

กล้องจุลทรรศน์แสงแบบส่องกราดสนามระยะใกล้

Near-field scanning optical microscope

ภัทรพงศ์ รักน้อย^{1*}

Phattrapong Racknoi¹

ABSTRACT

Near-field scanning optical microscope (NSOM) is a scanning optical microscope that resolves an object into an optical image with a resolution well below the diffraction limit which is obtained by using a sub-wavelength probe scanning the sample surface as close as $<10\text{nm}$. This nanometer size probe can be a light source which near-field pattern can be observed in far field, or a near-field pattern detector which laser passes through particles from far field, or scatter source at near field which an object can be observed in far field. The dynamics of distance regulation system is based on oscillating probe at resonance with tuning fork shear-force feedback system, which is used as distance control mechanism, while the sample is scanned near probe with XYZ-piezoelectric scanner. The microscope has many different types which are varied by the techniques of detecting or sending the laser. Near-field scanning optical microscopes have been used in physical and biological studies in which nano-scale resolution is essential.

Keywords: NSOM, Near-field scanning optical microscope

บทคัดย่อ

กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดสนามแสงระยะใกล้เป็นอุปกรณ์สร้างภาพของอนุภาคขนาดเล็กกว่าขีดจำกัดการเลี้ยวเบนของแสง โดยใช้ท่อนำแสงปลายแหลมเล็กกว่าความยาวคลื่นหลายเท่ารับหรือส่งแสงใกล้ผิวตัวอย่างทดสอบมากๆ ประมาณ 10nm ท่อนำแสงเล็กขนาดนาโนเมตรนี้อาจทำหน้าที่เป็นหัววัดสนามแสงระยะใกล้ที่ส่งผ่านอนุภาคเล็กมาจากระยะไกลๆ หรืออาจเป็นหัวส่งแสงระยะใกล้ซึ่งให้ภาพอนุภาคที่ตรวจรับได้จากระยะไกล หรือหัวระเห็จแสงระยะใกล้ที่สังเกตภาพได้จากระยะไกล การคงตำแหน่งหัววัดทำได้โดยหลักการสั่นพ้องกับอุปกรณ์ที่มีรูปคล้ายส้อมเสียงที่ทำหน้าที่ควบคุมแบบป้อนกลับ และใช้เป็นตัวควบคุมระยะห่างจากผิวตัวอย่างทดสอบ ขณะที่ตัวอย่างทดสอบถูกเคลื่อนผ่านใกล้ท่อนำแสงด้วยไพโซอิเล็กทริกแบบ 3 แกน แกน อุปกรณ์แบบนี้มีหลายรูปแบบต่างกันไปตามหลักการรับหรือส่งแสง สามารถนำไปศึกษาได้ทั้งทางกายภาพและชีวภาพ และมีแนวโน้มการศึกษาต่อไปเพื่อให้สามารถตรวจสอบวัตถุที่เล็กในระดับนาโนเมตร

คำสำคัญ: สนามแสงระยะใกล้

^{1*}โครงการจัดตั้งสายวิชาฟิสิกส์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Physics, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus Nakorn Patom 73140, Thailand.

*Corresponding author: Tel. 08-6811-1995, E-mail address: faasptr@ku.ac.th

บทนำ

กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้เลนส์รวมแสงแบบเก่าสามารถทำให้เห็นภาพที่มีค่าความละเอียดสูงเพียงในระดับไมโครเมตร ค่าความละเอียดสูงนี้ถูกจำกัดโดยขีดจำกัดการเลี้ยวเบนของ Abbe ซึ่งแปรตามความยาวคลื่นแสงกล้องจุลทรรศน์แบบนี้เริ่มใช้มากกว่า 300 ปี แม้จะมีพัฒนาการมาเป็นลำดับแต่ก็ยังไม่สามารถขยายภาพวัตถุในระดับนาโนเมตรได้ ย้อนหลังไปประมาณ 20 ปีก่อนได้เริ่มมีการศึกษากล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดสนามแสงในระยะใกล้ (Near-field scanning optical microscope) ขึ้นมาเพื่อก้าวข้ามขีดจำกัดของการเลี้ยวเบนไปสู่การสร้างภาพที่ขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงมากๆ (Betzig *et al.*, 1986) NSOM ใช้หลักการรับสนามแสงบนผิวของวัตถุที่ระยะห่างจากผิววัตถุน้อยกว่าความยาวคลื่นหลายสิบเท่า ซึ่งตรงตำแหน่งดังกล่าวนี้จะตรวจพบ evanescent wave ที่ผ่านอนุภาคขนาดเล็กในระดับ 50-200 นาโนเมตรและเป็นสนามแสงที่ไม่สามารถสังเกตหรือตรวจรับได้ในระยะไกล (Maas *et al.*, 2002) NSOM นี้มีพัฒนาการต่อมาจนเกิดรูปแบบที่ต่างกันอย่างออกไปหลากหลายรูปแบบตามหลักการ

ทำงาน ซึ่งอาจเป็นการส่องแสงระยะใกล้ไปบนผิววัตถุด้วยท่อนำแสงปลายเรียวแหลมขนาดนาโนเมตรแล้วตรวจรับแสงส่งผ่านที่ระยะไกล หรืออาจเป็นการรับแสงเรืองระยะใกล้บนผิววัตถุอย่างใดอย่างหนึ่ง อย่างไรก็ตามอาจพิจารณาแบ่งรูปแบบเครื่องมือตามหลักการสนามแสงระยะใกล้ได้เป็นสองรูปแบบหลักๆ คือ แบบ A เป็นแบบที่หัวส่ง/หัววัดมีรูช่องเปิดรับหรือส่งแสงเรียกว่า Aperture type NSOM และแบบ B เป็นแบบที่ใช้อนุภาคเรืองแสงขนาดนาโนเมตรติดที่ปลายเรียวแหลมเพื่อกระเจิงแสงความยาวคลื่นใหม่ออกไปยังอุปกรณ์รับแสงระยะไกลเรียกว่า Scattering type NSOM (Muller *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังมีกล้องอีกรูปแบบหนึ่งที่ใช้หลักการรับในระยะใกล้คือการรับรังสีความร้อนในสนามระยะใกล้หรือที่เรียกว่า "thermal radiation scanning tunneling microscope" (Wischnath *et al.*, 2008) แต่ในบทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะรูปแบบ Aperture type NSOM ที่ใช้เส้นใยนำแสงเป็นหัววัดหรือหัวส่งแสงเป็นประเด็นหลักการเรียกชื่อย่ออุปกรณ์แบบนี้ อาจแตกต่างกันหรือสลับกันไปบ้างเช่น NOSTM หรือ SNOM เป็นต้น

