



รายงานการวิจัย

การวิจัยและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงเพื่อการประยุกต์ใน
งานวิจัยแนวหน้า

(Research and development of high energy ultrashort pulse
laser and its applications in frontier research)



ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การวิจัยและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงเพื่อการประยุกต์ใน
งานวิจัยแนวหน้า

(Research and development of high energy ultrashort pulse
laser and its applications in frontier research)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.พนมศักดิ์ มีมนต์

สาขาวิชาฟิสิกส์

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.ประยูร ส่งสิริฤทธิกุล

ดร.สรวิศ แสงทวีสิน

รองศาสตราจารย์ ดร.วรวัฒน์ มีวาสนา

ศาสตราจารย์ ดร.สันติ แม้นศิริ

Hideki Nakajima

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

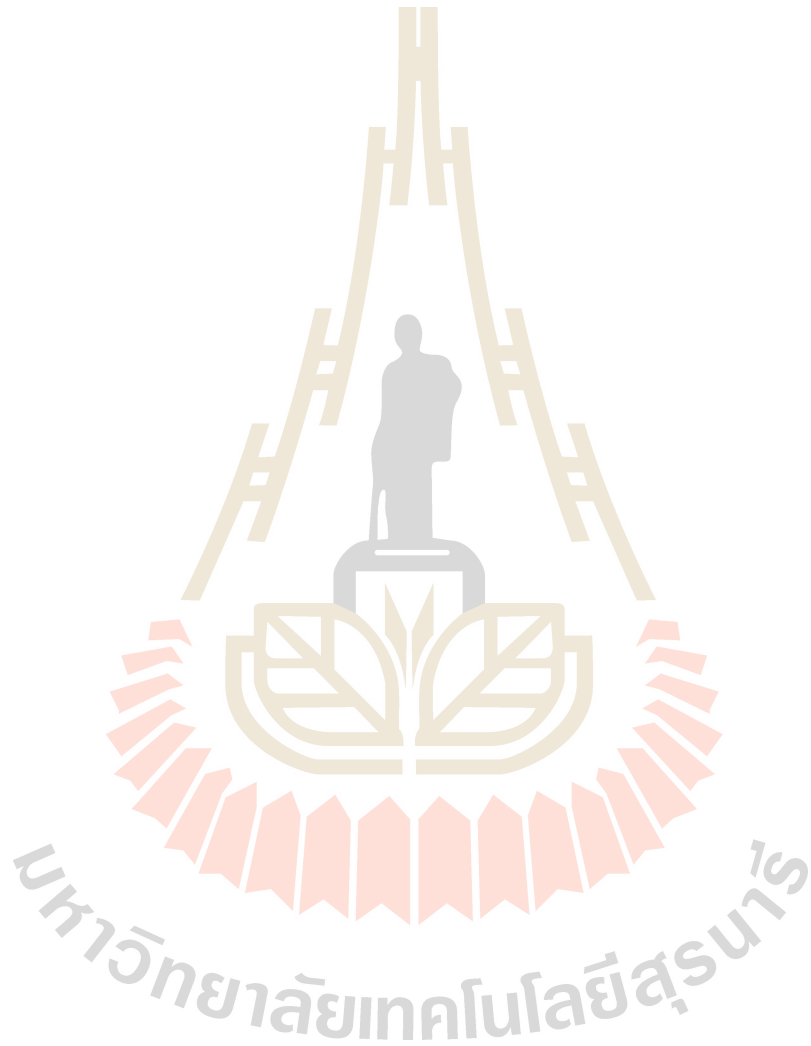
กันยายน 2565

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ.....	5
ที่มาและความสำคัญ	5
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	6
Confocal Fluorescence Microscopy.....	7
Optical Coherence Tomography (OCT).....	9
Frequency Domain OCT (FD-OCT).....	12
Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).....	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	16
1) การศึกษาและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง	16
2) การพัฒนาระบบการถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วงความยาวคลื่นแสง 400-700 นาโนเมตร	17
3) การพัฒนาระบบ FD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 700-900 นาโนเมตร	21
4) การพัฒนาระบบ TD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1000-1400 นาโนเมตร.....	24
5) การพัฒนาระบบปฏิบัติการ FTIR ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1500-2400 นาโนเมตร.....	29
6) อนุภาคนาโนที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพจากเอซอบอดิปี สำหรับการรักษาแบบให้ความร้อนผ่านการกระตุ้นด้วยแสงในเซลล์มะเร็ง	31
บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน.....	34
1) การพัฒนาระบบปฏิบัติการ Pulse Laser.....	34
2) การพัฒนาระบบการถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วงความยาวคลื่นแสง 400-700 นาโนเมตร	39
3) การพัฒนาระบบ FD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 700-900 นาโนเมตร	41
4) การพัฒนาระบบ TD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1000-1400 นาโนเมตร.....	45
5) การพัฒนาระบบปฏิบัติการ FTIR ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1500-2400 นาโนเมตร.....	47
6) อนุภาคนาโนที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพจากเอซอบอดิปี สำหรับการรักษาแบบให้ความร้อนผ่านการกระตุ้นด้วยแสงในเซลล์มะเร็ง	52

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล..... 53

บรรณานุกรม 56



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

คุณสมบัติพื้นฐานของสสาร สัมพันธ์โดยตรงกับอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบอะตอมของสสารนั้นๆ กับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ความยาวคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเปรียบได้กับไม้บรรทัดในการวัด อาทิ คุณสมบัติในระดับอะตอมสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยควมยาวคลื่นเอ็กซ์เรย์ คุณสมบัติของสารประกอบแสดงผลตอบสนองกับแสงยูวี คุณสมบัติระดับโมเลกุลสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยแสงอินฟราเรด เป็นต้น นอกจากนี้ควมยาวคลื่นแล้ว ระดับความเข้มและระดับพลังงานของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าก็มีความสำคัญในการศึกษาคุณสมบัติของวัสดุ อาทิ แหล่งกำเนิดแสงซินโครตรอน ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์วัสดุได้อย่างมากมาย แหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์โดยทั่วไป มีระดับพลังงานไม่สูงมากนัก สามารถใช้ในการศึกษาได้เฉพาะคุณสมบัติเชิงเส้น (linear properties) ของสสาร การกระตุ้นอันตรกิริยาแบบไม่เชิงเส้น (nonlinear properties) ของสสารจำเป็นต้องใช้ความเข้มของเลเซอร์ที่สูงมาก ๆ

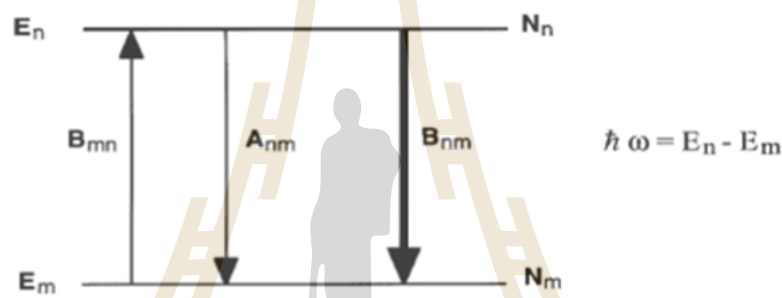
เลเซอร์พัลส์สั้น หรือ Ultrashort pulse laser เป็นแหล่งกำเนิดแสงแบบหลายความถี่ที่ถูกบีบอัดควมกว้างทางเวลา (time duration) ของพัลส์ให้สั้นในระดับ นาโนวินาที (หนึ่งส่วนพันล้านวินาที) ไปจนถึงเฟมโตวินาที (หนึ่งส่วนล้านล้านวินาที) ส่งผลให้คลื่นแสงที่ได้ มีพลังงานต่อพัลส์ที่สูงมากในระดับกิโลจูลไปจนถึงเมกะจูล ระบบเฟมโตเลเซอร์จึงมีประโยชน์อย่างมากในงานวิจัยขั้นสูง ที่ต้องการศึกษาผลตอบสนองในระยะเวลาที่สั้นมาก ๆ ในระดับนาโนวินาทีไปจนถึงเฟมโตวินาทีของกลไกทางธรรมชาติ อาทิ สมบัติของวัสดุ ปฏิกิริยาเคมี หรือกลไกการทำงานของเซลล์สิ่งมีชีวิต รวมถึงปฏิกิริยาหรือคุณสมบัติควมไม่เป็นเชิงเส้น (nonlinear properties) ของสสาร ที่จะปรากฏเมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานที่สูงมาก ๆ แต่ในขณะที่เดียวกันก็ ต้องไม่เป็นการทำลายชิ้นตัวอย่างที่กำลังศึกษา สามารถประยุกต์ในการศึกษากลไกของเซลล์ที่มีชีวิตได้ เพื่อนำไปสู่ควมเข้าใจที่ลึกซึ้งยิ่งขึ้น

ด้วยประโยชน์ที่หลากหลายของเลเซอร์พัลส์สั้นต่อการผลักดันงานวิจัยขั้นแนวหน้าภายในประเทศ ตลอดจนสร้างควมสามารถในการแข่งขันในเวทีโลก ทีมวิจัยจึงมุ่งหวังจะสร้างระบบปฏิบัติการเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงขึ้น ณ ห้องปฏิบัติการเลเซอร์ ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา โดยมุ่งเน้นการวางโครงสร้างพื้นฐานของระบบปฏิบัติการเลเซอร์พัลส์สั้น รวมถึงการพัฒนา ระบบปฏิบัติการสนับสนุนที่จำเป็น อาทิ ระบบตรวจวัดควมกว้างทางเวลาของพัลส์แบบ intensity auto correlation, ระบบ spectral interferometry, ระบบ optical coherence tomography, ระบบ scanning confocal fluorescence microscopy และ ระบบ Fourier transform infrared spectroscopy รวมถึงการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆ ของการประยุกต์ระบบเลเซอร์พัลส์สั้นในงานวิจัยที่หลากหลายต่อไป

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

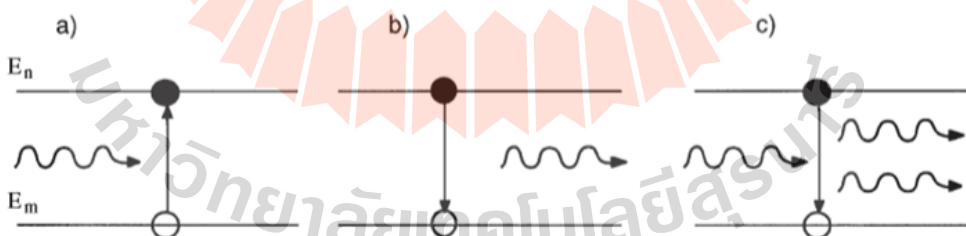
Short Pulse laser

หากจะกล่าวถึงการเกิดเลเซอร์พัลส์สั้นนั้น จำเป็นต้องพิจารณาย้อนกลับไปถึงหลักการเกิดของเลเซอร์ (Laser) ที่เป็นพื้นฐานก่อน ซึ่งโดยส่วนมากจะเกิดความเข้าใจผิดในการเกิดแสงเลเซอร์ คือ “การขยายสัญญาณแสงโดยกระตุ้นการปล่อยรังสี” แต่ในหลักการของการเกิดนั้นแล้วนอกจากจากจะขยายสัญญาณแล้วนั้น จะมีการเกิดเรโซแนนซ์ของสัญญาณภายในระบบช่องแสง (Optical cavity) ที่สะท้อนกลับไปมาในระบบและตัวกลาง (medium) [1] โดยในปี 1990 Max Planck ได้ค้นพบทฤษฎีในการแผ่รังสีของวัตถุดำ และได้ทำการอธิบายไว้ว่า รังสีที่แผ่ออกมาจากวัตถุดำเกิดจากการที่อนุภาคในวัตถุนั้นสั่นด้วยความถี่ที่ขึ้นอยู่กับพลังงานของวัตถุ ซึ่งแนวคิดของ Max Planck ได้มีการนำมาใช้ในการเกิดปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (Photoelectric) และในปี 1995 Albert Einstein ได้นำทำการอธิบายถึงปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก เมื่อแสงหรือโฟตอนที่มีค่าพลังงานค่าหนึ่ง ($\hbar\omega$) ตกกระทบโลหะ และทำให้เกิดการดูดกลืนพลังงาน และปลดปล่อยพลังงานออกมาได้ ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แผนภาพพลังงานของระบบสองระดับของอะตอม พลังงาน E_m และ E_n

ซึ่งในกระบวนการเกิดแสงเลเซอร์นั้นจะประกอบไปด้วย 3 กระบวนการ ได้แก่ การดูดกลืนแสง (absorption), การปลดปล่อยพลังงานโดยธรรมชาติ (spontaneous emission) และการปลดปล่อยพลังงานโดยการกระตุ้น (stimulated emission) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงกระบวนการในการเกิดแสงเลเซอร์ ได้แก่ (a) absorption, (b) spontaneous emission และ (c) stimulated emission

โดยกระบวนการ stimulated emission สามารถทำได้จากการพิจารณาสัญญาณสะท้อนกลับ และใช้ในการกระตุ้นภายในระบบที่เรียกว่า Optical cavity [1] และในปี 1958 Alfred Kastler ได้เสนอแนวคิดในการเพิ่มจำนวนของอิเล็กตรอนที่ได้จากกระบวนการ stimulate emission ด้วยกระบวนการที่เรียกว่า Optical pumping เป็นกระบวนการที่ใช้แสงเพื่อเพิ่มอิเล็กตรอนจากระดับพลังงานที่ต่ำกว่าในอะตอมหรือโมเลกุลไปยังระดับที่สูงกว่า และในปี 1960 Maiman [2] สามารถพัฒนาเลเซอร์ได้สำเร็จเป็นครั้งแรกโดยใช้

ตัวกลาง (medium) เป็นอะลูมินา หรือที่รู้จักกันอีกชื่อคือ แชนไฟล์ และหลังจากนั้นเลเซอร์ก็ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องทั้งจากตัวกลางที่เป็นลักษณะของแข็ง และก๊าซ ขึ้น

ระบบเลเซอร์พัลส์สั้นประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญได้แก่ pump laser หรือ seed laser, pulse compression system, และ wavelength tuning device ปีมเลเซอร์เป็นแหล่งกำเนิดเลเซอร์แบบคลื่นต่อเนื่อง (CW laser) ความเข้มสูง เช่น Nd:YAG laser คลื่นแสงต่อเนื่องจากปีมเลเซอร์จะถูกยิงเข้าระบบสร้างพัลส์ ซึ่งมีอยู่หลายเทคนิค อาทิ Q-switching, Mode-locking, และ Self-focusing ซึ่งหลักการโดยรวม คือ การทำให้พลังงานคลื่นเลเซอร์ต่อเนื่อง รวมกันเป็นก้อนพลังงานในช่วงเวลาสั้นๆ เกิดเป็นขบวนพัลส์ของแสงเลเซอร์ที่มีความถี่ค่าหนึ่งๆ เรียกว่า repetition rate การรวมกันของพลังงานเป็นพัลส์ทำให้ได้พลังงานสูงสุดในระดับสูงได้ถึงเมกะจูลในระยะเวลาสั้นๆ ในระดับพิโกวินาทีถึงเฟมโตวินาที ส่งผลให้สามารถกระตุ้นคุณสมบัติความไม่เชิงเส้นของสสารออกมาได้ [3]

ดังนั้น เลเซอร์พัลส์สั้นจึงเป็นแหล่งกำเนิดคลื่นแสงที่ได้ถูกนำมาประยุกต์ในงานวิเคราะห์ขั้นสูงทั้งในด้านงานวิจัยและอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ มากมาย อาทิ ด้านวัสดุ (เช่น Time-Resolved Spectroscopy, 3D nano-structure laser writing, femtochemistry, และ Nonlinear metrology) ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ (เช่น Multi-Photon Excitation (MPE) microscopy, Second Harmonic Generation (SHG) microscopy, Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopic (CARS) microscopy, Optical Coherence Tomography (OCT), Life-time Fluorescent imaging) ด้านเครื่องเร่งอนุภาค (Laser Electron Accelerators) และทางด้านอุตสาหกรรม [4]

Confocal Fluorescence Microscopy

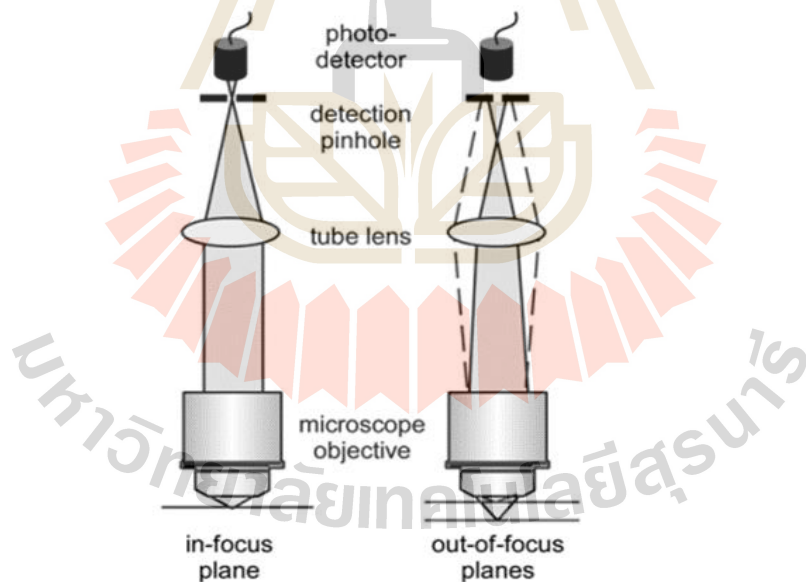
Confocal Fluorescence Microscopy หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Laser Scanning Confocal Fluorescence Microscopy (LSCFM) เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาทางด้านชีววิทยา ไล่ตั้งแต่ชีววิทยา ระดับเซลล์ ยีน หรือชีววิทยาในโครงสร้างระดับโมเลกุล โดยเฉพาะในงานการถ่ายภาพที่ต้องการความละเอียดสูง และสามารถเก็บภาพเฉพาะบริเวณจุดโฟกัสที่ระดับความลึกของชั้นตัวอย่างที่ต้องการได้ ดังนั้นภาพที่ถ่ายได้จะแสดงผลในรูปแบบ 3 มิติ สำหรับเทคนิคกล้องจุลทรรศน์แบบ Confocal Fluorescence Microscopy ถูกออกแบบให้มีความไวในการจำแนกและรับสัญญาณแสงจากตัวอย่างชิ้นงานที่อยู่ในตำแหน่งระนาบโฟกัสเป็นหลัก ส่วนสัญญาณที่อยู่นอกโฟกัสหรือสัญญาณรบกวนก็จะถูกกันออกไป จึงทำให้ได้ภาพตัวอย่างชิ้นงานที่มีความคมชัดสูงชัน นอกจากนี้แสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างยังช่วยให้เห็นรายละเอียดที่อยู่ในระดับลึกลงไปได้ [5]

ในปัจจุบันมีการพัฒนากล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานที่หลากหลายมากขึ้น ตัวอย่างเช่น การออกแบบ 3D deconvolution [6] โดยการใช้ข้อมูลของภาพทั้งหมดที่ถ่ายได้จากระนาบโฟกัสต่าง ๆ ทั้งในและนอกโฟกัส และสร้างภาพ 3 มิติขึ้นมาใหม่ อีกตัวอย่างหนึ่งคือกล้องจุลทรรศน์แบบดูกลืนแสงสองและสามโฟตอน ของภาพทั้งหมด ตัวอย่างเช่น 3D deconvolution ใช้ข้อมูลทั้งในและนอกโฟกัสของภาพทั้งหมดที่ถ่ายได้จากระนาบโฟกัสต่าง ๆ เพื่อสร้างภาพ 3 มิติขึ้นมาใหม่ อีกตัวอย่างหนึ่งคือกล้อง

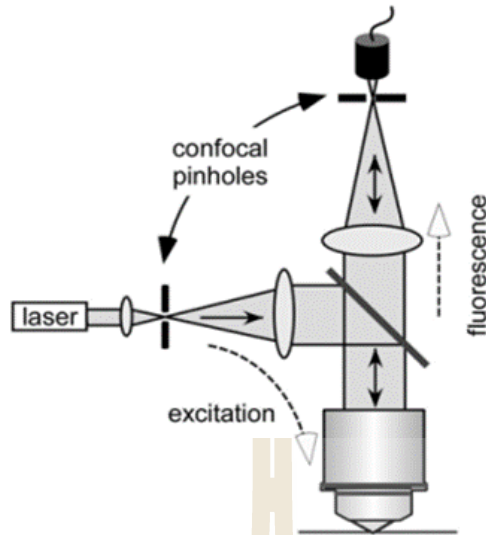
จุลทรรศน์ดูดกคลื่นแสงสองและสามโฟตอน ซึ่งใช้ปฏิกิริยาแบบไม่เชิงเส้น (nonlinear interaction) กับตัวอย่างเพื่อจำกัดการตอบสนองของตัวอย่างบนระนาบโฟกัสเท่านั้น [7]

การถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในรูปแบบ 3 มิติ มีข้อแตกต่างจากเทคนิคอื่นคือ สัญญาณแสงที่มาจากระนาบนอกโฟกัสจะถูกกั้นด้วยช่องรูเข็ม (pinhole) ที่อยู่ด้านหน้าของเครื่องตรวจจับ (detector) ดังที่แสดงไว้ในภาพที่ 3 แสงที่เกิดอยู่ในระนาบโฟกัสนั้นจะถูกลำเลียงผ่านเลนส์ใกล้วัตถุและผ่านรูเข็มได้อย่างอิสระ ในขณะที่แสงที่ไม่อยู่ในระนาบโฟกัสส่วนใหญ่จะถูกปิดกั้นด้วยช่องรูเข็ม

ในกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ (ภาพที่ 4) โดยทั่วไปแล้ว ตัวอย่างชิ้นงานจะเกิดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยการกระตุ้นจากแสงเลเซอร์ การใช้คำว่า "การกระตุ้น" (excitation) แทนที่จะเป็น "การเปล่งแสง" (illumination) จึงจะถูกต้อง สำหรับการระบุตัวอย่างให้ชัดเจนจะใช้กระบวนการสร้างคอนทราสต์: การกระตุ้นความยาวคลื่นต่างๆไปยังฟลูออโรฟอร์ (คุณสมบัติฟลูออโรฟอร์ เป็นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อมีการดูดกลืนพลังงานในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม) ทำให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ตรวจจับได้ สำหรับกระบวนการในกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อแสงที่มาจากเลเซอร์ลอดผ่านรูเข็ม (กระตุ้น) สะท้อนด้วยกระจกไดโครอิก และโฟกัสด้วยเลนส์ใกล้วัตถุไปยังเป้าหมายที่จุดเล็ก ๆ ในตัวอย่างชิ้นงาน ดังนั้น กระจกไดโครอิกจะสะท้อนแสงที่มีความยาวคลื่นสั้นกว่า (อย่างเช่น เลเซอร์อาร์กอน-ไอออนที่มีความยาวคลื่น 488 นาโนเมตร) ในขณะที่แสงส่วนหนึ่งจะถูกส่งผ่านความยาวคลื่นที่ยาวกว่า (อย่างเช่น แสงฟลูออเรสเซนซ์ >510 นาโนเมตร) กระจกไดโครอิกถูกออกแบบมาเพื่อเลือกความยาวคลื่นเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับแสงที่ใช้ในการกระตุ้นและแสงที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ [5]



ภาพที่ 3 หลักการของกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ แสงที่ไม่อยู่ในระนาบโฟกัส (out-of-focus) ส่วนใหญ่จะถูกปิดกั้นด้วยรูเข็ม(pinhole) ที่ด้านหน้าเครื่องตรวจจับ(detector)



ภาพที่ 4 การกระตุ้นของตัวอย่างชิ้นงานในกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ด้วยเลเซอร์ส่วนหนึ่งของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ปล่อยออกมาจากฟลูออโรฟอร์ในตัวอย่างชิ้นงานจะถูกรวบรวมผ่านไปยังเลนส์ใกล้วัตถุและเครื่องตรวจวัดก็จะวัดแสงฟลูออโรฟอร์ที่ผ่านช่องรูเข็มมาเท่านั้น

Optical Coherence Tomography (OCT)

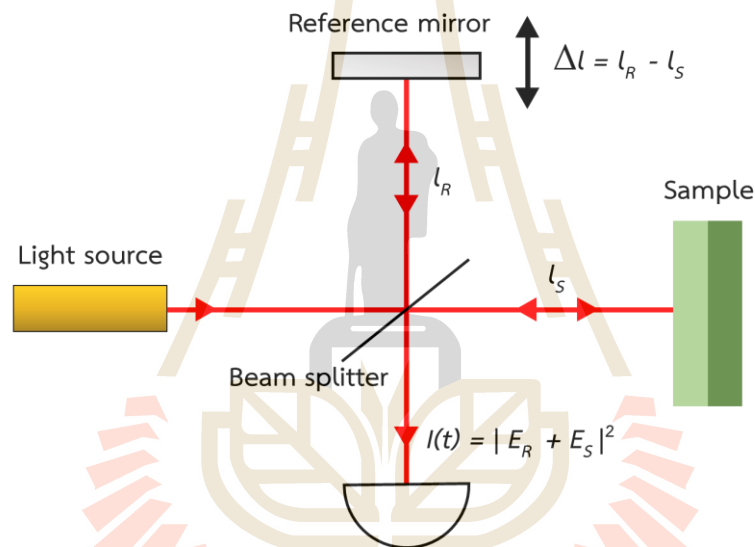
OCT ถือได้ว่าเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่ถูกคิดค้นขึ้นในปี ค.ศ. 1991 โดยทีมนักวิจัยของ MIT ซึ่งนำทีมโดย James Fujimoto [8] OCT เป็นเทคนิคของการถ่ายภาพตัดขวาง (tomography) โดยอาศัยคุณสมบัติ low coherence interferometry ของคลื่นแสงที่มีช่วงความยาวคลื่นแบบกว้าง (broadband light source) [9] ในปัจจุบัน OCT ได้รับการพัฒนาอย่างรวดเร็ว และได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย เช่น ด้านการแพทย์ [10-12] ด้านชีววิทยา[13-15] ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ [16] และด้านการทดสอบคุณสมบัติของวัสดุ [17, 18] เป็นต้น

