1972) ที่เกิดขึ้นของกราฟอาจมาจากชั้นโครงสร้างที่ใช้ในการทดสอบทองคำจริง ซึ่งมีชั้นยึดติดของโครเมียม และสามารถคำนวณความหนาของชั้นทองคำ ได้ค่าเท่ากับ 45 nm แตกต่างจากค่าที่เคลือบจริง 2.17%

งานวิจัยระบบกล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพสเปกตรัมนี้ซึ่งใช้การถ่ายภาพระนาบโฟกัสหลังเลนส์ มีความคาดหมายว่าจะมีประโยชน์ในทางชีวการแพทย์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ที่อาศัยการสั่นพ้องของพลาสมอนบนพื้นผิว รวมถึงการใช้วิเคราะห์สมบัติของพลาสติกโมนิคไบโอเซนเซอร์ได้ด้วย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการอภิปรายผลวิทยานิพนธ์นี้เล่มนี้ สามารถพัฒนางานวิจัยได้ดังนี้

- 1) ในส่วนออกแบบและพัฒนาในส่วนของอุปกรณ์ใส่มอเตอร์และคอมพิวเตอร์สั่งการให้มีความละเอียดยิ่งขึ้นในการเคลื่อนที่เพื่อให้ความสอดคล้องกับการรับค่าความส่งผ่าน
- 2) ในส่วนของค่า NA ของเลนส์ใกล้วัตถุ สามารถปรับเปลี่ยนให้มีค่า NA สูงกว่านี้ได้
- 3) สามารถเปลี่ยนแหล่งกำเนิดแสงได้เพื่อให้ความหลากหลายและเลือกเปลี่ยนแหล่งกำเนิดแสงให้เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบ
- 4) ในส่วนการบันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลสามารถพัฒนาให้มีการบันทึกและนำข้อมูลเข้าสู่การวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ
- 5) ในส่วนของการวิเคราะห์ข้อมูลอาจจะทำการเพิ่มจำนวนเฟรมในการวิเคราะห์ข้อมูลและทำการเพิ่มประสิทธิภาพข้อมูลหลังทำการวิเคราะห์
- 6) สามารถนำไปใช้ในการทดสอบไบโอเซนเซอร์พลาสติกสมอนด้วยโลหะชนิดอื่นได้

## บรรณานุกรม

- สถิตย์ เพ็ชรประสาน. (2558). เอกสารคำสอนรายวิชา BME459 หัวข้อพิเศษทางอุปกรณ์การแพทย์ (*Special topic in Biomedical instrumentation*) เรื่องพื้นฐานทางฟิสิกส์และวิศวกรรมของกล้องจุลทรรศน์แสง. ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยรังสิต.
- Abbott, J. A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest biology and technology*, 15(3), 207-225.
- Akbari, H., Uto, K., Kosugi, Y., Kojima, K., & Tanaka, N. (2011). Cancer detection using infrared hyperspectral imaging. *Cancer science*, 102(4), 852-857.
- Anon, 2019. *The Wave Nature of Light*. Retrieved from <https://chem.libretexts.org/@go/page/148587>
- Anon, 2021. *The Third Law of Thermodynamics*. Retrieved from <https://chem.libretexts.org/@go/page/41611>
- Attaran, A., Emami, S. D., Soltanian, M. R. K., Penny, R., Harun, S. W., Ahmad, H., & Moghavvemi, M. (2014). Circuit model of Fano resonance on tetramers, pentamers, and broken symmetry pentamers. *Plasmonics*, 9(6), 1303-1313.
- Castagna, J. P., Sun, S., & Siegfried, R. W. (2003). Instantaneous spectral analysis: Detection of low-frequency shadows associated with hydrocarbons. *The leading edge*, 22(2), 120-127.
- Chao, K., Mehl, P. M., & Chen, Y. R. (2002). Use of hyper- and multi-spectral imaging for detection of chicken skin tumors. *Applied Engineering in Agriculture*, 18(1), 113.
- Clark, R. N., & Rencz, A. N. (1999). *Spectroscopy of rocks and minerals, and principles of spectroscopy*. Manual of remote sensing (3rd ed.), 3-58, New York, John Wiley & Sons.
- Englebienne, P. (1999). *Immune and receptor assays in theory and practice*. Florida, CRC Press.
- Englebienne, P. (1999). Synthetic materials capable of reporting biomolecular recognition events by chromic transition. *Journal of Materials Chemistry* 9(5), 1043-1054.
- Gao, L., Kester, R. T., & Tkaczyk, T. S. (2009). Compact Image Slicing Spectrometer (ISS) for hyperspectral fluorescence microscopy. *Optics express*, 17(15), 12293-12308.
- Goetz, A. F., Vane, G., Solomon, J. E., & Rock, B. N. (1985). Imaging spectrometry for earth remote sensing. *Science*, 228(4704), 1147-1153.

