

อุปกรณ์ระดับไมโครเมตรเพื่อเพิ่มปริมาณ DNA
โดยมีเซนเซอร์วัดอุณหภูมิและระบบควบคุม

FULLY INTEGRATED DISPOSABLE MICRO-DEVICE WITH THERMAL SENSOR
AND TEMPERATURE CONTROL FOR DNA AMPLIFICATION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-NT-D-001-004

อุปกรณ์ระดับไมโครเมตรเพื่อเพิ่มปริมาณ DNA
โดยมีเซนเซอร์วัดอุณหภูมิและระบบควบคุม

FULLY INTEGRATED DISPOSABLE MICRO-DEVICE WITH THERMAL SENSOR
AND TEMPERATURE CONTROL FOR DNA AMPLIFICATION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558

KMITL-2015-NT-D-001-004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FULLY INTEGRATED DISPOSABLE MICRO-DEVICE WITH THERMAL SENSOR
AND TEMPERATURE CONTROL FOR DNA AMPLIFICATION



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY IN NANOSCIENCE AND NANOTECHNOLOGY
COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2015
KMITL-2015-NT-D-001-004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2015

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อุปกรณ์ระดับไมโครเมตรเพื่อเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีเซนเซอร์วัดอุณหภูมิและระบบควบคุม

Thesis Title Fully Integrated Disposable Micro-Device with Thermal Sensor and Temperature Control for DNA Amplification

นักศึกษา นางสาวอมรรัตน์ เล็กวิชัย

รหัสประจำตัว 51064502


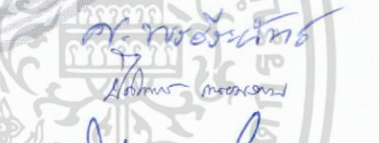
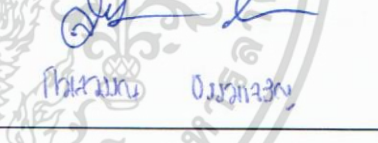

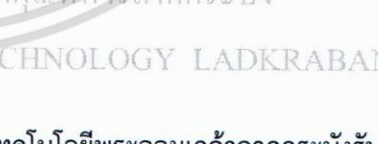
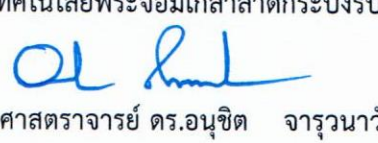
ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชา นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ.ดร.จิติ หนูแก้ว

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.ศุภนิจ พรธีระภัทร

หมายเลขวิทยานิพนธ์ KMITL-2015-NT-D-001-004

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ทุติยาภรณ์	ทิววงศ์	
ศ.ดร.จิติ	หนูแก้ว	
ดร.ศุภนิจ	พรธีระภัทร	
ผศ.ดร.ปิติพร	ถนอมงาม	
ดร.สิรพัฒน์	ประโทนเทพ	
ดร.กมลวรรณ	ธรรมเจริญ	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ วันพฤหัสบดีที่ 4 มิถุนายน พ.ศ. 2558 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ อาคารวิจัยนาโนเทคโนโลยีสิรินธร ชั้น 1 ห้องประชุมนาโน

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังรับรองแล้ว



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชิต จารุनावิวัฒน์)

คณบดี

วันที่ 24 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อุปกรณ์ระดับไมโครเมตรเพื่อเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีเซนเซอร์วัดอุณหภูมิและระบบควบคุม
นักศึกษา	นางสาวอมรรัตน์ เล็กวิชัย
รหัสประจำตัว	51064502
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชา	นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. ดร.จิติ หนูแก้ว
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.ศุภนิจ พรธีระภัทร

บทคัดย่อ

ปริมาณดีเอ็นเอเป็นเรื่องที่สำคัญมากต่อการตรวจวิเคราะห์รูปแบบของสารพันธุกรรม ในการตรวจพิสูจน์รูปแบบสารพันธุกรรมจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการทำให้ปริมาณสารพันธุกรรมมีจำนวนมากขึ้น ปัจจุบันเครื่องมือดังกล่าวยังคงมีราคาสูงอยู่ งานวิจัยนี้จึงมุ่งหวังที่จะสร้างอุปกรณ์ต้นแบบไมโครฟิชีอาร์ที่ประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ไมโครแฮมเบอร์ที่ทำจากวัสดุพอลิเมอร์ และ ส่วนควบคุมอุณหภูมิซึ่งประกอบไปด้วย ไมโครฮีตเตอร์และเซนเซอร์ที่ถูกสร้างมาจากการปลูกฟิล์มบางแพลทินัมบนแผ่นซิลิกอนด้วยกระบวนการซีมอส (CMOS) อุปกรณ์ต้นแบบดังกล่าวสามารถช่วยเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีขนาด 376 คู่เบส ได้เมื่อเทียบกับเครื่องมือที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน ในขณะเดียวกันยังสามารถลดต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์ได้เนื่องจากเทคนิคดังกล่าวใช้พลังงานที่ต่ำกว่า โดยใช้แรงดันไฟฟ้าเพียง 7 โวลต์ ในการควบคุมอุณหภูมิในช่วงที่เหมาะสมของกระบวนการฟิชีอาร์ ในขณะเดียวกันก็ใช้ปริมาณสารตั้งต้นเพียงแค่ 10 ไมโครลิตร และทำได้รวดเร็วภายในเวลาประมาณ 75 นาที

คำสำคัญ : ดีเอ็นเอ, สารพันธุกรรม, เซนเซอร์, ไมโครฮีตเตอร์, ไมโครแฮมเบอร์, ฟิชีอาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Fully Integrated Disposable Micro-Device with Thermal Sensor and Temperature Control For DNA Amplification
Student	Amornrat Lekwichai
Student ID	51064502
Degree	Doctor of Philosophy
Program	Nanoscience and Nanotechnology
Year	2015
Thesis Advisor	Prof. Dr.Jiti Nukeaw
Thesis Coadvisor	Dr.Supanit Porntheeraphat

ABSTRACT

A sufficient amount of DNA is very important to analyze DNA profile. Nowadays commercial PCR machine are still rather expensive. This research aims to create a device with embedded thermal sensors that can help increase the amount of DNA. This research is designed to create a prototype of micro PCR device, consisting of two main parts. The first part is a PDMS (Polydimethylsiloxane)/glass stationary chamber. The other part is a temperature-control micro-device on SiO₂/Si substrate. This device consists of a thin film Pt-micro-heater and a Pt-temperature sensor, which were fabricated with CMOS compatible processes. The DNA were successfully amplified with low power usage. The amplified products were comparable may the electrophoresis analysis with the conventional PCR method. This PCR chip may help saving cost reducing the volume of the reagents, time and power consumption and fabrication in a large quantity.

Keywords : DNA, PCR, Micro-Device, Micro-heater, Micro-chamber, CMOS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้เนื่องจากความกรุณาของบุคคลต่างๆ ที่ช่วยให้ความรู้ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ในการค้นคว้าวิจัยให้สามารถสำเร็จลงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าจึงกราบขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ศ.ดร.จิติ หนูแก้ว ผู้ที่ได้ให้วิชาความรู้ ตลอดจนคำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัยนี้ จนสามารถทำได้สำเร็จลงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.ศุภนิจ พรธีระภัทร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทำงานวิจัยนี้ รวมถึงช่วยแนะนำ ชี้แนะการแก้ปัญหาต่างที่เกิดขึ้นในระหว่างดำเนินงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปิติพร วัฒนอมงาม ผศ.ดร.ทศติยาภรณ์ และ ดร.กมลวรรณ ธรรมเจริญ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำชี้แนะและตรวจแก้ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ ดร.สิรพัฒน์ ประโทนเทพ ที่ให้คำปรึกษา รวมถึงเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำชี้แนะและตรวจแก้ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ ดร.วิน บรรจงปฐุ และคุณสากล ระหงส์ ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ทีมนักวิจัยของวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอขอบพระคุณทีมนักวิจัยศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ทุกๆท่านที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำวิจัย ให้สะดวกและผ่านไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ TGIS ที่สนับสนุนทุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณวิศรุต ศรีพุ่มไข ที่ได้ร่วมทำงานวิจัยมาด้วยกัน รวมถึงน้องเต้ โอเล่ สอง บอย ที่ผ่านการร่วมทุกข์ร่วมสุขกันมา

ขอขอบคุณพี่น้องชาววิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังทุกคน โดยเฉพาะ ดร.อุษา สุขชา และ ดร.วณิชยา เมฆประสาท ที่เป็นกำลังใจในการศึกษาและคำแนะนำต่างๆจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

สุดท้ายขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และสมาชิกในครอบครัว ที่คอยเป็นกำลังใจร่วมให้การสนับสนุนในทุกๆเรื่อง คุณประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขออุทิศแด่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาวอมรรัตน์ เล็กวิชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	5
2.1 หลักการทำงานของเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	5
2.1.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับดีเอ็นเอ.....	5
2.1.2 หลักการและวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	9
2.1.3 Conventional PCR.....	14
2.2 PCR Chip.....	15
2.2.1 แนวคิดที่ทำให้เกิดการพัฒนาอุปกรณ์ PCR Chip.....	15
2.2.2 ฐานรองรับที่นำมาใช้สำหรับการสร้าง PCR Chip.....	16
2.2.3 โครงสร้างสำหรับอุปกรณ์ PCR Chip.....	16
2.2.4 ตัวทำความร้อนและการควบคุมอุณหภูมิสำหรับ PCR Chip.....	18
2.3 หลักการทำงานของไมโครฮีตเตอร์.....	18
2.3.1 ไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยตรง.....	19
2.3.2 ไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยอ้อม.....	20
2.4 ทฤษฎีเกี่ยวกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน.....	20
2.4.1 หลักการเบื้องต้นสำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน.....	20
2.4.2 สมบัติของโลหะที่สามารถทำเป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน.....	22
2.4.3 ข้อดีและข้อเสียของการใช้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน.....	23
2.5 เทคนิคการควบคุมกระบวนการทางความร้อน.....	23
2.5.1 เทคนิคการควบคุมความร้อนแบบ On-Off.....	23
2.5.2 การควบคุมความร้อนแบบProportional (P).....	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และดัด IV อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.3 การควบคุมความร้อนแบบ Proportional-Integral (PI).....	27
2.5.4 การควบคุมความร้อนแบบ Proportional-Integral-Derivative (PID).....	29
2.6 การปลูกฟิล์มบาง.....	31
2.6.1 การปลูกฟิล์มบางโดยปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical Reaction).....	31
2.6.2 การปลูกฟิล์มบางโดยปฏิกิริยาทางกายภาพ (Physical Reaction).....	32
2.7 กระบวนการลิโทกราฟีเชิงแสง.....	35
2.8 การกัด (Etching).....	39
2.5 การ Bonding ด้วย RF Oxygen Plasma.....	41
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	42
3.1 การสร้างไมโครฮีตเตอร์ พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	43
3.1.1 การออกแบบไมโครฮีตเตอร์ และตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	43
3.1.2 การคำนวณค่าความต้านทานของอุปกรณ์ที่ออกแบบ.....	45
3.1.3 การสร้างไมโครฮีตเตอร์ พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	46
3.2 การสร้างระบบส่วนของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์.....	56
3.2.1 การออกแบบระบบส่วนของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Microchamber).....	56
3.2.2 การสร้างแม่แบบไมโครแชมเบอร์.....	57
3.3 การสร้างไมโครแชมเบอร์ จาก Polydimethylsiloxane (PDMS).....	61
3.4 การทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดของแผ่น PDMS กับฐานรองชนิดต่างๆ.....	64
3.5 การสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิ.....	68
3.6 การตรวจสอบสมบัติของอุปกรณ์.....	71
3.6.1 การตรวจสอบสมบัติของไมโครฮีตเตอร์.....	71
3.6.2 การทดสอบประสิทธิภาพของ PDMS Microchamber.....	73
3.6.3 การทดสอบประสิทธิภาพ ของระบบควบคุมอุณหภูมิ.....	81
3.6.4 การทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ.....	83
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	88
4.1 การตรวจวัดสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบางแพลทินัม.....	87
4.1.1 ผลการตรวจสอบฟิล์มบางแพลทินัมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด.....	87
4.2 การตรวจวัดสมบัติทางไฟฟ้า.....	92
4.2.1 ผลการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของไมโครฮีตเตอร์.....	93
4.2.2 ผลการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต่อVอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การตรวจวัดสมบัติทางความร้อน.....	97
4.3.1 การสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	97
4.3.2 ผลการสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	99
4.3.3 การตรวจวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีทเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	105
4.3.4 ผลการวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีทเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	106
4.4 ผลการทดสอบการประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ.....	114
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	121
บรรณานุกรม.....	123
ภาคผนวก.....	127
ประวัติผู้เขียน.....	128



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยโรคใช้หัตถ์โดยวิธีเพาะเชื้อ และการใช้เทคนิคพีซีอาร์.....	8
2.2 ข้อดี ข้อเสียของรูปแบบโครงสร้างสำหรับอุปกรณ์ PCR chip.....	17
2.3 สัมประสิทธิ์ความต้านทานต่ออุณหภูมิและความต้านทานจำเพาะที่ 20 °C.....	22
3.1 สรุปเงื่อนไขการออกแบบแต่ละรูปแบบของไมโครฮีทเตอร์.....	45
3.2 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการสร้างฟิล์มแพลทินัมด้วยระบบระเหยสารในสุญญากาศ.....	52
3.3 ผลการทดสอบการประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ต่างๆ.....	69
3.4 ผลการทดสอบการประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ต่างๆ.....	69
3.5 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำกลั่นบนแผ่น Cover Glass ที่เงื่อนไขต่างๆ.....	69
3.6 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำกลั่นบนแผ่น Cover Glass ที่เงื่อนไขต่างๆ.....	70
3.7 ค่าอัตราการขึ้นและลงของอุณหภูมิที่ตัวนำความร้อนที่สภาวะต่างๆ.....	84
4.1 สรุปค่าความต้านทานที่วัดได้ของไมโครฮีทเตอร์เมื่อแอนนีสด้วยอุณหภูมิต่างๆ.....	90
4.2 ค่าความต้านทานเฉลี่ยของตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่คำนวณได้ที่เงื่อนไขต่างๆ.....	90
4.3 ค่า sensitivity ของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนีส.....	93
4.4 ค่า sensitivity ของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขเมื่อแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C.....	94
4.5 ผลการคำนวณค่าของ TCR ของอุปกรณ์แต่ละเงื่อนไข.....	95
4.6 ผลการทดลองเกี่ยวกับค่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้ (Power Consumption).....	101
4.7 ค่าอุณหภูมิที่กำหนดและเวลาที่แตกต่างกันใน Condition ต่างๆที่ทำการทดลอง.....	104
4.8 ค่าอุณหภูมิที่กำหนดสำหรับ Condition ต่างๆที่ทำการทดลองซ้ำ.....	107
4.9 ค่าอุณหภูมิที่กำหนดสำหรับ Condition ที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้.....	111