OCT ถ่ายภาพตัดขวางของวัตถุตัวอย่างโดยอาศัยหลักการของ LCI หรือ Low-Coherence Interferometry หลักการทำงานของ OCT สามารถอธิบายได้โดยสังเขปได้ดังนี้ แสงจาก broadband laser ที่ความยาวคลื่นในย่าน อินฟราเรดช่วงสั้น (Near Infrared หรือ NIR) จะถูกลำเลียงเข้าสู่ระบบการแทรกสอดของแสง ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นระบบแทรกสอดแบบไมเคลสัน (Michelson interferometer) แสงเลเซอร์ชนิด low coherence หรือ broadband laser ถือได้ว่าเป็นหัวใจสำคัญของระบบ OCT โดยเป็นตัวกำหนดความละเอียดของการถ่ายภาพในแนวลึก (depth resolution) ของระบบ OCT ซึ่งเป็นไปตามความสัมพันธ์ [19]

$$\Delta z = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

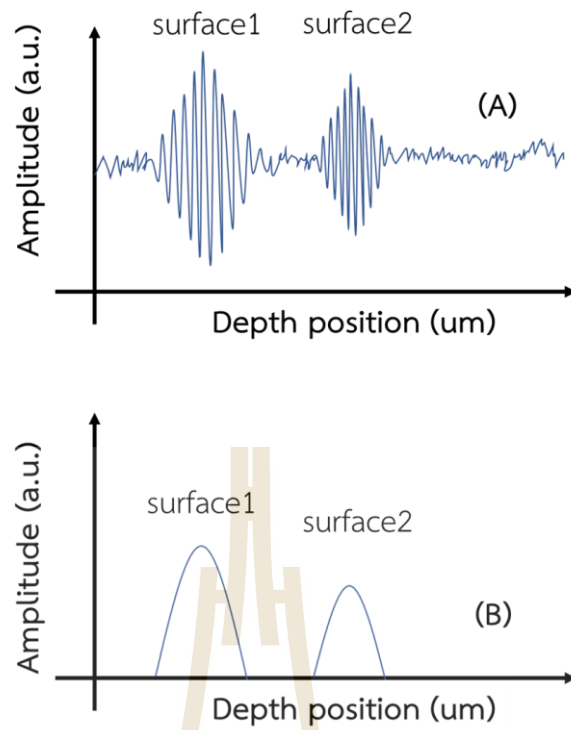
โดย λ_0 คือ central wavelength ของแหล่งกำเนิดแสง และ Δz และ $\Delta \lambda$ คือ full width at half-maximum (FWHM) ของ depth resolution และ power spectrum bandwidth ของแหล่งกำเนิดแสงตามลำดับ นั่นคือ ความละเอียดเชิงลึกจะแปรผกผันกับความกว้างของสเปกตรัม ยิ่งแหล่งกำเนิดแสงมีความกว้างของสเปกตรัมมากขึ้น ก็จะทำให้ความละเอียดของการถ่ายภาพในแนวลึกมากขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถในการแยกแยะความหนาของชั้นตัวอย่าง

หลักการการทำงานของ OCT สามารถอธิบายโดยสังเขปได้ดังแสดงในภาพที่ 5 แสงจาก broadband laser จะถูกลำเลียงเข้าสู่ระบบการแทรกสอดของแสง ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นระบบแทรกสอดแบบไมเคลสัน (Michelson interferometer) ในระบบแทรกสอดแสงไมเคลสัน แสงจากแหล่งกำเนิดจะถูกแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกเป็นแสงอ้างอิง (reference beam) ซึ่งจะถูกสะท้อนกลับด้วยกระจก (reference mirror) และลำเลียงต่อไปยังอุปกรณ์ตรวจวัดความเข้มแสง (photodetector) ที่เอาต์พุตของระบบแทรกสอด แสงส่วนที่สองจะถูกโฟกัสด้วยเลนส์ไปยังตัวอย่างที่ต้องการถ่ายภาพ ซึ่งเลนส์ตัวเดียวกันนี้ก็จะทำหน้าที่ในการรับสัญญาณที่สะท้อนกลับมาจากตัวอย่าง (backscattering light) ซึ่งเกิดจากความไม่สม่ำเสมอของค่าดัชนีหักเหของแสงที่ตำแหน่งต่าง ๆ ในชิ้นตัวอย่าง (refractive index variation) แสงสะท้อนจากตัวอย่างจะถูกแทรกสอดกับแสงอ้างอิง โดยการเลื่อนตำแหน่งของกระจกใน reference arm เป็นระยะทางที่ต้องการวัดภาพตัดขวางของตัวอย่างสร้างจากแอมพลิจูดที่แตกต่างกันของการสะท้อนที่ความลึกต่าง ๆ จากผิวของตัวอย่าง [19] ระบบ OCT ที่มีการสแกนของ reference beam แบบนี้ เรียกว่า Time Domain OCT (TD-OCT) ซึ่งมีข้อจำกัดในด้านของความเร็วในการถ่ายภาพ

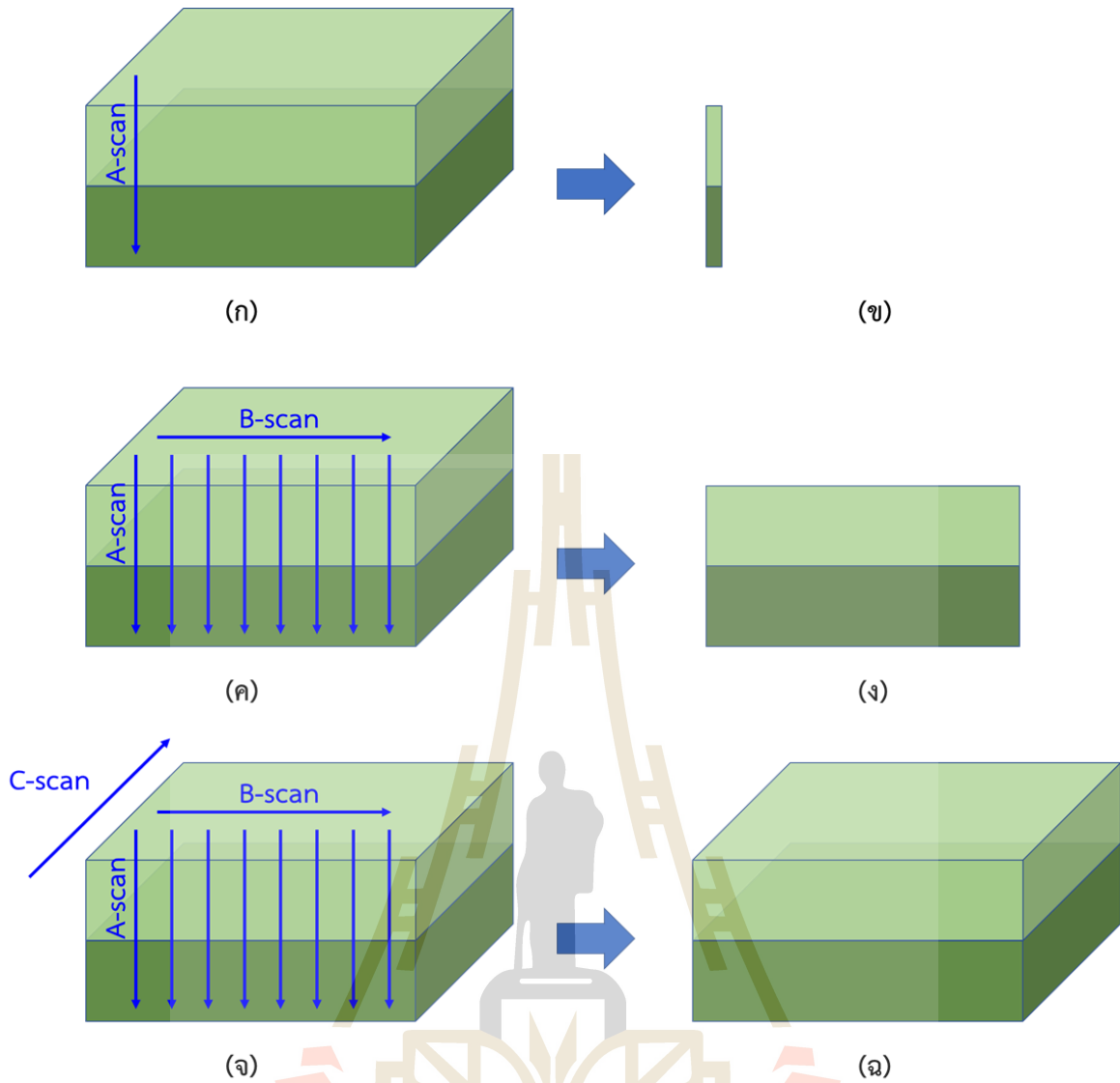


ภาพที่ 5 แสดงแผนภาพการแทรกสอดของ TD-OCT

TD-OCT ให้ภาพตัดขวางโดยวัดการแทรกสอดของแสงเชิงลึก (A-scan) ที่ละตำแหน่งดังแสดงในภาพที่ 6 แล้วเลื่อนตำแหน่งวัดการแทรกสอดของแสงไปทางด้านข้าง (B-scan) จนกระทั่งได้ข้อมูลที่เป็นสองมิติ หรือที่เรียกว่าภาพตัดขวาง หลังจากนั้นเลื่อนตำแหน่งไปอีกด้าน แล้วทำการสแกนซ้ำ จนได้ภาพสามมิติ ซึ่งสามารถแสดงลำดับการสแกนได้ดังในภาพที่ 7



ภาพที่ 6 (A) แสดงแผนภาพการแทรกสอดของ TD-OCT (B) แสดงสัญญาณภาพที่ได้จากสัญญาณแทรกสอด



ภาพที่ 7 แสดงแผนภาพการสแกนให้ได้ภาพตัดขวางของระบบถ่ายภาพ TD-OCT

Frequency Domain OCT (FD-OCT)

หลังจากนั้นได้มีการนำเอาความรู้การแทรกสอดในโดเมนความถี่ [20] มาประยุกต์ใช้กับระบบ OCT เรียกว่า Frequency Domain OCT (FD-OCT) [21] FD-OCT บันทึกค่าสัญญาณ spectral interference ที่เอาต์พุตของ interferometer ซึ่งมีจุดเด่นก็คือ ความไวต่อสัญญาณ และความเร็วของการวัด เนื่องจากไม่ต้องมีการสแกนของ reference beam อีกต่อไป [22-24] FD-OCT สร้างภาพตัดขวางของตัวอย่างโดยการฉายแสงเลเซอร์ชนิด broadband ให้ไปตกกระทบลงบนผิวตัวอย่าง (sample) แล้ววัดสัญญาณ spectral interference ระหว่างสัญญาณที่สะท้อนมาจากตัวอย่างและแสงอ้างอิง ซึ่งสามารถวัดได้โดยใช้สเปกโตรมิเตอร์เชิงแสง (optical spectrometer) ซึ่งเมื่อนำไปผ่านการแปลงแบบฟูริเยร์แล้วจะได้สัญญาณเชิงเส้นในโดเมนพื้นที่ (spatial domain) ที่เทียบได้กับความสามารถในการสะท้อนที่ระดับความลึกต่าง ๆ (depth-resolved reflectivity profile) ภายใต้พื้นผิวของตัวอย่าง เมื่อประกอบกับการสแกนลำแสงในแนวขนานกับพื้นผิวตัวอย่าง (lateral scan) แล้ว ก็จะสามารถสร้างภาพตัดขวางในแบบ 2 มิติ และสามมิติได้ [19]

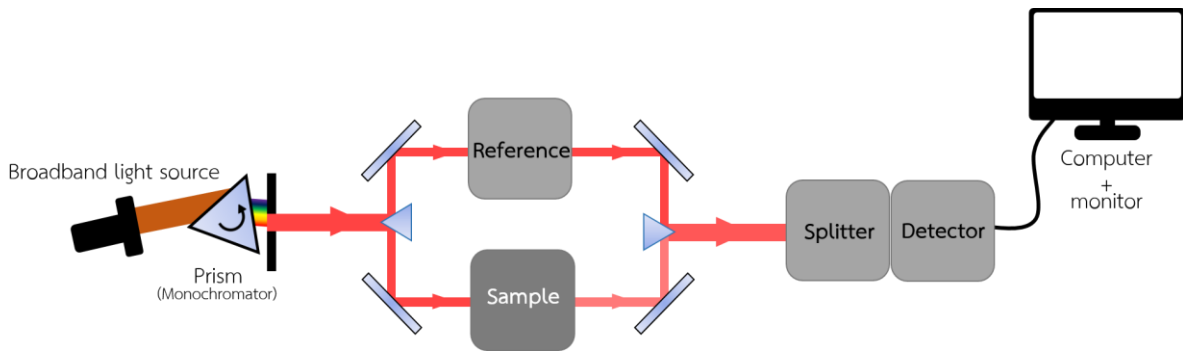
ทั้งนี้ ระบบ OCT โดยปกติจะถูกออกแบบให้ใช้งานโดยใช้แหล่งกำเนิดแสงอินฟราเรดในช่วงระหว่าง 800-1300 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีการดูดกลืนแสงในระดับที่ต่ำที่สุดของน้ำและเกล็ดเลือดซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต ซึ่งเรียกว่า optical window ดังนั้น ระบบ OCT ที่ได้รับการพัฒนาจนถึงปัจจุบัน จึงนิยมใช้แหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์ 3 ช่วงด้วยกันได้แก่ 800 1000 และ 1300 นาโนเมตร ซึ่งแต่ละความยาวคลื่นจะมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน โดยความยาวคลื่นสั้น เช่น 800 นาโนเมตร จะให้ความละเอียดการถ่ายภาพสูงแต่จะถ่ายภาพได้ที่มีความลึกไม่มาก เหมาะกับการถ่ายภาพบริเวณพื้นผิวที่ต้องการความละเอียดสูง ในทางกลับกัน ระบบที่ความยาวคลื่น 1300 นาโนเมตร จะมีความละเอียดการถ่ายภาพที่ต่ำกว่า แต่จะถ่ายภาพได้ลึกขึ้น เหมาะกับการถ่ายภาพโครงสร้างที่อยู่ลึกจากพื้นผิวมาก ๆ ได้

ในโครงการนี้ ทีมวิจัยได้ออกแบบและพัฒนาระบบถ่ายภาพ OCT ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยที่ความสามารถในการถ่ายภาพตัดขวางความละเอียดสูงของตัวอย่างชีวภาพได้ที่มีความลึกมาก ๆ ในระดับที่ลึกมากกว่า 3 มิลลิเมตรจากพื้นผิวได้ โดยจะเลือกใช้แสงอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นในย่าน 700-900 นาโนเมตร ยิ่งแหล่งกำเนิดแสงมีความช่วงกว้างของสเปกตรัมมากขึ้น ก็จะทำให้ความละเอียดของการถ่ายภาพในแนวลึกมากขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถในการแยกแยะความหนาของชั้นตัวอย่าง อีกทั้ง ยังได้ออกแบบให้มีสมรรถนะทั้งในด้านความเร็วในการถ่ายภาพที่สูงกว่า 50 ภาพต่อวินาทีและความละเอียดในการถ่ายภาพที่ระดับ 10 ไมโครเมตร ซึ่งทำให้สามารถใช้ประโยชน์ในการถ่ายภาพสามมิติเชิงลึกของตัวอย่างชีวภาพ เพื่อการวิเคราะห์และตรวจติดตามโครงสร้างหรืออวัยวะภายในของตัวอย่างขนาดเล็ก ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์ในงานวิจัยด้านชีววิทยา ชีวการแพทย์ และการเกษตร ต่อไป

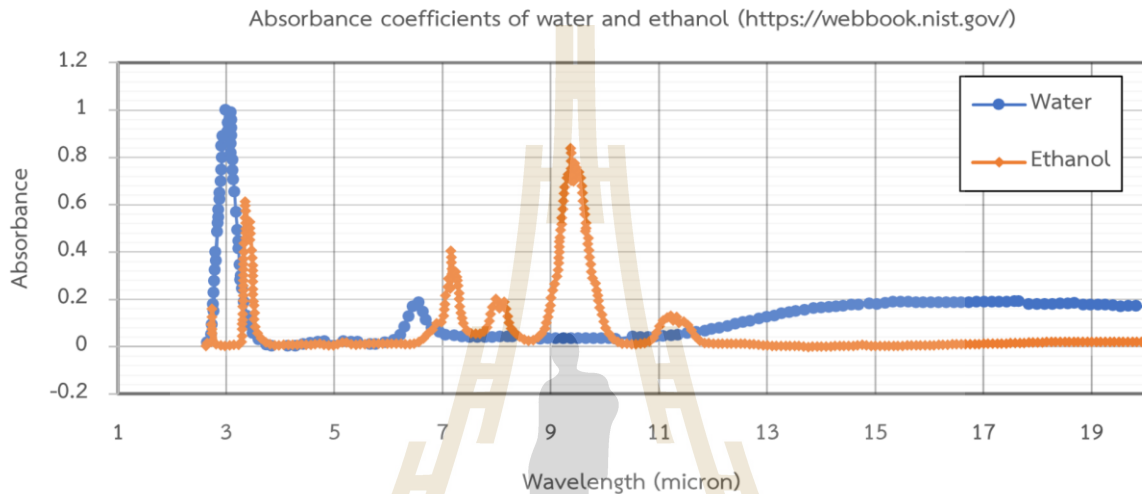
Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

เทคนิค Infrared absorption spectroscopy เป็นเทคนิคที่นักวิทยาศาสตร์ใช้ประโยชน์จากแสงอินฟราเรดในการวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลหรือธาตุต่าง ๆ โดยเมื่อฉายแสงอินฟราเรดไปยังสารตัวอย่าง อะตอมหรือโมเลกุลนั้นจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะและเปลี่ยนจากสถานะพื้น (ground state) ไปเป็นสถานะกระตุ้น (excited state) ซึ่งธาตุแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะของความยาวคลื่นที่ดูดกลืนหรือคายพลังงานที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถจำแนกองค์ประกอบของสารได้จากเอกลักษณ์นี้ และได้ถูกนำไปใช้งานในด้านต่าง ๆ เช่น การวิเคราะห์ทางชีววิทยา เคมี ดาราศาสตร์ ธรณีวิทยา มลพิษทางอากาศ เป็นต้น

ระบบ infrared spectroscopy ในยุคแรกเป็นการใช้ปริซึม (Prism) ดังในภาพที่ 8 โดยเริ่มจากการฉายแสงที่มีช่วงความยาวคลื่นแบบกว้าง (broadband light source) ในย่านอินฟราเรดผ่านไปยังปริซึมที่ประพืดตัวเป็น monochromator ที่จะแบ่งช่วงความยาวคลื่นที่กว้างนั้นออกเป็นแสงที่มีความถี่เดียวหรือใกล้เคียงมากที่สุด และแสงนั้นจะผ่านไปยังระบบ spectroscopy ซึ่งจะแบ่งแสงดังกล่าวออกเป็นสองทางส่วนหนึ่งไปยังที่วางสำหรับเป็นแสงอ้างอิง (reference beam) และอีกส่วนหนึ่งไปยังตัวอย่างที่เราต้องการศึกษา (sample beam) และระบบจะวัดปริมาณแสงที่ผ่านทั้งสองทางที่ละฝั่งด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดความเข้มแสงที่จะแปลงข้อมูลแสงที่เป็นอนาล็อกให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าดิจิทัล จากนั้นจะหมุนปริซึมเพื่อให้แสงความยาวคลื่นอื่น ๆ ผ่านไปยังตัวอย่างและทำซ้ำกระบวนการเดิมจนครบทุกช่วงความยาวคลื่นที่มีจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งจะใช้เวลาสักพักในกระบวนการหมุนปริซึมและเก็บข้อมูล



ภาพที่ 8 ตัวอย่างระบบ Infrared spectroscopy แบบใช้ปริซึม

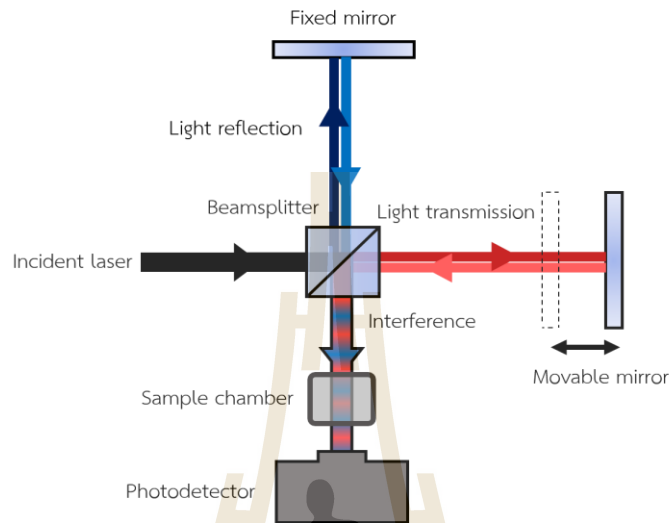


ภาพที่ 9 (บน) สเปกตรัมการดูดกลืนของเอทานอล (C₂H₆O) (ล่าง) สเปกตรัมการดูดกลืนของน้ำ (H₂O) (<https://webbook.nist.gov/>)

สเปกตรัมการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของตัวอย่างจะได้รับการคำนวณหาความแตกต่างระหว่างข้อมูลจากแสงอ้างอิงกับแสงที่ผ่านตัวอย่าง และตำแหน่ง(หรือมุม)ของปริซึมนั้นสัมพันธ์กับค่าความยาวคลื่นต่าง ๆ ทั้งนี้ประสิทธิภาพของระบบที่ใช้ปริซึม ยังอยู่บนข้อจำกัดต่าง ๆ เช่น สารตัวอย่างต้องเป็นแบบสารละลายในน้ำ ขนาดอนุภาคที่จำกัด รวมถึงขอบเขตของช่วงความยาวคลื่นอินฟราเรดที่มีแคบมาก และการวัดผลซ้ำที่เต็มไปด้วยความคลาดเคลื่อนที่สูง ระบบถูกพัฒนาต่อโดยใช้เกรตติง (Grating) แทนที่ปริซึม ซึ่งให้ผลที่ดีกว่า แต่ยังคงมีข้อด้อยอื่น ๆ ตามมาเช่นกัน อาทิ ความไว (sensitivity) ที่ต่ำ และการสแกนที่ช้า

ต่อมาได้มีการพัฒนาระบบ absorption spectroscopy ให้เป็นระบบที่ใช้ความสามารถของคุณสมบัติการแทรกสอดของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและเข้ามาแทนที่ระบบเก่าอย่างปริซึมและเกรตติงด้วยการใช้ระบบแทรกสอดแบบไมเคลสัน ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในระบบ FTIR ดังแสดงในภาพที่ 10 หลักการของระบบ FTIR ที่ใช้ระบบการแทรกสอดแบบไมเคลสันนั้นคล้ายคลึงกับระบบการถ่ายภาพตัดขวางแบบ TD-OCT จะตรงที่ส่วนของตัวอย่างในระบบ TD-OCT จะถูกเปลี่ยนเป็นกระจกที่ตรึงอยู่กับที่ (Fixed mirror) และแสงที่แทรกสอดกันแล้วจะผ่านไปยังส่วนที่ติดตั้งตัวอย่างไว้ และบันทึกข้อมูลด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดความเข้มแสง ก่อนที่จะเปลี่ยนไปเป็นสัญญาณทางไฟฟ้าให้กับคอมพิวเตอร์เพื่อทำการคำนวณหาสเปกตรัมการดูดกลืนแสง โดยสัญญาณการแทรกสอดที่วัดได้อยู่ในโดเมนของเวลา (Time domain) จะถูกแปลงให้เป็นโดเมนความถี่

(frequency domain) ด้วยการแปลงแบบฟูรีเยร์ (Fourier transformation) ซึ่งข้อมูลในโดเมนความถี่นั้น สอดคล้องกับข้อมูลสเปกตรัม ระบบ FTIR นั้นสามารถให้ผลแบบเดียวกันกับระบบก่อนๆ แต่มีประสิทธิที่ดีกว่า ระบบเก่าอย่างมาก เช่น ค่า Signal-to-Noise ratio ที่สูง (สัญญาณรบกวนน้อย) ความละเอียดสูง ช่วงความยาวคลื่นอินฟราเรดที่กว้างกว่า เวลาในการวัดน้อยกว่าเนื่องจากฉายแสงทุกความยาวคลื่นในคราวเดียว ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีชิ้นส่วนของเครื่องมือที่ขยับน้อย ทำให้ได้ผลที่แม่นยำมากขึ้น



ภาพที่ 10 แผนภาพแสดงระบบ FTIR แบบใช้การแทรกสอดของแสงด้วยระบบการแทรกสอดแบบไมเคิลสัน

แหล่งกำเนิดแสง เป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการวิเคราะห์ผลสเปกตรัมการดูดกลืนแสง ซึ่งหากแหล่งกำเนิดแสงมีช่วงความยาวคลื่นที่แคบ จำนวนสารประกอบที่วัดได้จะน้อยลงไปด้วย เนื่องจากจะมีโอกาสที่ค่าการดูดกลืนของธาตุต่าง ๆ ที่ซ้อนทับการจนไม่สามารถใช้แยกองค์ประกอบของสารนั้นๆ ได้ ในปัจจุบันเทคโนโลยีมีความก้าวหน้าขึ้นอย่างมาก แหล่งกำเนิดแสงที่เรียกว่า supercontinuum laser ซึ่ง Supercontinuum สามารถเกิดได้จากความไม่เป็นเชิงเส้นของแสงพัลส์เลเซอร์ในเส้นใยไฟเบอร์ โดยแสงที่ออกมาจากไฟเบอร์นั้นจะมีช่วงความยาวคลื่นที่กว้าง มีความอาพันธ์สูง (คุณสมบัติของเลเซอร์) จึงได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในช่วงหลายปีมานี้

ภายใต้โครงการนี้ ทีมวิจัยได้พัฒนาระบบ FTIR ขึ้นโดยใช้แสง supercontinuum laser ในช่วงความยาวคลื่น 1,500 - 2,400 นาโนเมตร และยังมีระบบการแทรกสอดของแสงเลเซอร์สีเขียวที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร อยู่ในระบบเดียวกันด้วย ใช้เพื่อเป็นการวัดระยะทางเชิงแสง (optical metrology) โดยแสงทั้ง supercontinuum laser และ monochromatic laser (สีเขียว) จะใช้อุปกรณ์ทางแสงร่วมกัน และแยกเข้าเซ็นเซอร์วัดความเข้มแสงคนละตัวในภายหลัง ใช้การเลื่อนกระจกด้วยวัสดุ piezoelectric actuator ที่จะส่งผลให้การเลื่อนกระจกเกิดได้อย่างรวดเร็ว