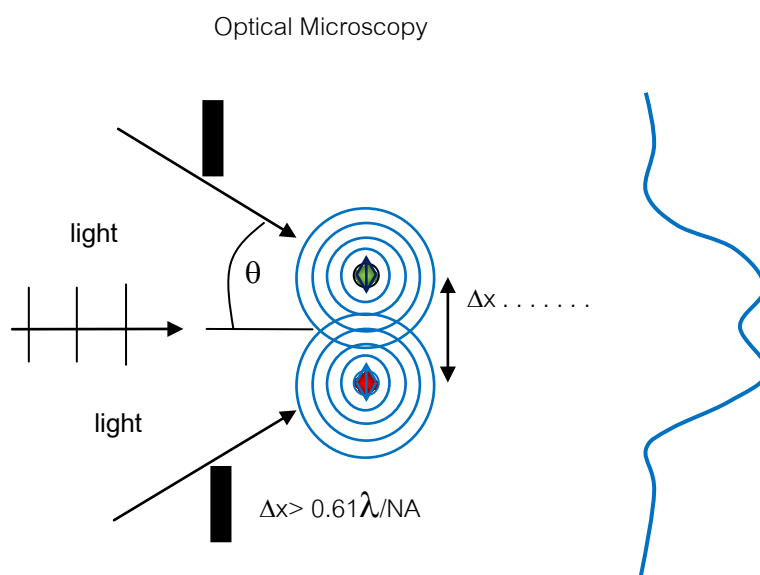


Figure 1 Diffraction limit of light and far-field optical microscopy

หลักการที่ใช้ในการตรวจวัด

เขตจำกัดของสนามแสงระยะใกล้แปรตามขนาดช่องเปิดรับแสง (Numerical aperture: $NA = \sin\theta$) จึงมีเพียงคลื่นที่เคลื่อนที่แผ่ออกตามทิศทาง z ด้วยเวกเตอร์ k (k-vector) ซึ่งจำกัดอยู่ในขอบเขตช่องเปิดแสงเท่านั้นที่ผ่านไปถึงตัวรับแสงได้โดยที่ $\sin(\vec{z}, \vec{k}) < NA$ หมายถึงมีเพียงบางความถี่ที่แพร่กระจายเชิงพื้นที่ซึ่งเล็กกว่า $\frac{NA}{\lambda}$ เท่านั้นที่จะสามารถตรวจรับได้ในสนามระยะใกล้ หรือระยะกว้างกว่า $\frac{\lambda}{NA}$ สอดคล้องกันกับขีดจำกัดการเลี้ยวเบนดั่ง Figure 1 และสอดคล้องกันกับขีดจำกัดการเลี้ยวเบน Rayleigh Criterion

ขีดจำกัดนี้สามารถคำนวณได้จาก $0.61 \frac{\lambda}{NA}$ ตามขีดจำกัดนี้ส่งผลให้ไม่สามารถแยกข้อมูลความถี่เชิงพื้นที่ของอนุภาคเล็กๆ ที่อยู่ห่างกันไม่กี่นาโนเมตรจากการตรวจรับที่ระยะไกลๆ ได้สนามระยะใกล้ประกอบด้วยข้อมูลความถี่เชิงพื้นที่ของภาพจำนวนมากซึ่งไม่สามารถคงรูปแบบให้เคลื่อนที่ไปได้เป็นระยะไกลๆ ได้และจะลดลงอย่างรวดเร็ว ไม่สามารถตรวจพบได้ในสนามระยะใกล้ จึงเรียกว่า Evanescent waves การรับหรือส่งสนามแสงระยะใกล้จึงเป็นการสร้างและตรวจสอบข้อมูลความถี่แพร่กระจายสูงเชิงพื้นที่ของสนามแสงดัง Figure 2

Aperture of Near-Field Microscopy

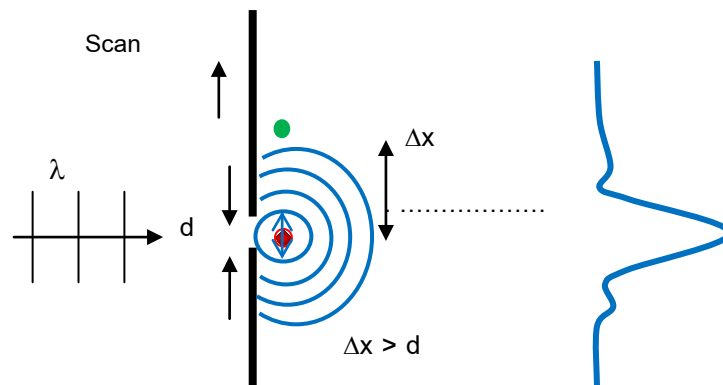


Figure 2 Schematic diagram of an aperture near-field microscopy

การตรวจหาข้อมูลความถี่แพร่กระจายสูงเชิงพื้นที่ของภาพวัตถุจึงจำเป็นต้องสร้างช่องเปิดขนาดเล็กใกล้ผิวของวัตถุหรืออนุภาคตาม Figure 2 ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้หัวส่งหรือหัววัดปลายแหลมเล็กระดับนาโนเมตรดัง Figure 3 วางใกล้บริเวณผิววัตถุตัวอย่างทดสอบเพื่อตรวจสอบสนามระยะใกล้ของผิววัตถุโดยตรง จึงหมายถึงการตรวจสอบวัตถุขนาดระดับนาโนเมตรโดยการแปลง Evanescent waves บนผิววัตถุให้เป็นคลื่นเคลื่อนที่ให้สามารถ

ตรวจรับได้จากสนามระยะใกล้ เช่น การใช้อินทิเกรตเชิงแสงระยะใกล้ขนาดระดับนาโนเมตรเป็นต้น หรืออาจเป็นการตรวจรับสนามระยะใกล้ด้วยท่อนำแสงที่มีช่องเปิดขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นหลายสิบเท่าโดยตรง ซึ่งเป็นรูปแบบการตรวจรับที่เรียกว่าโหมดเลือกรับ collection mode (Chibani et al., 2011) ส่วนอีกโหมดหนึ่งเป็นการส่งผ่านแสงความถี่แพร่กระจายเชิงพื้นที่ไปยังวัตถุตัวอย่างทดสอบในระยะใกล้ที่สั้นกว่าความยาว

คลื่นมาก ๆ หลายสิบเท่าผลของอันตรกิริยาระหว่างแสงกับตัวอย่างทดสอบสามารถตรวจรับได้จากสนามระยะใกล้เช่น ตรวจรับแสงพลาสมอนิกที่เกิดจากสารตัวอย่างทดสอบ รูปแบบนี้เรียกว่าโหมดส่องสว่าง Illumination mode