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ก) ส่วนประกอบของเซลล์ ข) ลักษณะของดีเอ็นเอที่อยู่ภายในนิวเคลียส.....	5
2.2 องค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์.....	6
2.3 ก) ภาพจำลองโครงสร้างของดีเอ็นเอ ข) ภาพจำลองการจับคู่เบส.....	7
2.4 การจำลองดีเอ็นเอ.....	7
2.5 แผนภูมิขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	10
2.6 เครื่องเทอร์มอลไซเคลอร์.....	11
2.7 ลักษณะการเคลื่อนที่ของสารพันธุกรรมที่มีขนาดต่างกันบนแผ่นวุ้น.....	12
2.8 การแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นอะกาโรสเจล.....	12
2.9 การแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นอะกาโรสเจล.....	13
2.10 เครื่องมือสำหรับบันทึกและพิมพ์ภาพแถบสารพันธุกรรมจากเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส.....	13
2.11 ภาพถ่ายแผ่นอะกาโรสเจล.....	14
2.12 เครื่อง Conventional PCR (Eppendorf Master Cycler).....	15
2.13 ลักษณะโครงสร้างของอุปกรณ์พีซีอาร์แบบ Stationary PCR Chamber.....	16
2.14 ลักษณะโครงสร้างของอุปกรณ์พีซีอาร์แบบ Continuous Flow PCR.....	17
2.15 ลักษณะของไมโครฮีทเตอร์ความต้านทานแบบโดยตรง.....	19
2.16 ลักษณะของไมโครฮีทเตอร์ความต้านทานแบบโดยอ้อม.....	20
2.17 โครงสร้างในการคำนวณหา ความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	21
2.18 ฏริยการควบคุมความร้อนแบบ On-Off.....	24
2.19 ตัวอย่างผลการตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ On-Off.....	25
2.20 คุณสมบัติของฏริยการควบคุมความร้อนแบบ Proportional.....	26
2.21 ตัวอย่างผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ Proportional.....	26
2.22 ผลตอบสนองของฏริยการควบคุมแบบ Integral.....	27
2.23 ตัวอย่างผลตอบสนองของฏริยการควบคุมแบบ PI (Direct Action).....	28
2.24 ตัวอย่างคุณสมบัติของฏริยการควบคุมแบบ Derivative.....	29
2.25 ตัวอย่างผลตอบสนองของฏริยการควบคุมแบบ PID.....	30
2.26 ตัวอย่างผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ PID.....	31
2.27 ลักษณะของลำอิเล็กตรอน.....	33
2.28 ลักษณะชุดอุปกรณ์กำเนิดและบังคับลำอิเล็กตรอน.....	33
2.29 ลักษณะภายในห้องสุญญากาศ (Chamber).....	34
2.30 ระบบเครื่องมือสปีดเตอริง.....	35
2.31 แผนผังแสดงขั้นตอนของกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี.....	36
2.32 การถ่ายโอนลายวงจรบนฟิล์มไวแสง.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้ง VIII ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.33 การเคลือบน้ำยาไวแสงด้วยเทคนิค Spin Coating.....	38
2.34 การฉายแสงอุลตราไวโอเล็ตผ่านแผ่นโฟโตมาส์ค.....	38
2.35 ภาพตัดขวางของโครงสร้างที่ถูกกัดแบบ ก) Anisotropic และ ข) Isotropic.....	39
2.36 การกัดกร่อนด้วยไอออนปฏิกิริยา (RIE).....	40
2.37 เครื่อง RF Plasma Cleaner.....	41
2.38 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นผิว PDMS.....	41
3.1 แนวคิดในการออกแบบอุปกรณ์ไมโครฮีทเตอร์ต้นแบบ.....	43
3.2 แนวคิดในการออกแบบอุปกรณ์ไมโครแชมเบอร์ต้นแบบ.....	43
3.3 รูปแบบตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่พิมพ์ลงบนแผ่นฟิล์มพลาสติก.....	44
3.4 ตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ที่ถูกออกแบบให้อยู่บนอุปกรณ์เดียวกัน.....	44
3.5 ขั้นตอนและกระบวนการสร้างไมโครฮีทเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	46
3.6 ขั้นตอนและกระบวนการสร้างฟิล์มบางแพลทินัมบนแผ่นฐานรองซิลิคอน.....	47
3.7 ระบบที่ใช้ในการฉายแสง.....	49
3.8 ลักษณะของการติดแผ่นของชิ้นงานกับตัว holder ของเครื่อง E-Beam.....	51
3.9 ก) แสดงลักษณะของชิ้นงานขณะที่ทำการล้างน้ำยาไวแสง, ข) โครงสร้างลวดลายของโลหะบนฐานรองรับ.....	53
3.10 เตาแอนนิลแบบแนวอนที่ TMEC.....	53
3.11 ตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดความร้อนที่ถูกตัดแล้ว.....	54
3.12 ลักษณะของไมโครฮีทเตอร์ที่ถูกตัดแบ่งเป็นชิ้นอุปกรณ์.....	54
3.13 ลักษณะของไมโครฮีทเตอร์ที่ต่อขั้วไฟฟ้าเรียบร้อยแล้ว.....	55
3.14 รูปแบบไมโครแชมเบอร์ ที่ทำการออกแบบ.....	56
3.15 ขั้นตอนและกระบวนการสร้างแม่แบบไมโครแชมเบอร์บนแผ่นซิลิคอน.....	57
3.16 ขั้นตอนและกระบวนการสร้างฟิล์มบางแพลทินัมบนแผ่นฐานรองซิลิคอน.....	58
3.17 ลักษณะความคมและความชันของลวดลายบนแม่แบบซิลิคอน.....	61
3.18 ชุดส่วนผสมของ Polydimethylsiloxane (PDMS)	62
3.19 โลกแก้วที่ต่อกับปั๊มสำหรับดูดฟองอากาศออกจากส่วนผสม PDMS.....	62
3.20 วิธีการเทส่วนผสม PDMS ลงบนแผ่นแม่แบบ.....	63
3.21 วิธีการลอกแผ่น PDMS ออกจากแผ่นแม่แบบ.....	63
3.22 ลักษณะไมโครแชมเบอร์ที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้ว.....	64
3.23 การเตรียมชิ้น PDMS ตามขนาดที่ทำการทดลอง.....	66
3.24 การวางชิ้นงานที่ต้องการประกบติด ภายในเครื่อง RF Plasma Cleaner.....	66
3.25 การวางชิ้นงานที่ต้องการประกบติด ภายในเครื่อง RF Plasma Cleaner.....	67
3.26 การประกบติดระหว่างแผ่น PDMS กับฐานรองต่างๆ.....	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และดัดแปลงอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
3.27	แผนผังวงจรของระบบควบคุมอุณหภูมิในงานวิจัยนี้.....	70
3.28	อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิสำหรับการทำพีซีอาร์.....	71
3.29	ระบบการใช้งานอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิสำหรับการทำพีซีอาร์.....	72
3.30	เครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ (ก) FE-SEM, (ข) AFM.....	73
3.31	ระบบวัดค่ากระแส-ความต่างศักย์.....	73
3.32	กล้องถ่ายภาพความร้อน.....	74
3.33	อุปกรณ์ต้นแบบที่ประกบติดกันเรียบร้อยแล้ว.....	75
3.34	อุปกรณ์ต้นแบบที่ประกบติดกันเรียบร้อยแล้ว.....	75
3.35	อุปกรณ์ต้นแบบที่ต่อท่อทางเข้าออกของสารละลายแล้ว.....	76
3.36	อุปกรณ์ต้นแบบชนิด Stationary Microchamber บน Coverglass.....	76
3.37	ทดสอบหารอยรั่วของ Stationary Microchamber บน Microheater.....	77
3.38	การทดสอบหารอยรั่วของ Stationary Microchamber บน Glass Slide.....	77
3.39	การอุดปลายท่อซิลิโคนด้วยดินกาวน้ำมัน.....	78
3.40	การอุดปลายท่อซิลิโคนด้วย Epoxy.....	79
3.41	การอุดปลายท่อซิลิโคนด้วยเทปกาวเหนียว.....	79
3.42	การจำลองการอุดปลายท่อด้วยแรงดันจากกระบอกฉีดยา.....	80
3.43	ของเหลวที่รั่วออกจาก Microchamber ที่อุดด้วยดินกาวน้ำมัน.....	80
3.44	ของเหลวที่รั่วออกจาก Microchamber ที่อุดด้วยเทปกาวเหนียว.....	81
3.45	การอุดปลายช่องทางเข้า-ออก ด้วย PDMS.....	81
3.46	การอุดปลายช่องทางเข้า-ออก ด้วยน้ำมัน (Oil).....	82
3.47	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิ.....	83
3.48	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิ.....	84
3.49	แผนภูมิส่วนประกอบของอุปกรณ์ต้นแบบ.....	85
3.50	ภาพจำลองการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ.....	85
3.51	การแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	86
3.52	การแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	86
3.53	เครื่องมือสำหรับบันทึกและพิมพ์ภาพแถบสารพันธุกรรมจากเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส.....	87
3.54	ภาพถ่ายแผ่นเจล.....	87
4.1	ลักษณะผิวของฟิล์มบางแพลทินัมจากการตรวจสอบด้วยเครื่อง FE-SEM.....	89
4.2	เครื่องทำอุณหภูมิมาตรฐานแบบอ่างของเหลว (Fluke 7103 Micro Bath).....	91
4.3	ดิจิตอลเทอร์โมมิเตอร์ (YOKOGAWA 7563 Digital Thermometer).....	92
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานกับอุณหภูมิที่ได้จากการสอบเทียบ.....	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และดัดแปลงอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.5 ผลการสอบเทียบของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนีสล.....	93
4.6 ผลการสอบเทียบของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขเมื่อแอนนีสลที่อุณหภูมิ 900 °C.....	94
4.7 ผลการทดสอบค่าความเสถียรภาพของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ.....	95
4.8 ระบบที่ใช้ในการตรวจวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีทเตอร์.....	96
4.9 หน้าต่างของโปรแกรม Labview ที่ใช้วัดผลทางความร้อนของไมโครฮีทเตอร์.....	97
4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาของไมโครฮีทเตอร์เงื่อนไขที่ไม่ได้แอนนีสล.....	98
4.11 อัตราการเพิ่ม (Heating Rate) อุณหภูมิของไมโครฮีทเตอร์.....	98
4.12 ค่าอุณหภูมิสูงสุดที่แรงดันค่าต่างๆ ของไมโครฮีทเตอร์.....	99
4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาของไมโครฮีทเตอร์.....	100
4.14 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วยอุปกรณ์ต้นแบบ.....	102
4.15 ผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	103
4.16 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 1.....	104
4.17 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 2.....	105
4.18 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 3.....	105
4.19 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 4.....	106
4.20 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 5.....	106
4.21 ผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	107
4.22 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 1.....	108
4.23 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 2.....	108
4.24 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 3.....	109
4.25 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 4.....	109
4.26 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 5.....	110
4.27 ผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	110
4.28 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม.....	111
4.29 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม.....	112
4.30 ผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	112
4.31 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม.....	113
4.32 Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม.....	114
4.33 ผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า.....	114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตัดXIอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ปัจจุบันเราได้ใช้ประโยชน์จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอในด้านต่างๆ มากมาย เช่น ด้านการแพทย์ การเกษตร ด้านอุตสาหกรรม และด้านนิติวิทยาศาสตร์ ทำให้เราสามารถวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรมหรือโรคร้ายแรงบางชนิดได้ การผลิตยาและวัคซีนป้องกันโรคต่างๆ การตรวจหาโรคระบาดในสัตว์เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดได้อย่างทันท่วงที การปรับปรุงพันธุ์พืชให้สามารถทนทานต่อโรคหรือแมลงได้ แม้กระทั่งการตรวจหาความสัมพันธ์ทางสายเลือดหรือตรวจพิสูจน์บุคคลเพื่อประโยชน์ในการคลี่คลายคดีต่างๆ

การที่จะทำให้การตรวจวินิจฉัยดังกล่าวข้างต้นทำได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้น เราจำเป็นต้องใช้ปริมาณดีเอ็นเอเป็นจำนวนมาก ซึ่งถ้ามีปริมาณไม่เพียงพอจะทำให้เกิดความผิดพลาดหรือไม่สามารถทำการตรวจวัดได้ และในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการทำให้ดีเอ็นเอมีปริมาณมากขึ้นด้วยกระบวนการพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยที่เครื่องมือดังกล่าวจำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงมาก ทำให้ในบางพื้นที่ที่ไม่สามารถจัดหาเครื่องมือดังกล่าวมาใช้ได้ ส่งผลให้ไม่สามารถทำการตรวจวินิจฉัยงานต่างๆดังกล่าวได้ทันท่วงทีจนอาจเกิดผลเสียในระดับประเทศได้

งานวิจัยนี้จึงมุ่งหวังที่จะสร้างเซนเซอร์ลงในอุปกรณ์ที่สามารถช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยงานวิจัยนี้จะทำการออกแบบ สร้าง ตรวจวัดสมบัติ ของเซนเซอร์ที่ใช้ในการตรวจวัดและควบคุม เพื่อใช้ประกอบกับอุปกรณ์ที่เปรียบเสมือนห้องปฏิบัติการขนาดเล็กระดับไมโครเมตร (Microchamber) สำหรับเป็นอุปกรณ์ช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวนี้จะประกอบไปด้วยส่วนสำคัญๆ คือ เซนเซอร์ตรวจวัดอุณหภูมิ ตัวทำความร้อน ไมโครแชมเบอร์ การเชื่อมพันธะระหว่างไมโครแชมเบอร์กับส่วนเซนเซอร์ และระบบควบคุมอุณหภูมิของอุปกรณ์ในช่วงต่างๆ ที่เหมาะกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ การตรวจวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ที่เกี่ยวข้องของตัวอุปกรณ์รวมทั้งสร้างขึ้นที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เมื่อเทียบกับเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่มีราคาแพงมากๆ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้ได้อย่างทั่วถึง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อออกแบบ และสร้างระบบห้องปฏิบัติการขนาดเล็กระดับไมโครเมตรด้วยวัสดุชนิดพอลิเมอร์
- 1.2.2 เพื่อออกแบบและสร้างแผงตัวทำความร้อนและเซนเซอร์วัดอุณหภูมิ
- 1.2.3 เพื่อสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิที่มีความแม่นยำสูง
- 1.2.4 เพื่อสร้างอุปกรณ์รวมทั้งที่สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
- 1.2.5 เพื่อศึกษาและวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับอุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

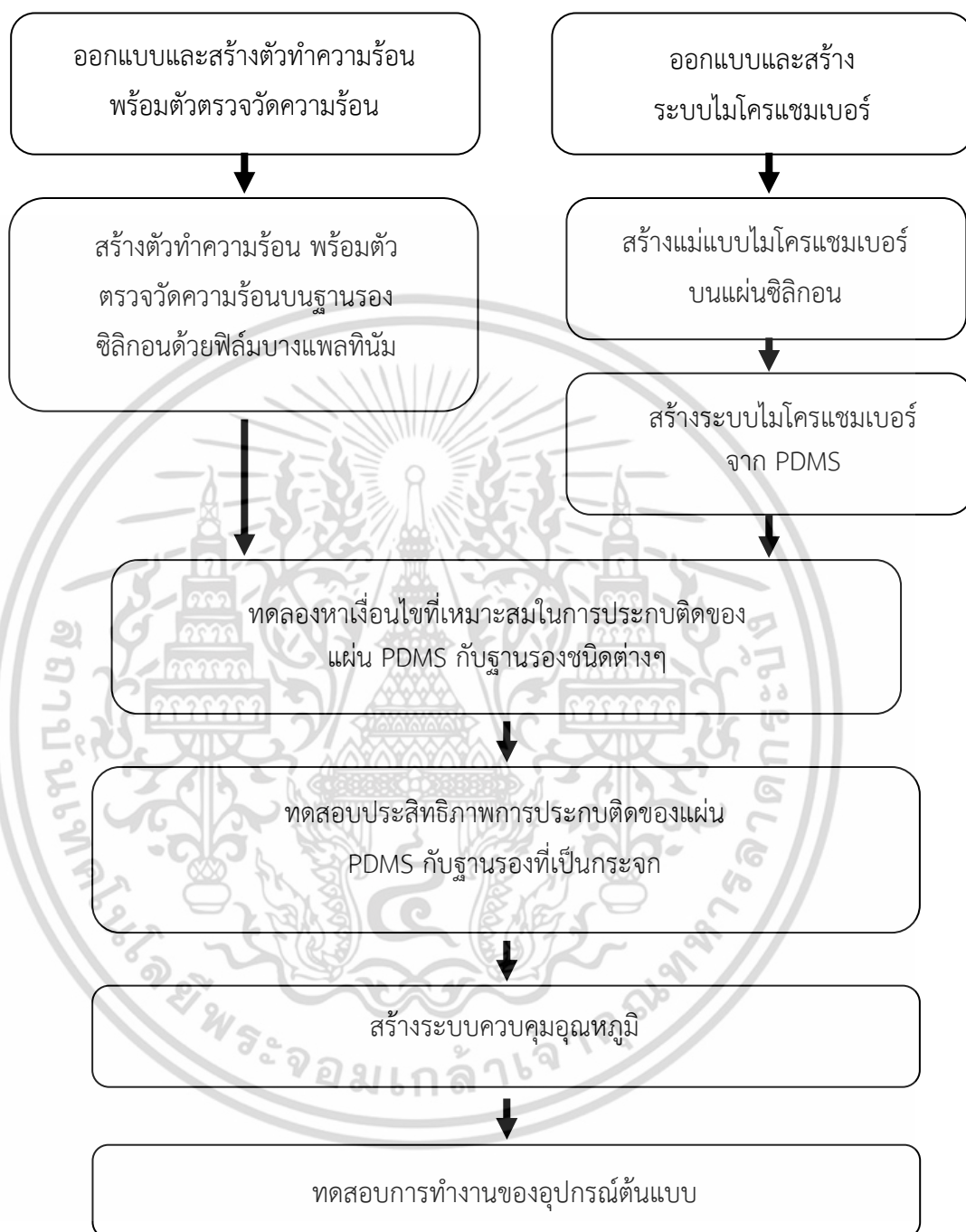
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 สร้างเซนเซอร์ลงในอุปกรณ์ที่สามารถช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
- 1.3.2 ทำการออกแบบ สร้าง ตรวจสอบวัดสมบัติ ของเซนเซอร์ที่ใช้ในการตรวจวัดและควบคุม เพื่อใช้ประกอบกับระบบห้องปฏิบัติการขนาดเล็กระดับไมโครเมตร สำหรับเป็นอุปกรณ์ช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
- 1.3.3 การตรวจวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ที่เกี่ยวข้องของตัวอุปกรณ์รวมที่สร้างขึ้นที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
- 1.3.4 สร้างต้นแบบระบบเซนเซอร์วัดและควบคุมอุณหภูมิที่ประกอบเป็นอุปกรณ์สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

- 1.5.1 ได้ต้นแบบระบบเซนเซอร์วัดและควบคุมอุณหภูมิที่ประกอบเป็นอุปกรณ์สำหรับเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
- 1.5.2 สามารถสร้างหรือใช้ระบบตรวจวัดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการได้
- 1.5.3 พัฒนาเครื่องมือที่มีอยู่และจัดหาใหม่ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น
- 1.5.4 สามารถวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้
- 1.5.5 พัฒนาบุคลากรในการวิจัยด้านสิ่งประดิษฐ์นาโนเทคโนโลยี
- 1.5.6 เป็นการพัฒนาความร่วมมือในการทำงานระหว่างหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภายในและภายนอกให้ดียิ่งขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 หลักการทำงานของการทำงานของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

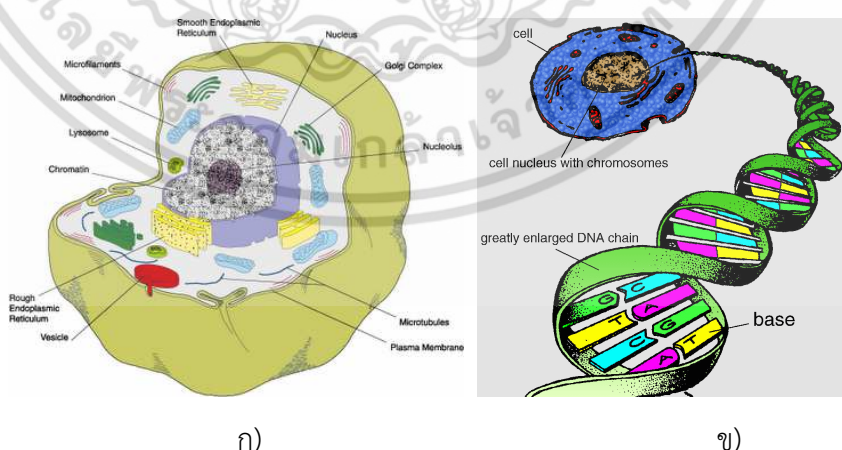
2.1.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอ (DNA) เป็นชื่อย่อของสารพันธุกรรม ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) ซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิก (กรดที่พบในใจกลางของเซลล์ทุกชนิด) ที่พบในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ คน, สัตว์, พืช, เชื้อรา, แบคทีเรีย, ไวรัส เป็นต้น ดีเอ็นเอบรรจุข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นไว้ ซึ่งมีลักษณะที่ผสมผสานมาจากสิ่งมีชีวิตรุ่นก่อน ซึ่งก็คือ พ่อและแม่ และสามารถถ่ายทอดไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นถัดไป ซึ่งก็คือ ลูกหลาน

ดีเอ็นเอมีรูปร่างเป็นเกลียวคู่ คล้ายบันไดลิงที่บิดตัว ขาของบันไดแต่ละข้างก็คือการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) นิวคลีโอไทด์เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยน้ำตาล, ฟอสเฟต (ซึ่งประกอบด้วย ฟอสฟอรัส และ ออกซิเจน), และเบส (หรือด่าง) นิวคลีโอไทด์มีอยู่สี่ชนิด ได้แก่ อะดีนีน (Adenine, A), ไทมิน (Thymine, T), ไซโตซีน (Cytosine, C), และกัวนีน (Guanine, G) ขาของบันไดสองข้างหรือนิวคลีโอไทด์ถูกเชื่อมด้วยเบส โดยที่ A จะเชื่อมกับ T และ C จะเชื่อมกับ G เท่านั้น (ในกรณีของดีเอ็นเอ) และข้อมูลทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เกิดขึ้นจากการเรียงลำดับของเบสในดีเอ็นเอนั่นเอง

การจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนของคู่เบสนั้น เป็นการเข้าคู่ที่จำเพาะ คือ C จะจับกับ G ด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ และ A จับกับ T ด้วยพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะ

ผู้ค้นพบดีเอ็นเอ คือ ฟร็ดริช มีสเซอร์ ในปี พ.ศ. 2412 (ค.ศ. 1869) แต่ไม่ทราบว่ามีการสร้างอย่างไร จนในปี พ.ศ. 2496 (ค.ศ. 1953) เจมส์ ดี. วัตสัน และ ฟรานซิส คริก เป็นผู้ไขความลับโครงสร้างของดีเอ็นเอ และนับเป็นจุดเริ่มต้นของยุคเทคโนโลยีทางดีเอ็นเอ



รูปที่ 2.1 ก) ส่วนประกอบของเซลล์ ข) ลักษณะของดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียส [1, 2]

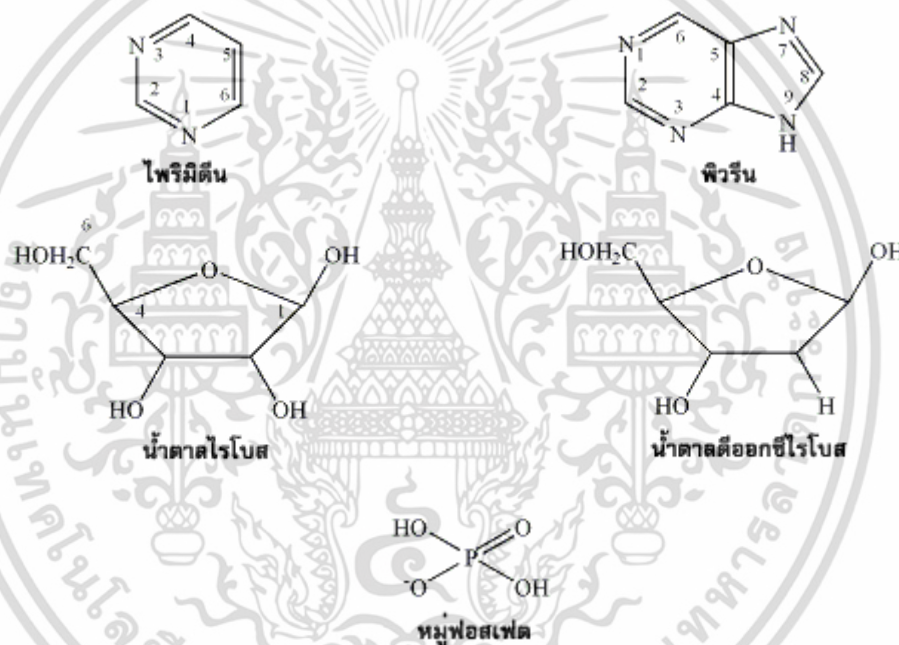
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดนิวคลีอิก

กรดนิวคลีอิก หรือพอลินิวคลีโอไทด์ (Polynucleotide) จัดเป็นสาร พวกแมโครโมเลกุล เป็นโพลีเมอร์ของนิวคลีโอไทด์เรียกว่า Polynucleotide ที่พบอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกเซลล์ ได้แก่ ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic Acid: DNA) ซึ่งทำหน้าที่นำพาลักษณะพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ และ อาร์เอ็นเอ (Ribonucleic Acid: RNA) ซึ่งมีหน้าที่ในการซ่อมแซม สร้างเซลล์ ควบคุมการเจริญเติบโต และสังเคราะห์สารต่างๆ ภายในเซลล์

โครงสร้างของนิวคลีโอไทด์

นิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) เป็น หน่วยย่อยของพอลินิวคลีโอไทด์ ซึ่งแต่ละนิวคลีโอไทด์จะประกอบด้วย น้ำตาลชนิดคาร์บอน 5 อะตอม (Pentose) ฟอสเฟต (Phosphate) และน้ำตาลที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Nitrogenous Base)

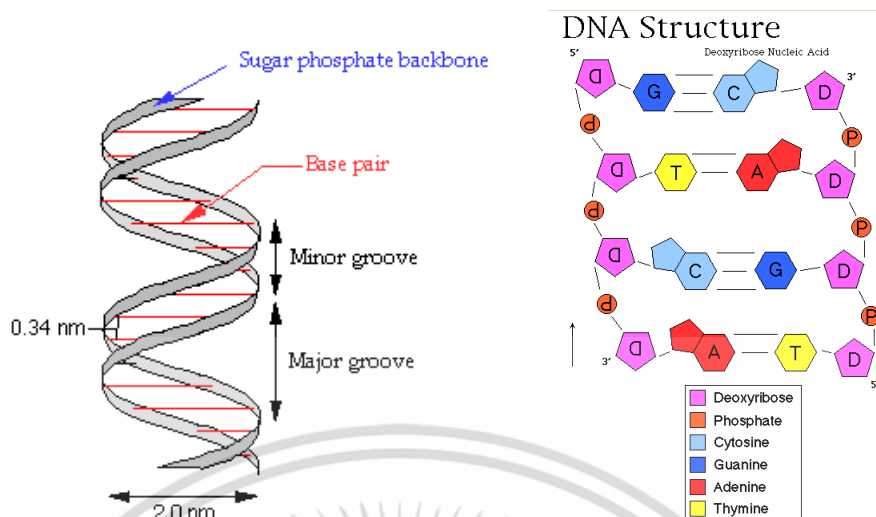


รูปที่ 2.2 องค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ [3]

การจับคู่เบสอย่างจำเพาะมีประโยชน์คือ เมื่อเราทราบการเรียงลำดับเบสของโพลีดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ สายหนึ่งแล้ว ก็จะรู้การเรียงลำดับเบสของโพลีดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ในสายที่เข้าคู่กันด้วย เรียกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถเข้าคู่กันได้นี้ว่า Complementary Base Sequence

การเสียสภาพของดีเอ็นเอ (Denaturation) หมายถึง การทำให้ดีเอ็นเอ ซึ่งเคยเป็นสายคู่แยกตัวออกมาเป็นสายเดี่ยว สิ่งที่ทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ ได้แก่ ความร้อน, กรด, ด่าง, รังสีเอกซ์ และยูเรีย เป็นต้น ดีเอ็นเอที่เสียสภาพธรรมชาติไปแล้ว ถ้าปรับสิ่งแวดล้อมใหม่ให้เหมาะสมมันจะสามารถคืนสภาพธรรมชาติได้ใหม่ ตัวอย่างเช่น ในเทคนิค Hybridization จะมีกระบวนการที่ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพธรรมชาติ ด้วยความร้อนก่อน แล้วให้คืนสภาพธรรมชาติใหม่ด้วยการค่อยๆ ลดอุณหภูมิลง ซึ่งเป็นเทคนิคที่นำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

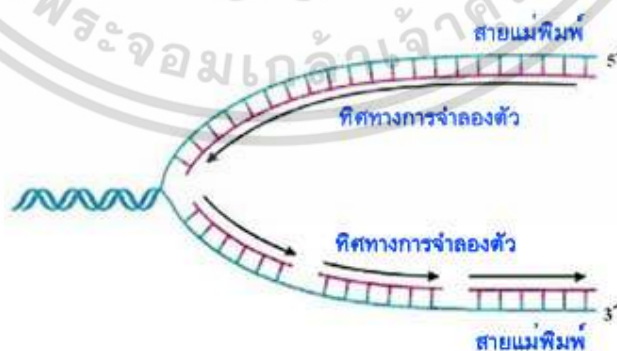
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 ก) ภาพจำลองโครงสร้างของดีเอ็นเอ ข) ภาพจำลองการจับคู่เบส [4]

การจำลองดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอสามารถเพิ่มจำนวนโดยการจำลองตัวเองได้ (Self Replication) ซึ่งเป็นคุณสมบัติพิเศษที่สำคัญมากในการทำหน้าที่ถ่ายลักษณะทางพันธุกรรมจากสิ่งมีชีวิตรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่ง การจำลองตัวของดีเอ็นเอเริ่มจากการคลายเกลียวออกจากกันแล้วใช้สายพอลินิวคลีโอไทด์สายใดสายหนึ่งใน 2 สายเป็นแม่พิมพ์ (Template) ในการสร้างสายใหม่ขึ้นมา ซึ่งสุดท้ายดีเอ็นเอที่จำลองใหม่จะประกอบด้วยสายพอลินิวคลีโอไทด์ สายเดิมและสายใหม่ โดยเรียกการจำลองตัวเองแบบนี้ว่า การจำลองแบบกึ่งอนุรักษ์ (Semiconservative) นอกจากนี้ ดีเอ็นเอยังทำหน้าที่เป็นแม่แบบของการสร้างสายอาร์เอ็นเอดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งกระบวนการต่างๆ เหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์จำเพาะหลายชนิดในการควบคุมปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เช่น ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA Polymerase) อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA Polymerase) เฮลิเคส (Helicase) ไลเกส (Ligase) เป็นต้น



รูปที่ 2.4 การจำลองดีเอ็นเอ [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในยุคแรกๆนั้นการศึกษาดีเอ็นเอในปริมาณน้อยๆ ทำได้ยาก จนกระทั่งถึงปี พ.ศ. 2526 Karry B. Mullis นักชีวเคมีชาวอเมริกันคิดค้นวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างรวดเร็วที่เรียกว่า Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยเลียนแบบกลไกธรรมชาติ เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการก็จะได้ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าและเมื่อทำซ้ำๆ หลายสิบลรอบก็จะได้ปริมาณที่มากพอที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆมากมาย เช่น การปรับปรุงพันธุ์สิ่งมีชีวิตเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ การเกษตร และอุตสาหกรรม การวินิจฉัยและรักษาโรคพันธุกรรม การอนุรักษ์พันธุกรรมและความหลากหลายทางชีวภาพ การประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เป็นต้น จากเทคนิคดังกล่าวข้างต้นทำให้เราสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้มากมายภายในเวลาอันรวดเร็ว และเราสามารถใช้ประโยชน์จากเทคนิคนี้ได้อย่างมากมาย เช่น

ประโยชน์ด้านการแพทย์

ใช้ในการวินิจฉัยโรคต่าง ๆ ทั้งโรคติดเชื้อและโรคจากพันธุกรรม ได้แก่ การตรวจหาเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรค เช่น เอชไอวี, วัณโรค, มาลาเรีย แม้มีเชื้อโรคในตัวอย่างที่ส่งมาตรวจจำนวนน้อย ทำให้การวินิจฉัยโรคเพื่อป้องกันและรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และใช้เวลาน้อยลง

ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดขั้นตอนยุ่งยากต่างๆ ที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อน และนอกจากยืนยันว่าเป็นโรคนั้นๆ ด้วยความไวและความจำเพาะสูงแล้ว ยังบอกความรุนแรงของโรคได้ด้วย

ตารางที่ 2.1 ตารางเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยโรคใช้หัตถ์โดยวิธีต่างๆ

วิธีตรวจสอบ	เวลาที่ใช้ตรวจสอบ	ความจำเพาะ
ใช้วิธีตรวจวินิจฉัยโดยการเพาะเชื้อในไข่ไก่	5-10 วัน	100%
ใช้ชุดตรวจที่ใช้กับเครื่องพีซีอาร์	1 วัน	100%
ใช้ชุดตรวจที่ใช้กับเครื่องพีซีอาร์ (แบบเรียลไทม์)	1-3 ชั่วโมง	100%

ประโยชน์ด้านการเกษตร

มีประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัยโรคพืช การตรวจสอบสายพันธุ์พืช นอกจากนี้แล้วเทคนิคพีซีอาร์ ยังช่วยให้เข้าใจพันธุกรรมของเชื้อโรคพืช ตลอดจนการนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส หรือเชื้อสาเหตุโรคอื่น ๆ

นำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศจำนวนมาก โดยใช้เทคนิคนี้ตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคในกุ้ง เช่น เชื้อไวรัส ช่วยป้องกันการแพร่ระบาดของโรคได้ทันทั่วทั้งที่ นอกจากนี้ยังนำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์กุ้งที่ดีเพื่อใช้ในการผสมพันธุ์ซึ่งมีความแปรปรวนพันธุกรรม (Genetic Diversity หรือ Variation) สูง

ประโยชน์ด้านการศึกษาจีโนม

มีประโยชน์ในการศึกษาความผันแปรหรือกลายพันธุ์ของยีน การทำแผนที่ยีน และการศึกษาลำดับเบสของสิ่งมีชีวิต นำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งในงานวิจัยทางชีววิทยาโมเลกุลและพันธุวิศวกรรม เช่น การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน (Gene Sequencing) การสร้างดีเอ็นเอตรวจติดตาม (DNA Probe) และการวิจัยอื่นๆ

โครงการระดับนานาชาติ เช่น โครงการศึกษาจีโนมมนุษย์ (Human Genome Project) ก็ใช้เทคนิคพีซีอาร์สืบหาดำแหน่งยีนแต่ละยีนของมนุษย์

ประโยชน์ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

โดยการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมทางนิติวิทยาศาสตร์จากวัตถุพยานทางชีวภาพ ที่เก็บรวบรวมได้จากสถานที่เกิดเหตุ เช่น คราบโลหิต, คราบอสุจิ หรือตัวอสุจิ เป็นต้น ทั้งในบุคคลที่มีชีวิต หรือจากศพ ชิ้นส่วนของศพ ชิ้นส่วนกระดูก เพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานประกอบการพิจารณาคดี สนับสนุนกระบวนการยุติธรรม รวมถึงการตรวจรูปแบบสารพันธุกรรมเพื่อพิสูจน์บุคคล พิสูจน์บุตร หรือหาความสัมพันธ์ทางเครือญาติที่สืบเชื้อสายจากบรรพบุรุษเดียวกัน [6,7]

2.1.2 หลักการและวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ PCR (Polymerase Chain Reaction) หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอให้มีจำนวนมากขึ้นเป็นล้านเท่าภายในเวลาอันรวดเร็ว โดยจะทำในหลอดทดลอง ซึ่งเทคนิคดังกล่าวถูกคิดค้นมาขึ้นเมื่อปี 2528 โดย แกรี มุลลิส (Kary B. Mullis) และคณะ แห่งบริษัทซีตัส (Cetus Corporation) สหรัฐอเมริกา และทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบลในปี 2537 ซึ่งต่อมาในภายหลังเทคนิคดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก และสร้างประโยชน์อย่างมากมาต่อมวลมนุษยชาติ

หลักการทำงานของเทคนิคพีซีอาร์

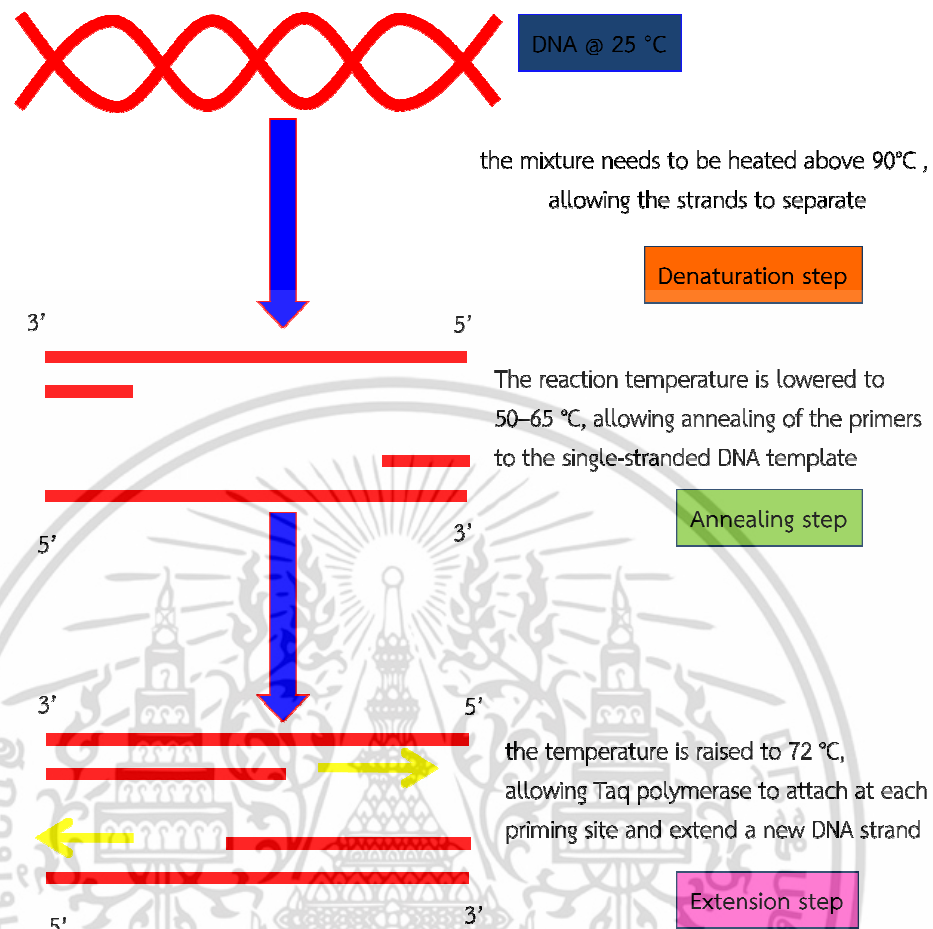
เทคนิคดังกล่าวนี้ ใช้หลักการพื้นฐานในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ด้วยการจำลองสายดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นจากสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบหนึ่งสาย ด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) โดยใช้ดีเอ็นเอเริ่มต้นหรือไพรเมอร์ (Primer) 1 คู่ ทำให้สังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ครั้งละ 2 สายพร้อมกัน ซึ่งจะประกอบไปด้วยปฏิกิริยาสำคัญ 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน จนได้ปริมาณดีเอ็นเอตามที่ต้องการ ดังแสดงในรูปที่ 2.5

ขั้นแรก เรียกว่า Denaturation เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิในช่วง 92-95 องศาเซลเซียส

ขั้นที่สอง เรียกว่า Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงอยู่ในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส และใช้ไพรเมอร์ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ (ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 17-24 เบส) ที่มีลำดับเบสเป็นเข้าคู่กับสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน

ขั้นที่สาม เรียกว่า Extension หรือ Synthesis of New DNA ซึ่งเป็นขั้นตอนการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลายของไพรเมอร์ (ที่ใส่เข้าไปในขั้นที่สอง) ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสายโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA Polymerase) ซึ่งเอนไซม์นี้ทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72-75 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แผนภูมิขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

จากขั้นตอนที่ 1-3 ซึ่งนับเป็นจำนวน 1 รอบ (One Cycle) ให้ผลผลิตเป็นดีเอ็นเอสายคู่ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (หรือเข้ากัน) กับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบ เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า และเมื่อจัดให้ เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จากขั้นที่ 1 ถึง 3 หมุนเวียนไปอีกหลาย ๆ รอบ จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้จำนวนมาก ประมาณว่าปฏิกิริยา 30 - 40 รอบ สามารถเพิ่มปริมาณสารดีเอ็นเอได้ไม่น้อยกว่าพันล้านเท่า ดังนั้น แม้ตัวอย่างที่นำมาศึกษามีปริมาณสารพันธุกรรมน้อยมาก เราก็ใช้เทคนิคพีซีอาร์เพิ่มจำนวนได้หลายเท่าทวีคูณ