บทที่ 3

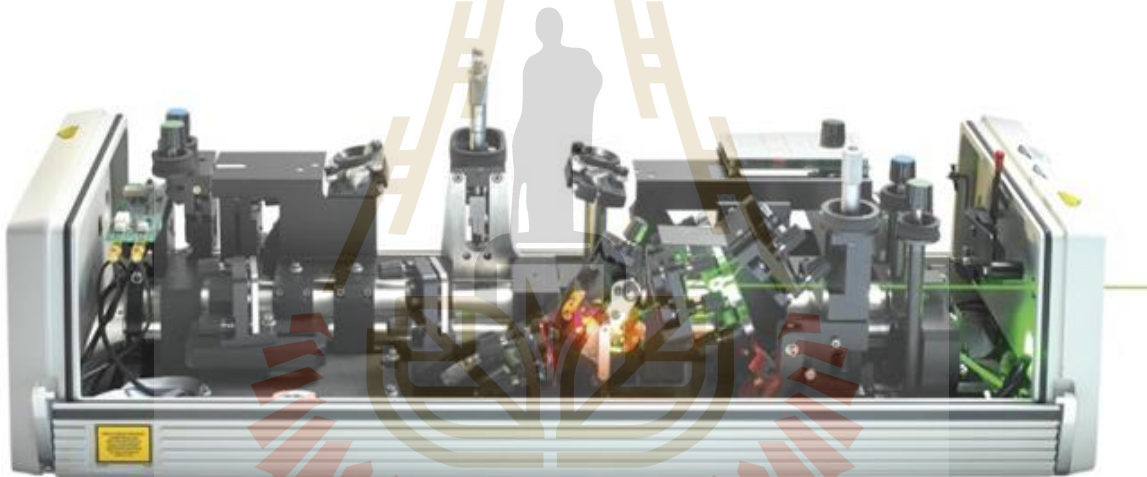
วิธีการดำเนินการวิจัย

1) การศึกษาและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

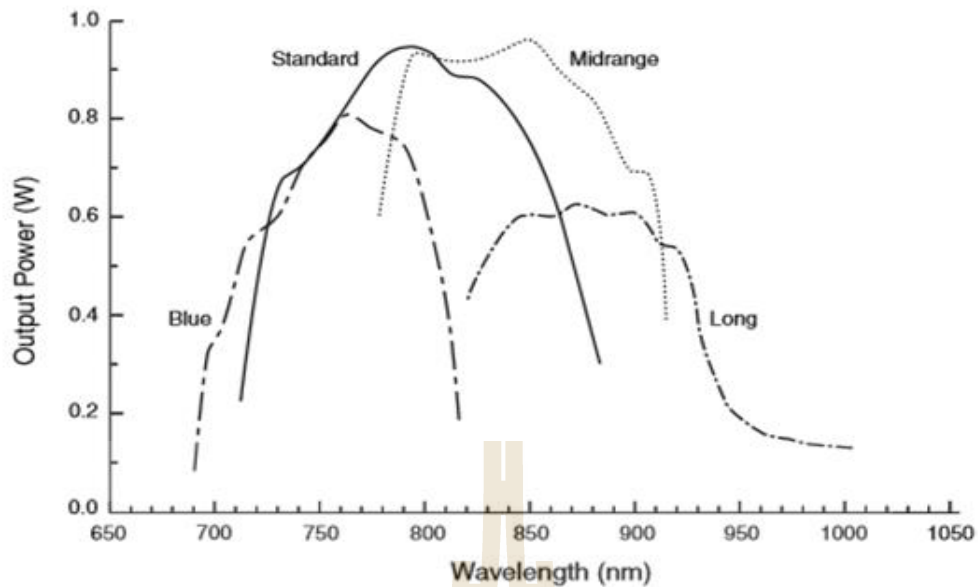
โครงการศึกษาและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง เป็นการศึกษาระบบจากเครื่องระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง (femtosecond laser) รุ่น Tsunami model : 3941-M3M ของบริษัท Spectra Physics ดังในภาพที่ 11 ซึ่งเป็นระบบที่มีอยู่แล้ว และไม่มีการใช้งานมาก่อน ดังนั้นในโครงการนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาระบบ เพื่อให้ระบบสามารถให้เลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงได้ ตลอดจนการตรวจวัดลักษณะ คุณสมบัติของเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

1. Tsunami model: 3941-M3M

เป็นระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง ของบริษัท Spectra Physics ซึ่งจุดเด่นของระบบนี้ สามารถให้แสงเลเซอร์ที่ความกว้างของความยาวคลื่น ในช่วง 700 นาโนเมตร ถึง 1080 นาโนเมตร ดังในภาพที่ 12 ให้พลังงานสูงสุดมากกว่า 337 kW สามารถควบคุมลักษณะของสัญญาณพัลส์ รวมถึงระบบถูกออกแบบและประกอบให้ง่ายต่อการติดตั้งและสามารถเคลื่อนย้ายได้ง่าย



ภาพที่ 11 ระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง (Tsunami model : 3941-M3M ของบริษัท Spectra Physics)



ภาพที่ 12 แสดงช่วงความยาวคลื่นของแสงเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง เมื่อทำการกระตุ้นการเกิดด้วยเลเซอร์แสงสีเขียวที่พลังงาน 5W (Millenia Vs diode-pumped CW laser)

2. Millenia eV

เป็นเลเซอร์ diode-pumped CW laser ดังในภาพที่ 13 ที่ให้ความยาวคลื่นที่ 532 นาโนเมตร และให้พลังงานแสงสูงสุดที่ 5W ซึ่งจะมีหน้าที่ในการแสงเลเซอร์เพื่อไปกระตุ้นผลึก Ti : Sapphire ที่อยู่ภายในระบบของเครื่อง Tsunami เพื่อให้เกิดการปล่อยพลังงานแสงเลเซอร์พัลส์สั้นออกมา

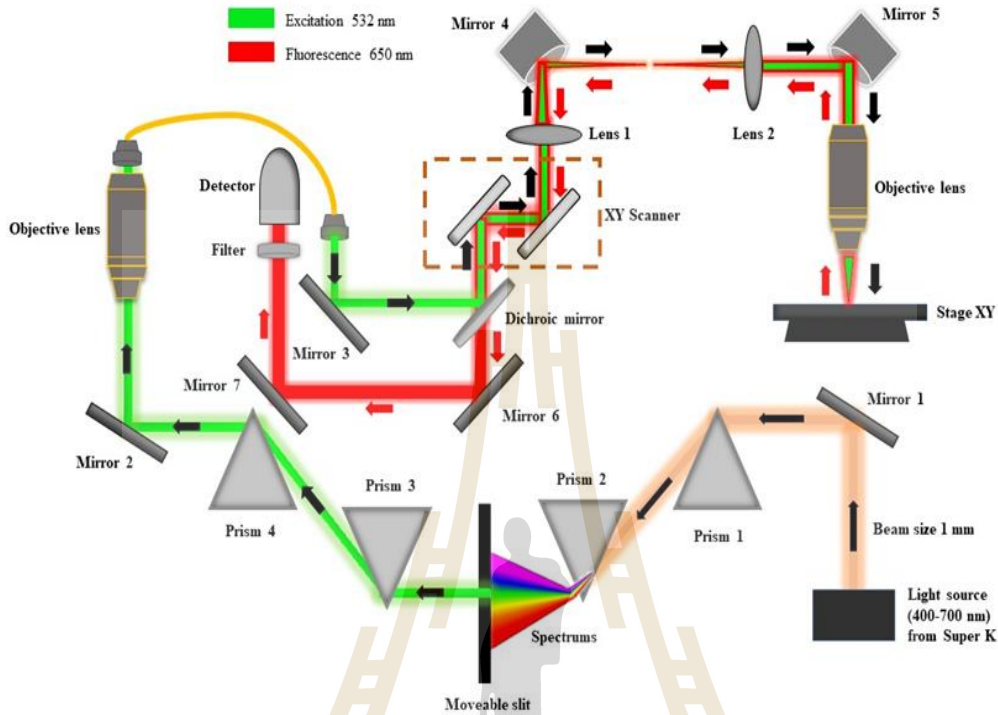


ภาพที่ 13 Millenia Vs

2) การพัฒนาระบบการถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วงความยาวคลื่นแสง 400-700 นาโนเมตร

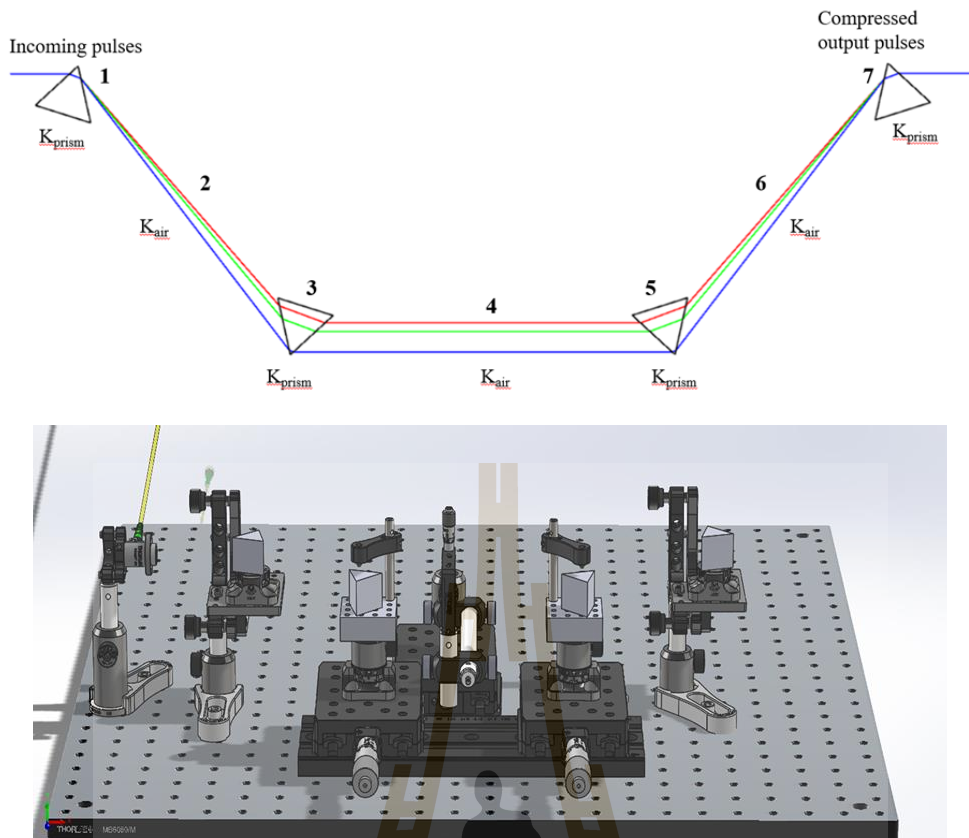
ในโครงการนี้ ทีมผู้วิจัยได้ออกแบบและสร้างระบบถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ โดยแสดงแผนภาพโดยรวมได้ดังในภาพที่ 14 ระบบถ่ายภาพนี้ได้แบ่งกระบวนออกแบบเป็น 2 ระบบคือ ระบบแยก

สเปกตรัม และ ระบบคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในส่วนแรกจะเป็นในส่วนของระบบแยกสเปกตรัม เริ่มต้นใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็นเลเซอร์ต่อเนื่องพลังงานสูง (SuperK EXU-6, NKT photonics, Denmark) ในช่วง 400-700 นาโนเมตร ซึ่งทะลุผ่านกระจกไดโครอิก (Dichroic Mirror, Thorlabs DMLP650, USA) แล้วสะท้อนด้วยกระจก (Mirror1) เข้ากับระบบแยกสเปกตรัม ประกอบไปด้วยปริซึม 4 ตัว (Thorlabs PS852, USA)



ภาพที่ 14 แสดงแผนภาพระบบถ่ายภาพ Confocal FLIM

เมื่อลำแสงทะลุผ่านปริซึมตัวที่ 1 จะเกิดการกระจายออกเป็นสีต่าง ๆ หรือที่เรียกว่า สเปกตรัม จากนั้นก็จะผ่านไปยังปริซึมตัวที่ 2 และ 3 ซึ่งทำหน้าที่ให้แสงสเปกตรัมขนานกัน ในส่วนนี้เอง เราจะใช้สลิต (Thorlabs VA100C/M, USA) มาวางระหว่างปริซึมตัวที่ 2 และ 3 เพื่อจะเลือกความยาวคลื่นที่เราสนใจจะศึกษาดังในภาพที่ 15 โดยในระบบที่ออกแบบนี้ ทีมวิจัยเลือก ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (สีเขียว) ใช้ในการ Alignment ระบบ โดยผ่านช่องเปิดสลิตความกว้าง 0.1 mm จากนั้นแสงที่เราเลือกก็จะผ่านไปยังปริซึมตัวที่ 4 และลำแสงสีเขียวก็จะสะท้อนกระจกตัวที่ 2 (Mirror 2) เข้าเลนส์ใกล้วัตถุ (Olympus UPLAN FLN 10x Objective 0.30NA, Olympus Inc., USA) ซึ่งจะเป็นส่วนเชื่อมต่อกับระบบคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ โดยเลนส์ใกล้วัตถุจะทำหน้าที่คอลลิเมตแสงให้ขนาน เพื่อผ่านเข้าไปยังไฟเบอร์ออปติก



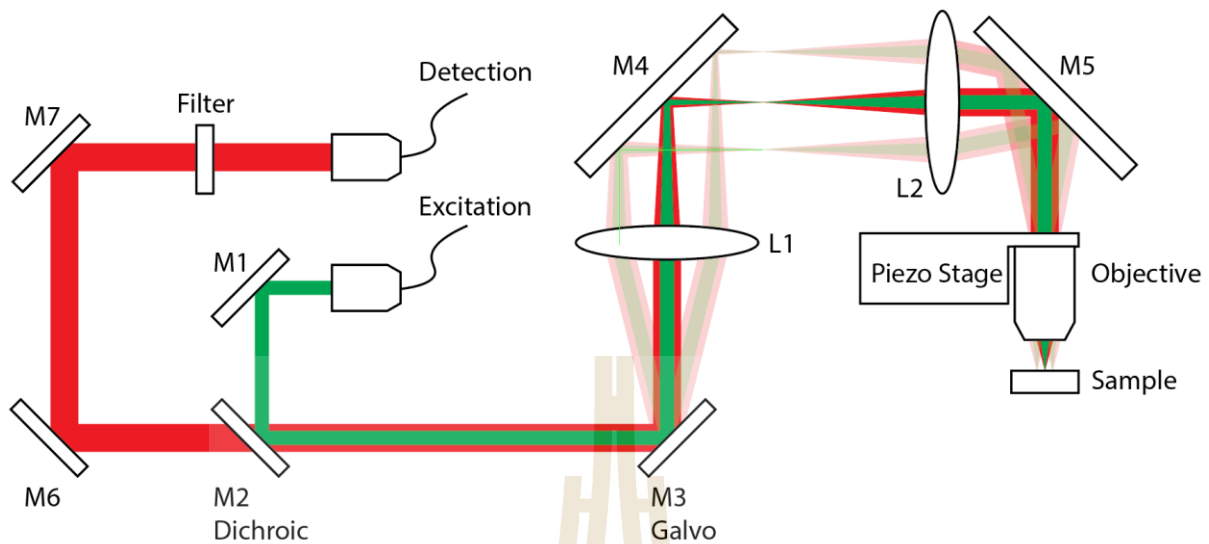
ภาพที่ 15 ภาพแสดงการจัดวางระบบ separation spectral system

ในการใช้งานกล้องจุลทรรศน์ แหล่งกำเนิดแสง (เช่น เลเซอร์) จะถูกส่องผ่านรูเข็มขนาดเล็ก (light source pinhole) และถูกส่งต่อไปยังตัวอย่างที่ต้องการถ่ายภาพด้วยกระจกและเลนส์วัตถุ (objective lens) เพื่อกระตุ้นโมเลกุลหรืออะตอมให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ แสงที่เกิดขึ้นนี้จะถูกเก็บผ่านเลนส์วัตถุขึ้นเดียวกัน และส่องผ่านกระจก (dichroic mirror) ซึ่งสามารถแยกแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกจากแสงเลเซอร์ได้ สุดท้ายแสงฟลูออเรสเซนซ์จะถูกโฟกัสเข้าสู่รูเข็มของระบบวัดแสง (detector pinhole) ก่อนที่จะถูกอ่านด้วยหัววัดแสงความไวสูง และเมื่อทำการสแกนลำแสงในสองมิติ จะสามารถนำมาใช้ในการถ่ายภาพได้

รูเข็มทั้งสองที่อยู่ในระบบนี้ เป็นปัจจัยหลักในการทำงานของระบบกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล โดยรูเข็มทั้งสองจะต้องถูกเรียงให้อยู่ในระนาบโฟกัสเดียวกันกับตัวอย่าง เพื่อทำหน้าที่เลือกเพียงแสงที่อยู่ในระนาบโฟกัส ให้ถูกกระตุ้นได้ด้วยแสงเลเซอร์ และถูกส่งต่อไปวัดได้ที่หัววัดแสงได้ โดยแสงจากระนาบอื่น ๆ ที่ไม่อยู่ในโฟกัส จะถูกกระตุ้นด้วยความเข้มที่ต่ำกว่ามาก และไม่สามารถส่องผ่านรูเข็มหน้าหัววัดแสงได้ ทำให้กล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้มีความไวต่อระนาบโฟกัสได้มาก เปรียบเสมือนการถ่ายภาพตัดขวางในระนาบโฟกัสเพียงระนาบเดียว

หลังจากแสงสีเขียวถูกลำเลียงจากไฟเบอร์ออปติกมายังระบบคอนโฟคอลแล้ว ก็จะถูกนำออกด้วยคอลลิเมเตอร์ดังในภาพที่ 16 และส่งผ่านไปยังกระจกตัวที่ 1 (M1) และสะท้อนผ่านแผ่นกระจกไดโครอิก (Dichroic mirror) หรือกระจกสะท้อนกรองแสง M2 ไปยังกระจกกัลวานอมิเตอร์ M3 ที่สามารถสแกนระนาบลำแสง 2 แกน คือ แกน x และ แกน y และสะท้อนผ่านไปยังเลนส์ L1 และ L2 ความยาวโฟกัส 100 มิลลิเมตร

(Edmund Optics 49-390) โดยใช้กระจก M4 และ M5 (Thorlabs PF20-03-P01, USA) ในการออกแบบ เพื่อช่วยทำให้ระบบมีขนาดกะทัดรัดและเหมาะสมกับการใช้งาน



ภาพที่ 16 แผนภาพแสดงระบบ คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ (confocal fluorescence system)

ในระบบกล้องจุลทรรศน์นี้ แสงเลเซอร์ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ที่ใช้ในการกระตุ้นฟลูออเรสเซนซ์ จะถูกส่งผ่านเส้นใยแก้วนำแสงแบบ single-mode ซึ่งสามารถนำมาใช้ทดแทนรูเข็มได้ แสงที่ออกมาจากใยแก้วนี้ จะถูกสะท้อนผ่านกระจก M1 และ M2 เพื่อปรับทิศทางเดินทางของแสงให้ตกกระทบบนตั้งฉากกับกระจก Galvo M3 ซึ่งสามารถหมุนได้ในสองแกนเพื่อสแกนตำแหน่งบนตัวอย่าง แสงที่สะท้อนจาก M3 จะถูกโฟกัสกลับมาที่เลนส์วัตถุด้วยเลนส์ L1 และ L2 ซึ่งวางต่อกันเป็นระบบ 4f relay system

แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างจะถูกเก็บด้วยเลนส์วัตถุชิ้นเดียวกัน และถูกแยกออกจากแสงเลเซอร์ที่กระจก dichroic M2 ซึ่งเป็นกระจกแยกสี ที่สามารถให้แสงที่ความยาวคลื่นมากกว่า 584 นาโนเมตร ทะลุผ่านได้ด้วยประสิทธิภาพมากกว่า 90% แสงที่แยกแล้วจะถูกสะท้อนผ่านกระจก M6 และ M7 เพื่อเข้าสู่ระบบวัดแสง โดยแสงนี้จะถูกฟิลเตอร์อีกครั้งเพื่อลดปริมาณแสงเลเซอร์ที่ยังส่องผ่าน M2 มา

สำหรับการวัดแสง ระบบต้นแบบนี้จะใช้เส้นใยแก้วนำแสงแบบ single-mode แทนรูเข็มของหัววัดแสง ซึ่งเส้นใยแก้วนี้ นอกจากจะมีขนาดเล็กและคุณภาพสูงกว่ารูเข็มทั่วไปแล้ว ยังสามารถนำไปเชื่อมต่อกับเซนเซอร์วัดแสงได้โดยตรงได้อีกด้วย

การทำ optical alignment สามารถทำได้โดยการฉายแสงเลเซอร์สีเขียวและสีแดงผ่านเส้นใยแก้วนำแสงสำหรับกระตุ้น และเส้นใยแก้วนำแสงสำหรับหัววัด และนำแสงเลเซอร์ทั้งสองมาจัดเรียงให้ซ้อนทับกัน และเป็นลำแสงขนาน (collimated beam) ที่สามารถนำไปโฟกัสที่จุดเดียวกันบนตัวอย่างได้ และปรับเส้นใยแก้วนำแสงสำหรับหัววัดมาเชื่อมต่อเข้าเครื่องวัดเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการถ่ายภาพ

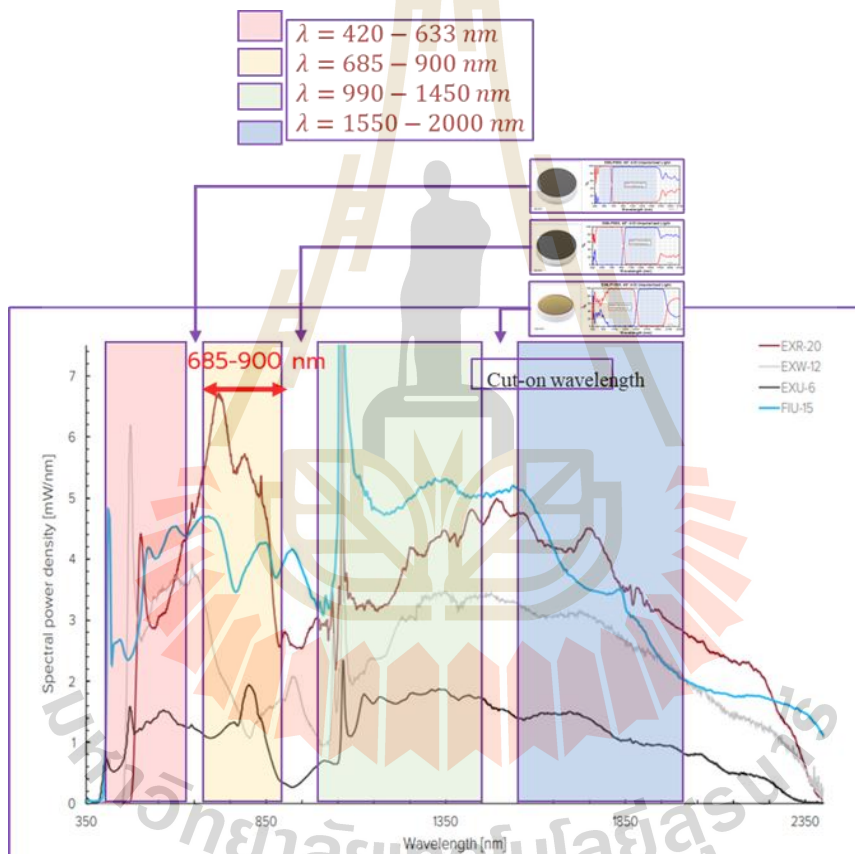
ในการถ่ายภาพ ต้นแบบกล้องจุลทรรศน์นี้จะส่งผ่านข้อมูลเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ด้วยสัญญาณไฟฟ้า ทั้งในระบบควบคุมการสแกนในสามมิติ และการนับจำนวนโฟตอนที่ตกกระทบบนหัววัด ด้วยอุปกรณ์ Multifunction Data Acquisition (DAQ) โดยทางผู้วิจัยเป็นผู้เขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมกล้องด้วยตนเองในภาษา python

3) การพัฒนาระบบ FD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 700-900 นาโนเมตร

โครงการที่นำเสนอนี้ จะเน้นที่การออกแบบและสร้างระบบในระดับห้องปฏิบัติการ โดยระบบที่สร้างขึ้นจะเป็นในลักษณะของการนำชิ้นส่วนย่อยต่าง ๆ มาประกอบขึ้นเป็นอุปกรณ์แต่ละส่วนของระบบ โดยแบ่งได้เป็น 4 ส่วนหลักๆ ได้แก่

3.1) แหล่งกำเนิดแสง (Light source)

แหล่งกำเนิดแสงที่เลือกใช้ในโครงการนี้เป็นแหล่งกำเนิดแสงชนิด Super EXTREME Supercontinuum Lasers - EXU-6 ซึ่งสามารถปล่อยแสงอินฟราเรดในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 420 - 2000 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 17 จากนั้นทำการแยกความยาวคลื่นแต่ละความยาวคลื่นเพื่อเข้าไปในระบบต่างๆ ที่ถูกออกแบบในการใช้งานต่าง ๆ โดยระบบระบบถ่ายภาพ FD-OCT ที่ได้ออกแบบไว้จะเลือกใช้แสงอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นในย่าน 700-900 นาโนเมตร เพราะยังแหล่งกำเนิดแสงมีความช่วงกว้างของสเปกตรัมมากขึ้น ก็จะทำให้ความละเอียดของการถ่ายภาพในแนวลึกมากขึ้น



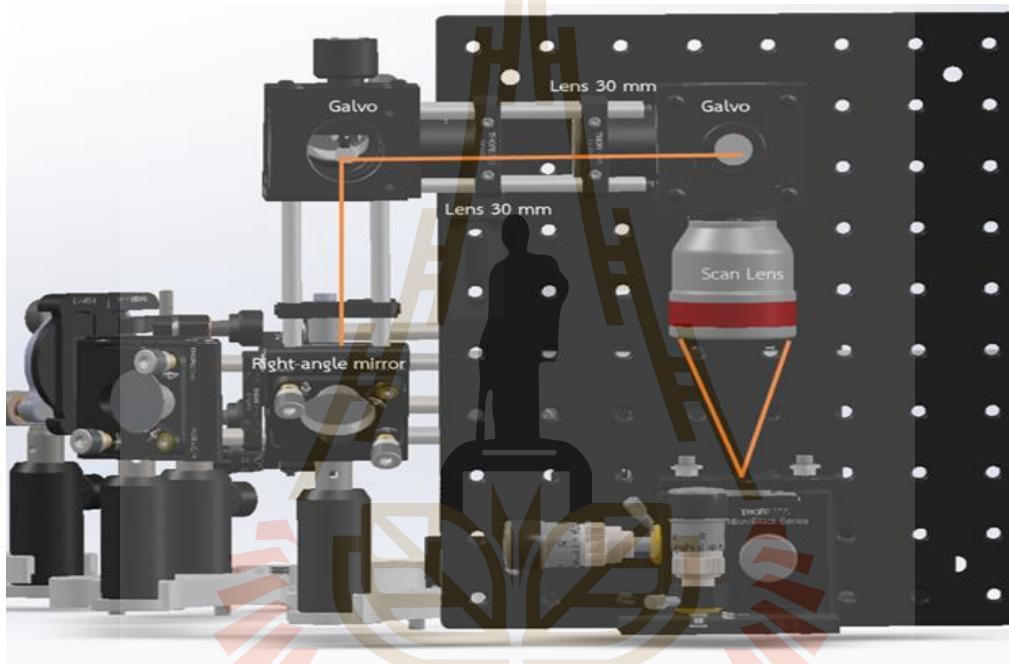
ภาพที่ 17 ภาพแสดงสเปกตรัมของแหล่งกำเนิดแสงที่เลือกใช้

3.2) ระบบแทรกสอดแสง (Interferometer)