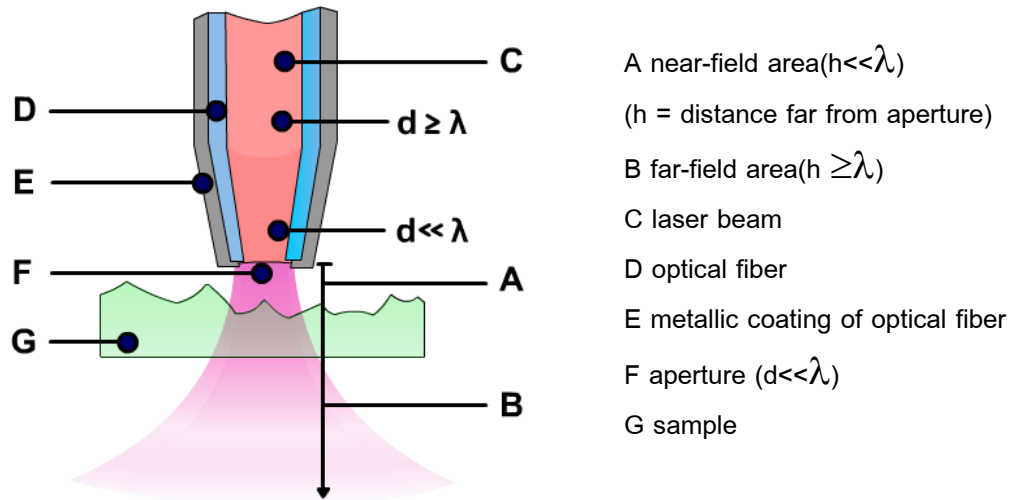


Figure 3 Schematic diagram of a probe is used with an aperture for near-field optical image at point (NanoScanTechnology, 2007)

แบบ A (Figure 4) เป็นแบบที่ส่องแสงระยะใกล้ไปบนตัวอย่างทดสอบและรับแสงเรืองของสารตัวอย่างทดสอบที่เคลื่อนผ่านในระยะใกล้ด้วยหัววัดและหัวส่งเดียวกัน

1. แบบ B (Figure 4) เป็นแบบที่ส่องแสงระยะใกล้ไปบนตัวอย่างทดสอบเคลื่อนที่ด้วยหัวส่งปลายแหลมระดับนาโนเมตรและรับแสงเรืองของสารตัวอย่างทดสอบในระยะใกล้ด้วยเลนส์และอุปกรณ์ตรวจรับแสงสะท้อนกลับที่ระยะไกล

2. แบบ C (Figure 4) เป็นแบบที่รับแสงเรืองระยะใกล้ที่สะท้อนกลับมาจากผิวตัวอย่างทดสอบเคลื่อนที่ด้วยหัวรับแสงปลายแหลมที่มีช่องเปิดเล็ก 50-100 nm โดยการส่งสนามแสงระยะใกล้ไปกระตุ้นสารเรืองแสง

3. แบบ D (Figure 4) เป็นแบบที่ส่องแสงระยะใกล้ไปบนสารตัวอย่างทดสอบเคลื่อนที่และรับแสงเรืองผ่านสารทดสอบที่ระยะไกล

(Langeet *al.*, 2001) ปัจจุบันกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดสนามแสงระยะใกล้มีความแตกต่างกันไปตามลักษณะปลีกย่อยของอุปกรณ์ส่งแสงและอุปกรณ์การตรวจรับแสงของแต่ละรูปแบบ ซึ่งอาจแยกย่อยได้เป็นรูปแบบที่แตกต่างกันได้ดังนี้

4. แบบ E (Figure 4) เป็นแบบที่รับแสงเรืองระยะใกล้บนตัวอย่างทดสอบซึ่งได้รับการกระตุ้นจากแสงระยะใกล้ที่ส่งผ่านสารตัวอย่างทดสอบ

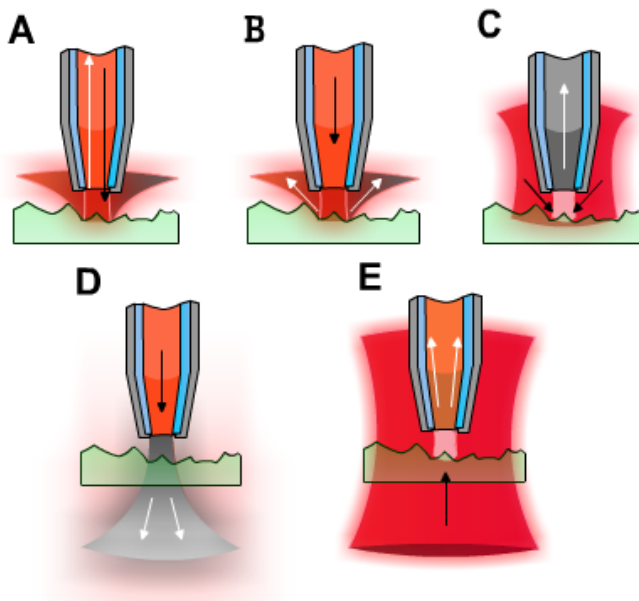
นอกจากนี้ในแต่ละแบบยังแตกต่างกันไปได้ตามเทคนิคการวัดและการส่งแสงที่ถูกเลือกใช้ในแต่ละการศึกษาอีกด้วยหัววัดกับหัวส่งแสงมีหลายชนิดและหลายรูปแบบด้วยกันแต่โดยภาพรวมมักเป็นท่อนำแสงแบบแก้วที่ถูกทำให้เป็นปลายแหลมเร็วในระดับ 50-100 nm และเคลือบด้วยโลหะบาง ๆ เช่นทองหรืออะลูมิเนียมเพื่อป้องกันการเกิดประจุ และกันแสงรบกวนอื่นๆ

การเตรียมหัววัดกับหัวส่งแบบเส้นใยนำแสงสำหรับกล้องจุลทรรศน์สนามระยะใกล้อาจทำได้โดยใช้สารกัดกร่อนแบบเลือกกัดกร่อนซึ่งเป็นกรรมวิธีสร้างผลิตภัณฑ์ของหัววัดสนามระยะใกล้ที่มีคุณภาพสูง มีความถูกต้องและสร้างได้ง่าย ขั้นตอนวิธีการผลิตคือใช้เส้นใยแก้ว