### บรรณานุกรม (ต่อ)

- Harté, E., Maalouli, N., Shalabney, A., Texier, E., Berthelot, K., Lecomte, S., & Alves, I. D. (2014). Probing the kinetics of lipid membrane formation and the interaction of a nontoxic and a toxic amyloid with plasmon waveguide resonance. *Chemical communications*, 50(32), 4168-4171.
- Heald, M. A. and J. B. Marion (2012). *Classical electromagnetic radiation* (3<sup>rd</sup> ed.). New York, Dover Publications.
- Homola, J., Yee, S. S., & Gauglitz, G. (1999). Surface plasmon resonance sensors. *Sensors and actuators B, Chemical*, 54(1-2), 3-15.
- Johnson, P. B. and R.-W. Christy (1972). Optical constants of the noble metals. *Physical review B*, 6(12), 4370.
- Jung, L. S., Campbell, C. T., Chinowsky, T. M., Mar, M. N., & Yee, S. S. (1998). Quantitative interpretation of the response of surface plasmon resonance sensors to adsorbed films. *Langmuir*, 14(19), 5636-5648.
- Keith, D. J. (2020). Coastal and Estuarine Waters In Optical Sensors and Remote Sensing. *Coastal and Marine Environments* (2<sup>nd</sup> ed.) (pp. 51-59), Florida, CRC Press.
- Kim, M. S., Chen, Y. R., & Mehl, P. M. (2001). Hyperspectral reflectance and fluorescence imaging system for food quality and safety. *Transactions of the ASAE*, 44(3), 721.
- Li, Q., He, X., Wang, Y., Liu, H., Xu, D., & Guo, F. (2013). Review of spectral imaging technology in biomedical engineering: achievements and challenges. *Journal of biomedical optics*, 18(10), 100901.
- Lu, G. and B. Fei (2014). Medical hyperspectral imaging: a review. *Journal of biomedical optics*, 19(1), 010901.
- Malmqvist, M. (1999). BIACORE: an affinity biosensor system for characterization of biomolecular interactions. *Biochemical society transactions*, 27(2), 335-340.
- Meyers, M. M., Ferreira, I., Fomitchov, P., & Filkins, R. (2011, February). Multispectral line confocal imaging microscope for fluorescence applications. Proc. SPIE 7902, *Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues IX* (Vol. 7902, p. 79020I). International Society for Optics and Photonics.

**บรรณานุกรม (ต่อ)**

- Nashif, A. D., Jones, D. I., & Henderson, J. P. (1985). *Vibration damping*. New York, John Wiley & Sons.
- Panasyuk, S. V., Yang, S., Faller, D. V., Ngo, D., Lew, R. A., Freeman, J. E., & Rogers, A. E. (2007). Medical hyperspectral imaging to facilitate residual tumor identification during surgery. *Cancer biology & therapy*, 6(3), 439-446.
- Pinto, D., et al. (2010). Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature*, 466(7304), 368-372.
- Qin, J., Chao, K., & Kim, M. S. (2010). Raman chemical imaging system for food safety and quality inspection. *Transactions of the ASABE*, 53(6), 1873-1882.
- Shankaran, D. R., Gobi, K. V., & Miura, N. (2007). Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 121(1), 158-177.
- Sheffield, J., Froula, D., Glenzer, S. H., & Luhmann Jr, N. C. (2010). *Plasma scattering of electromagnetic radiation: theory and measurement techniques* (2<sup>nd</sup> ed.). Oxford: Academic press.
- Strong, J. (1949). Resolving power limitations of grating and prism spectrometers. *JOSA*, 39(4), 320-323.
- Weitzel, L., Krabbe, A., Kroker, H., Thatte, N., Tacconi-Garman, L. E., Cameron, M., & Genzel, R. (1996). 3D: The next generation near-infrared imaging spectrometer. *Astronomy and Astrophysics Supplement Series*, 119(3), 531-546.
- Zuzak, K. J., Naik, S. C., Alexandrakis, G., Hawkins, D., Behbehani, K., & Livingston, E. H. (2007). Characterization of a near-infrared laparoscopic hyperspectral imaging system for minimally invasive surgery. *Analytical chemistry*, 79(12), 4709-4715.