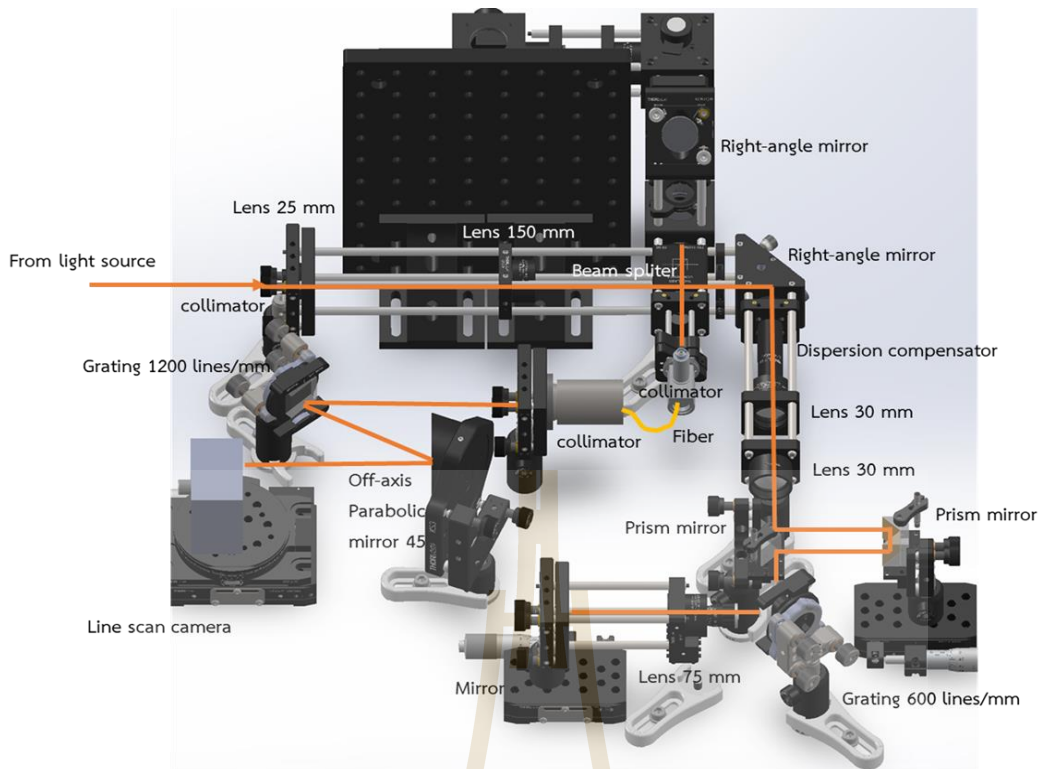
ระบบแทรกสอดแสงที่เลือกใช้เป็นระบบแทรกสอดแบบไมเคลสันโดยมีลักษณะการจัดวางดังแสดงในภาพที่ 18 ซึ่งประกอบด้วย แสงจากแหล่งกำเนิดแสง จะถูกแยกความยาวคลื่นที่ 700-900 นาโนเมตร ถูกลำเลียงมาเข้าระบบผ่านสายไฟเบอร์แล้วมาต่อเข้ากับคอลลิเมเตอร์ที่ให้ขนาดลำแสงขนานโดยประมาณขนาดปิมเข้ามาที่ระบบ 1 mm และทำการขยายปิมให้ปิมมีขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 6 mm โดยใช้เลนส์ 2 ตัวขยายปิมความยาวโฟกัส 25 mm และ 150 mm จากนั้นลำแสงจะถูกแบ่งแบบ 50/50 โดยก้องนลูกบาศก์แบ่งลำแสงดัง

แสดงในรูป ซึ่งจะทำหน้าที่แบ่งแสงจากแหล่งกำเนิดครึ่งหนึ่งสะท้อนไปยังส่วนอ้างอิง (Reference arm) และอีกครึ่งหนึ่งทะลุผ่านไปยังส่วนหัวถ่ายภาพ (sample arm) ของระบบ

ระบบหัวถ่ายภาพจะประกอบด้วยกระจกสแกนลำแสงแบบสองแกนซึ่งใช้หลักการของกัลวานอร์มิเตอร์ หรือเรียกว่าระบบกัลโวและมิสแกนเลนส์ซึ่งมีความยาวโฟกัสเท่ากับ 54 มิลลิเมตร และรองรับระยะการสแกนตามแนวขวางหรือแนวระนาบ (lateral scan) สูงสุดถึง 16 มิลลิเมตร แสงจะถูกโฟกัสลงในชิ้นงานตัวอย่างที่ต้องการถ่ายภาพและสะท้อนกลับทางเดิมและถูกลำเลียงไปยังตัวแบ่งลำแสง ส่วนอ้างอิงประกอบด้วยกระจกสะท้อนซึ่งถูกจัดวางไว้ที่ระยะทางโดยประมาณเท่ากับระยะทางจากตัวแบ่งลำแสงไปยังชิ้นงานตัวอย่าง โดยกระจกอ้างอิงถูกออกแบบให้สามารถปรับเคลื่อนที่ได้ เพื่อการปรับตำแหน่งภาพ แสงสะท้อนจากกระจกอ้างอิงจะสะท้อนย้อนกลับทางเดิมและไปแทรกสอดกับแสงสะท้อนจากฝั่งตัวอย่าง จากนั้นแสงแทรกสอดจะถูกลำเลียงไปยังระบบบันทึกสัญญาณผ่านทางสายไฟเบอร์



ภาพที่ 18 ภาพแสดงการจัดวางระบบของฝั่ง sample arm



ภาพที่ 19 ภาพแสดงการจัดวางระบบ Reference arm + Spectrometer

3.3) ระบบบันทึกสัญญาณการแทรกสอดของแสง

ความเร็วในการตรวจจับและบันทึกสัญญาณเป็นส่วนสำคัญที่จะกำหนดความเร็วในการถ่ายภาพของระบบที่สร้างขึ้น ซึ่งในโครงการนี้ ใช้หลักการบันทึกสัญญาณการแทรกสอดในโดเมนความถี่โดยใช้ต้นแบบสเปคโตรมิเตอร์ได้ถูกออกแบบและสร้างขึ้นเอง ซึ่งต้นแบบดังกล่าวเป็นระบบสเปคโตรมิเตอร์ที่ถูกออกแบบโดยใช้กระจกพาราโบลานิกและเกรตติ้งชนิดสะท้อนแสง (reflected grating, 1200 lp/mm) โดยแสงที่ออกมาจากปลายไฟเบอร์ไปตกกระทบเกรตติ้งแล้วแยกสะท้อนออกเป็นสเปคตรัมแสง ซึ่งแสงแต่ละความยาวคลื่นจะสะท้อนออกมาเป็นแสงขนานที่มุมต่าง ๆ กัน ซึ่งจะถูกละเลียงโดยกระจกพาราโบลานิกให้ไปโฟกัสบนเซ็นเซอร์รับแสงดังแสดงในรูป

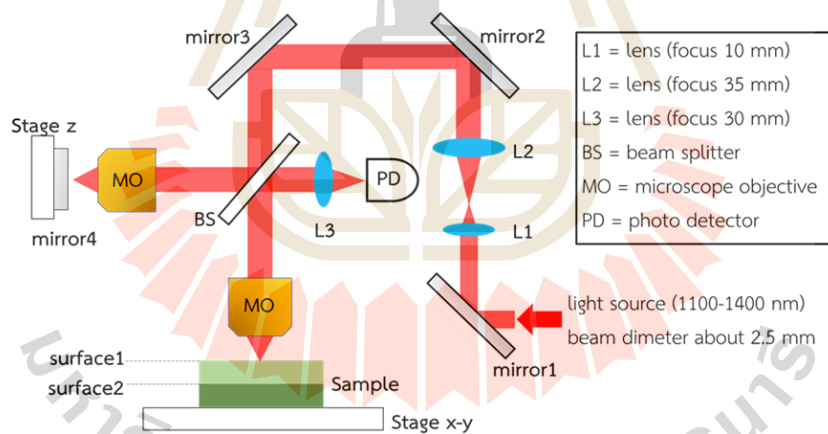
3.4) ระบบคอมพิวเตอร์และซอฟต์แวร์เพื่อการประมวลผลข้อมูล

ด้วยระบบการถ่ายภาพที่ความเร็วสูงจำเป็นต้องมีการบันทึกและส่งถ่ายข้อมูลจำนวนมากจากสเปคโตรมิเตอร์ไปยังคอมพิวเตอร์เพื่อการประมวลผล คอมพิวเตอร์ที่ใช้จึงต้องมีประสิทธิภาพและความเร็วในการประมวลผลสัญญาณที่สูง และต้องมีหน่วยความจำที่เพียงพอในการประมวลผลข้อมูลขนาดใหญ่ ทั้งนี้ การควบคุมระบบสแกนลำแสง ระบบบันทึกสัญญาณจากสเปคโตรมิเตอร์ ระบบการประมวลผลสัญญาณสเปคตรัมไปเป็นสัญญาณภาพ ตลอดจนระบบแสดงผลและส่วนติดต่อกับผู้ใช้งาน (User Interface) ได้ถูกออกแบบและพัฒนาขึ้นภายใต้ระบบโปรแกรม Labview

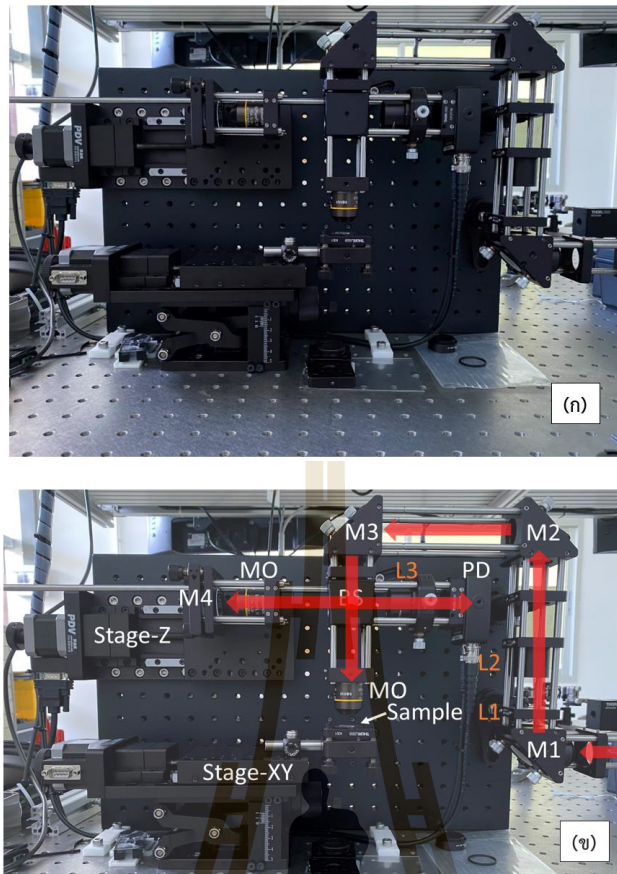
4) การพัฒนาระบบ TD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1000-1400 นาโนเมตร

4.1 ระบบถ่ายภาพ TD-OCT

ระบบถ่ายภาพ TD-OCT นี้ถูกสร้างขึ้นโดยอาศัยพื้นฐานมาจาก interferometer ชนิดไมเคลสัน โดยแผนภาพและภาพถ่ายของระบบถ่ายภาพ TD-OCT แสดงในภาพที่ 20 และ ภาพที่ 21 ตามลำดับ ระบบถ่ายภาพนี้ใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็นเลเซอร์ต่อเนื่องพลังงานสูง (SuperK EXU-6, NKT photonics, Denmark) ในช่วง 1100-1400 นาโนเมตร ซึ่งทะลุผ่านกระจกไดโครอิก (DMLP1000, Thorlabs Inc., USA) แล้วสะท้อนด้วยกระจก (Mirror1) เข้าระบบถ่ายภาพ TD-OCT หลังจากนั้นลำแสงของแหล่งกำเนิดแสงจะถูกขยายขึ้นประมาณ 3 เท่า จากเดิมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 มิลลิเมตร เป็น 8.75 มิลลิเมตรด้วยเลนส์ L1 (AC060-010-C-ML, Thorlabs Inc., USA) and และ L2 (AC254-035-C-ML, Thorlabs Inc., USA) แล้วลำแสงนี้จะถูกสะท้อนกระจกตัวที่2 (Mirror2) และกระจกตัวที่3 (Mirror3) เข้าตัวแยกแสง (CCM1-BS015/M, Thorlabs Inc., USA) โดยแสงจะถูกแยกเป็นสองส่วน แสงส่วนที่หนึ่งถูกแยกเป็นแสงอ้างอิง ซึ่งจะทะลุผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ (RMS10X-PF, Thorlabs Inc., USA) แล้วจึงสะท้อนกลับด้วยกระจกตัวที่4 (Mirror4) และแสงส่วนที่สองจะเดินทางทะลุผ่านเลนส์ใกล้วัตถุ (RMS10X-PF, Thorlabs Inc., USA) ไปยังตัวอย่าง หลังจากนั้นแสงทั้งสองส่วนจะสะท้อนกลับเข้าตัวแยกแสงแล้วรวมแสงไปยังเลนส์ L3 (AC254-030-C-ML, Thorlabs Inc., USA) เพื่อรวมแสงเข้าสู่เซนเซอร์ (PDA10D2, Thorlabs Inc., USA) โดยลำแสงทั้งสองฝั่งจะเกิดการแทรกสอดเมื่อมีความแตกต่างเส้นทางเดินแสงในระยะ coherence length ของแหล่งกำเนิดแสง จากสมการที่ (2.9) สามารถคำนวณระยะ coherence length ได้ประมาณ 4.6 ไมโครเมตร



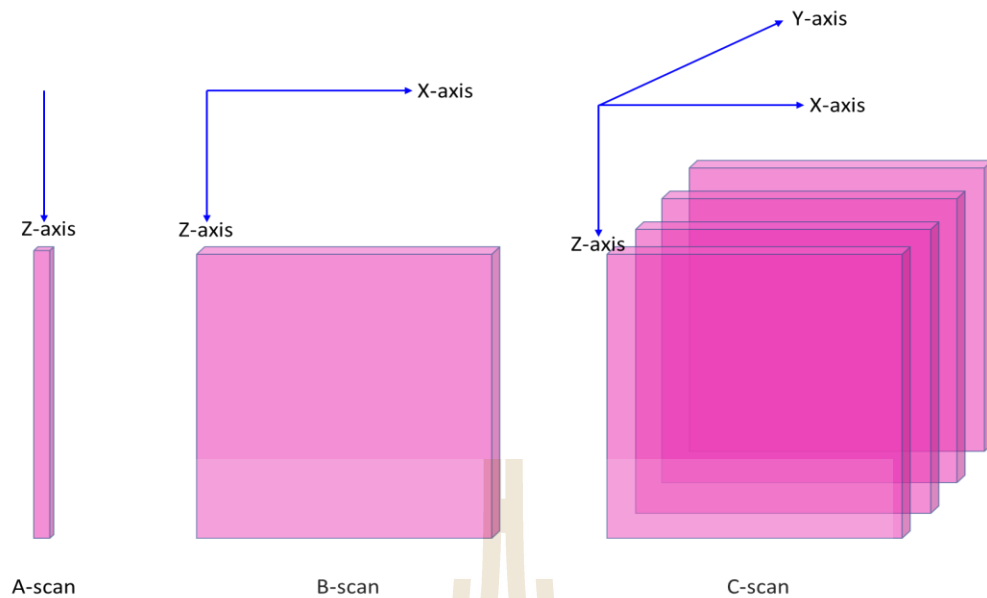
ภาพที่ 20 แสดงแผนภาพระบบถ่ายภาพ TD-OCT



ภาพที่ 21 (ก) แสดงภาพถ่าย (ข) แสดงภาพถ่ายพร้อมอุปกรณ์ต่าง ๆ และเส้นทางเดินแสงของระบบ

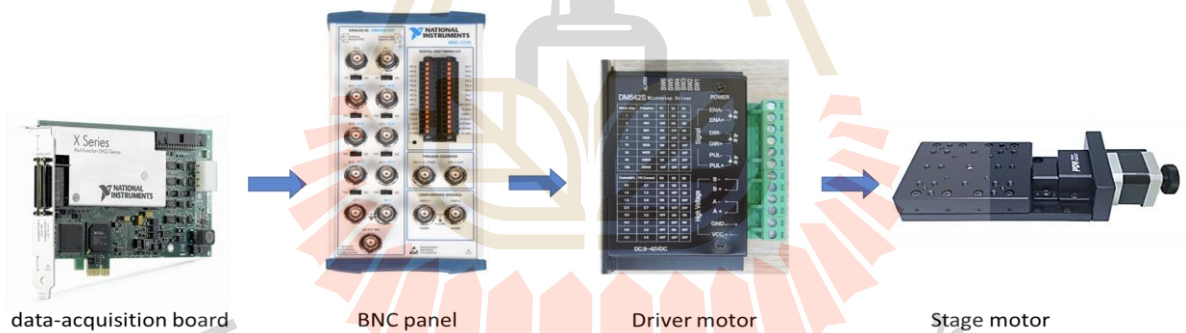
4.2 ระบบสแกนของระบบถ่ายภาพ TD-OCT

เมื่อควบคุมการเลื่อนกระจกฝั่งอ้างอิง จะได้สัญญาณแทรกสอดหนึ่งตำแหน่งความลึก หรือที่เรียกว่า A-scan เมื่อเลื่อนตำแหน่งวัดของการแทรกสอดของแสงไปทางด้านข้าง (x-axis) หรือที่เรียกว่า B-scan แล้ว จะได้ข้อมูลภาพที่เป็นสองมิติหรือที่เรียกว่าภาพตัดขวาง หลังจากนั้นเลื่อนตำแหน่งไปด้านข้างอีกด้าน (y-axis) ทำซ้ำจนได้ข้อมูลเป็นสองมิติหลายๆภาพ จึงนำมาซ้อนกันเป็นภาพสามมิติ โดยระบบสแกนของระบบถ่ายภาพนี้แสดงได้ดังภาพที่ 22



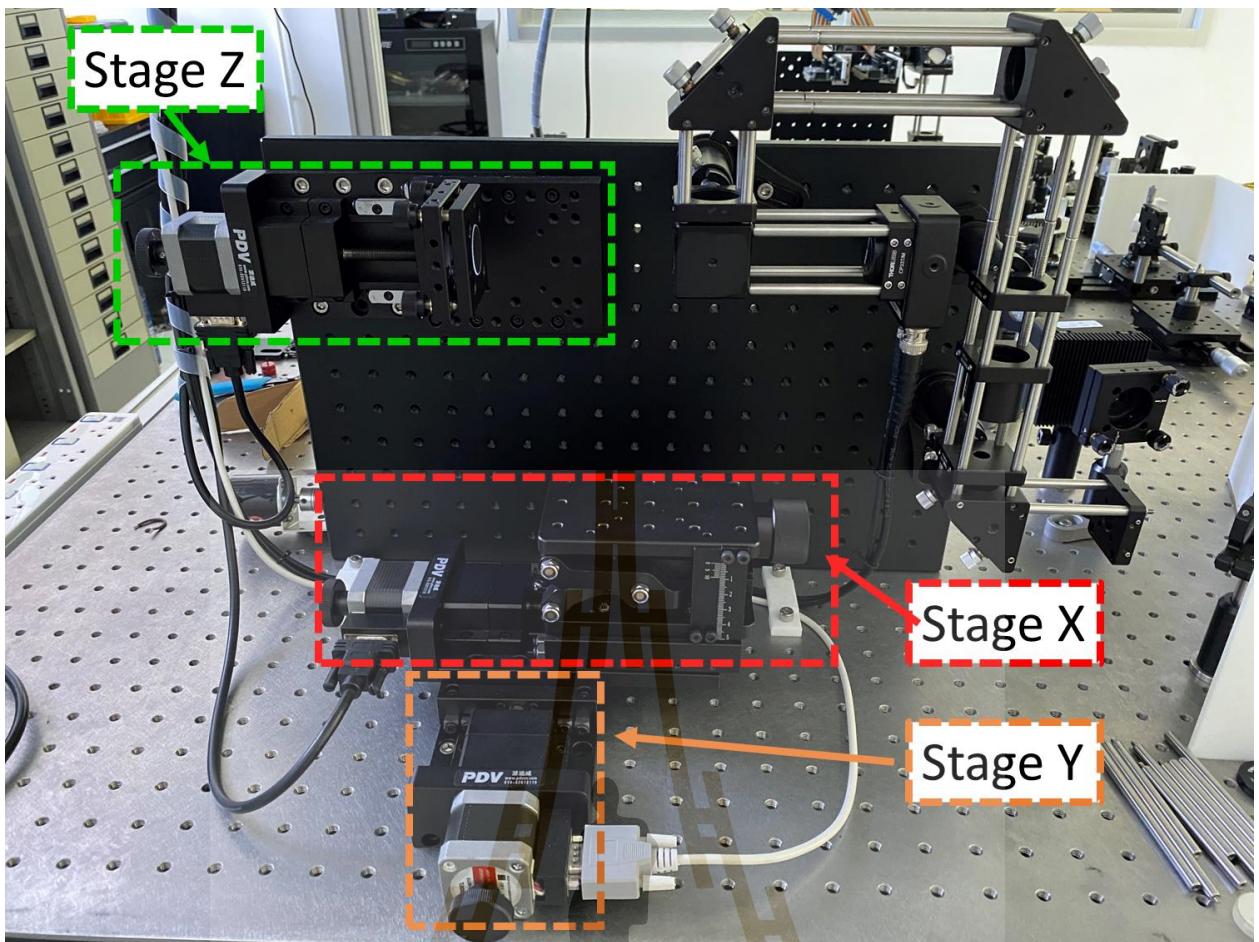
ภาพที่ 22 ระบบสแกนของระบบถ่ายภาพ TD-OCT

ทั้งนี้ ทีมวิจัยได้ออกแบบโปรแกรมควบคุม stage motor ด้วยโปรแกรม Labview โดยการสั่งงานสัญญาณการควบคุมมอเตอร์ผ่านบอร์ด data acquisition แล้วส่งสัญญาณผ่าน BNC panel ไปยังตัวควบคุมมอเตอร์ (motor driver) ดังแสดงในภาพที่ 23 จากนั้นตัวควบคุมมอเตอร์จะแปลงสัญญาณการควบคุมมอเตอร์ให้มอเตอร์ทำงาน เช่น ทิศทางการหมุน ความเร็วมอเตอร์ และสั่งหมุนหรือหยุดหมุนมอเตอร์ เป็นต้น



ภาพที่ 23 แสดงลำดับการส่งสัญญาณควบคุมมอเตอร์

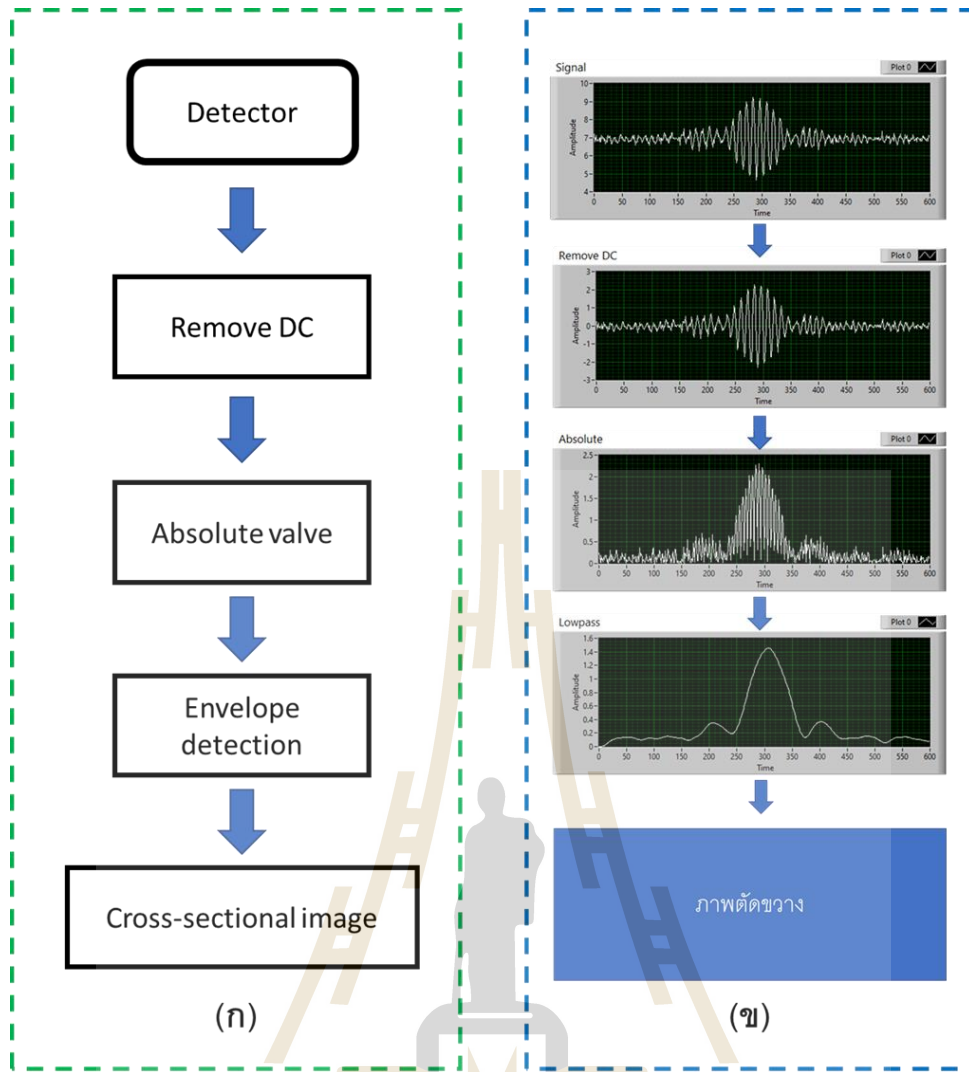
โดยระบบ TD-OCT ออกแบบการควบคุม stage motor ทั้งสามตัว ให้เหมาะสมกับการเก็บข้อมูลแต่ละทิศทางการสแกนซึ่งสามารถตำแหน่ง stage motor ได้ดังภาพที่ 24



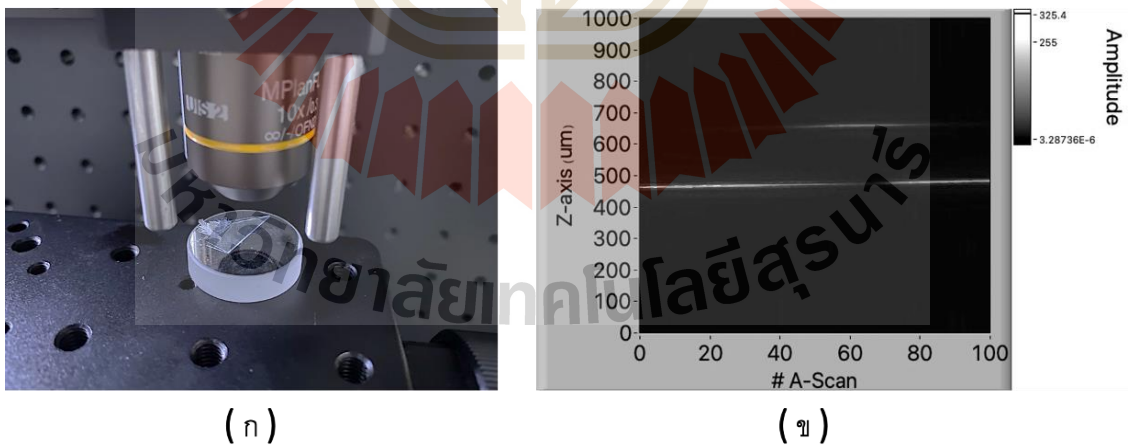
ภาพที่ 24 แสดง stage motor ทั้งสามตัวของระบบ TD-OCT

4.3 ระบบประมวลผลภาพของระบบถ่ายภาพ TD-OCT

สัญญาณแทรกสอดที่เกิดขึ้นถูกบันทึกด้วยกล้องเซนเซอร์ (Photo detector) แล้วถูกส่งเข้าคอมพิวเตอร์ สัญญาณแทรกสอดที่เกิดขึ้นแต่ละตำแหน่งความลึก จะถูกนำมาประมวลผลภาพดังนี้ ขั้นตอนแรกคือการกำจัดสัญญาณพื้นฐานให้เหลือเฉพาะสัญญาณแทรกสอด ขั้นตอนนี้ถูกเรียกว่า remove DC ขั้นตอนที่สองคือคำนวณขนาดของสัญญาณแทรกสอดขั้นตอนนี้เรียกว่า absolute value และขั้นตอนสุดท้ายคือคำนวณสัญญาณที่ครอบคลุมสัญญาณแทรกสอด ขั้นตอนนี้ถูกเรียกว่า envelope detection โดยขั้นตอนที่กล่าวมาแสดงได้เป็นแผนภาพดังภาพที่ 25 เมื่อสัญญาณแทรกสอดแต่ละตำแหน่งความลึกถูกคำนวณครบหนึ่งเฟรมหรือเปลี่ยนตำแหน่งสแกนไปทางด้านแกน x เราจึงจะได้ภาพตัดขวาง 1 ภาพ ถ้าทำซ้ำให้ได้หลายๆ ภาพตัดขวางโดยเปลี่ยนตำแหน่งไปด้านแกน y เราก็จะได้ภาพ 3D