นำแสงจุ่มลงในสารละลายบัฟเฟอร์ของกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) โดยปรับความเข้มข้นสารละลายกัดกร่อนให้ละลายแกนเส้นใยด้วยอัตราที่ช้ากว่าการละลายของแคลด์ดิงจนได้หัววัดที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ในปัจจุบันมีการพัฒนาหัววัดกับหัวส่งแบบโพลาริซ โดยใช้ใยแก้วนำแสงแบบโพลาริซชัน เป็นการประดิษฐ์ปลายแหลมจากใยนำแสงแบบโพลาริซชัน 4 ชนิด คือ 1) ชนิด panda 2) ชนิด bow-tie 3) ชนิด elliptical cladding (วงรีห่อหุ้ม) และ 4) ชนิดแกนวงรี elliptical core ซึ่ง

สามารถคงสถานะโพลาริซชันที่แกนของหัววัด (Inoue *et al*, 2004)

ปัจจุบันได้มีการนำเส้นใยนำแสงแบบพลาสติกชนิด polymethylmethacrylate (PMMA) มาทำเป็นหัววัดกับหัวส่งแสง โดยนำเส้นใยนำแสงแบบ step index-type ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางกลาง 250 μm แกนของเส้นใยนำแสงเป็น PMMAบริสุทธิ์มีดัชนีหักเหแสง $n_{\text{core}} = 1.49$ และห่อหุ้มด้วยแคลด์ดิงเป็น fluorinated PMMA ที่มีดัชนีการหักเหแสง $n_{\text{cladding}} = 1.35$



A - for illuminating and collecting reflected radiation, the same optical fiber is used

B -for illumination using optical fiber probe to collect the reflected light from the sample surface

C - for illuminating sample an external source of laser radiation is used, for collecting reflected radiation the probe is used

D - for illuminating the sample a probe is used for collecting transmitted light. The technique is applicable only to transparent samples

E - for illuminating sample an external source of laser radiation is used, to collect transmitted light a probe is used. The technique is applicable only to transparent samples

Figure 4 This figure shows different methods of near-field optical microscopy with aperture (NanoScanTechnology, 2007)

สารละลายที่ใช้เป็นตัวกัดกร่อนหัววัดคือ เอทิลอะซิเตต 99.5% (EA) เนื่องจากการสูญเสียน้ำหนักของเส้นใยในสารนี้มากกว่าสารกัดกร่อนอื่นๆ และเนื่องจากอัตราการสลายตัวของเส้นใยใน EA เกือบจะเป็นเชิงเส้นกับช่วงเวลาที่ยุ่มลงในสารเคมีนี้

ขั้นตอนการกัดกร่อนมีสองขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกต้องจุ่มส่วนของสายเส้นใยยาว 2 cm ลงไปในเอทิลอะซิเตตนาน 30-40 นาที เพื่อให้เส้นผ่าศูนย์กลางของสายเส้นใยถูกกัดกร่อนลดลงไปครึ่งหนึ่งของเส้นใยเดิม รวมถึงการสลายส่วนของฟิล์มพอลิเมอร์ที่เคลือบป้องกันผิวออกออกไป ขั้นตอนต่อมาคือ จุ่มส่วนปลายของเส้นใยเป็ลื่อยให้อยู่ใต้สารเคมีเป็นเวลา 20-30 นาทีโดยจุ่ม

ลงไปในการละลายกัดกร่อนอย่างช้าๆ พร้อมกับ การเคาะแก้วบรรจุสารทำละลายเป็นช่วงๆ เป็นการสร้างส่วนปลายกรวยแหลมของเส้นใยที่มีรัศมี ปลายโค้งมนให้ได้ประมาณ 50-100 nm หลังจาก ที่ผ่านการกัดกร่อนแล้วและนำส่วนปลายมาล้างใน น้ำที่เป็นกลางจึงนำไปใช้ได้ (Chibani *et al.*, 2010)

การใช้ความร้อนดึงเส้นใยแก้วนำแสงเป็น อีกวิธีหนึ่งในการสร้างปลายเรียวแหลมของหัววัด กับหัวส่งการให้ความร้อนอาจใช้คาร์บอนเลเซอร์ กำลังสูงฉายไปบนใยแก้วนำแสงขณะเดียวกันนั้นก็ ดึงปลายสองข้างออกอย่างช้าๆ ดัง Figure 5 (a) ได้

เส้นใยปลายแหลมเรียวซึ่งแบ่งออกได้เป็นสามส่วน ส่วนที่หนึ่งเป็นโคนปลายแหลมที่มีความยาวใน ระดับมิลลิเมตร ช่วงที่สองเป็นช่วงความยาวสั้นๆ ยาวประมาณสองร้อยกว่าไมโครเมตร เป็นบริเวณ ที่สนามแสงเริ่มเป็นแบบevanescence waveและ ส่วนที่สามเป็นบริเวณปลายแหลมตรงส่วนปลายมี ช่องเปิดเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงหลายสิบเท่า ความยาวตั้งแต่ส่วนที่สองมักถูกกัดกร่อนออกให้ สั้นลงดัง Figure 5(b)-5(d) ตามลำดับภาพของ 5(b)-5(d) เกิดจากการดึงด้วยแรงต่างกันและ พลังงานของเลเซอร์ที่แตกต่างกัน (Lazarev *et al.*, 2003)

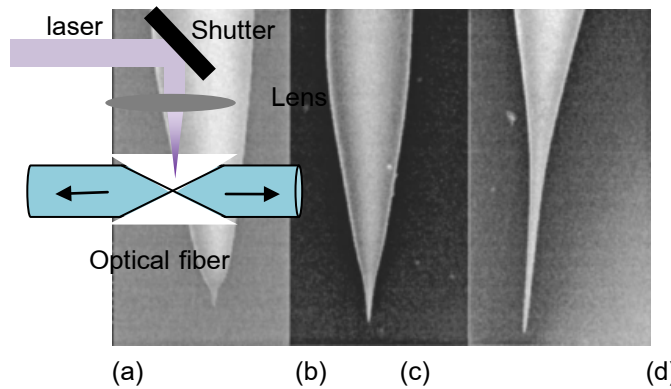


Figure 5 (a) figure of single mode optical fiber used for making near-field probes. 5(b)-5(d) picture of typical

tips made at laser power and pulling force of: (b) 1.8 W, 0.74 (c) 1.9 W, 0.74 and (d) 1.9 W, 0.24

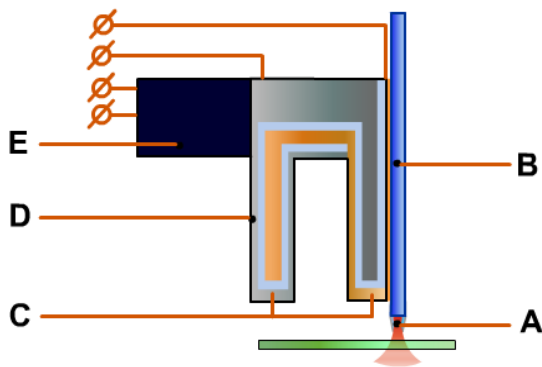
lb. (Lazarev *et al.*, 2003)