สิ่งจำเป็นในการทำพีซีอาร์

DNA แม่แบบ (DNA Template) ซึ่งข้อดีของเทคนิคพีซีอาร์นี้คือใช้ตัวอย่าง DNA ที่สกัดจากตัวอย่าง เช่น เลือด เนื้อเยื่อ เพียงเล็กน้อย (ประมาณ 5 ไมโครลิตร) ก็สามารถนำมาเพิ่มจำนวนได้มากมายแล้ว

1. เอนไซม์ DNA Polymerase ซึ่งจะใช้นิโคตัส ซึ่งสามารถทนความร้อนได้สูง นั่นคือ Taq Polymerase โดยสกัดมาจากแบคทีเรีย (*Thermus aquaticus*) ที่อาศัยในน้ำพุร้อนและสามารถทนความร้อนได้ดี เนื่องจากการทำพีซีอาร์ต้องมีการทำให้ส่วนผสมในหลอดทดลองมีอุณหภูมิสูงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเป็นเจ้าของโดยผู้อื่น มิฉะนั้น กรุณาแจ้งให้ทราบเป็นกรณีไป การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ไพรเมอร์ (DNA Primer) เป็น DNA สายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (Complementary) กับ DNA แม่แบบ ซึ่งจะเข้าคู่กับด้าน 3' ของ DNA แม่แบบ โดยไพรเมอร์ทำหน้าที่เป็นจุดเริ่มต้นในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ ก่อนที่จะเริ่มทำพีซีอาร์ได้นั้น เราต้องทราบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA แม่แบบบริเวณช่วงปลายของส่วนที่เราต้องการเพิ่มจำนวนก่อน เพื่อนำมาสังเคราะห์ไพรเมอร์

3. นิวคลีโอไทด์ (Deoxynucleotide Triphosphates, dNTPs) ทั้ง 4 ชนิด (A T C และ G) เพื่อที่จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์สาย DNA สารทั้งหมดนี้จะละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ เพื่อควบคุมให้เกิดภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา ภายในหลอดทดลองขนาดเล็ก (ปริมาตร 200-500 ไมโครลิตร) จากนั้นนำหลอดส่วนผสมไปใส่ในเครื่องเทอร์มอลไซเคลอร์ (Thermal Cycler หรือ PCR Machine) ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามขั้นตอนที่ตั้งไว้ โดยปฏิกิริยา PCR 25-40 รอบจะใช้เวลาประมาณ 1.5 -5 ชั่วโมง หลังจากทำปฏิกิริยาจะได้สาย DNA สายใหม่จำนวนมากที่ถูกกำหนดตามขนาดของระยะห่างของไพรเมอร์ทั้งสองสายที่จับกับ DNA แม่แบบ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจสอบด้วย Agarose Gel Electrophoresis

เนื่องจากดีเอ็นเอที่เกิดจากเทคนิคนี้ในหลอดทดลอง มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ดังนั้นเพื่อตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิต ต้องนำตัวอย่างที่ทำพีซีอาร์ มาแยกหาดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Agarose Gel Electrophoresis) ซึ่งเป็นการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น (Agarose gel) โดยระยะทางที่ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ไปได้ขึ้นกับขนาดของดีเอ็นเอ และกระแสไฟฟ้าที่ใช้ ดีเอ็นเอที่แยกโดยวิธีนี้ มองเห็นได้เมื่อย้อมด้วยสีพิเศษ ซึ่งเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต เมื่อส่องดูด้วยเครื่องมือสำหรับบันทึก และพิมพ์ภาพแถบสารพันธุกรรมจากเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

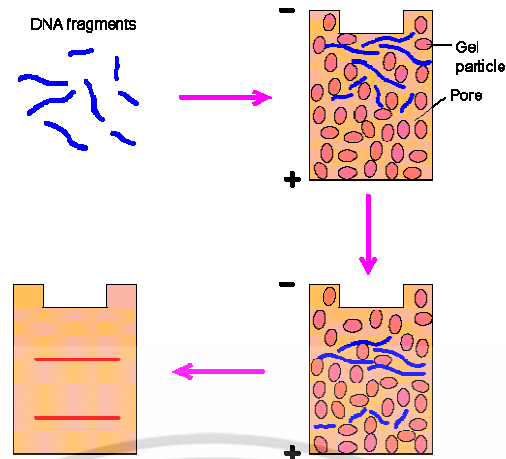
อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Agarose Gel Electrophoresis) เป็นกระบวนการที่ใช้แยก DNA ของสารตัวอย่างบนแผ่นเจลที่แช่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ โดยใช้ไฟฟ้าเพื่อตรวจหาองค์ประกอบของ DNA ในสารตัวอย่างเพื่อประโยชน์ในการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของสารตัวอย่าง



รูปที่ 2.6 เครื่องเทอร์มอลไซเคลอร์

Agarose เป็นสายพอลิเมอร์ ของ D-galactose และ 3,6-anhydro-L-galactose เมื่อเตรียมแผ่นเจล โดยต้มสารละลาย Agarose ในบัฟเฟอร์แล้วเทลงในถาดเตรียมเพื่อให้แข็งตัวเมื่อเย็น จะได้เจลที่มีรูพรุนใหญ่ จึงใช้แยกสารที่มีขนาดใหญ่ เช่น กรดนิวคลีอิก ซึ่งขนาดรูพรุนขึ้นกับความเข้มข้นของ Agarose (เมื่อความเข้มข้นสูงรูพรุนจะเล็กลง) เมื่อให้สนามไฟฟ้าที่ Neutral pH โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกจะมีประจุลบและ เคลื่อนที่ไปยังขั้วบวกด้วยความเร็วที่ขึ้นกับขนาดโมเลกุล (Molecular size) และโครงสร้าง (Conformation) เมื่อ Charge/Mass Ratio ของกรดนิวคลีอิก = 1 ทำให้อัตราเร็วในการเคลื่อนที่แปรผกผันกับ \log_{10} ของ น้ำหนักโมเลกุลของมัน กรดนิวคลีอิกขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าขนาดใหญ่ รูปที่ 2.7 และถ้าขนาดเท่ากันแต่มีรูปร่าง ต่างกันจะมีอัตราเร็วต่างกัน โดยลำดับของความเร็วในการเคลื่อนที่ของแต่ละรูปแบบของกรดนิวคลีอิก พบว่า Supercoiled DNA > Linear Double Stranded DNA > Circular DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 ลักษณะการเคลื่อนที่ของสารพันธุกรรมที่มีขนาดต่างกันบนแผ่นวุ้น [8]

Buffers ที่ใช้ คือ Tris Acetate (TAE) Tris Borate (TBE) และ Tris Phosphate (TPE) ที่ความเข้มข้น 50 mM pH 7.5-8.0 และมี EDTA เพื่อยับยั้ง activity ของ DNase ส่วนสีที่ใช้ย้อมเป็น Fluorescent Compound (Aromatic Cation) ที่จับกับ Double Stranded DNA โดยเข้าไปแทรกตัว (Intercalate) อยู่ระหว่าง Base Pair ที่ซ้อนกัน เช่น เอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidium Bromide) เมื่อฉายแสง UV จะให้ Fluorescence มองเห็นเป็น Band ของ DNA เรืองแสง



รูปที่ 2.8 การแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นอะกาโรสเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 การแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นอะกาโรสเจล



รูปที่ 2.10 เครื่องมือสำหรับบันทึกและพิมพ์ภาพแถบสารพันธุกรรมจากเจลอิเล็กโทรโฟไรซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 ภาพถ่ายแผ่นอะกาโรสเจล ที่ผ่านขบวนการ Electrophoresis เรียบร้อยแล้ว
ลักษณะของ Band และ Lane ที่เกิด

2.1.3 Conventional PCR

เนื่องจากพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic Acid: DNA) ซึ่งมีความจำเป็นมากสำหรับงานเกี่ยวกับการศึกษาทางด้านโมเลกุล รวมทั้งยังมีการนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านต่างๆ มากมาย เช่น ทางด้านการวินิจฉัยโรค การตรวจโรค ทางด้านอาหาร การตรวจสารปนเปื้อน ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ และทางด้านการเกษตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นเทคนิคที่มีการนำไปใช้งานอย่างแพร่หลาย จึงได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเป็นเครื่องมือที่มีมาตรฐาน ซึ่งเป็นเครื่องที่รู้จักทางการค้าว่า “Conventional PCR”

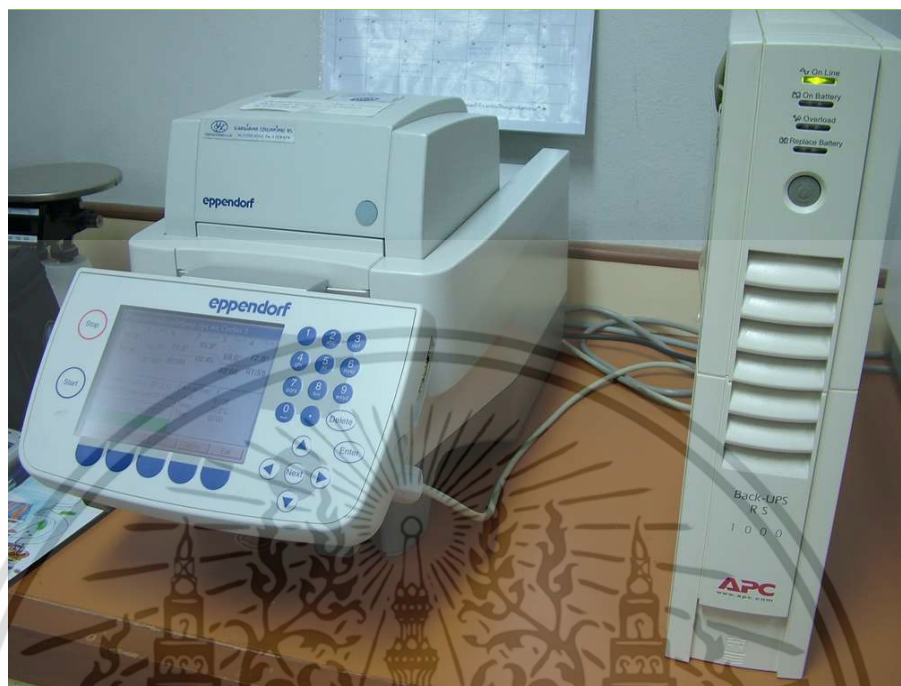
สำหรับเครื่อง Conventional PCR ก็จะมีประกอบด้วย 2 ส่วนหลักๆ ที่สำคัญ คือ ส่วนที่เป็นตัวทำความร้อน สำหรับการควบคุมอุณหภูมิตามปฏิกิริยาของพีซีอาร์ และมีช่องสำหรับใส่หลอดสำหรับการทำพีซีอาร์ (PCR Tube) จะเห็นได้ว่าส่วนของการควบคุมอุณหภูมิถือว่าเป็นส่วนที่สำคัญมากสำหรับการทำพีซีอาร์

โดยเครื่อง Conventional PCR ในปัจจุบันมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มความสะดวกสบายต่อผู้ใช้งาน โดยที่ผู้ใช้งานสามารถที่จะทำการตั้งโปรแกรมเพื่อกำหนดจำนวนรอบที่จะใช้ในการทำพีซีอาร์ เวลาและอุณหภูมิที่จะใช้ในแต่ละช่วงอุณหภูมิ โดยอย่างยิ่งเฉพาะรุ่นใหม่ๆ ผู้ใช้งานสามารถที่จะใช้งานและควบคุมผ่านทางคอมพิวเตอร์ได้อย่างสะดวก เนื่องจากจะเพิ่มช่องสำหรับการเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ไว้

สำหรับตัวอย่างของเครื่อง Conventional PCR ของ Eppendorf Master Cycler จะแสดงดังรูปที่ 2.12 โดยจะมีขนาดของเครื่องโดยรวม คือ 26 เซนติเมตร× 41 เซนติเมตร× 27 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว×สูง) และมีน้ำหนัก 2.4 กิโลกรัม โดยค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิจะอยู่ที่ ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส/วินาที และอัตราการลดลงของอุณหภูมิ ประมาณ 2 องศาเซลเซียส/วินาที โดยใช้กำลังไฟฟ้าถึง 500 วัตต์



รูปที่ 2.12 เครื่อง Conventional PCR (Eppendorf Master Cycler)

จะเห็นได้ว่าเครื่อง Conventional PCR นั้นมีประโยชน์มากสำหรับผู้ใช้งานที่ทำงานทางด้านเกี่ยวกับการศึกษาในเชิงโมเลกุล แต่ถึงอย่างไรก็ตามในปัจจุบันเครื่อง Conventional PCR ยังมีราคาที่ยังค่อนข้างสูง ขนาดของเครื่องมีขนาดใหญ่ ไม่สามารถที่จะนำไปใช้งานภายนอกห้องปฏิบัติการได้ และผู้ที่ใช้งานต้องมีความเชี่ยวชาญเฉพาะ รวมทั้งยังสิ้นเปลืองพลังงานอีกด้วยจึงทำให้มีใช้งานกันเฉพาะห้องปฏิบัติการที่ทำเฉพาะด้านหรือโรงพยาบาลขนาดใหญ่เท่านั้น

2.2 PCR chip

ถึงแม้ว่าเครื่อง Conventional PCR จะมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพที่ดีแล้ว แต่ก็พบว่า ยังมีปัญหาในเรื่องของราคาที่สูงและขนาดใหญ่ ด้วยความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยี ทำให้มีการวิจัย หรือ ได้พยายามที่จะพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อจะทำให้เครื่องพีซีอาร์มีขนาดเล็ก (PCR Chip) แต่ยังคงที่จะมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับเครื่อง Conventional PCR โดยกลุ่มวิจัยของ Northrop et al เป็นนักวิจัยกลุ่มแรกที่สามารถสร้าง PCR Chip ออกมาได้สำเร็จทำให้เป็นที่สนใจของนักวิจัยในอีกหลายกลุ่มมากมายที่ได้พยายามที่จะนำแนวคิดของ PCR Chip รุ่นแรกมาทำการพัฒนาต่อโดยวัตถุประสงค์หลักๆ สำหรับการพัฒนาอุปกรณ์ PCR Chip นั้นจะเกี่ยวข้องกับการเลือกฐานรองรับที่จะนำมาใช้ การออกแบบ PCR Chip หรือโครงสร้างของอุปกรณ์ขนาดเล็ก รวมทั้งปริมาณของสารที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ ความเร็วหรือเวลาที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ และส่วนที่สำคัญมากอีกส่วนก็คือ ส่วนของการควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับการทำพีซีอาร์ โดยมีหลายบทความวิจัยที่ได้ทำการรวบรวมงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาอุปกรณ์ PCR Chip [9-12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 แนวคิดในการพัฒนาอุปกรณ์ PCR Chip

PCR Chip หรือจะเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า PCR Microfluidics เป็นเทคนิคที่มีความสำคัญมากในหลายๆด้าน เช่น ทางด้านการแพทย์ ทางด้านชีววิทยา ทางด้านอาหาร ทางด้านความมั่นคง แม้แต่ทางด้านการเกษตร ก็จำเป็นต้องใช้เทคนิคพีซีอาร์ ดังนั้นนักวิจัยหลายๆ สาขาจึงพยายามที่จะลดขนาดของอุปกรณ์พีซีอาร์ให้มีขนาดเล็กลง เนื่องจากจะทำให้สามารถที่จะลดค่าใช้จ่ายในการสร้างและการนำไปใช้งาน ลดเวลาในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ลดการสิ้นเปลืองสารตัวอย่างในการทำพีซีอาร์ เนื่องจากสารดังกล่าวมีราคาที่สูง ลดการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในส่วนที่ไม่ต้องการ (Non-Specific Products) และพยายามที่จะทำให้สามารถนำไปใช้งานภายนอกห้องปฏิบัติการได้หรือแบบพกพา

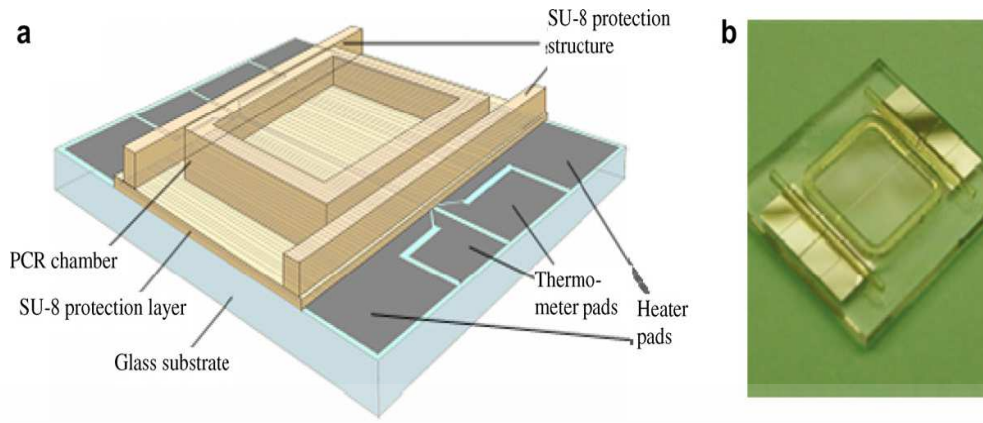
2.2.2 ฐานรองรับที่นำมาใช้ในการสร้าง PCR Chip

โดยอุปกรณ์ PCR chip จะสร้างจากวัสดุที่เป็นซิลิคอน (Si) [5-12] หรือฐานรองรับที่เป็นกระจก [10-12] รวมทั้งยังมีการพัฒนาที่จะนำพอลิเมอร์มาใช้สำหรับเป็นฐานรองรับด้วย เช่น Polydimethylsiloxane (PDMS) [13-19] ซึ่งเป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมมากสำหรับอุปกรณ์ทางด้าน Microfluidics วัสดุ Polycarbonate (PC) [20,21] และ Polymethylmethacrylate (PMMA) [22] ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มทางเลือกที่จะสามารถนำมาใช้สำหรับเป็นฐานรองรับในการพัฒนา PCR Chip และวัสดุที่เริ่มมีการนำมาใช้ในอุปกรณ์ PCR Chip เช่น SU-8 [23], Cyclic Olefin Copolymer (COC) โดยฐานรองรับแต่ละชนิดก็จะมีสมบัติหรือลักษณะที่แตกต่างกัน ซึ่งแน่นอนว่าสารตัวอย่างก็จะมีทั้งข้อดีและข้อเสีย ถ้าจะเลือกวัสดุที่มีการนำความร้อนดี และมีเครื่องมือที่ช่วยในการอำนวยความสะดวกต่างๆ ก็จะต้องคิดถึงซิลิคอนเป็นอันดับแรก แต่สิ่งที่ตามมาคือ ซิลิคอนจะเป็นตัวที่ยับยั้งปฏิกิริยาของการทำพีซีอาร์ และการที่มีค่าของการนำความร้อนสูงมากนั้น ก็จะทำให้ต้องมีการเพิ่มขึ้นของฉนวนทางความร้อนเข้ามาช่วยและมีข้อจำกัดในเรื่องของการนำไปวิเคราะห์ทางแสง จึงทำให้กระจกและ PDMS เป็นตัวเลือกที่น่าสนใจ