ภาพที่ 25 (ก) แสดงแผนภาพการประมวลผลภาพของระบบ TD-OCT (ข) แสดงสัญญาณแทรกสอดจริงที่ผ่านแต่ละขั้นตอนการประมวลผลภาพ



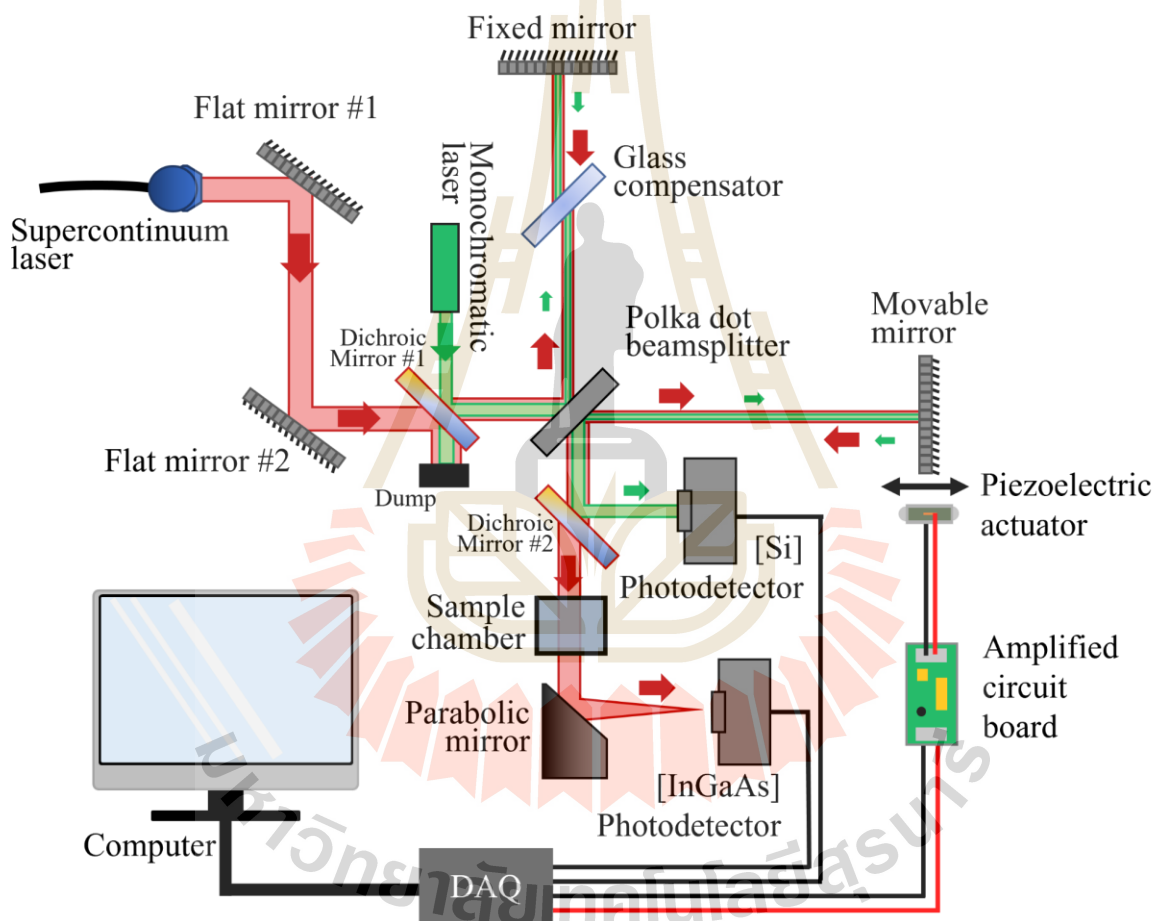
ภาพที่ 26 (ก) แสดงรูปถ่ายของการถ่ายภาพตัดขวางของกระจกใสบาง (ข) แสดงภาพถ่ายตัดขวางของกระจกที่ได้จากระบบถ่ายภาพ TD-OCT

5) การพัฒนาระบบปฏิบัติการ FTIR ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1500-2400 นาโนเมตร

ในโครงการนี้ ทีมวิจัยใช้แสงจาก Supercontinuum laser (SuperK EXU-6, NKT Photonics, Denmark) ที่ให้แสงเลเซอร์ broadband ในช่วง 400 ถึง 2400 นาโนเมตร โดยแสงเลเซอร์ช่วงความยาวคลื่น 1500 ถึง 2400 นาโนเมตร จะถูกใช้ในระบบ FTIR โดยการให้แสงเลเซอร์ broadband ผ่าน ตัวกรองแสง หรือที่เรียกว่า Dichroic mirror (DMLP1500, Thorlabs, United States) ที่มี bandwidth เท่ากับ 850 นาโนเมตร และ center wavelength เท่ากับ 1975 นาโนเมตร

5.1 การติดตั้งระบบ FTIR

ระบบ FTIR ที่ทีมวิจัยพัฒนาขึ้น แสดงดังภาพที่ 27 แสง supercontinuum laser (เส้นสีแดง : 1,500-2,400 นาโนเมตร) ขนาดประมาณ 2 - 2.5 มิลลิเมตร ถูกสะท้อนเข้ามาในระบบแทรกสอดแบบไมเคลสันด้วยกระจกรอบ (PF10-03-P01, Thorlabs, United States) สองตัว



ภาพที่ 27 แผนภาพของระบบ Fourier transform infrared Spectroscopy (FTIR) ที่พัฒนาขึ้นมา ที่รวมระบบ optical metrology เข้าไปโดยการใช้กระจกแยกแสงร่วมกัน

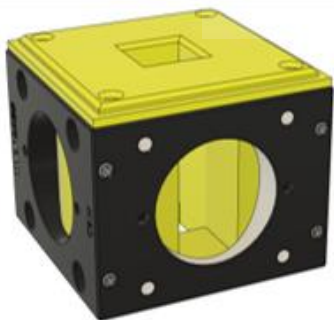
แสงเลเซอร์จะถูกแบ่งในอัตราส่วน 50 : 50 ออกเป็นสองทาง ด้วยกระจกแยกแสง หรือ Beamsplitter (BPD5254-G01, Thorlabs, United States) โดยครั้งแรกจะไปสะท้อนกลับที่กระจกรอบ (PF10-03-P01, Thorlabs, United States) ที่ติดอยู่กับที่ (fixed mirror) ส่วนแสงอีกครั้งจะหักเหผ่านในกระจกแยกแสงผ่านไปยังกระจกรอบ (PF10-03-P01) ที่ติดอยู่บน 2D-linear stage (PT1/M, Thorlabs, United States & PT110-50-100H, Beijing PDV Instrument, Beijing, China) และควบคุมการเคลื่อนที่

แบบละเอียดด้วยวัสดุ piezoelectric actuator (SA050520, PiezoDrive, Australia) และสะท้อนแสงกลับไปรวมกับแสงอีกครั้งที่กระจกแยกแสง และต่อไปยังแท่นวางตัวอย่างก่อนที่จะทะลุผ่านไปยังกระจกพาราโบลิค (MPD139-P01, Thorlabs, United States) เพื่อที่จะโฟกัสแสงไปยังเซ็นเซอร์วัดแสงชนิด InGaAs (PDA10D2, Thorlabs, United States)

ในระบบ FTIR ที่พัฒนาขึ้นนี้ ได้นำระบบ optical metrology คือ การวัดระยะทางโดยใช้แสง (optical measurement) เข้ามาใช้ด้วย ซึ่ง optical metrology ในระบบแทรกสอดของแสงเป็นเทคนิคที่ให้ความแม่นยำสูง โดยในระบบ metrology ของทีมผู้วิจัยจะใช้แสงเลเซอร์ความยาวคลื่นเดียวที่ 532 นาโนเมตร (แสงสีเขียว) (CPS532, Thorlabs, United States) ฉายเข้าไปยังระบบแทรกสอดแบบไมเคลสัน เพื่อที่จะใช้กำกับระยะเลื่อนกระจกได้อย่างแม่นยำ โดยแทรกเข้าไปในระบบด้วยการใช้ dichroic mirror (DMLP1500, Thorlabs, United States) เพื่อให้แสงสีเขียวและ supercontinuum laser อยู่ในแนวเดียวกัน โดยระบบการแทรกสอดทั้งสองระบบจะถูกรวมเข้าด้วยกันโดยการใส่กระจกแยกแสง (Beamsplitter) ร่วมกัน

แสงสีเขียวที่แทรกสอดกันจะถูกแยกเข้าเซ็นเซอร์วัดความเข้มแสง (PDA8A2, Thorlabs, United States) ด้วย dichroic mirror (DMLP1500, Thorlabs, United States) อีกตัว และเนื่องด้วยเลเซอร์สีเขียวเป็นแสงความยาวคลื่นเดียว ลักษณะของสัญญาณการแทรกสอดที่วัดได้จะเป็นลักษณะของคลื่นโคไซน์ สอดคล้องกับระยะเลื่อนของกระจก โดยที่ระยะทางระหว่างจุดที่สว่างสองจุด (peak-to-peak) จะเป็นครึ่งหนึ่งของความยาวคลื่นที่ใช้ (เนื่องจากแสงเดินทางไป-กลับ ในฝั่ง movable mirror) ซึ่งสามารถคำนวณต่อเพื่อหาระยะเลื่อนเล็ก ๆ ในระดับไมโครเมตรได้ โดยระบบการแทรกสอดทั้งสองระบบจะถูกรวมเข้าด้วยกันโดยการใส่กระจกแยกแสง (Beamsplitter) ร่วมกัน และในส่วนของการเลื่อนกระจกและการส่งข้อมูล ทั้งวัสดุ piezoelectric actuator และเซ็นเซอร์วัดความเข้มแสงทั้งสองตัว ถูกต่อเข้ากับ data acquisition (DAQ) board (NI PCIe-6361 & NI BNC-2110, National Instruments, United States) ที่เชื่อมต่อไปยังคอมพิวเตอร์ ซึ่งอุปกรณ์ทุกตัวได้ถูกซิงโครไนซ์ทั้งหมด

ในส่วนของแท่นวางตัวอย่าง (sample chamber) (ภาพที่ x) และตัวกั้นแสง (beam dumper) ทีมวิจัยได้ออกแบบและพิมพ์เป็นชิ้นงานพลาสติกออกมาด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ และติดตั้งลงในระบบด้วย ซึ่งแท่นวางตัวอย่างนั้นสามารถใช้กับ cuvette ขนาด 12.5*12.5 มม. และยังสามารถช่วยลดค่าอุปกรณ์ในการพัฒนาระบบ FTIR ด้วย



ภาพที่ 28 แท่นวาง Cuvette ที่ออกแบบขึ้นมาและพิมพ์ออกมาด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ โดยใช้วัสดุเป็นพลาสติก

5.2 การเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล

เซ็นเซอร์วัดความเข้มแสงและการควบคุมวัสดุ Piezoelectric actuator ถูกควบคุมและแสดงผลในโปรแกรม LabView (National Instruments, United States) โดยการส่งสัญญาณคลื่นไซน์ความถี่ 1 เฮิร์ต ขนาด 3.5 โวลต์ ไปยังตัวขยายสัญญาณ (Amplifier) เพื่อให้เป็นสัญญาณคลื่นไซน์ความถี่ 1 เฮิร์ต ขนาด 100 โวลต์ และส่งต่อไปยังวัสดุ piezoelectric actuator เพื่อใช้ในการเลื่อนกระจก ซึ่งด้วยข้อจำกัดของทั้งวงจขยายสัญญาณและวัสดุ piezoelectric actuator สามารถให้ระยะเลื่อนมากที่สุดอยู่ที่ 15 ไมครอน ซึ่งระยะเลื่อนนี้ จะทำให้ได้ ระยะทางต่างเชิงแสง (Optical path difference; OPD) เป็นสองเท่าของระยะที่เลื่อนได้(เนื่องจากแสงเดินทางไป-กลับ) สัญญาณการแทรกสอดของทั้งสองระบบ จะถูกบันทึกพร้อมกันด้วยเซ็นเซอร์วัดแสงคนละตัว และตั้งค่าความถี่การเก็บข้อมูลอยู่ที่ 100,000 เฮิร์ต โดยระบบที่ทีมวิจัยพัฒนาขึ้นนี้สามารถแสดงผลการแทรกสอด และผลการคำนวณสเปกตรัมได้ที่ความเร็ว 1 เฟรมต่อวินาที

จากที่กล่าวไปก่อนหน้านี้ว่า สัญญาณแทรกสอดของเลเซอร์ที่เป็นความยาวคลื่นเดียว (monochromatic laser) นั้น จะเป็นลักษณะคลื่นไซน์เทียบกับระยะเลื่อนของกระจก ระยะที่สัญญาณมีความสว่างที่สุดสองจุดที่อยู่ติดกัน (consecutive peaks) จะเท่ากับความยาวคลื่นของเลเซอร์ที่ใช้ ซึ่งเท่ากับ 532 นาโนเมตร ดังนั้นทีมวิจัยจึงหาตำแหน่งจุดที่สว่าง(peak) และจุดมืด(valley) ของสัญญาณแทรกสอดเลเซอร์สีเขียว เพื่อที่จะใช้ตำแหน่งดังกล่าว ไปดึงข้อมูลการแทรกสอดของ Supercontinuum laser ที่อยู่ในตำแหน่งเดียวกัน และนำไปเข้าสู่การทำ Fourier transformation เพื่อให้ได้สเปกตรัมออกมา

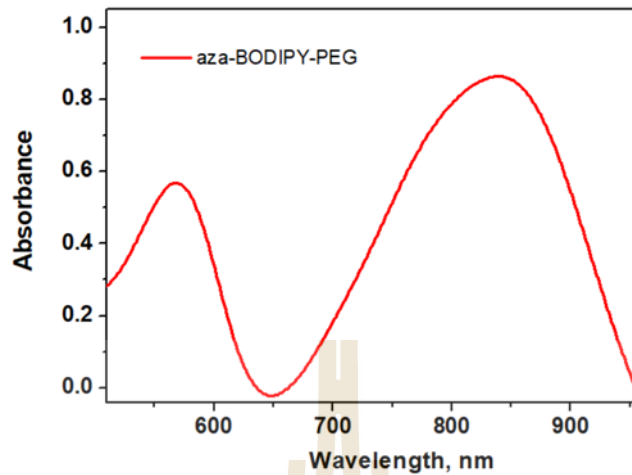
โดยในขั้นตอนนี้ ทีมวิจัยได้เก็บข้อมูลโดยยังไม่มีตัวอย่างในระบบ (ตัวอย่าง คือ อากาศ) และเปรียบเทียบสเปกตรัมที่ได้ กับ สเปกตรัมที่ได้จากการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อน การส่งผ่านต่าง ๆ (reflection & transmission coefficient; R & T) ของทุก ๆ อุปกรณ์ ว่ามีแนวโน้มใกล้เคียงกันหรือไม่ เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบและการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

6) อนุภาคนาโนที่มีความเข้ากัน ได้ทางชีวภาพจากเอซาบอดิปี สำหรับการรักษาแบบให้ความร้อนผ่านการกระตุ้นด้วยแสงในเซลล์มะเร็ง

การรักษาโรคมะเร็ง ถือเป็นสิ่งสำคัญในทางการแพทย์ในยุคปัจจุบัน เนื่องจากเป็นโรคที่มีความรุนแรงและทำให้เกิดการสูญเสียของประชากรจำนวนมาก ในปัจจุบันมีการรักษาที่สำคัญหลายวิธี เช่น การใช้เคมีบำบัด การผ่าตัด รวมไปถึงการใช้รังสีเพื่อช่วยในการรักษา ซึ่งวิธีการเหล่านี้ล้วนมีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก ดังนั้นเราจึงพยายามพัฒนาวิธีการรักษาโรคมะเร็งโดยการใช้สารไวแสงที่มีผลข้างเคียงที่ต่ำต่อเซลล์ปกติ และสามารถกำจัดเซลล์มะเร็งโดยการแผ่รังสีความร้อน

ในงานวิจัยนี้เราได้ทำการพัฒนาสารไวแสงในรูปแบบอนุภาคนาโนเพื่อตรวจสอบและกำจัดเซลล์มะเร็งจากสารในกลุ่มเอซาบอดิปีที่มีคุณสมบัติการปลดปล่อยความร้อนเมื่อมีการกระตุ้นด้วยรังสีในช่วงใกล้อินฟราเรด (700-2000 nm) เนื่องจากสารไวแสงเอซาบอดิปีมีความสามารถในการละลายน้ำเพื่อเข้าสู่เซลล์สิ่งมีชีวิตค่อนข้างต่ำ รวมถึงมีความเป็นมิตรต่อเซลล์ทั่วไปค่อนข้างต่ำ จึงได้มีการเพิ่มคุณสมบัติดังกล่าวโดยการ

สังเคราะห์ให้อยู่ในรูปแบบของอนุภาคนาโน โดยงานวิจัยนี้เริ่มจากการสังเคราะห์สารไวแสงเอซาบอดีปีที่มีการดูดกลืนแสงในช่วง 842 nm สังเกตได้จากภาพที่ 29



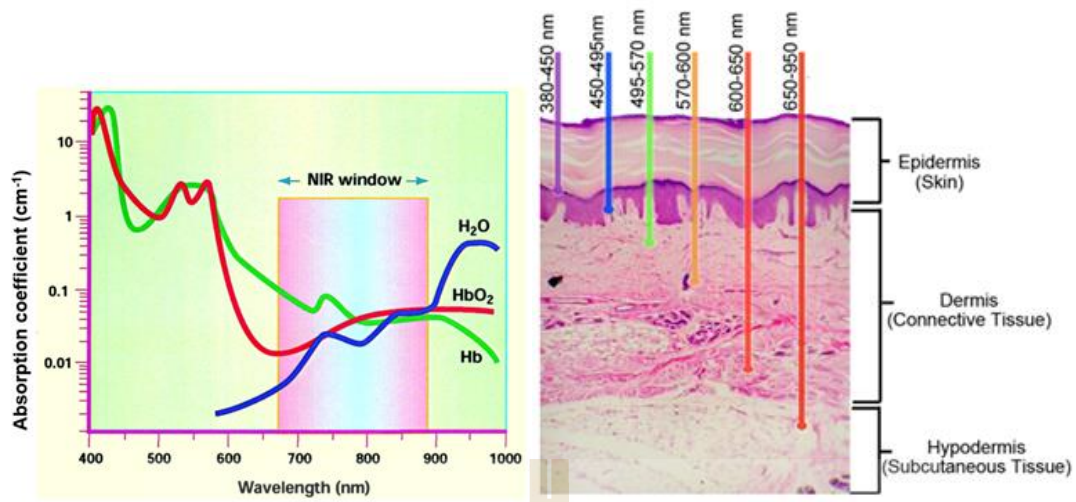
ภาพที่ 29 การดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเอซาบอดีปี

จากนั้นทำการเชื่อมต่อเอซาบอดีปีกับพอลิเมอร์ด้วยพันธะเอไมด์ โครงสร้างดังกล่าวจะเกิดการประกอบตัวของโมเลกุลหน่วยย่อยให้วางตัวอย่างเป็นระเบียบได้เองเพื่อก่อสร้างเป็นโครงสร้างหนึ่งที่มีความเสถียรเกิดเป็นอนุภาคนาโนดังภาพที่ 30



ภาพที่ 30 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเอซาบอดีปี

โดยอนุภาคนาโนจะมีคุณสมบัติในการปลดปล่อยความร้อน รวมไปถึงมีช่วงของการดูดกลืนแสงที่สูงส่งผลให้ในการตรวจสอบตัวตรวจวัดดังกล่าวมีการรบกวนของปัจจัยภายนอกค่อนข้างต่ำ สังเกตได้จากภาพที่ 31 จะเห็นว่าอนุภาคนาโนในช่วงของการดูดกลืนแสงใกล้อินฟราเรดจะมีการรบกวนของ น้ำ ออกซิอีโมโกลบินและฮีโมโกลบินที่อยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิตค่อนข้างต่ำ ทำให้มีการตรวจสอบการดูดกลืนแสงภายในเซลล์ค่อนข้างง่ายและแม่นยำ รวมถึงสามารถตรวจสอบเข้าไปในเซลล์ที่ระดับลึกเมื่อเทียบกับช่วงการดูดกลืนแสงที่ต่ำกว่า



ภาพที่ 31 ความสามารถในการลดการรบกวนการดูดกลืนแสงจากปัจจัยภายนอก (ซ้าย) และความสามารถในการตรวจวัดในระดับความลึกของเซลล์ (ขวา) ของอนุภาคนาโนเอซาบอดีปี

บทที่ 4

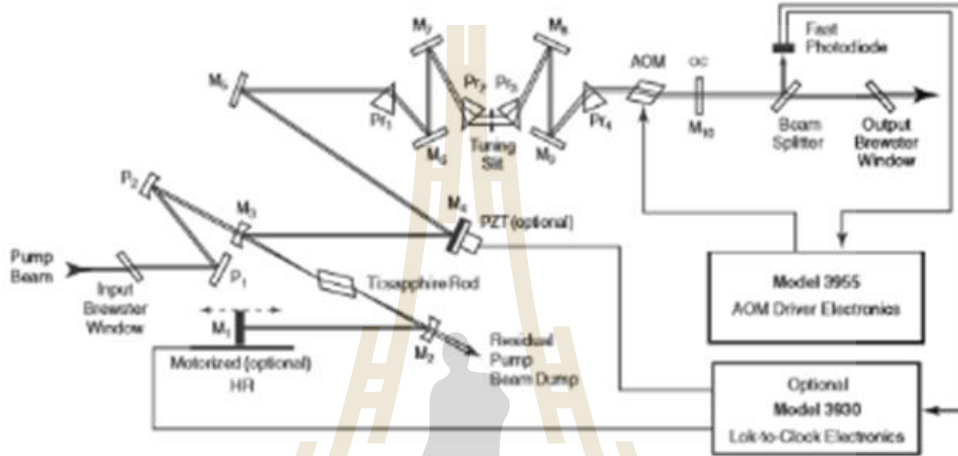
ผลการดำเนินงาน

1) การพัฒนาระบบปฏิบัติการ Pulse Laser

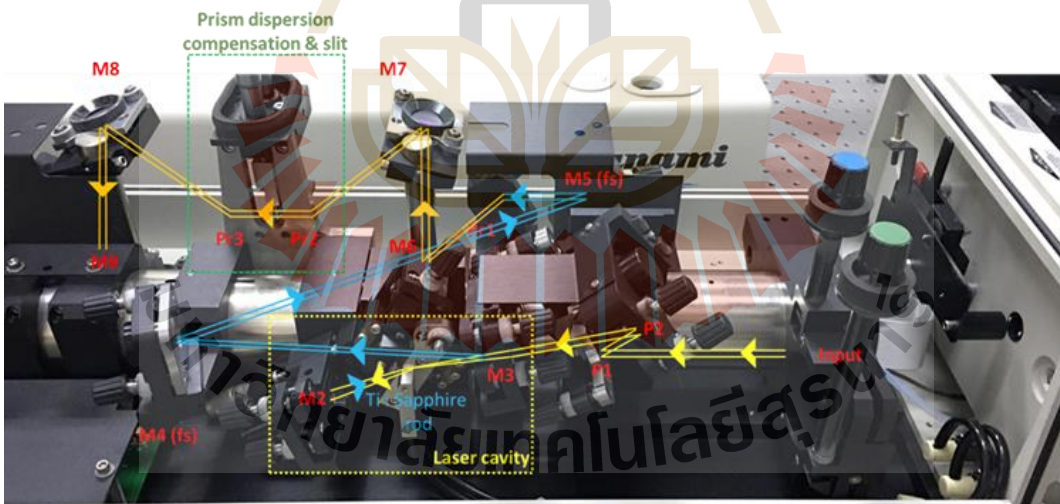
ระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง ได้ทำการติดตั้งระบบ และดำเนินงานวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง อาคารสุรพัฒน์ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.1 ศึกษาระบบภายในของเครื่อง Tsunami

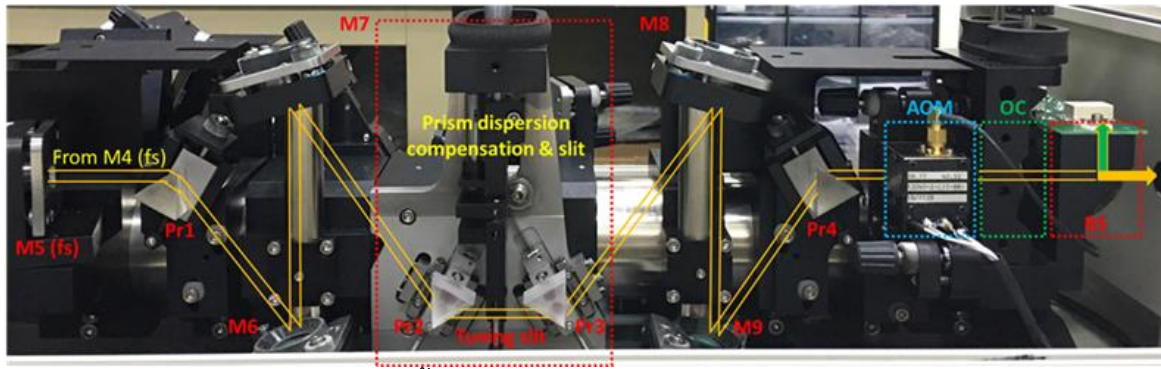
ได้ทำการศึกษาระบบทางเดินแสงภายในของเครื่อง Tsunami ซึ่งสามารถแสดงรายละเอียดได้ ดังนี้



ภาพที่ 32 แผนภาพแสดงทางเดินแสงของเครื่อง Tsunami model: 3941-M3M



ภาพที่ 33 แสดงทางเดินแสงและชิ้นส่วนของ Tsunami model : 3941-M3M ในฝั่ง cavity



ภาพที่ 34 แสดงทางเดินแสงและชิ้นส่วนของ Tsunami model : 3941-M3M ในฝั่ง dispersion

รายละเอียดอุปกรณ์ชิ้นส่วน (ภาพที่ 33 และ ภาพที่ 34)