การควบคุมการปรับเลื้อนระยะ XYZ

ใช้หลักยึดของไพโซอิเล็กทริกเมื่อได้รับการ บ้อนตักย์ไฟฟ้า มีการควบคุมการเคลื่อน ตัวอย่างทดสอบผ่านหัววัดหรือหัวส่งแสงแบบอัตโนมัติ ส่วนการควบคุมหัววัดหรือหัวส่งแบบโยนนำ แสงปลายแหลมทำได้โดยนำไปติดกาวลงบน อุปกรณ์พวกไดอิเล็กทริกที่มีรูปร่างคล้ายส้มเสียง ดัง Figure 6 ซึ่งเมื่อบ้อนความถี่กระแสไฟฟ้า ให้กับอุปกรณ์ส้มเสียงนี้จะต้องเกิดการสั่นพ้อง (double resonance) กันกับการสั่นของส่วนปลาย

เส้นใยซึ่งระยะความยาวตรงส่วนปลายอิสระของ เส้นใยต้องมีความยาวที่เหมาะสม โดยทั่วไปเมื่อใช้ ใยแก้วมาตรฐานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $125\mu\text{m}$ จะมีสภาพสั่นพ้องเกิดขึ้นเมื่อความยาวของปลาย คานอิสระของเส้นใยเท่ากับ $4.8 \pm 0.1\text{mm}$ ซึ่ง ความถี่เรโซแนนซ์ได้คำนวณตาม สูตร $\omega = (\alpha_n^2/l^2)\sqrt{EI/\rho S}$ เมื่อ $I = (1/4)(\pi r^4)$ เป็นโมเมนต์ความเฉื่อย l และ r เป็นความยาวและรัศมีของท่อนทรงกระบอก แกนตามลำดับ E เป็นยังโมดูลัสของวัสดุที่ใช้ และ

ρ เป็นความหนาแน่นของวัสดุ $s = \pi r^2$ และ α_n เป็นค่าคงตัวที่แสดงลำดับการเกิดการสั่นพ้องเช่น $\alpha_1 = 1.875, \alpha_2 = 4.694$ เป็นต้น ระยะห่างจากผิวตัวอย่างทดสอบกับส่วนปลายเส้นใยนำแสงที่พอเหมาะจะส่งผลต่อการสั่นพ้อง ซึ่งใช้เป็นปัจจัยบ่งบอกด้านคุณภาพ Q ของเซ็นเซอร์ ค่าสูงสุดเริ่มต้นที่ Q ในช่วง 10,000-11,000 (ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะสำหรับอุปกรณ์รูปส้อมเสียงที่อยู่ใน



อากาศ) ลดหลั่นลงไปถึงค่าระหว่าง 2000–6000 ปัจจัยคุณภาพ Q ของอุปกรณ์รูปแบบส้อมเสียงมีไว้เพื่อควบคุมการเลื่อนไปในทั้งสามแนวแกนของ NSOM ซึ่งเป็นรูปแบบเดียวกันกับหลักการของ AFM (Chibani, *et al.*, 2010), (Karrai and Grober, 1995)

A - probe.

B - optical fiber.

C - electrodes used to measure voltage changes occurring on sides of a quartz crystal (direct piezoelectric effect) due to changes in frequency during interaction with surface. Information about voltage change to determine current frequency of resonator.

D - quartz crystal (piezoelectric).

E - dither piezo used to create a forced oscillation of resonator (setting initial frequency of resonator).

Figure 6 The quartz tuning fork resonator used for feedback control (NanoScan Technology, 2007)

ตัวอย่างผลการศึกษาจากบทความวิจัย

ตัวอย่างกล้องจุลทรรศน์แบบส่องสนามแสงระยะใกล้แสดงดังแผนภาพใน Figure 7 เป็นการส่งแสงระยะใกล้ไปบนตัวอย่างทดสอบและทำการตรวจรับสนามแสงระยะใกล้ (Illumination mode) โดยใช้แสงเลเซอร์แบบโพลาไรซ์ป้อนเข้าสู่เส้นใยนำแสงที่มีปลายเรียวแหลมและเคลือบด้วยโลหะบางๆ Figure 8 โดยติดปลายของเส้นใยเข้ากับส่วนที่เป็นตัวควบคุมระยะทางแบบป้อนกลับตามหลักการ double resonance ซึ่งเป็นการตรวจหาแพกเตอร์เพื่อป้อนกลับไปสู่โปรแกรมควบคุมแบบเชิงตัวเลขในคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมคำนวณหาระยะสามแนวแกนของแท่นปรับระยะ XYZ-piesoscanner เพื่อเลื่อนตัวอย่างทดสอบและคงตำแหน่งปลายหัวส่งแสงให้

อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการ หลักการนี้เป็นหลักการเดียวกันกับที่ใช้ในเครื่อง AFM

ส่วนการตรวจรับแสงเป็นการตรวจรับสนามแสงระยะใกล้ ซึ่งเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างสนามแสงระยะใกล้กับวัตถุทดสอบ กรณีนี้ในสารตัวอย่างทดสอบที่มีสารฟลูออโรโฟร์ (Fluorophore) สามารถดูดกลืนแสงและปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปแสงเรือง (Fluorescence) ซึ่งตรวจรับได้ด้วยตัววัดแสง ดัง Figure 9 วิธีนี้นิยมใช้กับการศึกษาชีวภาพที่มีเซลล์สามารถเรืองแสงได้หรือสามารถย้อมด้วยสารเรืองแสงได้ดี (Langeet *al.*, 2001) ผลการทดลองตรวจวัดแสดงให้เห็นชัดว่าภาพสว่างจากการเรืองแสงที่เห็นในระยะใกล้ไม่สามารถแยกความแตกต่างขนาดเล็กๆ ได้แต่เมื่อขยายลงระดับสนามระยะใกล้จึงสามารถแยกความ

แตกต่างการเรืองแสงแต่ละจุดในระดับนาโนเมตร ได้ชัดเจนมากขึ้น และพบข้อมูลการส่องสว่างกระจายอยู่ชัดเจน แต่ตรงบริเวณที่ไม่สามารถ

ตรวจรับสนามระยะใกล้ได้จะพบว่าเป็นภาพมืด และเป็นพื้นหลังให้จุดที่ตรวจพบสนามระยะใกล้ได้ ดังรูปขยายช่วงที่หนึ่งและช่วงที่สองใน Figure10