2.2.3 โครงสร้างสำหรับอุปกรณ์ PCR chip

สำหรับโครงสร้างของอุปกรณ์ PCR chip จะแบ่งตามลักษณะของการเคลื่อนที่ของของเหลว จะแบ่งออกได้เป็น 2 แบบใหญ่ๆ คือ แบบที่ของเหลวอยู่นิ่งกับที่ (Stationary PCR Chamber) และของเหลวไหลเคลื่อนที่ในท่อขนาดเล็ก (Continuous Flow PCR) ซึ่งแต่ละแบบจะมีทั้งข้อดีและข้อเสียต่างกัน ขึ้นอยู่กับการนำไปใช้งาน

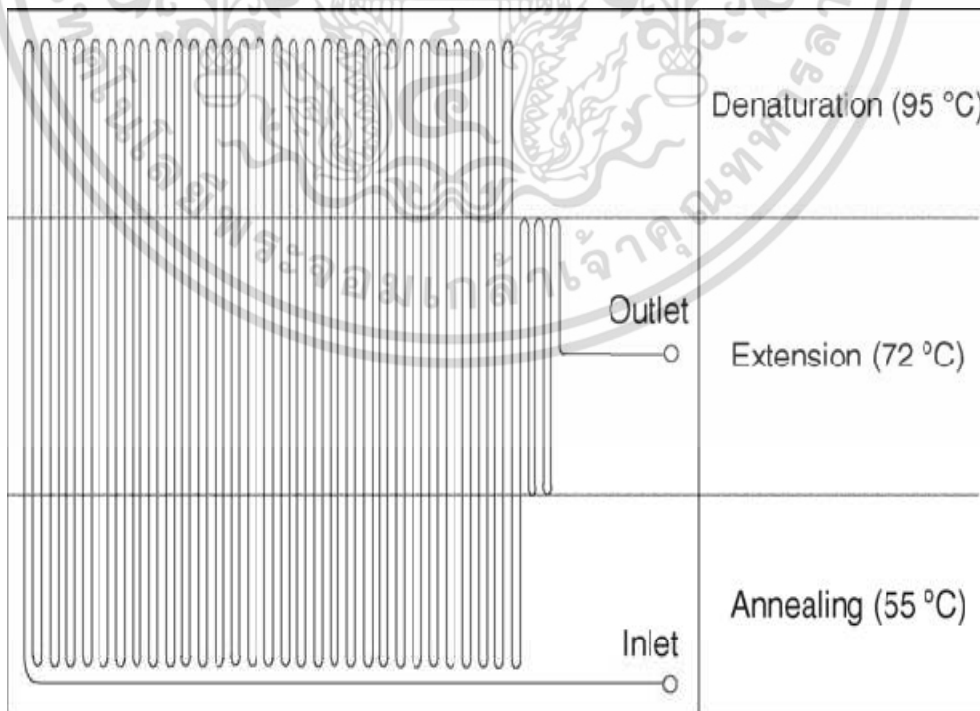
1. Stationary PCR Chamber ในรูปแบบนี้จะเป็นรูปแบบที่ของเหลวอยู่กับที่ภายใน Chamber โดยจะทำการเก็บสารตัวอย่างให้อยู่ภายใน Chamber และทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตามหลักการของพีซีอาร์ โดย PCR Chip ลักษณะนี้ได้ถูกพัฒนาโดยทีมนักวิจัยของ Northrop et al. ในปี 1993 [24] ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา PCR Chip ในรูปแบบนี้ได้ถูกนำมาเป็นแบบอย่างในการพัฒนาอย่างกว้างขวาง นับได้ว่า ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา งานวิจัยทางด้านลดขนาดของอุปกรณ์ PCR Chip ได้รับความสนใจอย่างสูง โดยลักษณะโครงสร้างของ PCR Chip จะแสดงได้ดังรูปที่ 2.13 [8-9,14, 17-20, 24-26]



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะโครงสร้างของอุปกรณ์พีซีอาร์แบบ Stationary PCR Chamber

สำหรับข้อดีของรูปแบบนี้ ค่อนข้างที่จะมีความยืดหยุ่นสำหรับการกำหนดจำนวนรอบของการทำพีซีอาร์ สามารถที่จะเปลี่ยนแปลงสารตัวอย่างได้ตามขนาดของ Chamber ส่วนข้อเสียก็คือ ค่อนข้างยากที่จะทำให้เป็นระบบที่สมบูรณ์โดยตัวเอง เช่น มีการลดปริมาณของการเพิ่มของดีเอ็นเอ หลังจากที่ทำพีซีอาร์เสร็จ ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนระหว่างการเปลี่ยนสารตัวอย่าง การระเหยของสารตัวอย่างในขณะที่ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

2. Continuous flow PCR ในรูปแบบนี้ของเหลวจะมีการไหลผ่านส่วนของตัวทำความร้อนตามช่วงที่กำหนด ซึ่งวิธีนี้จะทำให้สามารถที่จะปรับเปลี่ยนความเร็วของการทำพีซีอาร์ ที่เป็นแบบ continuous นั้น ทีมวิจัยกลุ่มแรกที่ได้มีการนำเสนอคือกลุ่มของ Kopp et al. ในปี 1998 [27] โดยใช้ทองแดงเป็นส่วนของตัวทำความร้อน ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งมีนักวิจัยหลายกลุ่มได้ร่วมกันพัฒนาต่อ [1, 16, 22, 28-31] ซึ่งรูปแบบนี้จะมีทั้งข้อดีและข้อเสียเช่นกัน



รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะโครงสร้างของอุปกรณ์พีซีอาร์แบบ Continuous Flow PCR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการใช้งานเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเนื้อหาเว็บไซต์มีการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงข้อดี ข้อเสียของรูปแบบโครงสร้างสำหรับอุปกรณ์ PCR Chip

Stationary PCR Chamber	Continuous Flow PCR
1. ประหยัดพลังงาน	1. สามารถปรับแต่งอัตราการไหลของของเหลวได้ตามต้องการ
2. ควบคุมของเหลวและอุณหภูมิภายในไมโครแชมเบอร์ได้ตามต้องการ	2. ไม่ต้องการระบบที่ช่วยทำให้ Cooling rate เพิ่มขึ้น
3. ลดการ Interfere ของอุณหภูมิในแต่ละช่วงได้	3. รอยต่อของช่วงอุณหภูมิอาจทำให้ประสิทธิภาพในการ Amplify ลดลงได้
4. ไม่เหมาะสำหรับการนำกลับมาใช้ซ้ำ	4. สามารถเพิ่มจำนวนรอบของการทำพีซีอาร์ได้

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ Polydimethylsiloxane (PDMS) สำหรับนำมาหล่อเป็นไมโครแชมเบอร์ เนื่องจากพอลิเมอร์ชนิดนี้มีข้อดีคือ

1. ใช้งานได้ง่าย
2. มีราคาไม่สูงมาก
3. เป็นมิตรกับสารชีวโมเลกุล
4. มีความโปร่งแสง
5. ยึดหยุ่นได้ดี
6. ไม่ก่อให้เกิดพิษแก่ผู้ใช้งาน

2.2.4 ตัวทำความร้อนและการควบคุมอุณหภูมิสำหรับ PCR Chip

จากที่ทราบกันแล้วส่วนสำคัญของอุปกรณ์ PCR Chip ก็คือส่วนของตัวทำความร้อน ซึ่งจะเป็นตัวชี้วัดพารามิเตอร์ต่างๆ ของอุปกรณ์ PCR chip เช่น เวลาที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ รวมถึงประสิทธิภาพของการทำพีซีอาร์ หรือ PCR Product

ถึงอย่างไรก็ตาม การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ จะประสบความสำเร็จหรือมีประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใด การควบคุมอุณหภูมิถือว่าเป็นส่วนสำคัญอย่างมาก โดยตัวควบคุมอุณหภูมิจะต้องมีความแม่นยำ และอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิสูง ไม่สิ้นเปลืองพลังงาน โดยจะขอกกล่าวรายละเอียดเฉพาะในส่วนของตัวทำความร้อนที่ใช้ในแบบสัมผัสเท่านั้น (Contact Heating Methods) ซึ่งแบบที่เป็น Contact Heating นั้นจะมี 2 แบบหลักๆ คือ แบบที่เป็นตัวทำความร้อนสำเร็จรูปที่เป็น Peltier หรือ Thermo-Electric (TE) Ceramic ซึ่งก็จะมีการนำมาใช้ในการทำ PCR Chip แต่ก็ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากขนาดของตัว TE ค่อนข้างที่จะมีขนาดใหญ่ และสิ้นเปลืองพลังงาน

สำหรับตัวทำความร้อนที่เป็นแบบสัมผัสอีกแบบหนึ่งก็คือ เป็นตัวทำความร้อนที่สร้างขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีของการสร้างฟิล์มบาง ซึ่งส่วนใหญ่ จะใช้วัสดุพลทินัม [32-36] เนื่องจากมีข้อดีในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความต้านทาน ทนต่อสารเคมี และไม่เกิดการออกซิไดซ์ หรือทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เนื่องจากการเกิดออกซิไดซ์ทำให้สมบัติของอุปกรณ์เปลี่ยนไป แต่ก็จะมีบางงานวิจัยใช้โลหะอะลูมิเนียม [37] โคโรเมียม [38] เป็นต้น และวัสดุที่เริ่มมีการนำมาใช้ทำเป็นฟิล์มบาง ITO (Indium Tin Oxide) [40] ซึ่งมีข้อดีคือ สามารถที่จะยึดเกาะกับกระจกได้ และที่สำคัญมี

ลักษณะโปร่งแสง จึงเป็นวัสดุใหม่ที่น่าสนใจ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 หลักการทำงานของไมโครฮีตเตอร์

หลักการทำงานของไมโครฮีตเตอร์ คือ การเปลี่ยนแปลงพลังงานไฟฟ้าไปเป็นพลังงานความร้อน เพื่อเปลี่ยนค่าอุณหภูมิให้กับวัสดุที่ต้องการ พลังงานไฟฟ้าที่ป้อนให้กับไมโครฮีตเตอร์ทั้งหมดนี้ได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานความร้อนแต่มีบางส่วนที่มีการสูญเสียไปกับระบบโดยส่วนที่เหลือจะเป็นความร้อนที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิให้กับวัสดุกับการสูญเสียเปล่าไปโดยไร้ประโยชน์ทั้งโดยตั้งใจและไม่ตั้งใจ การเข้าใจถึงสัดส่วนของพลังงานความร้อนที่ถูกนำไปใช้ในส่วนต่างๆจะช่วยให้การพิจารณาเรื่องการประหยัดพลังงานทำได้ง่ายขึ้น

สำหรับไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานอาศัยหลักการทางไฟฟ้า คือ เมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านขดลวดความต้านทาน จะมีกำลังไฟฟ้าเกิดขึ้นตามสมการที่ (2.5)

$$P = I^2 R = V^2 / R \quad (2.5)$$

เมื่อ

P คือ กำลังไฟฟ้า มีหน่วยเป็นวัตต์ (Watt)

I คือ กระแสไฟฟ้าผ่านตัวต้านทาน มีหน่วยเป็นแอมแปร์ (A)

R คือ ความต้านทานของตัวนำ มีหน่วยเป็นโอห์ม (Ω)

V คือ แรงดันไฟฟ้าที่ความต้านทาน มีหน่วยเป็นโวลต์ (V)

กำลังไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนไปเป็นค่าความต้านทานความร้อนโดยคำนวณได้จากสมการที่ (2.6)

$$Q = 0.24Pt \quad (2.6)$$

เมื่อ

Q คือ ค่าความร้อนที่เกิดขึ้น มีหน่วยเป็นแคลอรี (Cal)

P คือ กำลังไฟฟ้าที่เกิดขึ้น มีหน่วยเป็นวัตต์ (Watt)

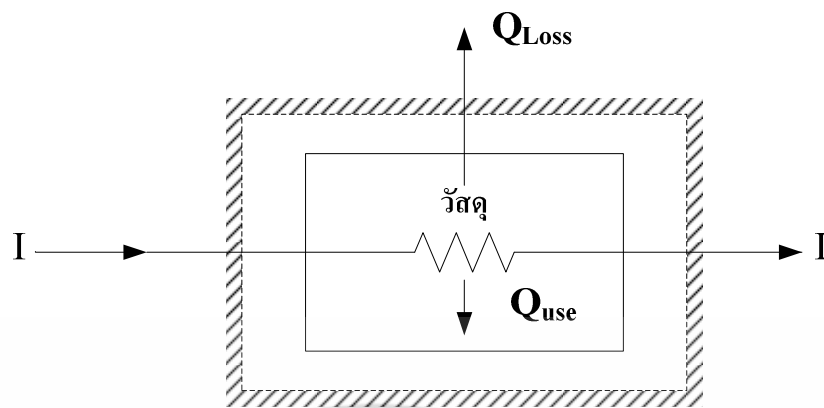
t คือ เวลาที่ใช้งาน มีหน่วยเป็นวินาที (sec)

สำหรับหลักการทำงานของฮีตเตอร์ความต้านทานนั้น ถ้าจะแบ่งจากลักษณะการถ่ายเทความร้อนก็จะมี 2 ลักษณะหลักคือไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยตรง และ ไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยอ้อม

2.3.1 ไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยตรง

เป็นแบบที่ใช้หลักการผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในวัสดุซึ่งเป็นตัวนำที่ต้องการให้ความร้อนโดยตรง ความร้อนที่เกิดขึ้นถูกนำไปใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิของวัสดุโดยตรงและมีส่วนหนึ่งซึ่งต้องสูญเสียไป ดัง

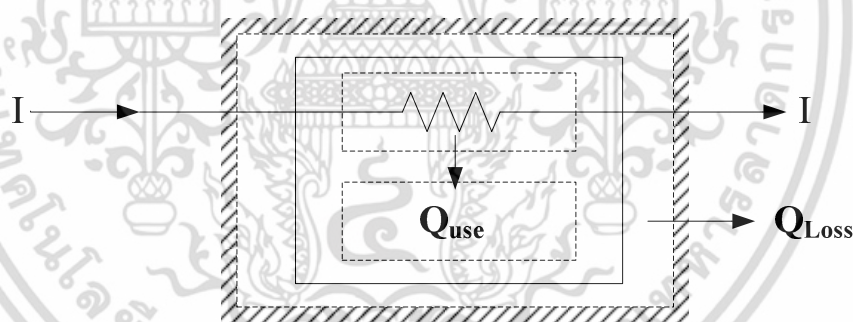
แสดงในรูปที่ 2.5 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะของไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยตรง

2.3.2 ไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยอ้อม

เป็นแบบที่ใช้หลักการผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในตัวกำเนิดความร้อนซึ่งเป็นตัวความต้านทาน ความร้อนที่เกิดขึ้นถูกใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวกำเนิดความร้อนเองแล้วถ่ายทอดให้กับวัตถุที่ต้องการเพิ่มอุณหภูมิโดยการพา การนำ และการแผ่รังสี มีความร้อนส่วนหนึ่งสูญเสียไปโดยมิได้ประโยชน์ ดังแสดง ในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.16 แสดงลักษณะของไมโครฮีตเตอร์ความต้านทานแบบโดยอ้อม

2.4 ทฤษฎีเกี่ยวกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน

ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน (Resistance Temperature Detectors: RTD) คือ ตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่ใช้หลักการเปลี่ยนแปลงค่าความต้านทานของโลหะซึ่งค่าความต้านทานดังกล่าวจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ ความต้านทานของโลหะที่เพิ่มเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นนี้ เรียกว่า “สัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิแบบบวก (Positive Temperature Coefficient: PTC)”

ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน (RTD) ค้นพบในปีเดียวกับที่ซีแบ็ค ค้นพบปรากฏการณ์เทอร์โมอิเล็กทริก โดย Sir Humphry Day ซึ่งพบว่า ความต้านทานในโลหะจะมีผลตามค่าความร้อน และในอีก 50 ปีต่อมา Sir William Siemens ก็นำเอาโลหะแพลทินัมมาทำเป็นเทอร์โมมิเตอร์และจัดให้เป็นเทอร์โมมิเตอร์แบบปฐมภูมิที่มีความแม่นยำสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 หลักการเบื้องต้นสำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน

วัสดุสามารถแบ่งได้เป็นตัวนำไฟฟ้า สารกึ่งตัวนำและฉนวน ตามการนำไฟฟ้าที่อุณหภูมิห้อง โลหะเกือบทุกชนิดจะมีความต้านทานจำเพาะประมาณ 10^{-3} ถึง 10^{-6} Ω -cm สารกึ่งตัวนำจะมีประมาณ 10 ถึง 10^6 Ω -cm และฉนวนจะมีมากกว่า 10^{12} Ω -cm โลหะทุกชนิดมีคุณสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ทุกๆ อุณหภูมิ ยกเว้นที่อุณหภูมิต่ำมากๆ ความนำไฟฟ้าเป็นส่วนกลับกับความต้านทานต่อการไหลของ กระแสความต้านทานของตัวนำไฟฟ้าเป็นไปตามกฎของโอห์ม คือ

$$V = IR$$

(2.7)

เมื่อ

V คือ ความต่างศักย์มีหน่วยเป็นโวลต์

I คือ กระแสมีหน่วยเป็นแอมแปร์

R คือ ความต้านทานที่มีหน่วยเป็นโอห์ม

โลหะต่างชนิดกันจะมีค่าความต้านทานจำเพาะต่างกันและความต้านทานของตัวนำจะแปรผันตรงกับความยาวของตัวนำ และแปรผกผันกับพื้นที่หน้าตัดของตัวนำ นั่นคือ

$$R = \frac{\rho L}{WT}$$

(2.8)

เมื่อ

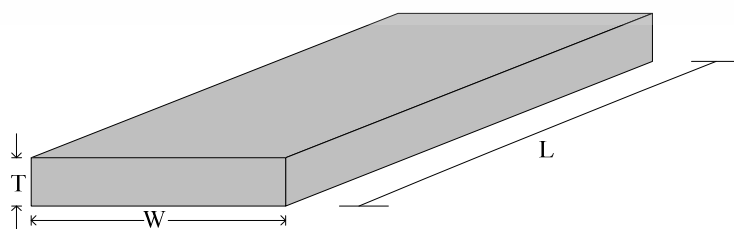
R คือ ความต้านทานของตัวนำ

 ρ คือ ความต้านทานจำเพาะของวัสดุมีหน่วยเป็นโอห์ม-เมตร

L คือ ความยาวของตัวนำมีหน่วยเป็นเมตร

W คือ ความกว้างของตัวนำมีหน่วยเป็นเมตร

T คือ ความหนาของตัวนำมีหน่วยเป็นเมตร



รูปที่ 2.17 โครงสร้างในการคำนวณหา ความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความต้านทานจำเพาะของตัวนำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ สำหรับโลหะนั้นค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิของความต้านทานจำเพาะมีค่าเป็นบวก นั่นคือ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นความต้านทานจะเพิ่มขึ้น สำหรับสารกึ่งตัวนำโดยปกติค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิของความต้านทานจำเพาะมีค่าเป็นลบ ในช่วงอุณหภูมิจำกัดใกล้ๆ 0°C อาจถือว่าความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานของโลหะกับอุณหภูมิ จะมีลักษณะเป็นเชิงเส้น

$$R = R_0(1 + \alpha\Delta T)$$

(2.9)