P1, P2 = pump mirror

M1, = partial mirror

M2, M3 = cavity focus mirror

M4, M5, M6, M7, M8, M9 = reflected mirror

Pr1, Pr2, Pr3, Pr4 = prism

AOM = acousto optical modulator

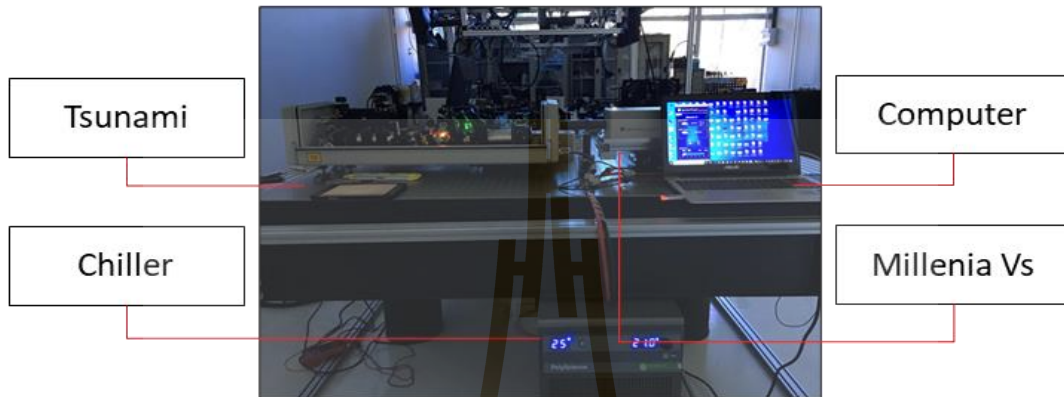
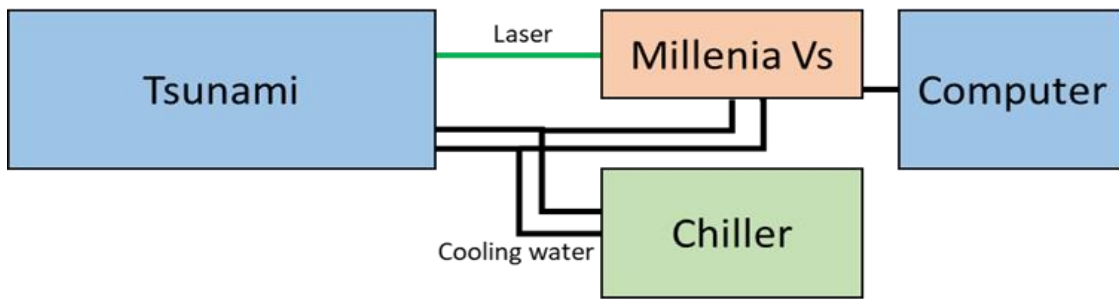
OC = optical couple

BS = beam splitter

1.2 การติดตั้งระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

การติดตั้งระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง โดยระบบประกอบไปด้วย 3 ส่วนหลัก ได้แก่ ระบบ Tsunami, ระบบ Millenia Vs และระบบหล่อเย็น Chiller ซึ่งการติดตั้งระบบแสดงรายละเอียด ดังนี้

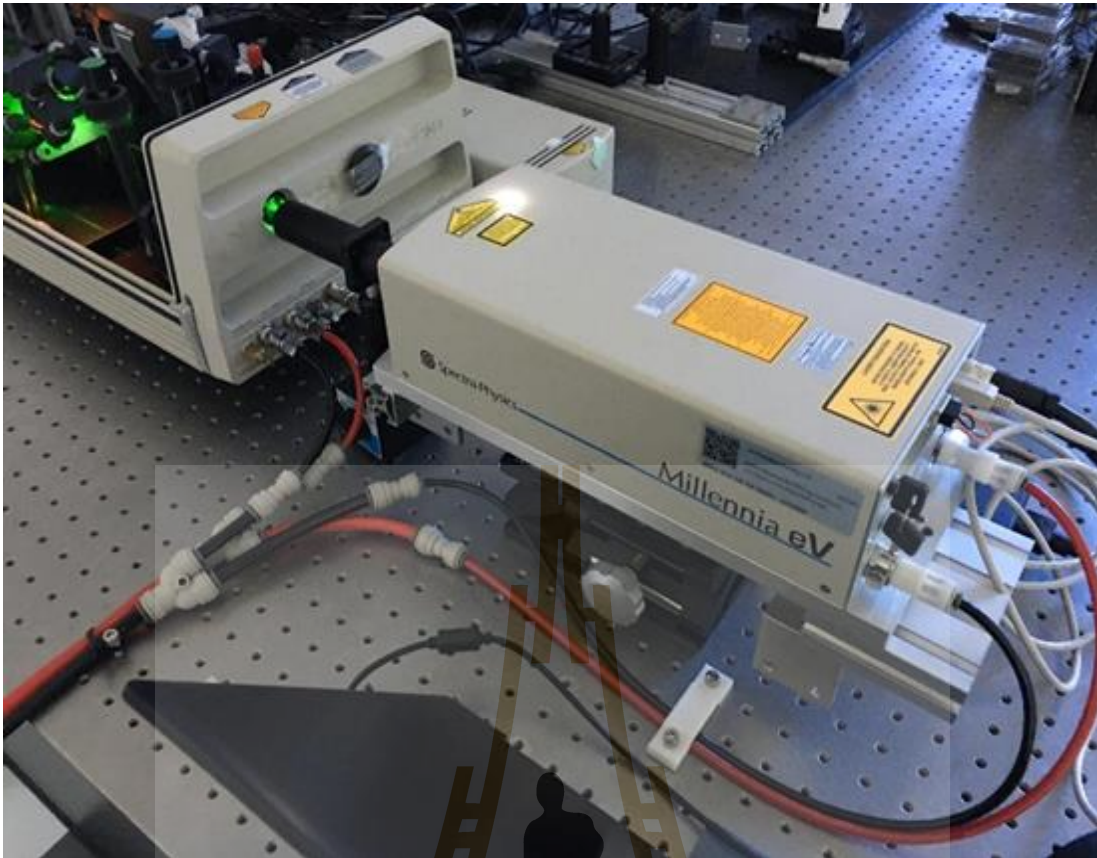
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 35 แสดงการติดตั้งระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

1.3 การปรับระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

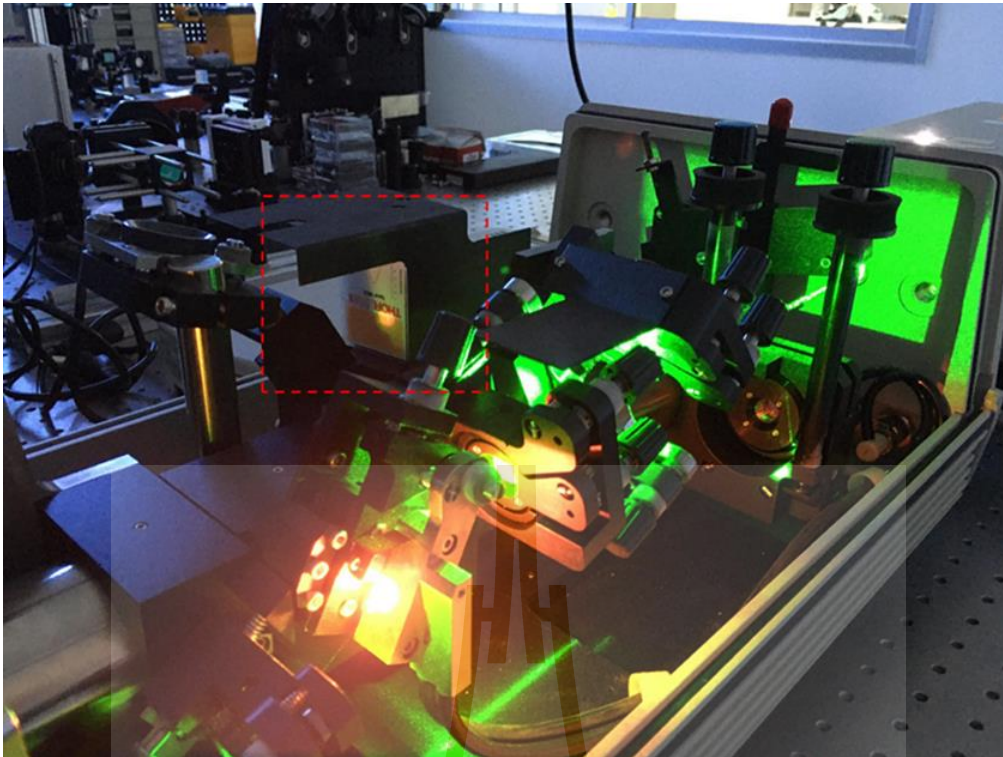
การปรับระบบ (alignment) สามารถดำเนินการได้โดยการปรับระบบความสูงของ Millenia eV ให้ได้ระดับความสูงของแสงเลเซอร์ที่ออกจาก Millenia eV เท่ากับระดับ Input ของ Tsunami โดยการติดตั้งจะลำแสงแสงผ่านท่อ เพื่อเป็นการป้องกันการอันตรายที่เกิดจากการสะท้อนของแสงออกจากระบบได้ และเมื่อทำการปรับระดับความสูงได้แล้วนั้น ก็ทำการปรับชิ้นส่วนอุปกรณ์ทางแสงต่าง ๆ เพื่อลำเลียงแสงผ่านชิ้นส่วนอุปกรณ์ต่าง ๆ ตามภาพที่ 37



ภาพที่ 36 การติดตั้ง Millennia eV บนอุปกรณ์ปรับระดับเพื่อปรับระดับความสูง และการลำเลียงแสงเข้าสู่ระบบ Tsunami



ภาพที่ 37 แสดงแสงเลเซอร์ที่ผ่านชิ้นส่วนอุปกรณ์ทางแสงต่าง ๆ ในระบบ Tsunami

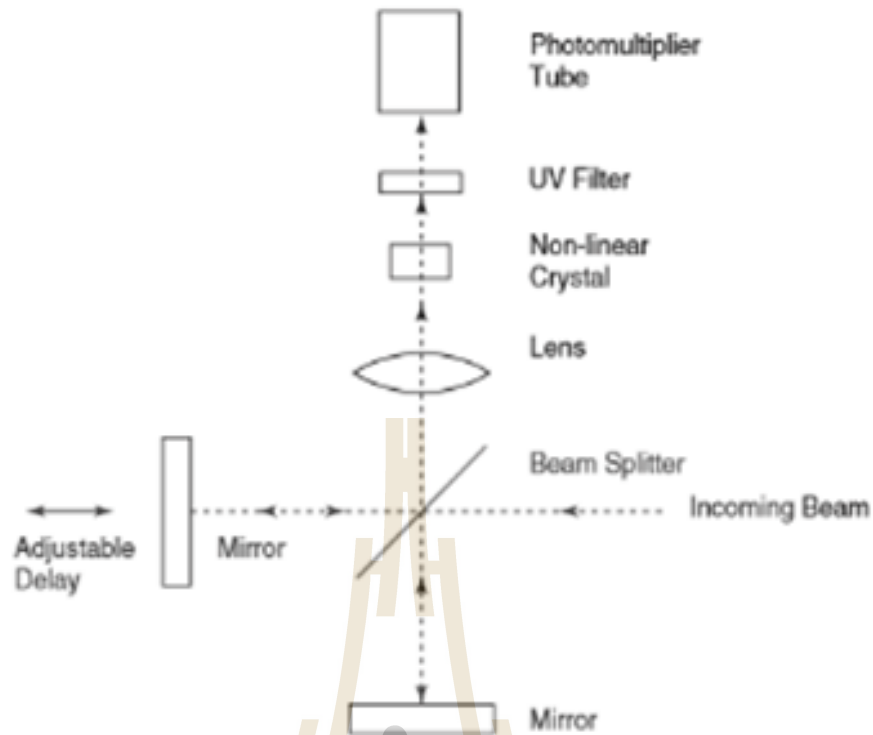


ภาพที่ 38 แสดงลักษณะของแสงเลเซอร์พัลส์สั้น ในช่วงใกล้อินฟราเรด (NIR) (กรอบสีแดง สังกัดด้วย IR card) ที่ได้ เมื่อกระตุ้นผลึก Ti : Sapphire ของระบบ Tsunami

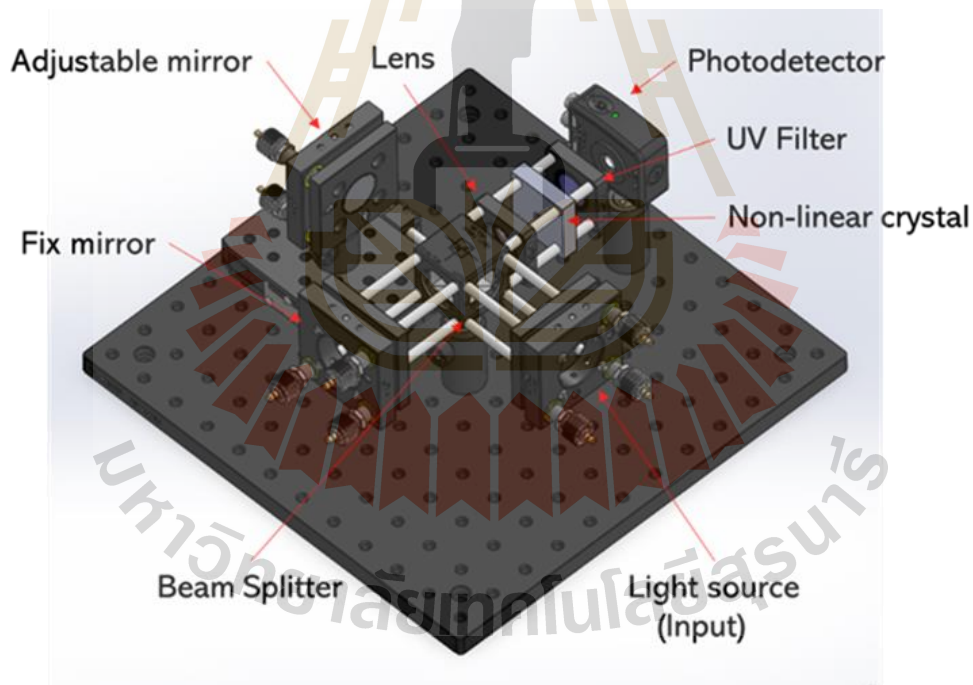
ผลการดำเนินงานที่ผ่านมาของโครงการศึกษาและพัฒนาระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง ได้ทำการติดตั้งระบบเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง โดยในการดำเนินการได้ใช้เลเซอร์ diode-pumped CW laser (Millenia eV) เป็นเลเซอร์ในการกระตุ้น สำหรับระบบ Tsunami ในการสร้างเลเซอร์พัลส์สั้น ซึ่งผลการดำเนินงานพบว่า ระบบ Tsunami สามารถให้แสงเลเซอร์ในช่วงใกล้อินฟราเรด ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 720-880 นาโนเมตร แต่เนื่องด้วยพลังงานที่วัดได้จากระบบ Tsunami ยังอยู่ในช่วงประมาณ 1 mW ซึ่งถือว่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของระบบ Tsunami ที่น่าจะเกิดจากความเสื่อมสภาพของอุปกรณ์ทางแสงของระบบ Tsunami ทำให้มีผลต่อค่าพลังงานของแสงเลเซอร์ที่ได้ ซึ่งขณะนี้อยู่ระหว่างการแก้ไขปัญหา

1.4 การออกแบบระบบตรวจวัดลักษณะสัญญาณเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง

การวัดลักษณะของสัญญาณเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง สามารถใช้หลักการของ autocorrelation ซึ่งเป็นการวัดทางเดินของแสงที่แตกต่างกัน เมื่อความเร็วของแสงมีการเปลี่ยนแปลงในการเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง โดยในโครงการวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบระบบ เพื่อสำหรับใช้ในการตรวจวัดลักษณะของสัญญาณเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงที่ได้จากระบบ Tsunami เป็นระบบที่เรียกว่า Interferometric autocorrelation ซึ่งสามารถแสดงได้ในภาพที่ 39 และภาพที่ 40



ภาพที่ 39 Interferometric autocorrelation

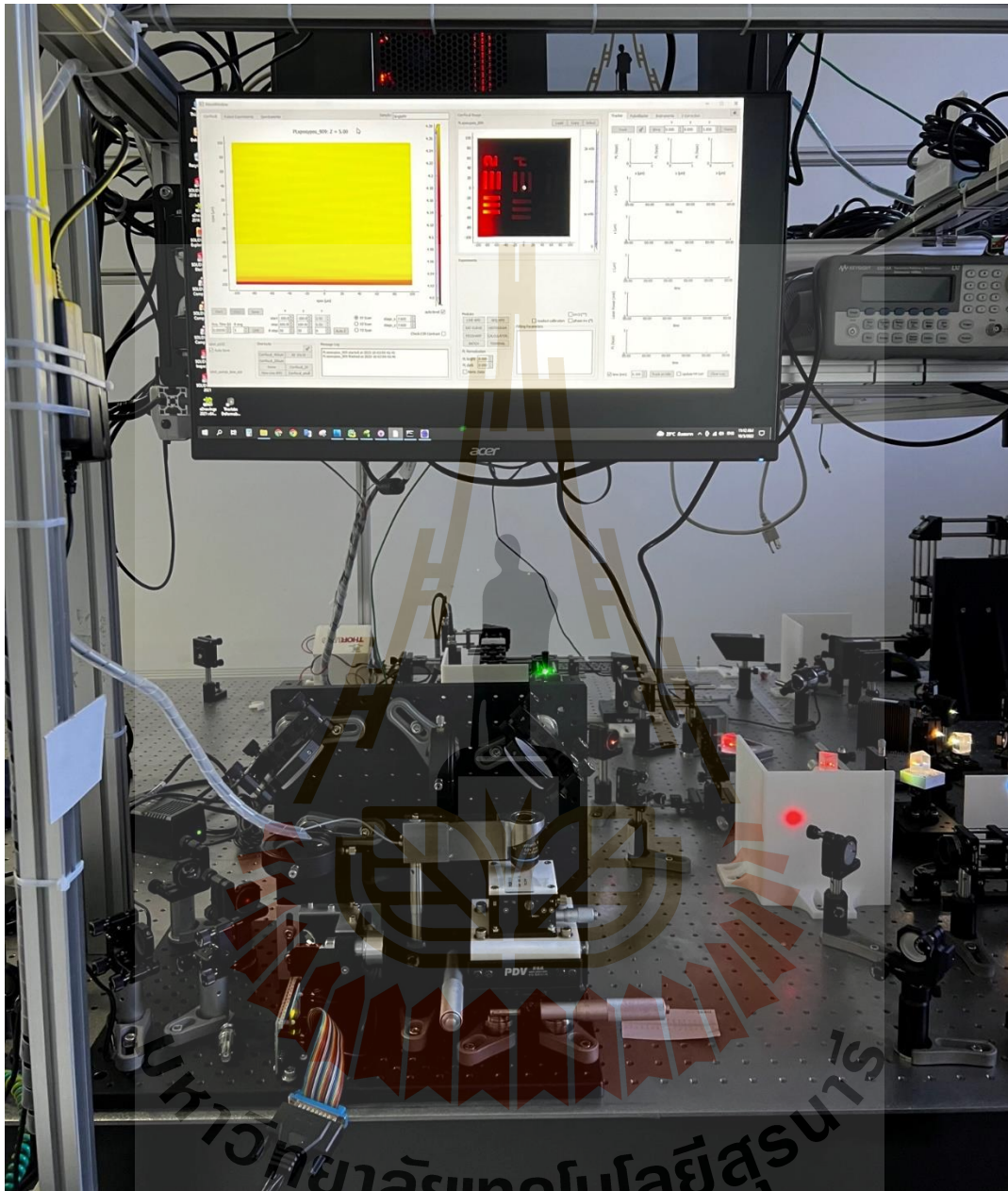


ภาพที่ 40 ชุดอุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณ (autocorrelator) สำหรับพัลส์สั้นพลังงานสูง

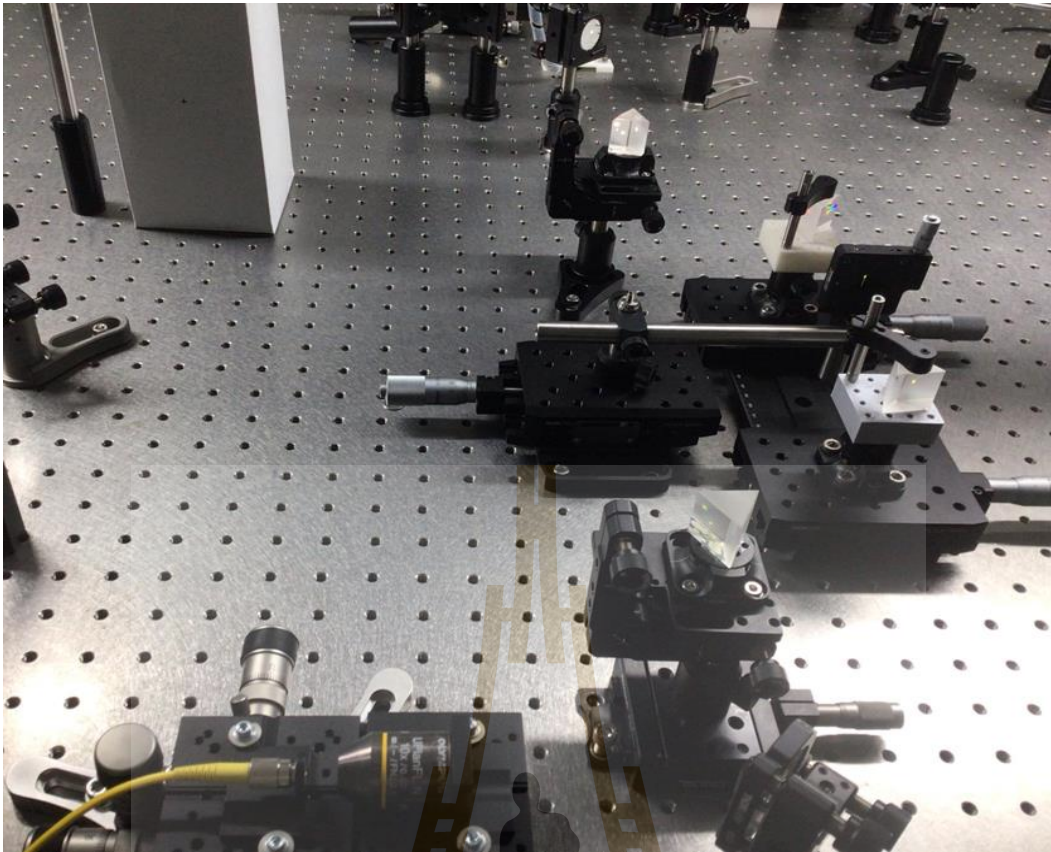
2) การพัฒนาระบบการถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ในช่วงความยาวคลื่นแสง 400-700 นาโนเมตร

ระบบคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์ ได้ถูกออกแบบ และสร้างขึ้น ณ ห้องปฏิบัติการเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูง อาคารสุรพัฒน์ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป้าหมายเพื่อต้องการถ่ายภาพตัวอย่างทางวัสดุ

ศาสตร์ ชีววิทยา ชีวการแพทย์ ที่มีคุณสมบัติการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ในระบบนี้มีคุณสมบัติเฉพาะสามารถเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับตัวอย่างที่จะศึกษาได้ ดังนั้นจากผลการดำเนินงานในการพัฒนาระบบนี้ได้ ออกแบบระบบเป็น 2 ส่วน ตามภาพที่ 41



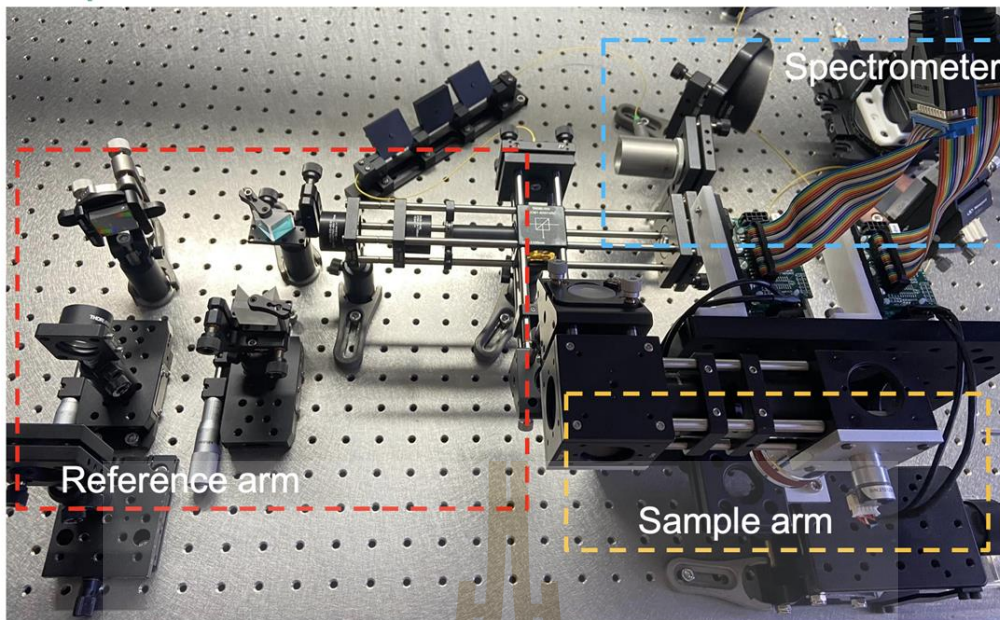
ภาพที่ 41 ภาพถ่ายทั้งระบบคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนซ์



ภาพที่ 42 ภาพถ่ายระบบในส่วนแยกสเปกตรัม (Spectrum Separation System)

3) การพัฒนาระบบ FD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 700-900 นาโนเมตร

ระบบ FD-OCT ที่ถูกสร้างขึ้น ณ ห้องปฏิบัติการเชิงแสงสาขาวิชาฟิสิกส์ สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ถูกสร้างให้ถ่ายภาพในโหมดถ่ายภาพในแนวตั้ง หรือโหมดกล้องจุลทรรศน์ สำหรับการถ่ายภาพตัวอย่างทางชีวภาพดังแสดงในภาพที่ 43 เป็นภาพถ่ายแต่ละส่วน Reference arm Sample arm และ Spectrometer ตามลำดับ