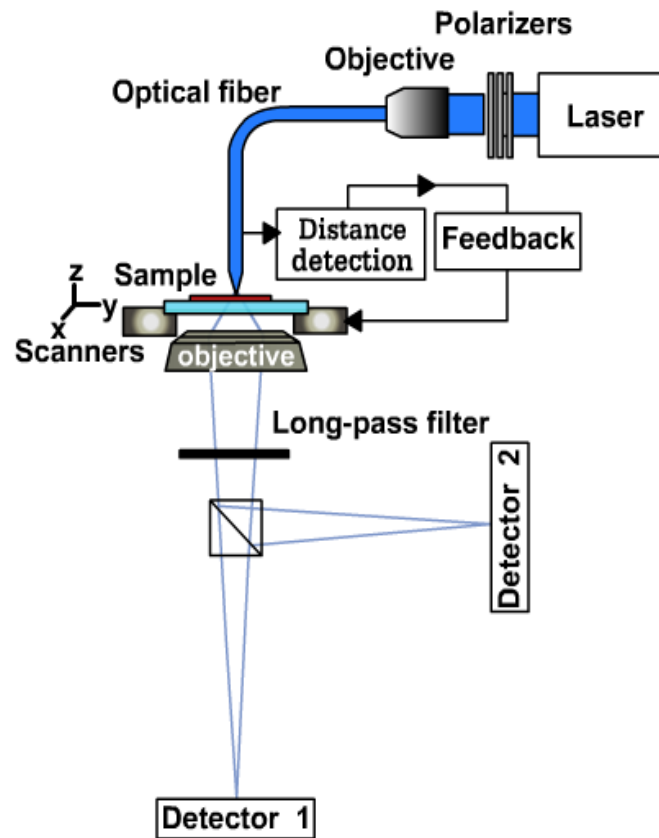


Figure7 Schematic lay out of a near-field scanning optical microscope. The NSOM probe is a tapered optical fiber (Figure8). Laser light is coupled into the fiber and is used to excite fluorophores as the probe scans the sample surface. The probe-sample distance is maintained constant at <10 nm during scanning by shear-force-based distance detection in combination with an electronic feedback system controlling the piezoelectric scan stage. Fluorescence is collected by a conventional inverted microscope. Dual-channel optical detection allows wavelength and/or polarization discrimination (Lange *et al.*, 2001)

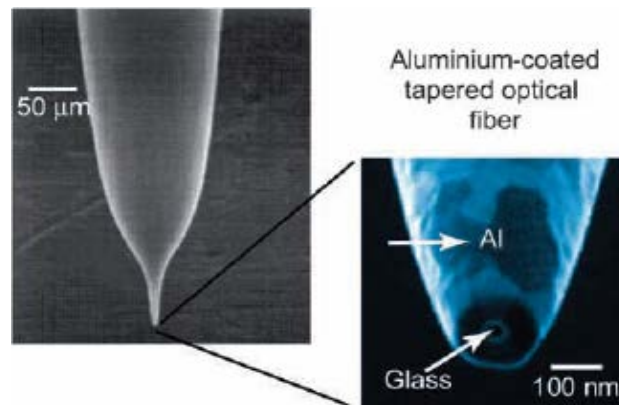


Figure8 The near-field optical probe. An optical fiber is pulled to a final diameter of 20-120 nm and subsequently coated with aluminum. This coating serves to confine the light to the tip region. A subsequent etching step results in a flat and circular endpoint and aperture. The aperture functions as a miniature light source, and its diameter primarily determines the optical resolution of the microscope(Lange *et al.*, 2001)



Figure9 The principle of surface-specific excitation. The optical near-field generated at the aperture has significant intensity only in a layer of <100 nm from the aperture; lower lying fluorophores are therefore not excited. Hence, background fluorescence is effectively suppressed. This forms the basis for the high optical detection sensitivity of this technique.(Lange *et al.*, 2001)

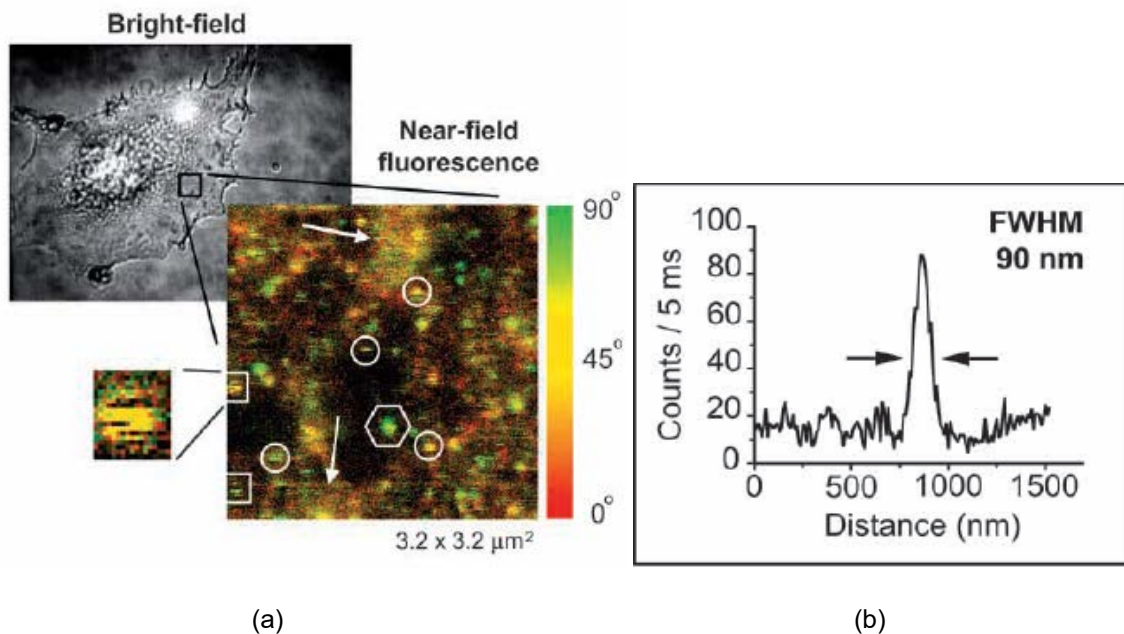


Figure 10 a) Single molecule detection on cells by NSOM. This figure shows a 40 nm optical resolution near-field 'zoom-in' on the indicated area ($3.2 \times 3.2 \mu\text{m}^2$) in the bright-field image of a fibroblast expressing LFA-1-GFP. GFP excitation is accomplished using 488 nm light (Ar-Kr laser line) linearly polarized along 90° b) Estimation of the resolution in the near-field image. This figure shows a line trace through the feature marked with the hexagon in the near-field image. The full width at half maximum (FWHM; arrows) of such traces can be used to obtain an estimate for the maximal resolution (half the FWHM) in the near-field image. On this basis, we estimate the resolution in the near-field image to be ~ 40 nm. (Lange *et al.*, 2001)