เมื่อ

R คือ ความต้านทานที่อุณหภูมิ t มีหน่วยเป็นโอห์ม

R_0 คือ ความต้านทานที่อุณหภูมิอ้างอิงมีหน่วยเป็นโอห์ม

Δt คือ ผลต่างของอุณหภูมิจากอุณหภูมิอ้างอิง t_0 มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

α คือ สัมประสิทธิ์ความต้านทานต่ออุณหภูมิของวัสดุมีหน่วยเป็น $^{\circ}\text{C}^{-1}$

ตารางที่ 2.3 สัมประสิทธิ์ความต้านทานต่ออุณหภูมิและความต้านทานจำเพาะที่ 20°C

วัสดุ	α ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)	ρ ($\mu\Omega\text{-cm}$)
นิกเกิล	0.0067	6.85
เหล็ก (โลหะผสม)	0.002 - 0.006	10
ทังสเตน	0.0048	5.65
อลูมิเนียม	0.0045	2.65
ทองแดง	0.0043	1.67
ตะกั่ว	0.0042	20.6
เงิน	0.0041	1.59
ทอง	0.0040	2.35
แพลทินัม	0.00392	10.5
ปรอท	0.00099	98.4
แมงกานีส	± 0.00002	44
คาร์บอน	-0.0007	1400

2.4.2 สมบัติของโลหะที่สามารถทำเป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน

1. มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทานไฟฟ้าต่ออุณหภูมิสูง เพื่อให้ได้ความไวในการวัดสูง
2. มีความต้านทานจำเพาะสูง ทำให้ไม่ต้องใช้สายโลหะยาวเกินไป ขนาดจะเล็กกระทัดรัดและช่วยให้ความไวในการวัดดีด้วย
3. มีความคงทนถาวร แม้ใช้เป็นเวลานาน หรือใช้ในอุณหภูมิช่วงกว้างมากๆ ก็ไม่ทำให้คุณสมบัติทางไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงไป
4. มีความต้านทานไฟฟ้าสัมพันธ์กับอุณหภูมิเป็นเชิงเส้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. มีความสัมพันธ์ของความต้านทานไฟฟ้ากับอุณหภูมิที่เป็นค่าคงที่แน่นอน
6. ทำเป็นเส้นได้ง่าย และมีความแข็งแรงในเชิงโครงสร้าง และถ้าเป็นไปได้ควรมีสัมประสิทธิ์การขยายตัวต่อความร้อนต่ำ

7. มีความบริสุทธิ์สูง

โดยโลหะที่นิยมนำมาทำเป็นไมโครฮีทเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมิแบบความต้านทาน คือ แพลทินัม นิเกิล และทองแดง โลหะเหล่านี้มีข้อดี คือ สามารถผลิตให้มีความบริสุทธิ์ได้ค่อนข้างสูง สามารถผลิตตัวตรวจวัดอุณหภูมิแบบความต้านทานให้มีลักษณะจำเพาะและสร้างใหม่ให้เหมือนเดิม

ในปี ค.ศ. 1871 มีการใช้แพลทินัมเป็นวัสดุมาตรฐานที่ใช้ในตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิด ความต้านทาน ซึ่งนิยามสเกลอุณหภูมิในทางปฏิบัติสำหรับนานาชาติ จากจุดสามสถานะของไฮโดรเจน ไม่ใช่เพราะมีสัมประสิทธิ์ความต้านทานจำเพาะสูง แต่ใช้เพราะมีเสถียรภาพต่อการใช้งานดี โดยทั่วไป สัมประสิทธิ์ ความต้านทานที่มีค่าสูงเป็นสิ่งที่บอกลักษณะความบริสุทธิ์ของแพลทินัม สารไม่บริสุทธิ์ในตัวตรวจวัดอุณหภูมิ แบบความต้านทานจะเกิดขึ้นจากการระเหยเป็นไอส่งผลให้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิขาดเสถียรภาพ ค่าสัมประสิทธิ์ ต่ออุณหภูมิของความต้านทานจำเพาะจะมีความไวต่อความเครียดภายในวัสดุจึงจำเป็นที่จะต้องนำแพลทินัมมา แอนนีสที่อุณหภูมิสูงกว่าค่าของอุณหภูมิที่ใช้งาน ผลของการแอนนีสจะทำให้แพลทินัมมีความบริสุทธิ์มากขึ้น

นิเกิลซึ่งมีราคาถูกกว่าแพลทินัมเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาทำตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิด ความต้านทาน นิเกิลมีพิสัยการใช้งานจำกัดอยู่ในช่วง -100°C ถึง $+350^{\circ}\text{C}$ แต่สัมประสิทธิ์ความต้านทาน ต่ออุณหภูมิของนิเกิลสูงกว่าของแพลทินัม 50% ซึ่งจะเกิดประโยชน์สำหรับเครื่องวัดบางแบบ โดยการใช้งานตัวตรวจวัดอุณหภูมินิเกิลจะพบมากในระบบทำความร้อนและเครื่องปรับอากาศ แต่จะคำนึงถึงกระแสที่ไหลผ่านตัวตรวจวัดอุณหภูมิต้องมีค่าต่ำพอที่จะจำกัดการเกิดความร้อนขึ้นภายในตัวตรวจวัดอุณหภูมิ สำหรับการประยุกต์ใช้งานบางอย่าง

ทองแดงใช้เป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่ใช้สำหรับอุณหภูมิที่อยู่ในช่วง -200°C ถึง 250°C แม้มีความเป็นเชิงเส้นดีราคาถูก แต่ทองแดงมีข้อเสีย คือ มีค่าความต้านทานจำเพาะต่ำ เมื่อทำเป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิจะมีขนาดใหญ่ไม่สะดวก นอกจากนั้นทองแดงยังมีความต้านทานต่อการกัดกร่อนต่ำ เป็นผลให้ลักษณะจำเพาะทางไฟฟ้าไม่เสถียร การประยุกต์ใช้ ทองแดงสำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน คือ ใช้ในเครื่องมือวัดอิเล็กทรอนิกส์ เมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการควบคุม

2.4.3 ข้อดีและข้อเสียของการใช้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน

ข้อดีของตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน

1. สามารถสร้างได้ง่าย
2. มีความเป็นเชิงเส้นตลอดพิสัยการใช้งานดี
3. มีย่านการใช้งานในช่วงที่กว้าง
4. สามารถใช้วัดอุณหภูมิสูงได้
5. มีเสถียรภาพที่ดี

ข้อเสียของการใช้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน คือ

1. เนื่องจากอาร์ทีดีไม่สามารถกำเนิดพลังงานได้เหมือนกับเทอร์โมคัปเปิล จึงทำให้มีกระแสไหลผ่านและเกิดผลของความร้อนจูล (I^2R)กับตัวมันเอง
2. มีความไวต่ำ

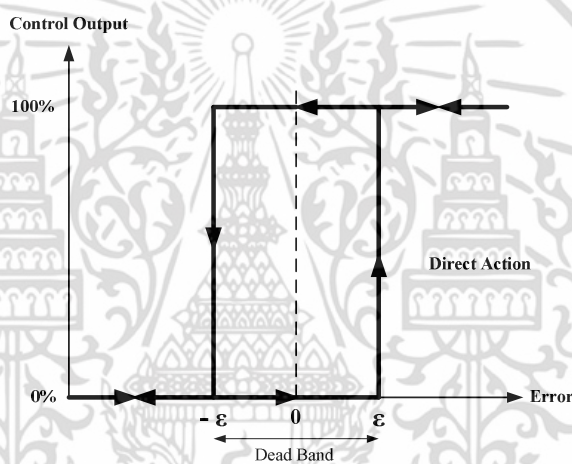
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 เทคนิคการควบคุมกระบวนการทางความร้อน

ในปัจจุบันการควบคุมกระบวนการทางความร้อนส่วนใหญ่จะใช้การพิจารณาถึงคุณลักษณะของกระบวนการทางความร้อนที่ต้องการควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากจะได้เลือกชนิดของการควบคุมให้เหมาะสม กับระบบเพื่อให้การควบคุมมีประสิทธิภาพและมีความคุ้มค่าที่สุด โดยสัญญาณที่ใช้ในการควบคุมจะเป็นไปตามลักษณะของการสร้างสัญญาณควบคุมหรือการกระทำควบคุม (Control Action)

2.5.1 เทคนิคการควบคุมความร้อนแบบ On-Off

การควบคุมความร้อนแบบ On-Off เป็นการควบคุมความร้อนที่ง่ายที่สุดและเป็นวิธีการควบคุมที่ใช้กันมากกับระบบควบคุมความร้อนที่มีขนาดความจุมาก ๆ ซึ่งอุณหภูมิของระบบที่ใช้การควบคุมแบบนี้จะเป็นในลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอย่างช้า ๆ โดยตัวควบคุมจะทำงานเพียง 2 สถานะ คือ เปิดกับปิด และสัญญาณเอาต์พุตที่ได้ก็จะมี 2 สถานะเช่นกัน คือ 0% กับ 100% กริยาการควบคุมความร้อนแบบ On-Off แสดงดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 แสดงกริยาการควบคุมความร้อนแบบ On-Off

จากรูปที่ 2.8 จะเห็นว่าถ้าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิเพิ่มขึ้นมากกว่าค่าวิกฤต (Critical Value) หรือ + ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมจะเปลี่ยนจาก 0% ไปเป็น 100% ทำให้ค่าความคลาดเคลื่อน ของอุณหภูมิลดต่ำลงจนต่ำกว่าค่าวิกฤต (-) ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมจะเปลี่ยนจาก 100% ไปเป็น 0% ดังนั้น จะเห็นว่าก่อนที่ค่าเอาต์พุตจะเปลี่ยนแปลงนั้นจะเกิดเดธแบนด์ (Dead Band) ขึ้นรอบๆ ค่าความคลาดเคลื่อนเท่ากับศูนย์ (Zero Error) โดยในช่วงเดธแบนด์นั้น ค่าเอาต์พุตจะไม่มีเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการเสียดทานที่ไม่คาดคิดไว้ก่อนหรือบางครั้งก็ต้องทำให้มีช่วงเดธแบนด์ เพื่อป้องกันการ On-Off บ่อยเกินไป อันจะทำให้อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ หรือกระบวนการเกิดการเสียหายได้ แต่ช่วงเดธแบนด์นี้ก็ต่อไม่กว้างนักเพราะจะทำให้ค่าความเที่ยงตรงของการควบคุมอุณหภูมิลดลง กริยาการควบคุมแบบ On-Off สามารถเขียนเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ได้ ดังนี้

$$\begin{aligned}
 m(t) &= 0\% \text{ เมื่อ } e < -\varepsilon \\
 &= 100\% \text{ เมื่อ } e < +\varepsilon
 \end{aligned}
 \tag{2.10}$$

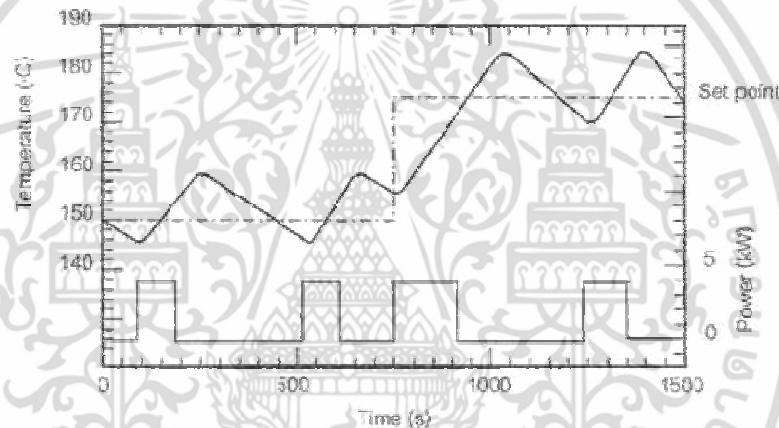
เมื่อ

$m(t)$ คือ สัญญาณควบคุมหรือเอาต์พุตของตัวควบคุม

$e(t)$ คือ ค่าความคลาดเคลื่อน

ε คือ $\frac{1}{2}$ ของค่าเดธแบนด์

จากการควบคุมความร้อนแบบ On-Off จะทำให้ผลการตอบสนองของระบบเกิดการแกว่งอย่างต่อเนื่อง (Oscillation) สูง ดังแสดงในรูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 แสดงตัวอย่างผลการตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ On-Off

การควบคุมความร้อนแบบ On-Off จะนิยมใช้ในการควบคุมกระบวนการทางความร้อนที่ไม่ต้องการความเที่ยงตรงที่สูงนัก และผลของความคลาดเคลื่อนไม่ส่งผลต่อการควบคุม เช่น การควบคุมอุณหภูมิในระบบควบคุมความร้อนที่มีขนาดความจุมาก ๆ ซึ่งอุณหภูมิของระบบที่ใช้ในการควบคุมแบบนี้ จะเป็นในลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอย่างช้า ๆ เนื่องจากค่าความคลาดเคลื่อนจะมีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับขนาดค่าความจุ ทำให้ลดต้นทุนได้อย่างมาก

2.5.2 การควบคุมความร้อนแบบ Proportional (P)

การควบคุมความร้อนแบบ Proportional จะนิยมใช้ในการควบคุมกระบวนการทางความร้อนที่ไม่ต้องการความเที่ยงตรงที่สูงนัก แต่ผลของความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิจะส่งผลต่อการควบคุม ซึ่งการควบคุมความร้อนแบบ Proportional นั้น จะควบคุมโดยประมวลผลจากค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิ สัญญาณเอาต์พุตของตัวควบคุมจะเปลี่ยนแปลงอย่างเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิ กล่าวคือ ถ้าค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิมียิ่งมาก ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมก็จะมากขึ้นตาม และถ้าค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิมียิ่งน้อยค่าเอาต์พุตที่ได้ ก็จะน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วย ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร 2 ตัวนี้ คือ อัตราขยายของตัวควบคุมความร่อนแบบ P (Proportional Gain) ฏริยการควบคุมแบบ P สามารถเขียนเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ได้ดังนี้

$$m_p(t) = \bar{m} + K_p e(t) \quad (2.11)$$

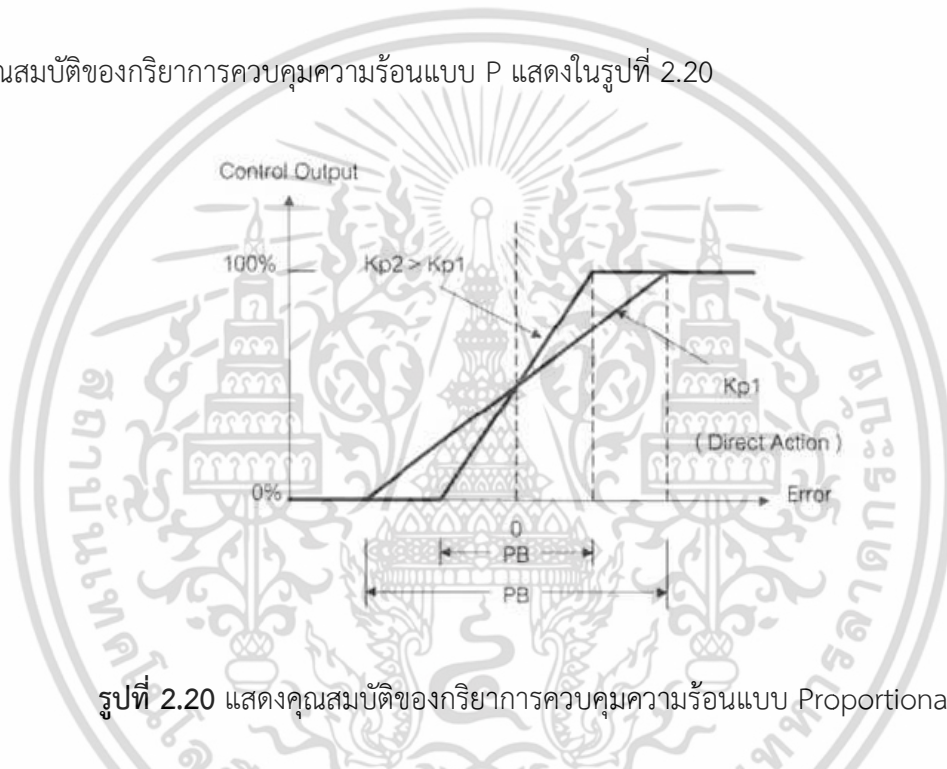
เมื่อ

$m_p(t)$ คือ ค่าเอาต์พุทของตัวควบคุมแบบ Proportional

K_p คือ อัตราขยายของตัวควบคุมแบบ Proportional

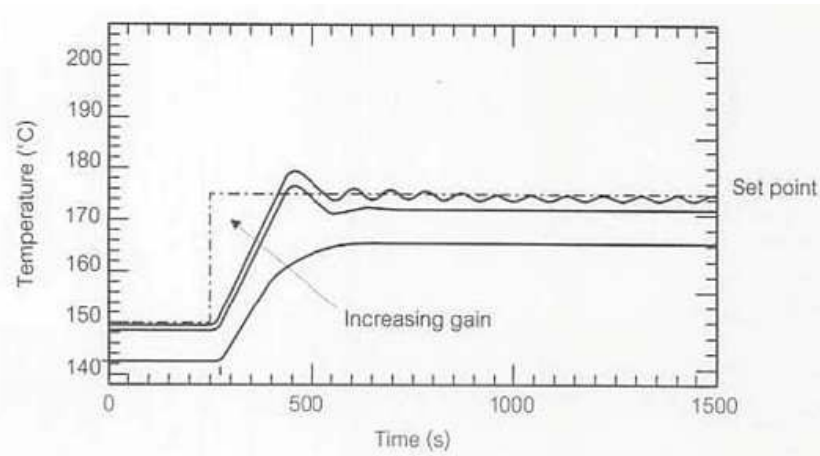
\bar{m} คือ ค่าเอาต์พุทของตัวควบคุม เมื่อความคลาดเคลื่อนเป็นศูนย์หรือค่าไบอัส

คุณสมบัติของฏริยการควบคุมความร่อนแบบ P แสดงในรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 แสดงคุณสมบัติของฏริยการควบคุมความร่อนแบบ Proportional