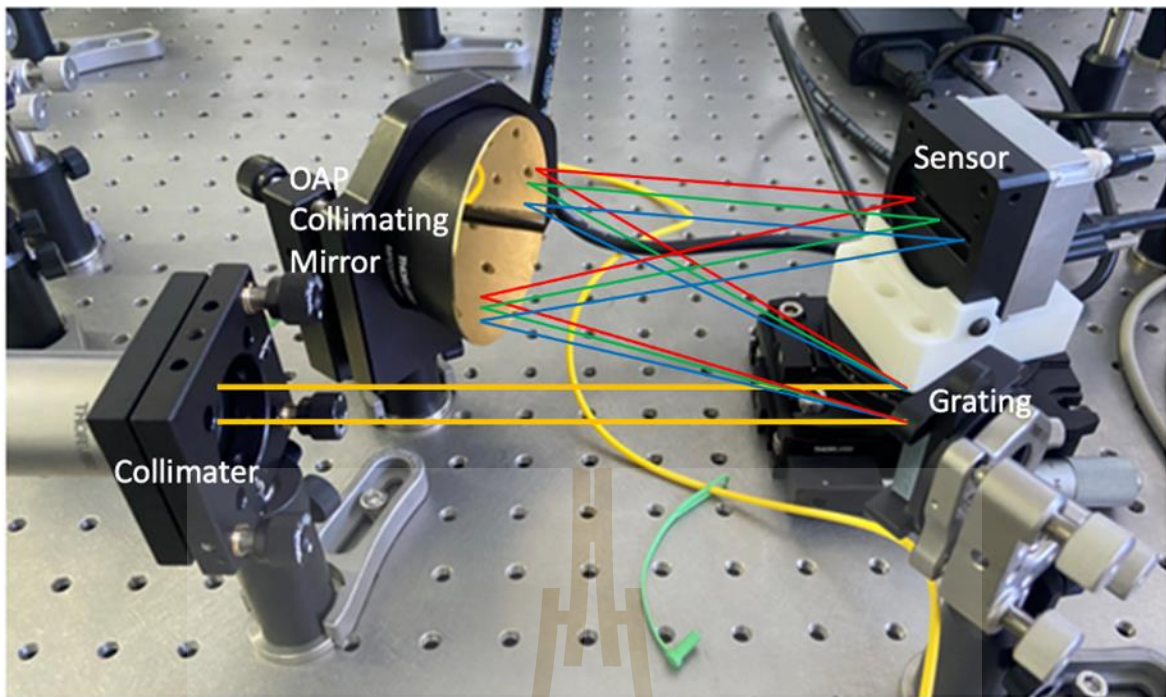


ภาพที่ 43 ภาพถ่ายทั้งระบบ FD-OCT ใน โหมดกล้องจุลทรรศน์

ระบบบันทึกสัญญาณการแทรกสอด

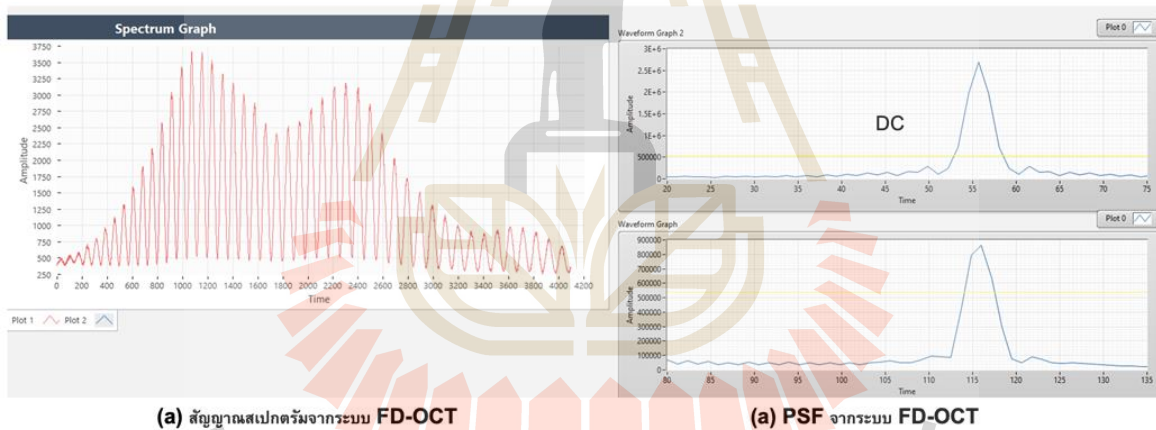
ระบบบันทึกสัญญาณการแทรกสอดของแสงในโดเมนความถี่ที่ใช้เรียกว่าสเปกโตรมิเตอร์ ความเร็วในการตรวจจับและบันทึกสัญญาณเป็นส่วนสำคัญที่จะกำหนดความเร็วในการถ่ายภาพของระบบที่สร้างขึ้น ซึ่งสเปกโตรมิเตอร์ที่ถูกออกแบบโดยใช้กระจกพาราโบลาและเกรตติงชนิดสะท้อนแสง (reflected grating, 1,200 lp/mm) ดังแสดงในรูป แสงแทรกสอดจากจุดปลายของไฟเบอร์และออกจาก Collimators เป็นแสงขนาน จากนั้นแสงขนานไปตกกระทบเกรตติงแล้วแยกสะท้อนออกเป็นสเปกตรัมแสง ซึ่งแสงแต่ละความยาวคลื่นจะสะท้อนออกมาเป็นแสงขนานที่มุมต่าง ๆ กัน โดยจะถูกสะท้อนโดยกระจกพาราโบลาให้ไปโฟกัสบนเซ็นเซอร์รับแสงดังแสดงในภาพที่ 44

สเปกโตรมิเตอร์เป็นส่วนประกอบที่ส่งผลต่อความลึกของการถ่ายภาพของระบบถ่ายภาพ ซึ่งสเปกโตรมิเตอร์ในระบบประกอบด้วย เกรตติง กระจกพาราโบลา และเซ็นเซอร์ โดยที่กำลังแยกเชิงแสงของสเปกโตรมิเตอร์นั้นถูกจำกัดด้วยขนาดพิกเซลของเซ็นเซอร์หรือกำลังแยกของเลนส์โฟกัสของสเปกโตรมิเตอร์ ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องทำให้สเปกโตรมิเตอร์มีกำลังแยกสูงสุด โดยการลดจุดโฟกัสให้มีขนาดใกล้เคียงหรือเท่ากับขนาดของพิกเซลเซ็นเซอร์ให้มากที่สุด ซึ่งนักวิจัยได้หาการจัดวางแนวสเปกโตรมิเตอร์ให้เหมาะสมที่สุดเพื่อหาจุดที่สเปกโตรมิเตอร์มีประสิทธิภาพดีที่สุดเพื่อให้ระบบถ่ายภาพถ่ายภาพได้ลึกมากที่สุด



ภาพที่ 44 ภาพแสดงระบบสเปกโตรมิเตอร์

ภาพที่ 45 แสดงสัญญาณการแทรกสอดของแสงของระบบ FD-OCT 700-900 nm โดย รูป (a) สัญญาณสเปกตรัมจากระบบ และ (b) PSF จากรูป ตามลำดับ



ภาพที่ 45 สัญญาณการแทรกสอดของแสงของระบบ FD-OCT 700-900 nm

ทีมวิจัยยังได้ดำเนินการออกแบบและสร้างระบบควบคุมการถ่ายภาพสามมิติและการประมวลผลข้อมูล โดยใช้เทคนิคการโปรแกรมในแล็บวิว (LabVIEW) ทั้งนี้ ระบบประมวลผลข้อมูลและประมวลผลภาพได้ถูกออกแบบให้สามารถถ่ายภาพซึ่งแสดงโครงสร้างสองมิติและสามมิติของชิ้นตัวอย่างดังแสดงในผิวดลาด! ไม่พบแหล่งการอ้างอิง-44 ซึ่งสามารถแยกได้เป็น 2 โหมดหลักๆ คือ

1) โหมดถ่ายภาพเคลื่อนไหว คือการถ่ายภาพสองมิติและแสดงผลตามเวลาจริง (Real time) ซึ่งจะมีความเร็วในการถ่ายภาพขึ้นอยู่กับขนาดของภาพที่ต้องการ เช่น

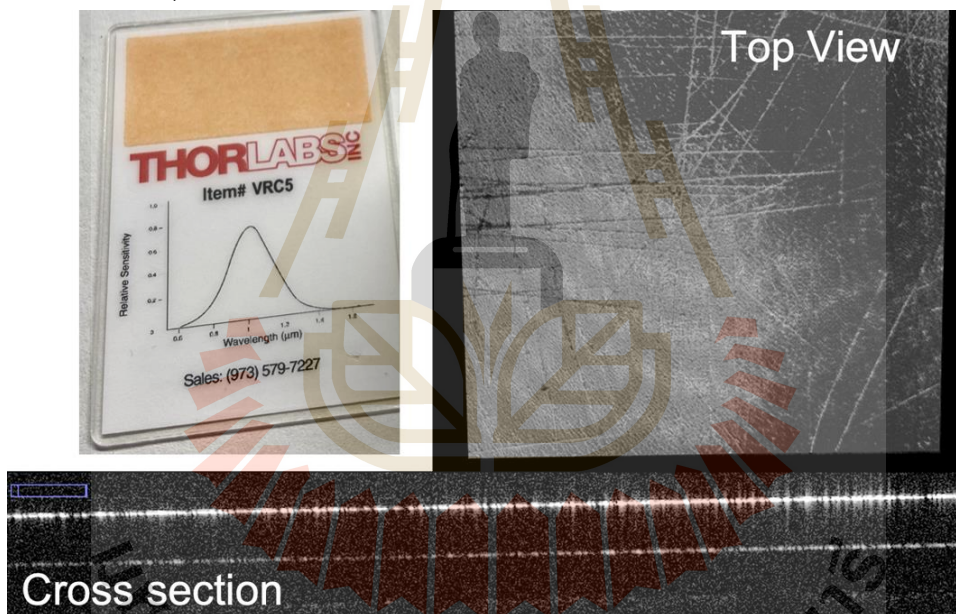
- ขนาดภาพแบบ Full HD ประกอบด้วย 1000 depth scans ต่อภาพ ซึ่งจะสามารถถ่ายภาพและแสดงผลแบบเวลาจริง (Real time) ได้ที่ความเร็ว 10 ภาพต่อวินาที

- ขนาดภาพแบบ SD ประกอบด้วย 500 depth scans ต่อภาพ ซึ่งจะสามารถถ่ายภาพและแสดงผลแบบเวลาจริง (Real time) ได้ที่ความเร็ว 20 ภาพต่อวินาที

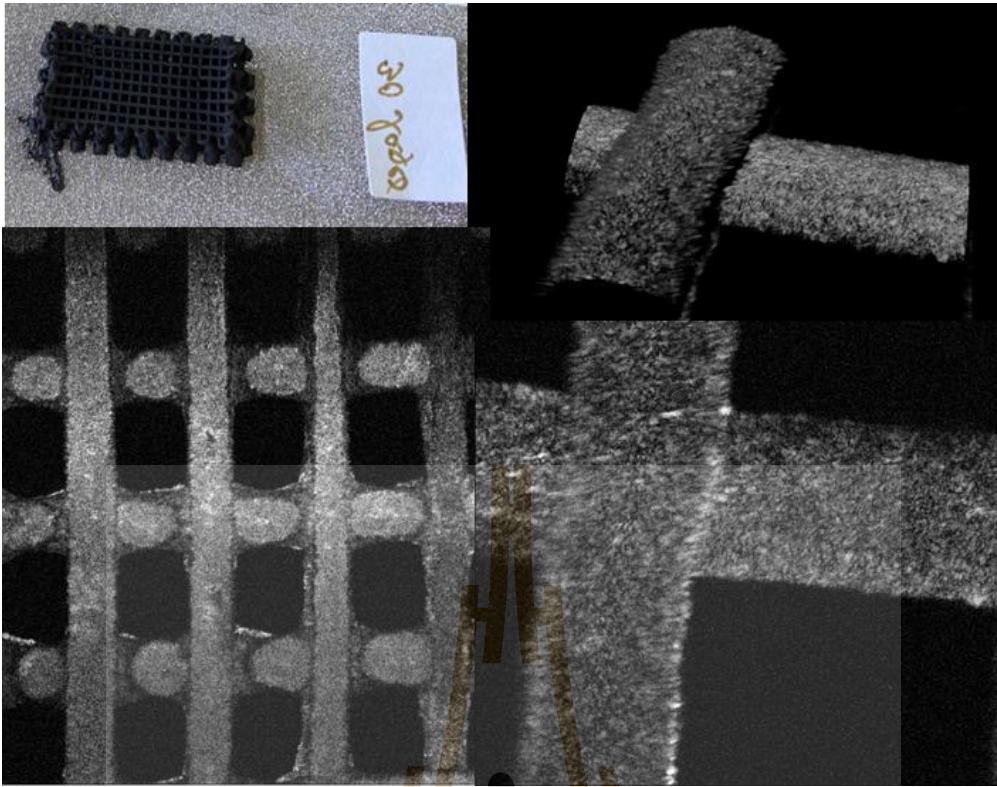
2) โหมดถ่ายภาพสามมิติ เป็นการบันทึกสัญญาณสเปกตรัมของข้อมูลภาพสามมิติด้วยความเร็วในการบันทึกสัญญาณสูงกว่า 50,000 สเปกตรัมต่อวินาที แล้วจึงประมวลผลข้อมูลสเปกตรัมเพื่อแปลงเป็นภาพสามมิติในภายหลัง ซึ่งสามารถเลือกความละเอียดของภาพได้เช่นกัน เช่น

- ขนาดข้อมูลแบบ Full HD ประกอบด้วย 1000x1000 depth scans ต่อ volume โดยระบบจะสามารถบันทึกข้อมูลสเปกตรัมด้วยความเร็ว 50 ภาพต่อวินาที จึงใช้เวลาในการบันทึกสัญญาณรวม 20 วินาที
- ขนาดข้อมูลแบบ SD ประกอบด้วย 500x500 depth scans ต่อ volume โดยระบบจะสามารถบันทึกข้อมูลสเปกตรัมด้วยความเร็ว 50 ภาพต่อวินาที จึงใช้เวลาในการบันทึกสัญญาณรวม 10 วินาที

ตัวอย่างการประยุกต์ระบบต้นแบบที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง



ภาพที่ 46 แสดงภาพ cross section และ ภาพ Top view จากระบบ FD-OCT 800-900 nm



ภาพที่ 47 ภาพ 3D ของการถ่ายภาพตัวอย่าง Carbon fiber โดยระบบ FD-OCT

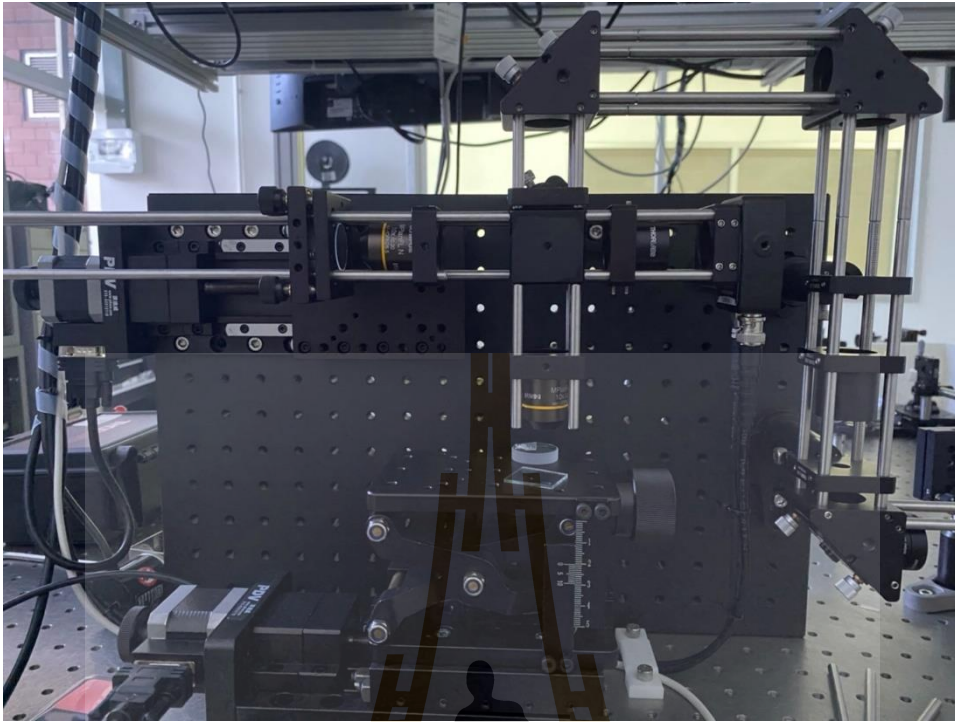
ประสิทธิภาพของระบบ FD-OCT 700-900 nm

- 1) ใช้แสงอินฟราเรดในช่วง 700-900 นาโนเมตรในการถ่ายภาพ
- 2) กำลังแสงเฉลี่ยที่ตกกระทบบนผิวตัวอย่างไม่เกิน 5 mW
- 3) ความละเอียดเชิงลึกของการถ่ายภาพประมาณ 1.4 ไมโครเมตร
- 4) ความละเอียดในแนวระนาบพื้นผิวของการถ่ายภาพขนาด 10 ไมโครเมตร
- 5) ขนาดของภาพที่สามารถถ่ายได้สูงสุด 16 mm x 16 mm
- 6) ความลึกสูงสุดของการถ่ายภาพ 3 mm จากพื้นผิวของตัวอย่าง
- 7) ความเร็วในการถ่ายภาพสูงสุด 50 ภาพต่อวินาที
- 8) ไม่มีขั้นตอนยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง
- 9) ไม่มีการสัมผัสผิวตัวอย่างในระหว่างการถ่ายภาพ
- 10) ไม่มีผลข้างเคียงและสารตกค้างที่อาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต

4) การพัฒนาระบบ TD-OCT ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1000-1400 นาโนเมตร

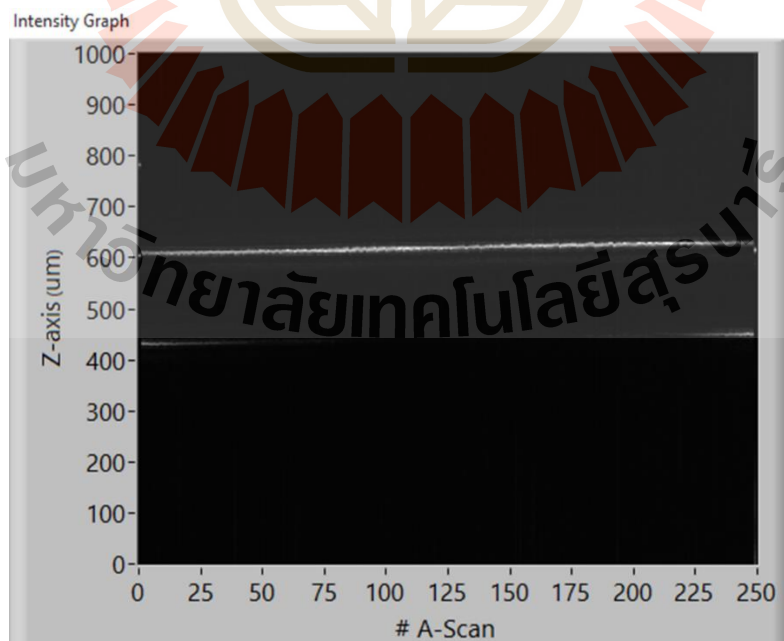
ทีมวิจัยยังได้ดำเนินการออกแบบและสร้างระบบถ่ายภาพสามมิติ TD-OCT โดยมุ่งเน้นพัฒนาด้านความละเอียดที่สูง ทั้งความละเอียดเชิงด้านข้างและความละเอียดเชิงลึก โดยระบบถ่ายภาพนี้สามารถถ่ายภาพได้ที่ความละเอียดประมาณ 2-3 ไมโครเมตร สำหรับด้านการสแกนของระบบถ่ายภาพ TD-OCT นี้ใช้การเลื่อนของตัวอย่างชิ้นงาน (motor stage) ทำให้แสงที่แทรกสอดกันอยู่ในแนวแกนปกติตลอดการสแกน จึงทำให้ได้ความละเอียดสูงโดยไม่ผิดเพี้ยนบนพื้นที่การสแกนสูงถึง 50 x 50 ตารางมิลลิเมตร ด้วยเหตุนี้จึงถือ

เป็นระบบถ่ายภาพที่มีความแม่นยำสูง รูปถ่ายของระบบถ่ายภาพ TD-OCT ที่ทีมวิจัยได้พัฒนาขึ้น แสดงในภาพที่ 48

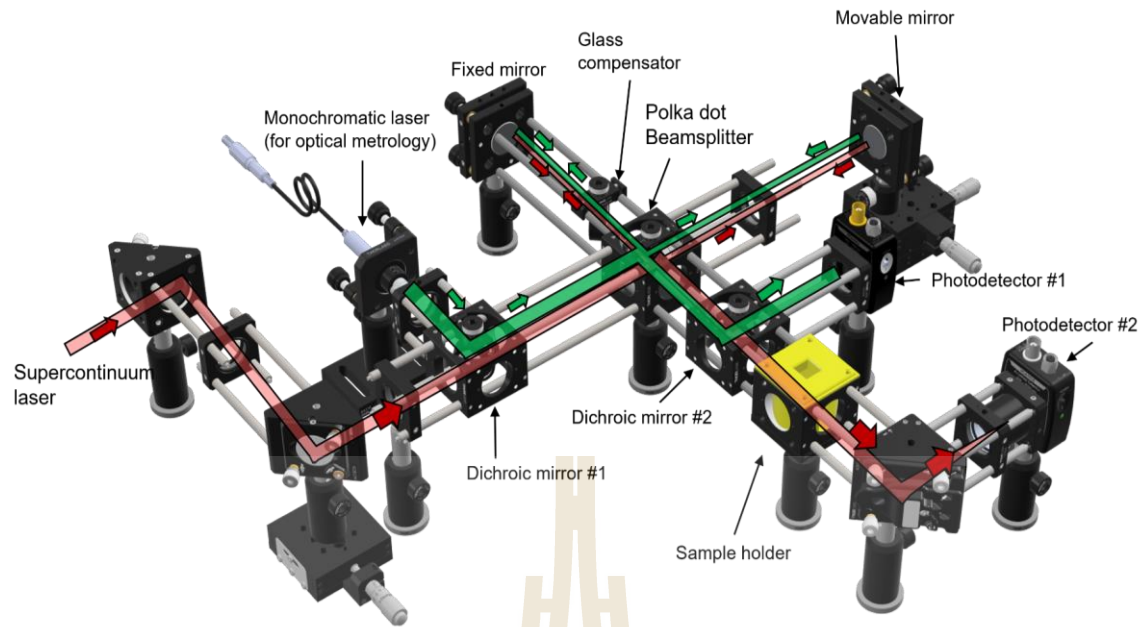


ภาพที่ 48 ระบบถ่ายภาพ TD-OCT

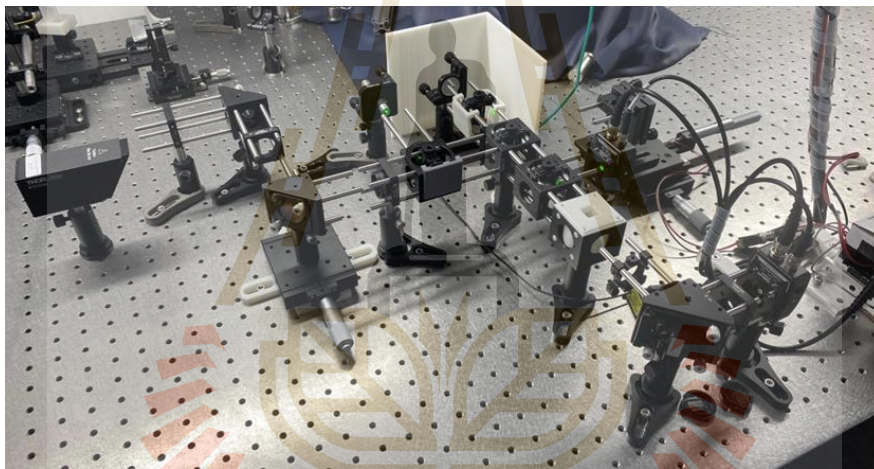
ทั้งนี้ระบบถ่ายภาพ TD-OCT ได้ใช้โปรแกรม LabVIEW สำหรับประมวลผลภาพและความคุมการสแกนซึ่งสะดวกต่อการพัฒนาและอธิบายให้ผู้ที่สนใจเข้าใจได้ง่าย ระบบถ่ายภาพนี้มุ่งเน้นไปที่การถ่ายวัสดุฟิล์มบาง หรือวัสดุที่แสงสามารถทะลุได้ สำหรับตัวอย่างภาพถ่ายตัดขวางของระบบถ่ายภาพนี้ ทีมวิจัยได้ทดลองใช้กระจกบางเพื่อทดสอบระบบได้ผลการถ่ายภาพแสดงได้ดังภาพที่ 49



ภาพที่ 49 ตัวอย่างภาพถ่ายตัดขวางของกระจกบาง

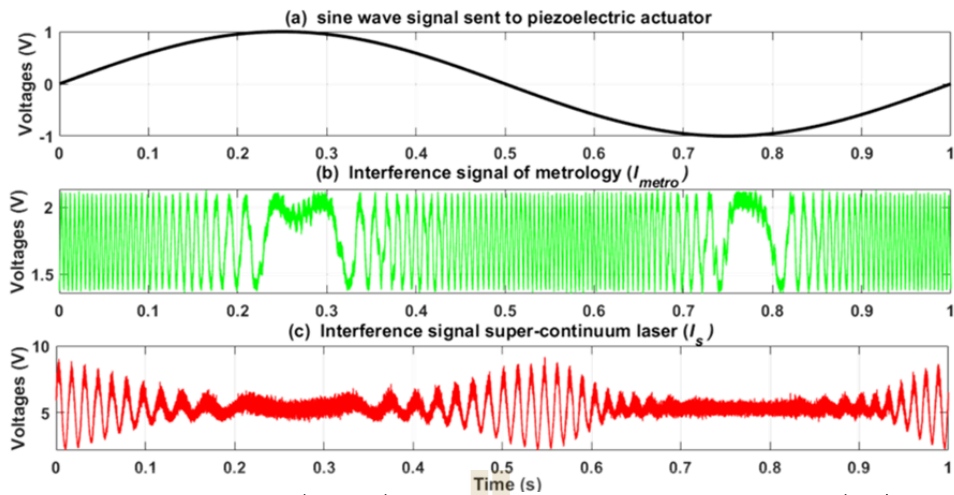


ภาพที่ 51 ระบบ FTIR ที่ออกแบบในซอฟต์แวร์ Fusion360 และเส้นทางแสง supercontinuum laser (red) และ monochromatic laser (green)



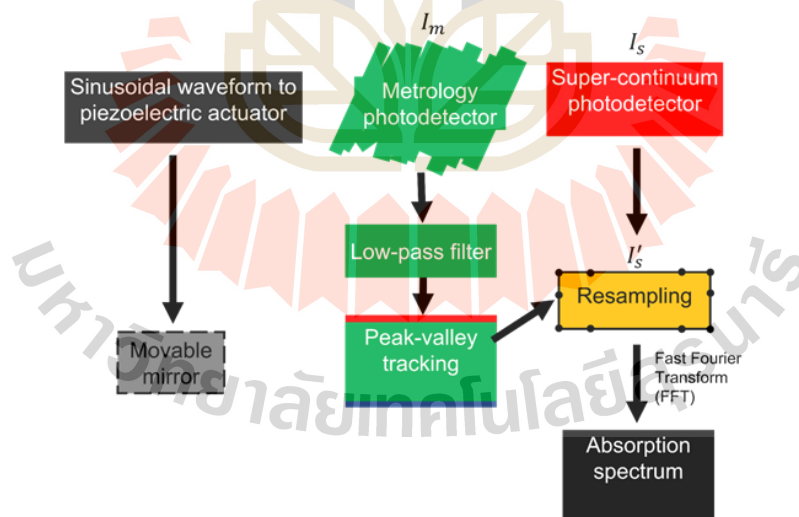
ภาพที่ 52 ระบบ FTIR และ metrology ที่ประกอบขึ้นจริงในห้องปฏิบัติการ

ข้อมูลสัญญาณการแทรกสอดของ monochromatic laser (I_m) และ supercontinuum laser (I_s) ที่ส่งมายังคอมพิวเตอร์แสดงในภาพที่ 53(b) และภาพที่ 53(c) ตามลำดับ โดยสัญญาณการแทรกสอดของ Monochromatic laser นั้นมีลักษณะเป็นคลื่นไซน์ดังที่คาดการณ์ไว้ ส่วนของ supercontinuum laser นั้นจะมีลักษณะเป็นการรวมกันของคลื่นไซน์หลายๆความถี่เข้าด้วยกัน ส่วนภาพ xa แสดงถึงความต่างศักย์ที่ใช้ในการเลื่อนกระจก ซึ่งอธิบายได้ว่า ที่เวลา 0.00 - 0.25 วินาที วัสดุ Piezoelectric actuator ขยายตัวไปที่ระยะยืดมากที่สุด จากนั้นใน 0.25 - 0.75 วินาที จะหดตัวลง ไปจนที่ระยะหดสั้นที่สุด และ 0.75-1.00 วินาที จะเริ่มขยายตัวอีกครั้ง ดังนั้น ระยะที่วัสดุ Piezoelectric actuator เคลื่อนที่ไปทางเดียวยาวที่สุด จะเป็นช่วง 0.25 ถึง 0.75 วินาที ซึ่งทีมวิจัยจะใช้ข้อมูลการแทรกสอดของเลเซอร์ทั้งสองชนิดในช่วงเวลาที่ 0.35 - 0.70 วินาที เป็นช่วงที่การผลของการแทรกสอดของ monochromatic laser สมบูรณ์