ตัวอย่างศึกษาโหมดเลือกรับสนามแสง ระยะใกล้ด้วยหัววัดโยนาแสงแบบพลาสติกแสดง ดัง Figure 11 นับเป็นครั้งแรกที่ใช้โยนาแสงแบบพลาสติกเป็นหัววัด โดยใช้เส้นโยนาแสงที่ทำจากพลาสติก PMMA มาทำละลายให้เรียวแหลมสำหรับรับสนามแสงในระยะใกล้ ดัง Figure 12 (Chibani *et al.*, 2010) การทำละลายแหลมคมใช้การกัดกร่อนเส้นโยนาด้วยสารเคมีในสารเอทิลอะซิเตท และนำไปติดกาวเข้ากับอุปกรณ์รูปส้อมเสียงตรงตำแหน่งที่พอดีกับการเกิดการสั่นพ้อง และใช้ผลการเกิดการสั่นพ้องนี้เป็นปริมาณที่บ่งบอกระดับคุณภาพของหัววัด สำหรับกรณีนี้มีค่าอยู่ในช่วง 2000-6000 ที่เป็นไปได้สำหรับสร้างภาพภูมิศาสตร์จริงของตัวอย่างทดสอบที่มีความละเอียดดีเยี่ยมตัวอย่างการทดสอบดัง Figure 13

เป็นภาพผลการตรวจสอบตัวอย่างโมเลกุลเดี่ยวของ DNA ภาพนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพสูงของกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดแสงในสนามระยะใกล้ งานวิจัยที่กล่าวถึงนี้ ยังได้ทำการทดสอบกลุ่มสาร fluorescent polystyrene microspheres 488/560 nm ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $0.1 \mu\text{m}$ และ $1 \mu\text{m}$ ได้ผลการทดสอบดัง Figure 14 ซึ่งแสดงความสามารถในการแยกกลุ่มก้อนอนุภาคเล็กๆ ได้ชัดเจน

นอกจากตัวอย่างที่กล่าวถึงนี้ยังมีรายงานวิจัยที่กล่าวถึงการใช้อนุภาคเรืองแสงติดที่ปลายเส้นโยนาแสงเพื่อรับแสงระยะใกล้และเกิดแสงเรืองได้ด้วยจะพบได้ว่าการนำเส้นโยนาแสงมาใช้กับ NOSM เป็นที่นิยมมากขึ้นในปัจจุบัน โดยประยุกต์

หลักการควบคุมแบบป้อนกลับด้วยการสั่นพ้อง มาแล้วข้างต้น
และมีแนวโน้มศึกษาทางชีวภาพมากขึ้น ดังที่กล่าว

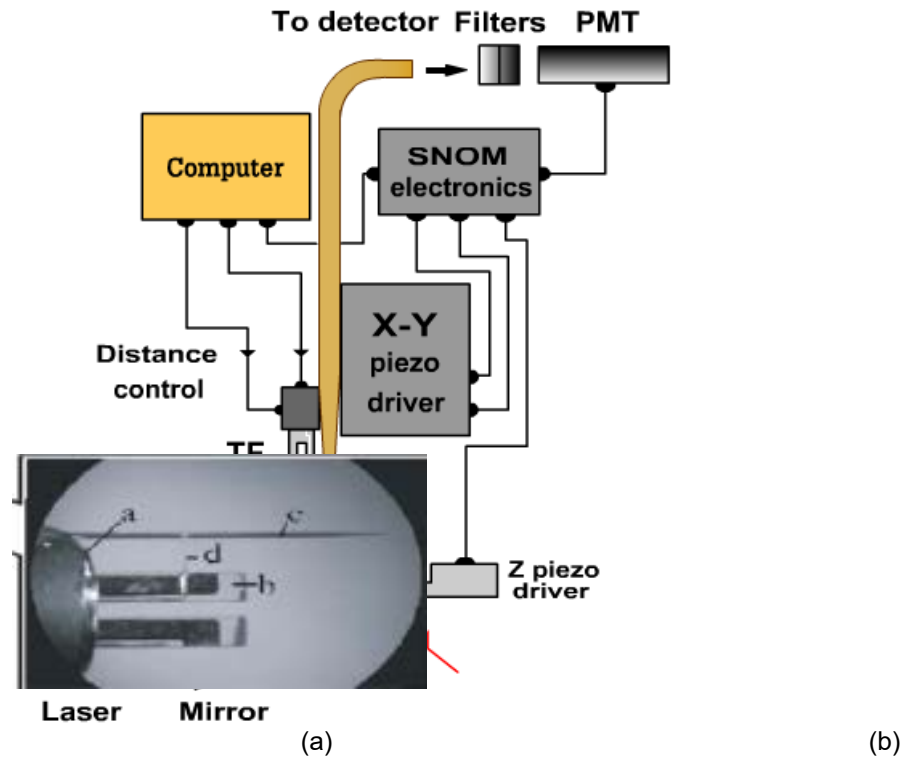


Figure11 (a)Schematic diagram of the experimental setup.(b) In the inset the double resonant emplacement of a fiber probe "c" onto a tuning fork is shown: metal case of a tuning fork "a" and thin glass rod connecting probe "d" and tuning fork "b". (Chibaniet al., 2010)

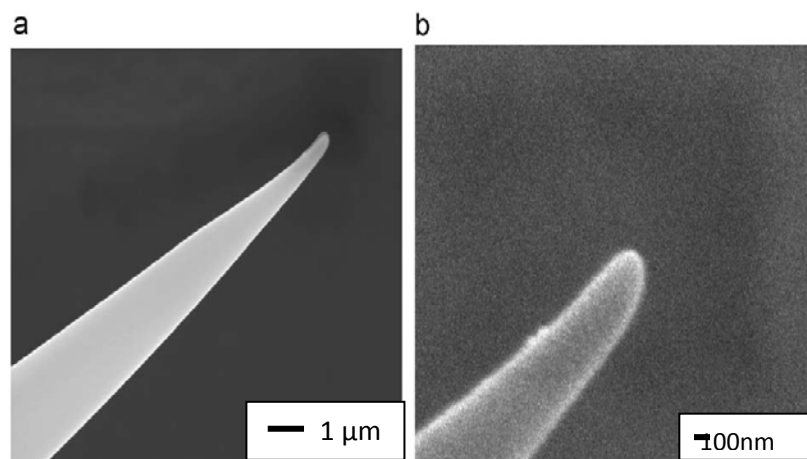


Figure12 Scanning electron microscopy images of an etched Plastic Optical Fibernanoprobe (Chibaniet at.,2010)