จากรูปที่ 2.10 แสดงให้เห็นว่าจะเกิดการอิมิตัวของค่าความคลาดเคลื่อน คือ เมื่อเอาต์พุทสูงถึง 100% ขณะที่ค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิยังคงเพิ่มขึ้นไปอีกค่าเอาต์พุทจะไม่สามารถเพิ่มขึ้นตามได้ ในลักษณะเดียวกันเมื่อค่าเอาต์พุทเท่ากับ 0% ขณะที่ค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิยังคงลดลงไปอีกค่า เอาต์พุทก็ไม่สามารถลดลงตามได้ ซึ่งช่วงของค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างที่เอาต์พุทมีค่าจาก 0% ถึง 100% เรียกว่า Proportion Band (PB) โดยค่า PB มีผลต่ออัตราขยายของตัวควบคุม กล่าวคือ เมื่อ PB สูงขึ้นค่าอัตราขยายของตัวควบคุมจะลดลง เนื่องจาก $K_p = 100/PB$ และเมื่ออัตราขยายของตัวควบคุม ลดลงจะทำให้ระบบที่ทำการควบคุมอุณหภูมิเกิดออฟเซ็ทที่มากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.21



รูปที่ 2.21 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ Proportional

2.5.3 การควบคุมความร้อนแบบ Proportional-Integral (PI)

การควบคุมความร้อนแบบ PI จะนิยมใช้ในการควบคุมกระบวนการทางความร้อนที่ต้องการความเที่ยงตรงที่สูงและมีระยะเวลาในการเข้าสู่อุณหภูมิเป้าหมายที่นานได้ เป็นวิธีการควบคุมที่ใช้กันมากกับระบบควบคุมความร้อนที่มีขนาดความจุไม่มากนัก จากที่ทราบกันว่า การควบคุมความร้อนแบบ P นั้น จะเกิดการแกว่งของอุณหภูมิขึ้นเมื่อใช้อัตราขยายของตัวควบคุมที่สูงหรือมีออฟเซ็ทเกิดขึ้นเมื่อต้องการผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิที่เรียบ ซึ่งการกำจัดค่าออฟเซ็ทนั้นสามารถทำได้โดยการเพิ่มกรียา การควบคุมแบบ I มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าการควบคุมแบบรีเซ็ต (Reset Control) โดยการควบคุมจะพิจารณาค่าคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นทั้งหมดซึ่งการหาค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิ ในกริยาการควบคุมแบบ I นี้จะต้องหาค่าพื้นที่ทั้งหมดภายใต้กราฟของค่าความคลาดเคลื่อนต่อเวลา จากนั้นนำไปคูณกับค่าคงที่ เรียกว่า อัตราขยายของตัวควบคุมแบบ I (Integral Gain) ซึ่งหาค่าเอาท์พุท ได้ดังสมการที่ (2.12)

$$m_I(t) = K_I \int_0^t e(t) dt + \bar{m}_I(0) \quad (2.12)$$

เมื่อ

$m_I(t)$ คือ ค่าเอาท์พุทของตัวควบคุมแบบ Integral

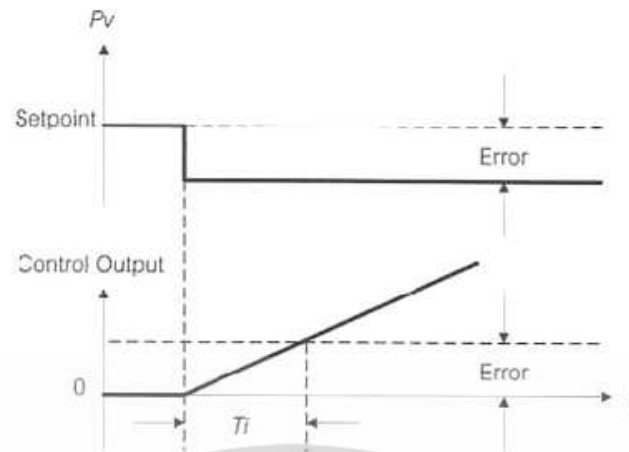
K_I คือ อัตราขยายของตัวควบคุมแบบ Integral

$\bar{m}_I(0)$ คือ ค่าเอาท์พุทของตัวควบคุมที่เวลา t มีค่าเป็นศูนย์

$\int_0^t e(t) dt$ คือ พื้นที่ทั้งหมดของความคลาดเคลื่อน

ผลของกริยาการควบคุมแบบ I นี้ จะทำให้ไม่เกิดออฟเซ็ทขึ้นในระบบและลดค่าพุงเกินของระบบควบคุมอุณหภูมิลงได้ แต่ถ้ากริยาการควบคุมมีค่าสูงเกินไปจะทำให้ผลตอบสนองของกระบวนการช้าลง ผลตอบสนองของกริยาการควบคุมแบบ I แสดงดังรูปที่ 2.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.22 แสดงผลตอบสนองของกริยาการควบคุมแบบ Integral

ดังนั้นสมการสัญญาณเอาต์พุตของตัวควบคุมความร่อนแบบ PI จะเป็นไปตามสมการที่ (2.13)

$$m_{PI}(t) = \bar{m} + K_p e(t) + K_p K_I \int_0^t e(t) dt$$

หรือ

$$m_{PI}(t) = \bar{m} + K_C e(t) + \frac{K_C}{T_I} \int_0^t e(t) dt \quad (2.13)$$

เมื่อ

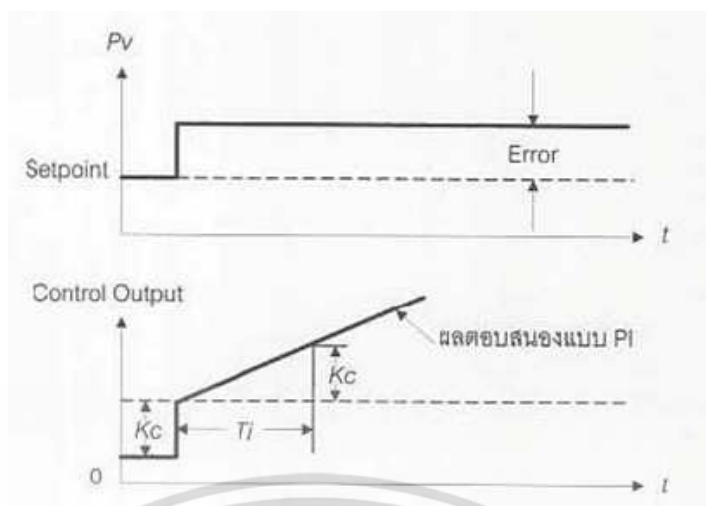
$m_{PI}(t)$ คือ ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมแบบ Proportional-Integral

K_C คือ K_p อัตราขยายของตัวควบคุม

K_I คือ $1/T_I$

T_I คือ เวลาในการอินทิเกรตหรือเวลารีเซต (Integral or Reset Time)

ดังนั้น ผลตอบสนองของกริยาการควบคุมความร่อนแบบ PI แสดงดังรูปที่ 2.23

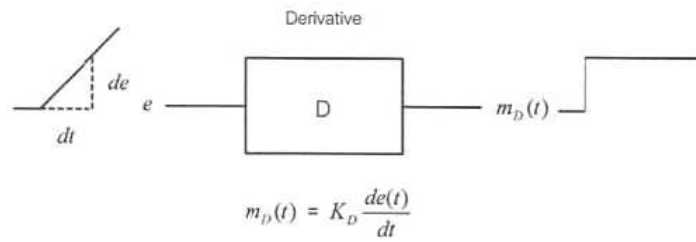


รูปที่ 2.23 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของกิริยาการควบคุมแบบ PI (Direct Action)

นอกจากกิริยาการควบคุมความร้อนแบบ PI จะทำให้ค่าออฟเซ็ทที่สภาวะคงที่เป็นศูนย์แล้วยังช่วยลด ค่าพุ่งเกินและการแกว่ง (Oscillation) ของระบบควบคุมอุณหภูมิลงได้ แต่จะทำให้ Rise Time และ Setting Time มีค่ามากขึ้น

2.5.4 การควบคุมความร้อนแบบ Proportional-Integral-Derivative (PID)

การควบคุมความร้อนแบบ PID จะนิยมใช้ในการควบคุมกระบวนการทางความร้อนที่ต้องการความเที่ยงตรงที่สูงและต้องการระยะเวลาในการเข้าสู่อุณหภูมิเป้าหมายที่เร็ว การควบคุมความร้อนแบบ PID เป็นวิธีการควบคุมที่ใช้กันมากกับระบบควบคุมความร้อนที่มีขนาดความจุไม่มากนัก จากที่ทราบกันว่า กิริยาการควบคุมแบบ PI นั้น ทำให้ค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิที่สภาวะคงที่ลดลงหรือหมดไปแต่ทำให้เสถียรภาพสัมพัทธ์ลดลง (Rise Time และ Setting Time มีค่ามากขึ้น) ดังนั้นในบางครั้งเพื่อให้ผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิมีสรรถณะเป็นไปตามต้องการจึงต้องมีการประยุกต์ใช้กิริยาการควบคุมแบบ D (Derivative) ร่วมกับกิริยาการควบคุมความร้อนแบบ PI ก็เพื่อให้ผลตอบสนองของระบบรวดเร็วขึ้น ซึ่งจะทำให้ได้กิริยาการควบคุมความร้อนแบบ PID โดยกิริยาควบคุมแบบ D สัญญาณเอาท์พุทของตัวควบคุมจะขึ้นอยู่กับอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าความคลาดเคลื่อนต่อเวลา (Time Rate of Change of Error) จะเห็นได้ว่าค่าความคลาดเคลื่อนนี้มีโอกาสเป็นศูนย์ได้ และค่าเอาท์พุทก็สามารถเปลี่ยนแปลง ซึ่งเรียกรวมการกระทำดังกล่าวนี้ว่าอัตราการกระทำ (Rate Action) ตามตัวอย่างดังรูปที่ 2.24



รูปที่ 2.24 แสดงตัวอย่างคุณสมบัติของกริยาการควบคุมแบบ Derivative

จากรูปที่ 2.14 จะเห็นว่าที่ค่าความคลาดเคลื่อนเป็นศูนย์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงของความชันสูง ผลของการเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้ค่าเอาต์พุตเกิดการเปลี่ยนแปลงสูงตามไปด้วย ซึ่งอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าความคลาดเคลื่อนสามารถประมาณได้โดยการหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าความคลาดเคลื่อน 2 ค่า และหารด้วยเวลาระหว่าง 2 ค่านี้ แล้วนำไปคูณกับค่าคงที่ที่เรียกว่า อัตราขยายของตัวควบคุมแบบ D (Derivative Gain) เพื่อหาค่าสัญญาณเอาต์พุตของตัวควบคุมดังกล่าว (2.14)

$$m_D(t) = K_D \frac{[e(t) - e(t_0)]}{(t - t_0)}$$

หรือ

$$m_D(t) = K_D \frac{de(t)}{dt}$$

(2.14)

เมื่อ

$m_D(t)$ คือ ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมแบบ Derivative ที่เวลา t
 K_D คือ อัตราขยายของตัวควบคุมแบบ derivative
 $e(t)$ คือ ค่าความคลาดเคลื่อนที่เวลา t
 $e(t_0)$ คือ ค่าความคลาดเคลื่อนที่เวลา t_0

กริยาการควบคุมแบบ D เหมาะสำหรับกระบวนการที่มีเวลาหน่วง (Time Lag) มากๆ เพราะสามารถ แก่ค่าความคลาดเคลื่อนโดยการกระทำล่วงหน้าก่อนที่จะมีการกระทำเกิดขึ้น จึงช่วยให้ผลตอบสนอง ของกระบวนการควบคุมอุณหภูมิเร็วขึ้นแต่มีข้อเสียคือ กริยาการควบคุมมีความไวต่อสัญญาณค่าความคลาดเคลื่อนมาก โดยเฉพาะกรณีที่มี τ_D หรือ K_D มีค่ามาก ซึ่งจะทำให้เกิดค่าพุ่งสูงเกินได้ ดังนั้น จึงไม่เหมาะสมกับกระบวนการควบคุมอุณหภูมิที่มีค่าเวลาหน่วงน้อยๆ และกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย กริยาการควบคุมแบบ D ไม่สามารถนำไปใช้งานโดดเดี่ยวได้ เพราะว่าเมื่อค่าความคลาดเคลื่อนเป็นศูนย์จะทำให้สัญญาณเอาต์พุตของตัวควบคุมเป็นศูนย์ด้วย ดังนั้นเมื่อมีการประยุกต์ใช้กริยาการควบคุมแบบ D ร่วมกับกริยาควบคุมความร้อนแบบ PI (กริยาการ

ควบคุมแบบ PID) ทำให้ผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิรวดเร็วขึ้น ซึ่งจะทำได้ก็การควบคุมแบบ PID ที่มีสมการสัญญาณเอาต์พุต ดังสมการ (2.15)

$$m_{PID}(t) = \bar{m} + K_P e(t) + K_P K_I \int_0^1 e(t) dt + K_P K_D \frac{de(t)}{dt}$$

หรือ

$$m_{PID}(t) = \bar{m} + K_C e(t) + \frac{K_C}{T_I} \int_0^1 e(t) dt + K_C T_d \frac{de(t)}{dt} \quad (2.15)$$

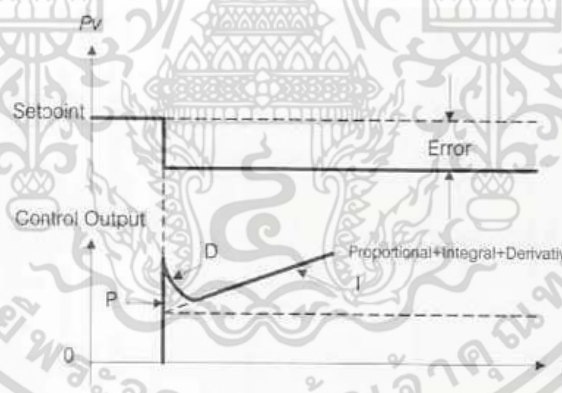
เมื่อ

$m_{PID}(t)$ คือ ค่าเอาต์พุตของตัวควบคุมแบบ Proportional-Integral-Derivative

K_D คือ T_d

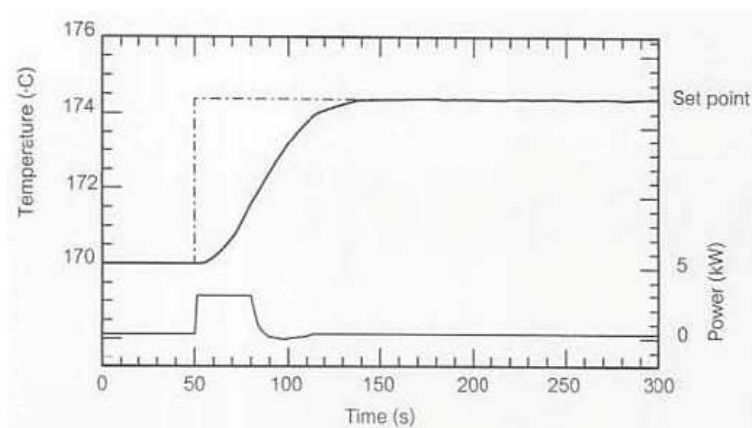
T_d คือ ค่าของ Derivative or Rate Time

ผลตอบสนองของวิธีการควบคุมแบบ PID และตัวอย่างผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ PID แสดงดังรูปที่ 2.25 และ 2.26 ตามลำดับ



รูปที่ 2.25 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของวิธีการควบคุมแบบ PID

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.26 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของระบบควบคุมอุณหภูมิแบบ PID

2.6 การปลูกฟิล์มบาง

กระบวนการปลูกฟิล์มบางสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่ปลูกโดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical Reaction) และกลุ่มที่อาศัยปฏิกิริยาทางกายภาพ (Physical Reaction)

2.6.1 การปลูกฟิล์มบางโดยปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical Reaction)

การปลูกฟิล์มบางโดยปฏิกิริยาทางเคมีเป็นการเพิ่มวัสดุที่เป็นของแข็งลงบนแผ่นฐานโดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาทางเคมีของก๊าซ ของของเหลว หรือกับแผ่นฐาน โดยมีเทคนิคที่แตกต่างกัน 4 เทคนิค ดังนี้

2.6.1.1 กระบวนการปลูกด้วยไอเคมี (Chemical Vapour Deposition : CVD) โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างก๊าซที่เป็นองค์ประกอบของฟิล์มบางและก๊าซชนิดอื่นๆภายในเครื่องปฏิกรณ์ (Reactor) ทำให้เกิดการแตกตัวของก๊าซ โดยส่วนหนึ่งของโมเลกุลจะเกิดการควบแน่นเป็นฟิล์มบางเคลือบลงบนแผ่นฐานรอง โดยมีเทคนิคที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ

1. ชนิดความดันต่ำ หรือ Low-Pressure CVD (LPCVD) ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยอุณหภูมิที่สูง (อาจมากกว่า 600 °c) เพื่อให้ก๊าซเกิดปฏิกิริยา โดยจะสามารถให้ฟิล์มที่มีคุณภาพดี แต่มีอัตราการปลูกฟิล์มต่ำ

2. ชนิดที่อาศัยพลาสมาในการเร่งปฏิกิริยา หรือ Plasma-Enhanced CVD (PECVD) เป็นเทคนิคที่อาศัยพลังงานที่เร่งปฏิกิริยาทางเคมีจาก 2 แหล่ง คือ จากการป้อนอุณหภูมิโดยตรง และจากพลังงานจลน์ที่ถูกถ่ายโอนจากพลาสมา ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่สูงมากนัก (ประมาณ 300 °c) แต่ก็จะได้ฟิล์มที่มีคุณภาพต่ำกว่าเทคนิค LPCVD

2.6.1.2 การชุบหรือเคลือบด้วยไฟฟ้า (Electrodeposition) เป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับการปลูกฟิล์มที่สามารถนำไฟฟ้าได้ดี เช่น Cu, Au หรือ Ni และฟิล์มที่ต้องการมีความหนาค่อนข้างมาก (ประมาณ 1-100 μm หรือมากกว่า) โดยมีวิธีทำอยู่ 2 วิธี คือ

1. วิธีที่ใช้ไฟฟ้า (Electroplating) โดยการจุ่มแผ่นฐานรองลงในสารละลายที่มีส่วนผสมของโลหะที่ต้องการอยู่ (Electrolyte Solution) จากนั้นทำการปล่อยกระแสไฟฟ้าจากแผ่นฐานผ่านสารละลาย ไปยังขั้วไฟฟ้า (Counter Electrode, ส่วนมากเป็นแพลทินัม) ทำให้โลหะที่อยู่ในสารละลายก่อตัวขึ้นที่แผ่นฐานและเกิดก๊าซที่ขั้วแพลทินัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีที่ไม่ใช้ไฟฟ้า (Electroless Plating) เป็นเทคนิคที่ไม่จำเป็นต้องมีการผ่านกระแสไฟฟ้าแต่อย่างใด แต่การเตรียมสารละลายจะมีความยุ่งยากขึ้น โดยในขั้นตอนการจุ่มแผ่นฐานลงไปในการละลายนั้น การก่อตัวของฟิล์มโลหะจะเกิดขึ้นได้ทันที ณ ทุกบริเวณที่มีศักย์เคมีไฟฟ้า (Electrochemical Potential) ที่สูงเมื่อเทียบกับสารละลาย ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสร้างขั้วไฟฟ้าบนแผ่นฐาน