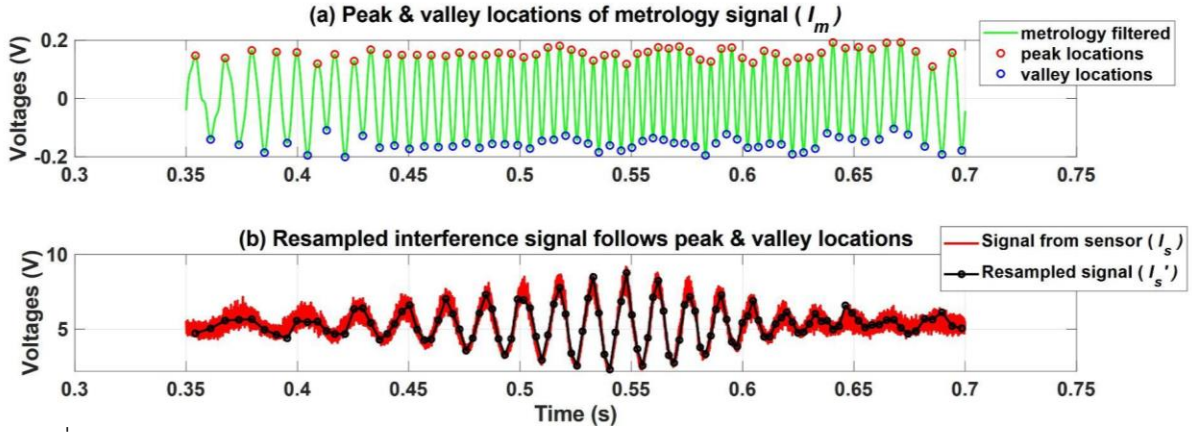


ภาพที่ 53 กราฟแสดง (a) สัญญาณคลื่นไซน์ที่ส่งไปยังวัสดุ piezoelectric actuator เพื่อเลื่อนตำแหน่งของกระจก (b) สัญญาณการแทรกสอดของ monochromatic laser (I_m) ที่ใช้เป็น optical metrology มีลักษณะเป็นคลื่น (c) สัญญาณการแทรกสอดของ supercontinuum laser (I_s)

กระบวนการที่จะดำเนินการต่อ หลังจากได้ข้อมูลสัญญาณการแทรกสอดมาแล้ว เป็นดังภาพที่ 52 โดยจะนำสัญญาณแทรกสอด I_m ไปผ่าน low-pass filter เพื่อลดสัญญาณรบกวน และช่วยให้การหาตำแหน่ง peak และ valley มีความถูกต้องมากขึ้น และได้ตำแหน่งมา 112 จุดดังแสดงในภาพที่ 55(a) จากนั้น นำไปดึงข้อมูลของสัญญาณแทรกสอด I_s ที่ตำแหน่งเดียวกันออกมา ได้เป็นสัญญาณแทรกสอดที่ดึงข้อมูลตามตำแหน่ง peak และ valley (I'_s) ดังแสดงเป็นจุดข้อมูลสีดำในภาพที่ 55(b) ที่เป็นข้อมูลการแทรกสอดที่ถูกกำกับระยะที่แม่นยำจาก optical metrology



ภาพที่ 54 แผนภาพแสดงกระบวนการต่าง ๆ ที่จะดำเนินการ หลังจากได้ข้อมูลการแทรกสอดเพื่อให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืน



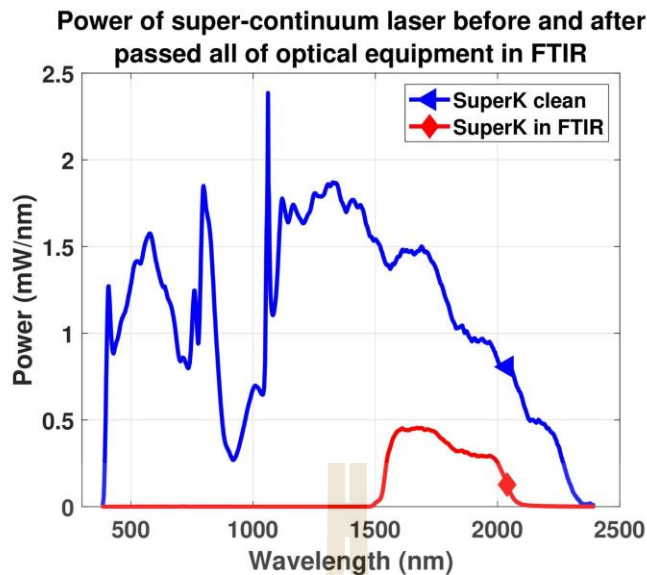
ภาพที่ 55 กราฟแสดง (a) ตำแหน่ง peak และ valley ของสัญญาณการแทรกสอด monochromatic laser (I_m) ที่ผ่าน Low-pass filter มาที่ช่วยให้การหาตำแหน่งถูกต้องมากขึ้น (b) สัญญาณการแทรกสอดของ supercontinuum laser (I_S) (red) และสัญญาณแทรกสอดที่ดึงข้อมูลตามตำแหน่งของ peak และ valley (I'_S) (black)

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของระบบที่พัฒนาขึ้น ผลของสเปกตรัมในกรณีที่ยังไม่มีตัวอย่าง (ตัวอย่างคือ อากาศ) จะถูกเปรียบเทียบกับสเปกตรัมที่ได้จากการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การสะท้อน การส่งผ่านต่าง ๆ ของทุกอุปกรณ์ (S_{FTIR}) โดยสเปกตรัมจากการคำนวณสามารถหาได้จากผลคูณความเข้มแสงของ supercontinuum laser กับสัมประสิทธิ์การสะท้อน การส่งผ่าน ของอุปกรณ์ต่าง ๆ

$$S_{FTIR} = S_{SC} \times T_{DM}^2 \times (T_{BS} + R_{BS})^2 \times T_{GC} \times R_M \times R_{PM}$$

โดยที่ S_{SC} คือ spectrum profile ของ supercontinuum laser, T_{DM} คือ สัมประสิทธิ์การส่งผ่านของ dichroic mirror, T_{BS} และ R_{BS} คือ สัมประสิทธิ์การส่งผ่านและการสะท้อนของ beamsplitter, T_{GC} คือ สัมประสิทธิ์การส่งผ่านของ glass compensator, R_M คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อนของกระจก, R_{PM} คือ สัมประสิทธิ์การสะท้อนของกระจกพาราโบลิก

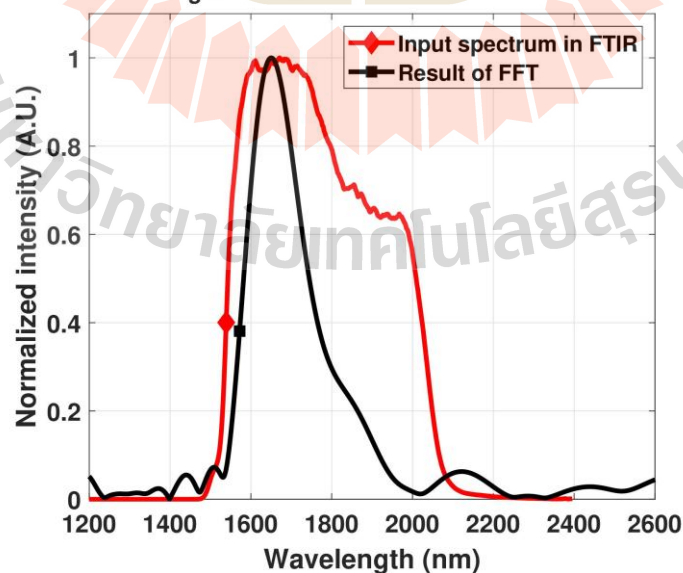
ภาพที่ 56 แสดงกราฟของ spectrum profile ของ supercontinuum laser (สีน้ำเงิน) และ spectrum profile ที่คำนวณสัมประสิทธิ์ต่าง ๆ ของทุกอุปกรณ์ (สีแดง) จะเห็นว่า ความเข้มแสงโดยรวมลดลงไปประมาณร้อยละ 60 แต่เซ็นเซอร์วัดความเข้มแสง (PDA10D2) ยังตรวจจับได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ และช่วงความยาวคลื่นที่เข้ามาในระบบ FTIR นั้น ถูกจำกัดเหลือในช่วง 1,550 ถึง 2,000 นาโนเมตร เนื่องจากคุณสมบัติของ dichroic mirror (DMLP1500) ดังนั้น S_{FTIR} ที่เป็นการคำนวณทางทฤษฎีจะถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลสเปกตรัมที่ได้จากระบบ FTIR เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพและความถูกต้องของระบบที่พัฒนาขึ้น และสเปกตรัมจากระบบ FTIR หาได้จาก การทำ Fourier transformation กับสัญญาณแทรกสอดที่ดึงตามตำแหน่ง peak และ valley (I'_S) ดังแสดงในภาพที่ 55(b)



ภาพที่ 56 แสดงกราฟของ spectrum profile ของ supercontinuum laser (S_{SC}) (สีน้ำเงิน) และ spectrum profile ที่คำนวณสัมประสิทธิ์ต่างๆของทุกอุปกรณ์ (S_{FTIR}) (สีแดง)

เพื่อที่จะเปรียบเทียบผลของสเปกตรัม ภาพที่ x แสดงกราฟ normalized ของ spectrum profile S_{FTIR} (สีแดง) และ spectrum profile ที่ได้จากการ fourier transformation สัญญาณ I'_S ที่แสดงตั้งเส้นสีดำ จะเห็นว่า ผลของสเปกตรัมที่ออกมาจากระบบ FTIR ที่พัฒนาขึ้นนั้น ที่ถึงแม้ยังไม่ใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณ แต่ยังมีลักษณะรูปร่างของสเปกตรัมที่คล้ายคลึงกันอยู่ในกรณีอุดมคติ เส้นสเปกตรัมทั้งสองเส้นในภาพที่ x ควรจะเหมือนกัน แต่อย่างไรก็ตาม มีหลายปัจจัยที่อาจจะส่งผลต่อสเปกตรัมที่ได้ เช่น ระยะสแกนของกระจกที่อาจจะน้อยเกินไปที่ส่งผลต่อความละเอียดของลักษณะสเปกตรัมที่ได้ จำนวนจุดตำแหน่ง peak และ valley (112 จุดข้อมูล) ที่ไม่เพียงพอในการเป็นตัวแทนของข้อมูลการแทรกสอดของ supercontinuum laser (35,001 จุดข้อมูล)

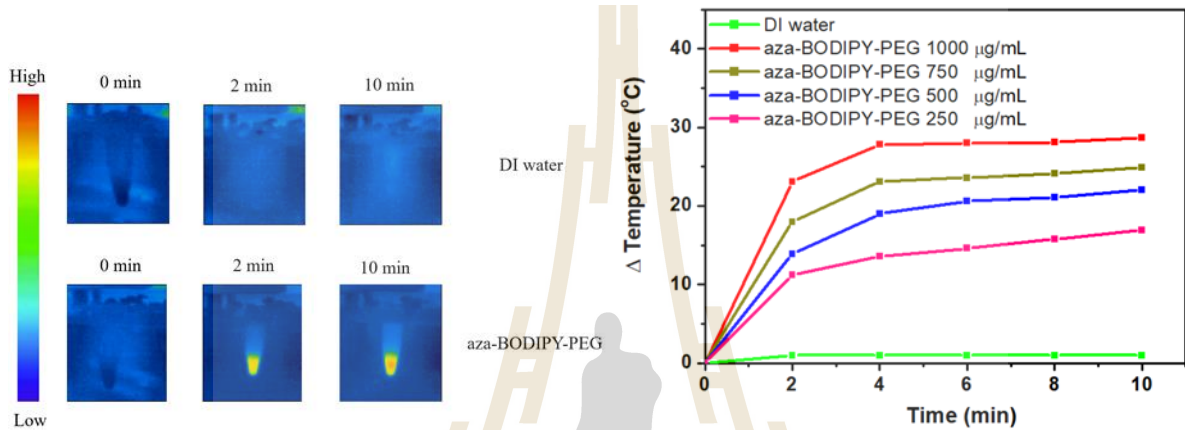
Result of resampled super-continuum interference signal (I'_S) compared to theoretical spectrum



ภาพที่ 57 แสดงกราฟ normalized ของ spectrum profile S_{FTIR} (สีแดง) และ spectrum profile ที่ได้จากการ fourier transformation สัญญาณ I'_S (สีดำ)

6) อนุภาคนาโนที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพจากเอซาลบอดีปี สำหรับการรักษาแบบให้ความร้อนผ่านการกระตุ้นด้วยแสงในเซลล์มะเร็ง

ในส่วนของการปลดปล่อยความร้อนเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็ง อนุภาคนาโนที่มีการสังเคราะห์ขึ้นมีความสามารถในการปลดปล่อยความร้อนเมื่อมีการกระตุ้นด้วยรังสีจากภายนอกที่เหมาะสม โดยจากรูปที่ 4 จะเห็นว่า เมื่ออนุภาคนาโนถูกกระตุ้นด้วยรังสีจากภายนอก เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 2 นาที จะมีการปลดปล่อยพลังงานความร้อนออกมาประมาณ 24 องศาเซลเซียส และจะดำเนินไปต่อเนื่องจนถึงเวลา 10 นาที จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า อนุภาคนาโนเอซาลบอดีปีที่สังเคราะห์ขึ้นมีความสามารถในการตรวจสอบและปลดปล่อยพลังงานความร้อนเพื่อใช้ในการกำจัดเซลล์มะเร็งได้



ภาพที่ 58 การปลดปล่อยพลังงานความร้อนของอนุภาคนาโนเอซาลบอดีปี เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล

ภายใต้โครงการวิจัยนี้ ทีมวิจัยได้ริเริ่มการสร้างห้องปฏิบัติการเลเซอร์พัลส์สั้นพลังงานสูงจำนวน 1 ห้อง จากนั้นได้ติดตั้งระบบแหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์พัลส์สั้นบนโต๊ะปฏิบัติการเชิงแสง รวมถึงพัฒนาระบบปฏิบัติการเพื่อการติดตามและวิเคราะห์คุณภาพของพัลส์ปมโดยใช้หลักการของระบบการแทรกสอดไมเคลสัน และ Nonlinear crystal แบบ LBO SHG สำหรับความยาวคลื่นแสง 1064nm รวมถึงได้ดำเนินการสร้างต้นแบบระดับปฏิบัติการของการประยุกต์เลเซอร์พัลส์สั้นขึ้นจำนวน 4 ระบบ ได้แก่

- 1) ระบบปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลฟลูออเรสเซนส์ นำมาซึ่งองค์ความรู้ในการออกแบบระบบปรับรงความยาวคลื่นแสงจากแหล่งกำเนิดแสงพัลส์เลเซอร์ ชนิด Supercontinuum laser ในช่วง 400- 650 นาโนเมตร และองค์ความรู้ในการออกแบบและสร้างระบบถ่ายภาพคอนโฟคอลฟลูออเรสเซนส์ด้วยแสงเลเซอร์พัลส์สั้น ที่สามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นกระตุ้นได้ในระหว่างการถ่ายภาพ โดยเริ่มตั้งแต่การออกแบบระบบจำลองในคอมพิวเตอร์ จนถึงการสร้างระบบจริงในห้องทดลอง
- 2) ระบบปฏิบัติการ Spectral Domain Optical Coherence Tomography ด้วยแสงเลเซอร์พัลส์สั้น ในช่วงความยาวคลื่น 700 – 950 นาโนเมตร ซึ่งได้องค์ความรู้ในการการออกแบบระบบเชิงแสง การออกแบบระบบการสแกนลำแสงด้วยกระจกกลวงออร์มิเตอร์สองตัวโดยไม่ให้เกิดความเพี้ยนของการสแกน ให้มีการบิดเบี้ยวของการสแกนน้อยที่สุด การออกแบบสเปกโตรมิเตอร์ความเร็วสูงในช่วงความยาวคลื่น 700 – 950 นาโนเมตร และการออกแบบระบบชดเชย dispersion ใหม่เพื่อให้ได้ภาพตัดขวางที่ความละเอียดสูงในช่วงความยาวคลื่นนี้
- 3) ระบบปฏิบัติการ Time Domain Optical Coherence Tomography ด้วยแสงเลเซอร์พัลส์สั้น ในช่วงความยาวคลื่นแสง 1100-1300 นาโนเมตร ความละเอียดทางความลึกของการถ่ายภาพสูงมากในระดับ 3 ไมโครมิเตอร์ และใช้เลนส์กล้องจุลทรรศน์ในการถ่ายภาพ ทำให้ได้ความละเอียดทางขวางสูงในระดับ 2-3 ไมโครมิเตอร์ รวมถึงการออกแบบระบบการสแกนด้วย motor stage เพื่อให้ได้ระยะการสแกนกว้างถึง 5 มิลลิเมตร บนความละเอียดสูงที่ประมาณ 2 ไมโครมิเตอร์
- 4) ระบบปฏิบัติการ Fourier Transform Infrared Spectroscopy ด้วยแสงเลเซอร์พัลส์สั้นในช่วงความยาวคลื่น 1500 – 2400 นาโนเมตร นำไปสู่องค์ความรู้ด้านเทคนิคการประยุกต์ใช้สัญญาณการแทรกสอดของ monochromatic laser ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ในการ calibrate สัญญาณสเปกตรัมช่วงกว้างของแสงเลเซอร์พัลส์สั้น รวมถึงการออกแบบอัลกอริทึมในการปรับปรุงสัญญาณ FTIR ตลอดจนการประยุกต์ระบบ FTIR ที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์การดูดกลืนแสงของวัสดุต่างๆ ในย่าน Near Infrared

ทั้งนี้ ยังมีนักศึกษาและนักวิจัยที่เข้าร่วมโครงการและได้รับการฝึกฝนและถ่ายทอดองค์ความรู้ทั้งสิ้น 15 คน โดยแยกเป็นนักศึกษาในระดับปริญญาตรีจำนวน 3 คน นักศึกษาปริญญาโท/เอกจำนวน 5 คน นักวิจัยคุณวุฒิปริญญาโท 3 คน และนักวิจัยคุณวุฒิปริญญาเอก 4 คน โดยมีการเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องดังนี้

ผลงานตีพิมพ์นานาชาติ 2 เรื่อง

1. **Wanvisa Talataisong**, Jon Gorecki, Lieke D. van Putten, Rand Ismaeel, James Williamson, Katie Addinall, Daniel Schwendemann, Martynas Beresna, Vasilis Apostolopoulos, and Gilberto Brambilla, "Hollow-core antiresonant terahertz fiber-based TOPAS extruded from a 3D printer using a metal 3D printed nozzle," *Photon. Res.* 9, 1513-1521 (2021)
2. Pornapa Artsang, Christophe Buisset, **Panomsak Meemon**, Pakakaew Rittipruk, Sirinrat Sithajan, Boonracksar Soonthornthum, and Saran Poshyachinda "Design and laboratory performance of a fiber-fed Fourier transform spectrograph based on off-the-shelf components for astronomical medium and high-resolution spectroscopy," *Optical Engineering* 61(1), 014104 (11 January 2022). <https://doi.org/10.1117/1.OE.61.1.014104>

การประชุมเผยแพร่ผลงานสัมมนาระดับชาติ 4 เรื่อง

1. นำเสนอผลงานในงานประชุม Siam Physics Congress 2021 (Online) จำนวน 1 เรื่อง
 - Invited, P. Meemon, "Development of Optical Coherence Tomography as Innovative Tools for Biomedical Research and Applications in Thailand"
2. นำเสนอผลงานในงานประชุม Siam Physics Congress 2022 (On site) จำนวน 3 เรื่อง
 - Y. Lenaphet and P. Meemon, "Design and build of high resolution time domain optical coherence tomography by using broadband supercontinuum pulse laser"
 - N. Kunanta and P. Meemon, "Laboratory implementation of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectrograph using a super-continuum laser"
 - K. Joonmasa, P. Meemon, W. Talataisong, "Design and analysis of Hollow-core fiber with anti-resonant structure for Ethylene Detection"

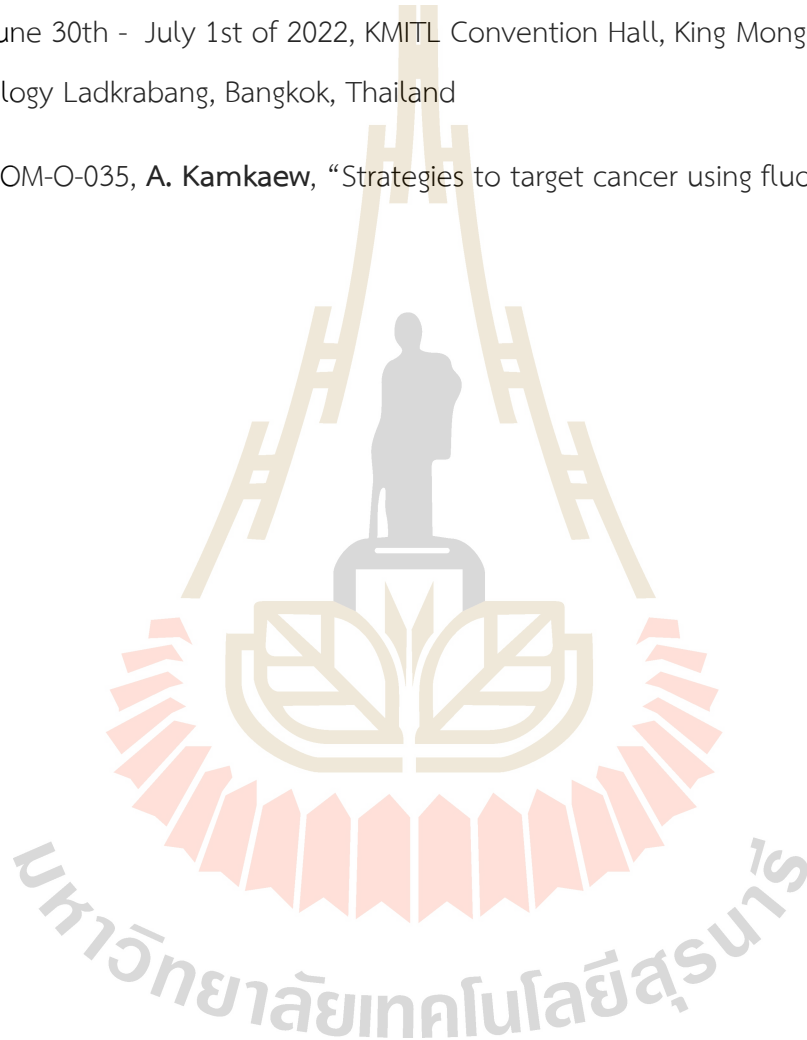
การประชุมเผยแพร่ผลงานระดับนานาชาติ 2 เรื่อง

1. นำเสนอผลงานในงานประชุม 21st International Union of Materials Research Societies-International Conference in Asia (IUMRS-ICA 2020), 23-26 February 2021, at Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

Invited, **P. Meemon**, “Optical Coherence Tomography techniques for advanced characterization of materials”

2. นำเสนอผลงานในงานประชุม The Pure and Applied Chemistry International Conference 2022, June 30th - July 1st of 2022, KMITL Convention Hall, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand

OM-O-035, **A. Kamkaew**, “Strategies to target cancer using fluorescent dyes”



บรรณานุกรม

1. Silfvast, W.T., *Laser fundamentals*. 2004: Cambridge university press.
2. Hecht, E., *Optics*. 2012: Pearson Education India.
3. Viskup, R., *High Energy and Short Pulse Lasers*. 2016: BoD–Books on Demand.
4. Nolte, S., F. Schrempel, and F. Dausinger, *Ultrashort pulse laser technology*. Springer Series in Optical Sciences, 2016. **195**: p. 200.
5. Muller, M., *Introduction to confocal fluorescence microscopy*. Vol. 69. 2006: SPIE press.
6. Biggs, D.S., *3D deconvolution microscopy*. Current Protocols in Cytometry, 2010. **52**(1): p. 12.19. 1-12.19. 20.
7. Dunn, K.W. and P.A. Young, *Principles of multiphoton microscopy*. Nephron Experimental Nephrology, 2006. **103**(2): p. e33-e40.
8. Huang, D., et al., *Optical coherence tomography*. Science, 1991. **254**(5035): p. 1178-1181.
9. Fercher, A.F., K. Mengedoh, and W. Werner, *Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light*. Optics Letters, 1988. **13**(3): p. 186-188.
10. Lee, E.C., et al., *In vivo optical frequency domain imaging of human retina and choroid*. Optics Express, 2006. **14**(10): p. 4403-4411.
11. Nelson, J.S., et al., *Imaging blood flow in human port-wine stain in situ and in real time using optical Doppler tomography*. Archives of dermatology, 2001. **137**(6): p. 741.
12. Lim, H., et al., *High-speed imaging of human retina in vivo with swept-source optical coherence tomography*. Optics Express, 2006. **14**(26): p. 12902-12908.
13. De Boer, J.F., et al., *Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography*. Optics Letters, 1997. **22**(12): p. 934-936.
14. Schmitt, J.M., S.L. Lee, and K.M. Yung, *An optical coherence microscope with enhanced resolving power in thick tissue*. Optics Communications, 1997. **142**(4-6): p. 203-207.
15. Mariampillai, A., et al., *Doppler optical cardiogram gated 2D color flow imaging at 1000 fps and 4D in vivo visualization of embryonic heart at 45 fps on a swept source OCT system*. Optics Express, 2007. **15**(4): p. 1627-1638.
16. Ko, H.J., et al., *Optical coherence elastography of engineered and developing tissue*. Tissue Engineering, 2006. **12**(1): p. 63-73.

17. Kim, S., et al., *Simultaneous measurement of refractive index and thickness by combining low-coherence interferometry and confocal optics*. Optics Express, 2008. **16**(8): p. 5516-5526.
18. Lee, B., et al., *Simultaneous Measurements of Refractive Index and Thickness by Spectral-Domain Low Coherence Interferometry Having Dual Sample Probes*. Photonics Technology Letters, IEEE, 2011(99): p. 1-1.
19. Bouma, B.E. and G.J. Tearney, *Handbook of optical coherence tomography*. 2002: Marcel Dekker, Inc.
20. Born, M. and E. Wolf, *Principles of Optics, seventh expanded edition*. Cambridge, England. 1999: Cambridge University Press.
21. Fercher, A.F., et al., *Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry*. Optics Communications, 1995. **117**(1-2): p. 43-48.
22. Choma, M., et al., *Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography*. Optics Express, 2003. **11**(18): p. 2183-2189.
23. De Boer, J.F., et al., *Improved signal-to-noise ratio in spectral-domain compared with time-domain optical coherence tomography*. Optics Letters, 2003. **28**(21): p. 2067-2069.
24. Leitgeb, R., C. Hitzenberger, and A. Fercher, *Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography*. Optics Express, 2003. **11**(8): p. 889-894.