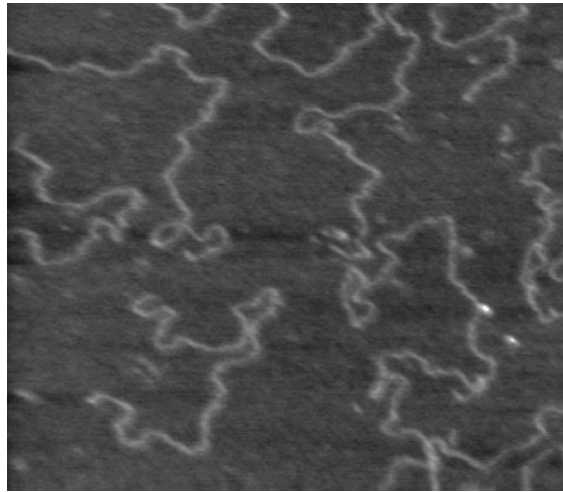


Figure 13 Shear force topographical image of single Lambda DNA molecules on mica. Constant amplitude mode of the Nanonis SA, Switzerland. SNOM controller was used as a feedback source. Scansize: $2.2\mu\text{m} \times 2.2\mu\text{m}$. (Chibani et al., 2010)

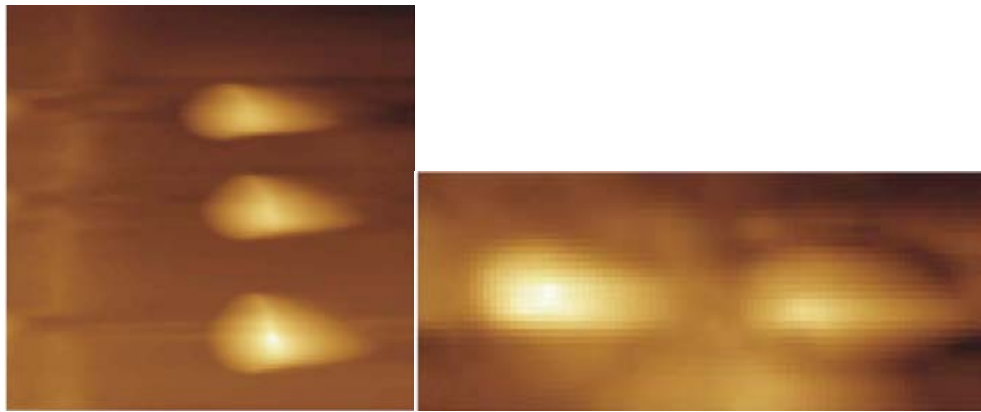


Figure 14 Shear force topographical images of (a) isolated $1\mu\text{m}$ -diameter fluorescent beads and (b) 100nm -diameter fluorescent beads. Images sizes: $6\text{ mm} \times 6\text{ mm}$ (Chibani et al., 2010)

สรุปได้ว่าจากข้อมูลการศึกษาวิจัยในหลายเอกสารทางด้านนาโนเทคโนโลยีและทางด้านไบโอเทคโนโลยีแสดงถึงศักยภาพดีเยี่ยมของกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดสนามแสงระยะใกล้ ที่ใช้เส้นใยนำแสงเป็นหัววัดหรือหัวส่งแสงแบบมีช่องเปิดตามหลักการที่กล่าวแล้วข้างต้น ซึ่งมีข้อดีหลายประการคือ

1. ให้ภาพของแสงที่แสดงข้อมูลของอนุภาคในระดับนาโนเมตร
2. มีหลายรูปแบบที่เหมาะสมกับชนิดของสารตัวอย่างที่ตรวจวัด
3. ไม่ทำลายตัวอย่างทดสอบและใช้ได้กับตัวอย่างทดสอบที่เป็นทางชีวภาพ

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณนายสุรชัย สุยะเขต ที่ช่วยผลิตภาพสี และขอขอบคุณนางสาวพัชราภรณ์

ตระหง่านที่มีส่วนช่วยสืบค้นเอกสารและพิมพ์เอกสาร

เอกสารอ้างอิง

- Betzig, E., A. Lewis, A. Harootunian, M. Isaacson, and E. Kratschmer, "Near-field scanning optical microscopy (NSOM): Development and biophysical applications", 1986, *BIOPHYS. J.* © Biophysical Society. 49 : 269-279.
- Chibani, H., K. Dukenbayev, M. Mensi, S. K. Sekatskii, G. Dietler. 2010. Near-field scanning optical microscopy using polymethylmethacrylate optical fiber probes, *Ultramicroscopy*. 110: 211–215.
- Lange, Frank de, Alessandra Cambi, Richard Huijbens, Bärbel de Bakker, Wouter Rensen, Maria Garcia-Parajo, Niek van Hulst and Carl G. Figdor. 2001. Cell biology beyond the diffraction limit: near-field scanning optical microscopy, *Journal of Cell Science*. 114: 4153-4160.
- Inoue, Tsutomu, Fuminori Sato and Yoshihito Narita, Near-field fiber probe for polarization spectroscopy, 2004, *Vibrational Spectroscopy*. 35: 33-37.
- Karrai, Khaled and Robert D. Grober, 3 April 1995, Piezoelectric tip-sample distance control for near field optical microscopes, *Appl. Phys. Lett.* 66: 14.
- Lazarev, Alexander, Nicholas Fang, Qi Luo, and Xiang Zhang, 2003, "Formation of fine near-field scanning optical microscopy tips. Part II. By laser-heated pulling and bending", *Review of Scientific Instruments*, 74: 3684-3687.
- Maas, H. J., A. Naber, H. Fuchs, U. C. Fischer, J. C. Weeber and A. Dereux, 2002, "Imaging of photonic nanopatterns by scanning near-field optical microscopy" *J. Opt. Soc. Am. B* 19: 1295-1300.
- Muller, J., G. Parent, S. Fumeron, G. Jeandel, D. Lacr. 2011. "Near-field and far-field modeling of scattered surface waves. Application to the aperture less scanning near-field optical microscopy", *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. 112: 1162–1169.
- NanoScan Technology, Certus NSOM-Near-Field Scanning Optical Microscope, 2007, <http://www.nanoscantech.com/en/products/spm/spm-131.html>
- Wischnath, Uli F., Joachim Welker and Achim Kittel, 2008, A Near-field Scanning Thermal Microscope mapping the heat transfer by evanescent electromagnetic fields in the direct vicinity of a surf, 5th European Thermal-Sciences Conference, The Netherlands.

Received 5 July 2013

Accepted 22 October 2013