ภาคผนวก ก

โปรแกรมสำหรับการเคลื่อนที่ของระบบมอเตอร์แบบขั้น



## คำสั่งควบคุมการทำงานมอเตอร์แบบขั้น

```
clc;
clear all;
close all;

global a;

a = arduino('Com4','UNO','Libraries','Adafruit/MotorShieldV2');
shield = addon(a,'Adafruit\MotorShieldV2');
sm = stepper(shield,2,200,'RPM',10,'steptype','Microstep');
sm.RPM = 400;
for ii=1:1
    move(sm,4000);
end
```





```

clear
clc
close all

ni=1.52;
ns=1.0;
theta_i=linspace(0,pi/2,201);
sin_theta_t=ni*sin(theta_i)/ns;
theta_t=asin(sin_theta_t);
rp_BK7=(ns*cos(theta_i)-ni*cos(theta_t))/(ni*cos(theta_t)+ns*cos(theta_i));
tp_BK7=2*ni*cos(theta_i)/(ns*cos(theta_i)+ni*cos(theta_t));
rs_BK7=(ni*cos(theta_i)-ns*cos(theta_t))/(ni*cos(theta_i)+ns*cos(theta_t));
ts_BK7=2*ni*cos(theta_i)/(ni*cos(theta_i)+ns*cos(theta_t));
ni_BK7=ni;
% ni=1.78;
% sin_theta_t=ni*sin(theta_i)/ns;
% theta_t=asin(sin_theta_t);
% rp_SF11=(ns*cos(theta_i)-ni*cos(theta_t))/(ni*cos(theta_t)+ns*cos(theta_i));
% tp_SF11=2*ni*cos(theta_i)/(ns*cos(theta_i)+ni*cos(theta_t));
% rs_SF11=(ni*cos(theta_i)-ns*cos(theta_t))/(ni*cos(theta_i)+ns*cos(theta_t));
% ts_SF11=2*ni*cos(theta_i)/(ni*cos(theta_i)+ns*cos(theta_t));
% ni_SF11=ni;
set(gca,'FontSize',18);
figure
plot(theta_i,abs([rp_BK7; rs_BK7]));
xlim([0 pi/2]);
xlabel('incident angle\theta_i,rad');
ylabel('|r|');
figure
plot(2*pi*ni_BK7*sin(theta_i),abs([rp_BK7; rs_BK7]));
xlabel('k_xi,mum^-1');
ylabel('|r|');

```



```

clear all
clc
close all
npts=500;
NA=1.25;
lambda=0.633;
% lambda=linspace(0.4,1.1,npts);
ni=1.52;
[n,k]=J_and_C_Au(lambda);
nm=n+k*1i;
ns=1;
d=0.0050;
% for iinlambda=1:npts
kmax=(2*pi*NA)/lambda;
kmedium=2*pi*ni/lambda;
kmin=-kmax;
kx=linspace(kmin,kmax,npts);
kx= repmat(kx,[npts 1]);
ky=kx.';
phi=atan2(ky,kx);
ap=circ(npts);
kz=sqrt((kmedium*kmedium)-(kx.*kx)-(ky.*ky)).*ap;
krad=sqrt((kx.*kx)+(ky.*ky)).*ap;
sin_theta_i=krad/kmedium;
[rp]=Fresnel_2(sin_theta_i,ni,nm,ns,d,lambda);
rp=rp.*ap;
rs=rs.*ap;
psi=phi;
BFPx=(rp.*cos(psi).*cos(phi))+(rs.*sin(phi).*sin(psi));
BFPy=(rp.*cos(psi).*sin(phi))-(rs.*cos(phi).*sin(psi));
BFP2=abs(BFPx).^2+abs(BFPy).^2;
% end
imagesc(BFP2)
axis off
axis image

```



```

clc
clear
close all
addpath('functions')

filename='gold5.mp4';
nframe=658;
lambda=0.810941*nframe+47.788;
% Determine nm, km, dm
v = VideoReader(filename);
frame = double(rgb2gray(read(v,nframe)));
frame=frame./max(max(frame));
imagesc(frame)
axis image
axis off
% Crop from the center
centerOfMass_y=955.3204;
centerOfMass_x=1.2719e+03;
sband=938;
cropped_frame=frame(round(centerOfMass_y+50)-
sband:round(centerOfMass_y+50)+sband,round(centerOfMass_x-75)-sband:round(centerOfMass_x-
75)+sband);
imagesc(cropped_frame)
axis image
axis off
% Multiple with aperture
[npts,aa]=size(cropped_frame);
nh=ceil(npts/2);
ap=circ(npts);
imagesc(ap)
axis image
axis off
outside_frame=cropped_frame.*(1-ap);
imagesc(outside_frame)
axis image

```

```

axis off
average_background=sum(sum(outside_frame))./sum(sum(1-ap));

cropped_frame=(cropped_frame-average_background).*ap;
imagesc(cropped_frame)
axis image
axis off
% Azimuthal rotation
temp=zeros(npts,npts);
for ii=-45:45
    temp=temp+imrotate(cropped_frame,ii,'crop');
end
BFP_exp=temp/91;
BFP_exp=BFP_exp./max(max(BFP_exp));

% Only look at 1D data
linscan_BFP=BFP_exp(nh,nh:end);
linscan_BFP_rescale=spline(1:939,linscan_BFP,linspace(1,960,939));

% Identify pupil function
% p=polyfit(100:770,linscan_BFP_rescale(100:770),2);
% pupil_function=polyval(p,1:939);
load('pupil_function.mat');
normalized_BFP=linscan_BFP_rescale./pupil_function;
normalized_BFP=normalized_BFP./max(normalized_BFP);

% Find average mean
% 100-700
alpha=0.995816308774999;
normalized_BFP=alpha*normalized_BFP;

% Eliminte d
d=0.045;

% Contour of eps real eps imag
% reset(gpuDevice(1));
nreal=21; %51
nimag=21; %50

```



```

epsm_imag=linspace(0,10,nimag);
epsm_real=linspace(-70,20,nreal);
max_difference=zeros(nreal,nimag);
normalized_BFP=normalized_BFP(755:854);
for ii=1:nreal
    disp(ii);
    parfor jj=1:nimag
        espm_model=epsm_real(ii)+1i*epsm_imag(jj);
        BFP_model=BFP_to_compare_v2(lambda/1000,sqrt(espm_model),d,npts);
        max_difference(ii,jj)=gather(sum(abs(BFP_model-normalized_BFP)));
    end
end

figure,
imagesc(epsm_real,epsm_imag,max_difference)
xlabel('real(\epsilon)')
ylabel('imag(\epsilon)')
set(gca,'FontSize',18)

% Interpolate
[X,Y]=meshgrid(epsm_imag,epsm_real);
epsm_image_fine=linspace(epsm_imag(1),epsm_imag(end),1001);
epsm_real_fine=linspace(epsm_real(1),epsm_real(end),1001);
[Xq,Yq]=meshgrid(epsm_image_fine,epsm_real_fine);
Vq=interp2(X,Y,max_difference,Xq,Yq);

figure,
surf(Yq,Xq,Vq,'EdgeColor','none')
xlabel('real(\epsilon)')
ylabel('imag(\epsilon)')
set(gca,'FontSize',18)
% axis([min(epsm_imag) max(epsm_imag) min(epsm_real) max(epsm_real)])
view(0,90)

[min_val,nr]=min(min(Vq));

```

```

[min_val, nc]=min(min(Vq));

% output=[epsm_real_fine(nc) epsm_image_fine(nr) d]

output=[epsm_real_fine(nr) epsm_image_fine(nc) d] % true

nm_calculated = sqrt(epsm_real_fine(nr) + epsm_image_fine(nc)*1i)
sin_theta_i = linspace(0,1,1001);
ni = 1.52;
ns = 1.00;
[n,k]=J_and_C_Au(lambda);
nm=n+k*1i;
[rs,rp]=Fresnel_2(sin_theta_i,ni,nm_calculated,ns,d,lambda/1000);
[rs_2,rp_2]=Fresnel_2(sin_theta_i,ni,nm,ns,d,581);
figure,hold on
plot(ni*sin_theta_i,abs(rp).^2)
plot(ni*sin_theta_i,abs(rs).^2)
plot(ni*sin_theta_i,abs(rp_2).^2)
plot(ni*sin_theta_i,abs(rs_2).^2)

clear
clc
close all
filename='gold5.mp4';
output=zeros(988,3);
tic
for nframe= 658 %971:3:1298
    try
        output(nframe-310,:)=extract_eps_d_v2(filename,nframe);
    catch
        disp('skipped');
    end
end
end
toc
save('output.mat','output');

```

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	ชุตินา วงศ์ภา
วัน เดือน ปีเกิด	4 กรกฎาคม 2540
สถานที่เกิด	กรุงเทพฯ ไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญา วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์,2563 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์,2564
ที่อยู่ปัจจุบัน	159/23 หมู่บ้านราชพฤกษ์ ถนน สุวินทวงศ์ แขวง แสน แสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ 15010