2.6.1.3 อีพิแทกซี (Epitaxy) โดยการนำแผ่นฐานรองใส่เข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ในแนวเอียง จากนั้นผ่านก๊าซต่างๆเข้าไป แล้วให้ความร้อนแก่แผ่นฐานโดยเทคนิคการเหนี่ยวนำความร้อนผ่านขดลวด จะเกิดการก่อตัวของฟิล์มบางบนแผ่นฐาน

2.6.1.4 ออกซิเดชันความร้อน (Thermal Oxidation) เป็นเทคนิคที่นิยมในการสร้างฉนวน SiO_2 โดยการนำแผ่นฐานเข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ จากนั้นปล่อยไอน้ำ หรือก๊าซ O_2 บริสุทธิ์เข้าไป แล้วเพิ่มอุณหภูมิที่แผ่นฐานไปที่ $800-1,100\text{ }^\circ\text{C}$ เพื่อเร่งปฏิกิริยา $\text{Si} + \text{O}_2 \rightarrow \text{SiO}_2$ บนผิวหน้าของแผ่นฐานซิลิคอน

2.6.2 การปลูกฟิล์มบางโดยปฏิกิริยาทางกายภาพ (Physical reaction)

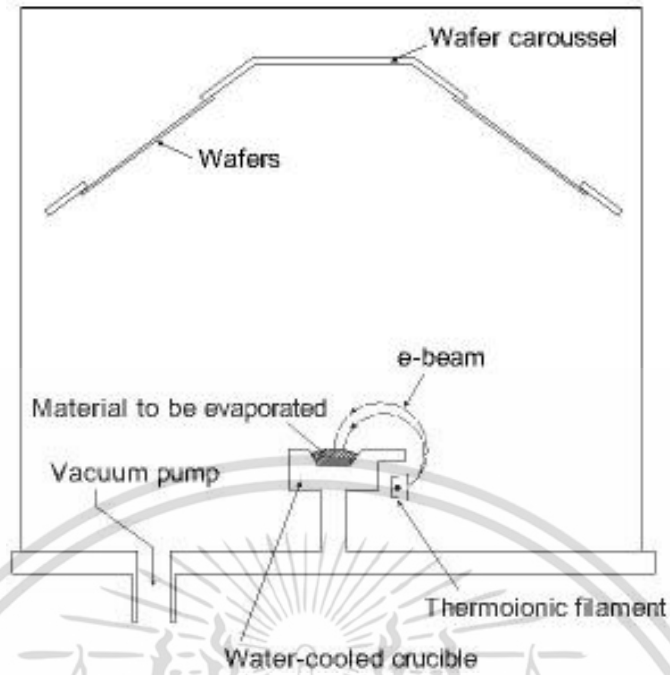
2.6.2.1 การปลูกฟิล์มบางแบบไอกายภาพ (Physical Vapour Deposition : PVD)

ใช้หลักการแปลสภาพก้อนวัสดุในสภาพของแข็งให้เป็นไอด้วยกรรมวิธีทางกายภาพ แล้วไอดังกล่าวไปตกกระทบและก่อเป็นฟิล์มบางบนแผ่นฐานที่ต้องการ โดยวิธีการแปลงสภาพวัสดุจากของแข็งให้กลายเป็นไอสามารถกระทำได้โดย 2 วิธีหลัก คือ

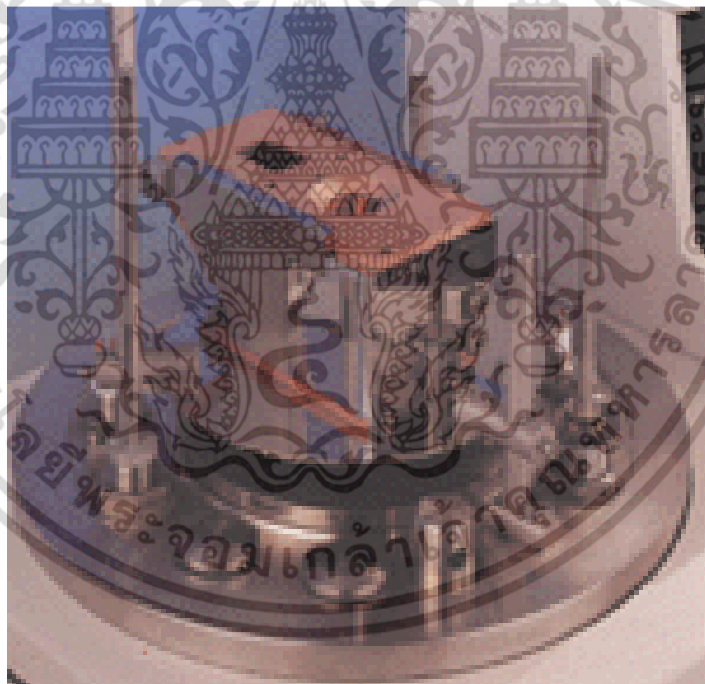
1. ใช้ลำอิเล็กตรอน (e-Beam) ยิงไปยังสารเคลือบ

ทฤษฎีการเคลือบสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศสูง

ในการเคลือบสารด้วยลำอิเล็กตรอนจะทำในระบบสุญญากาศประมาณ 10^{-5} หรือต่ำกว่า หลักการคือ โดยการบังคับลำอิเล็กตรอนด้วยสนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าให้ตกลงบนชิ้นสารเคลือบ ซึ่งลำอิเล็กตรอนเกิดจากการปล่อยกระแสไฟฟ้าให้ขดลวดทั้งสแตนท์ จนเกิดปรากฏการณ์เทอร์มิโอนิกอิมิสชัน (Thermionic Emission) ของอิเล็กตรอน เมื่อลำอิเล็กตรอนชนเข้ากับผิวหน้าของสารเคลือบจะเกิดการถ่ายเทพลังงานจลน์ที่มีอยู่ในตัวเป็นพลังงานความร้อน จากนั้นสารเคลือบจะเกิดการระเหยขึ้นไปเคลือบบนแผ่นฐานรอง การจัดอุปกรณ์ในครอบแก้วสุญญากาศ แสดงดังรูปที่ 2.27 -2.29



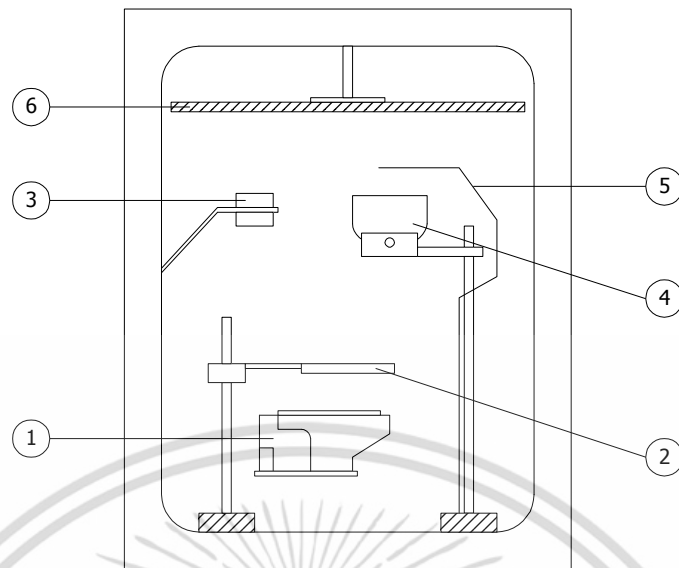
รูปที่ 2.27 แสดงลักษณะของลำอิเล็กตรอน



รูปที่ 2.28 แสดงลักษณะชุดอุปกรณ์กำเนิดและบังคับลำอิเล็กตรอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

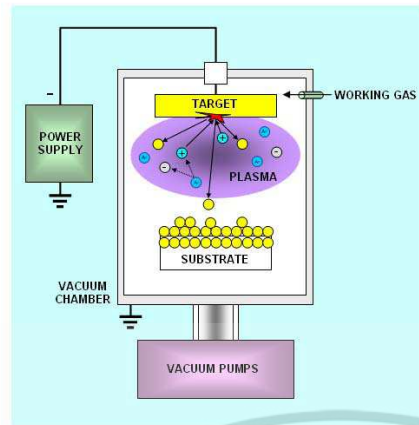
Chamber



- | | |
|---|------------------|
| 1. EB3 Multihearth Electron Beam Source | 4. Quartz Heater |
| 2. Shutter | 5. Thermocouple |
| 3. Crystal sensor | 6. Workholder |

รูปที่ 2.29 แสดงลักษณะภายในห้องสุญญากาศ (Chamber)

2. **Sputtering** สเปตเตอริงเป็นเทคนิคการเคลือบฟิล์มบางอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจเป็นโลหะ สารกึ่งตัวนำ หรือฉนวนก็ได้ หลักการของกระบวนการสเปตเตอริง (แบบดีซี ซึ่งเป็นแบบที่ง่ายที่สุด) แสดงดังในรูปที่ 2.15 ในระบบนี้แผ่นฐานรองจะวางอยู่บนแอโนดซึ่งมีอุปกรณ์ทำความร้อนอยู่ข้างใต้เพื่อใช้เพิ่มอุณหภูมิให้แก่แผ่นฐานในขณะที่เคลือบชั้นฟิล์ม (อุณหภูมิ $\approx 150 - 250^{\circ}\text{C}$) และทางขั้วแคโทดจะมีเป้า ซึ่งเป็นวัสดุที่จะทำการเคลือบหรือฝากลงบนแผ่นฐานที่วางอยู่ เมื่อทำการดูดอากาศออกจากแชมเบอร์ (หรือ Belljar) จนได้ความดันต่ำเท่าที่ต้องการ (Background Pressure อยู่ในช่วง $10^{-5} - 10^{-6}$ Torr) จากนั้นจะทำการป้อนแรงดันค่าสูงให้ระหว่างขั้วแอโนด - แคโทด และปรับความดันของก๊าซเฉื่อย (มักใช้ Ar เนื่องจากเป็นธาตุที่มีน้ำหนักอะตอมค่อนข้างมาก จึงเหมาะกับการใช้ระดมยิงเป้า) ที่จะเข้ามาในระบบให้มีขนาดตามต้องการ (อยู่ในช่วง $0.02 - 0.2$ Torr) หลังจากนั้น Ar จะแตกตัวเป็นไอออนอันเนื่องจากสนามไฟฟ้าค่าสูงที่ใช้ทำเป้า จึงทำให้อะตอมหรือกลุ่มอะตอมของวัสดุตั้งกล่าวหลุดจากผิวหน้าเป้ามามากหรือเคลือบลงบนแผ่นฐานรอง เนื่องจากในขณะที่ทำการปลูกฟิล์มความดันภายในแชมเบอร์มีค่าต่ำ ดังนั้น เมื่ออะตอมของวัสดุหลุดจากผิวหน้าเป้าแล้วจะมีโอกาสชนกันเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลยก่อนที่จะฝากลงบนผิวหน้าฐานรอง ด้วยเหตุนี้ชั้นฟิล์มที่ปลูกได้จึงอาจมีลักษณะคล้ายกับการฉาบไอระเหยของโลหะ



รูปที่ 2.30 ระบบเครื่องมือสปีดเตอร์ริง

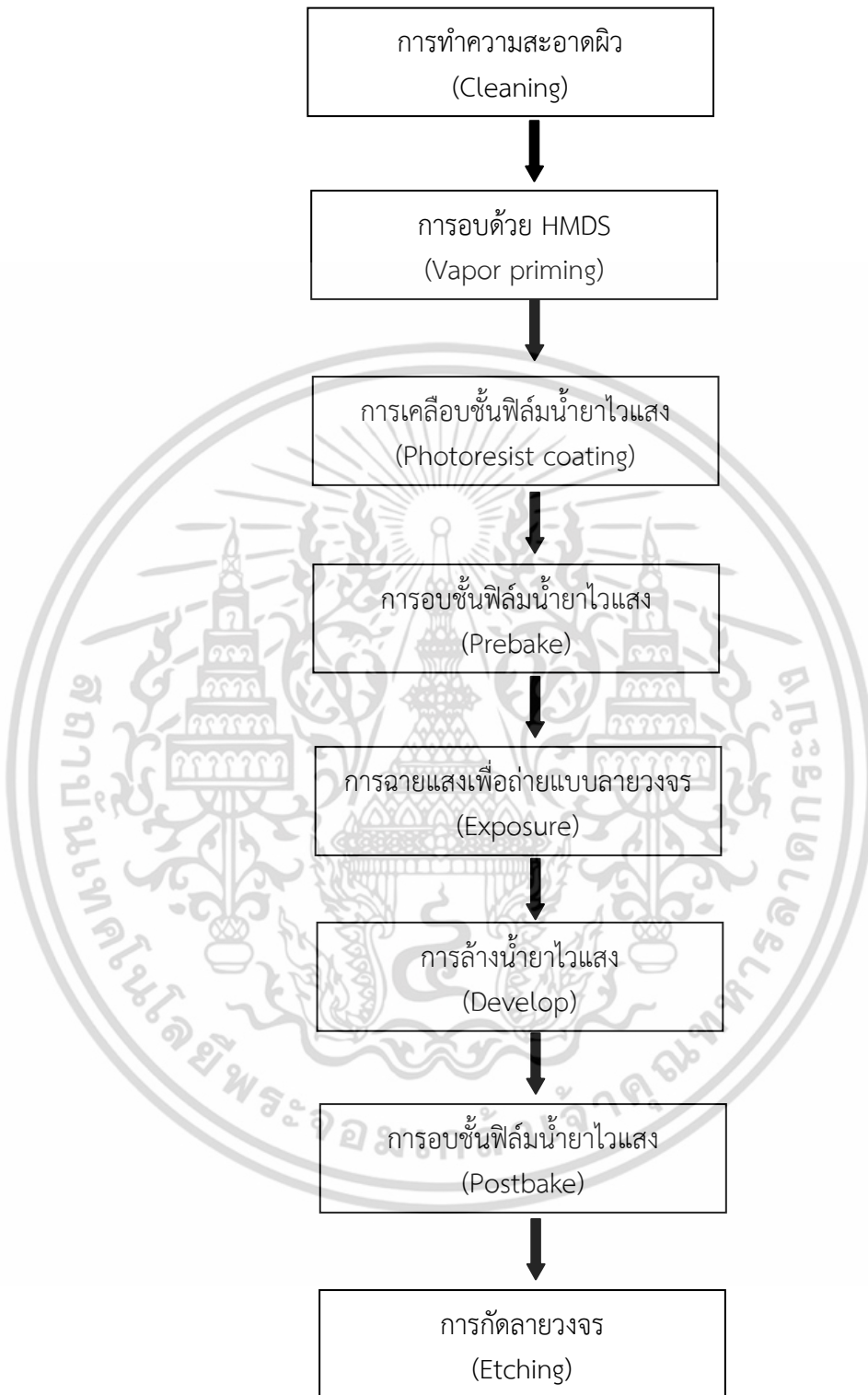
อันที่จริงแล้วเทคนิคสปีดเตอร์ริงสามารถใช้กับวัสดุใด ๆ ก็ได้ รวมทั้งโลหะ ฉนวน และสารกึ่งตัวนำที่มีจุดหลอมละลายสูง นอกจากนี้ยังสามารถทำการสปีดเตอร์พวงสารประกอบ และอัลลอยได้ แม้ว่าการควบคุมองค์ประกอบต่างๆที่ประกอบเป็นสารประกอบจะกระทำได้ลำบากอันเนื่องจากอัตราการสปีดเตอร์ที่แตกต่างกันของส่วนประกอบของสาร ในปัจจุบันเทคนิคสปีดเตอร์ริงมักนิยมใช้กับการปลูกฟิล์มโลหะเป็นหลักสำหรับเครื่องมือสปีดเตอร์ริงที่ใช้โดยทั่วไปสามารถแบ่งได้ดังนี้คือ

1. ดีซีหรืออาร์เอฟสปีดเตอร์ริง (DC หรือ RF Sputtering) : ถ้าเป้าที่ใช้เป็นวัสดุนำไฟฟ้าสามารถใช้เครื่องมือทั้งสองประเภทได้ แต่ถ้าเป้าเป็นพวงสารไดอิเล็กทริกจะต้องใช้การกระตุ้นแบบอาร์เอฟ
2. แมกนีตรอนสปีดเตอร์ริง (Magnetron Sputtering): จะมีการวางแม่เหล็กถาวรหรือขดลวดเพื่อสร้างสนามแม่เหล็กไว้ข้างหลังเป้า เพื่อทำหน้าที่ช่วยบังคับพลาสมาที่มีอะตอมของวัสดุให้ฝากลงบนผิวหน้าแผ่นฐานรองได้ดีขึ้น และเป็นการช่วยเพิ่มอัตราการฝาก
3. รีแอคทีฟสปีดเตอร์ริง (Reactive Sputtering): ก๊าซปฏิกิริยาบางชนิดสามารถเติมเข้ามาในพลาสมาได้เพื่อช่วยปลูกฟิล์มของวัสดุที่ต้องการ อย่างเช่น ถ้าต้องการปลูกฟิล์มติตานิยมไนไตรต์ สามารถกระทำได้โดยการสปีดเตอร์ติตานิยมในบรรยากาศของไนโตรเจนที่ผสมกับก๊าซเฉื่อย

2.7 กระบวนการโฟโตลิโธกราฟี (Photolithography Process)

กระบวนการโฟโตลิโธกราฟี (Photolithography Process) เป็นเทคนิคการถ่ายโอนลายวงจรจากแผ่นหน้ากากบังแสงต้นแบบ (Mask) ไปยังแผ่นฐานรอง (Substrate) เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการสร้างวงจรรวม โดยจะประกอบด้วยขั้นตอนหลัก ดังนี้ การทำความสะอาดผิวชิ้นงาน (Cleaning) การอบชิ้นงานเพื่อเพิ่มการยึดเกาะของพื้นผิว (Vapor Priming) การเคลือบชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง (Photoresist Coating) การอบชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง ให้แห้ง (Prebake) การฉายแสงเพื่อถ่ายแบบลายวงจร (Exposure) ผ่านต้นแบบไปบนแผ่นฐานด้วยเงื่อนไขที่เหมาะสม คุณสมบัติของฟิล์มไวแสงก็จะเปลี่ยนไป โดยสามารถทำการเลือกเอาส่วนที่โดนแสงหรือไม่โดนแสงออกได้โดยการล้างฟิล์ม (Develop) ในสารละลาย การล้างน้ำยาไวแสง (Develop) การอบชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง หลังการล้างลายวงจร (Postbake) และการกัดลายวงจร (Etching)

ขั้นตอนดังกล่าวข้างต้นดังแสดงในรูปที่ 2.31 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.31 แผนผังแสดงขั้นตอนของกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี

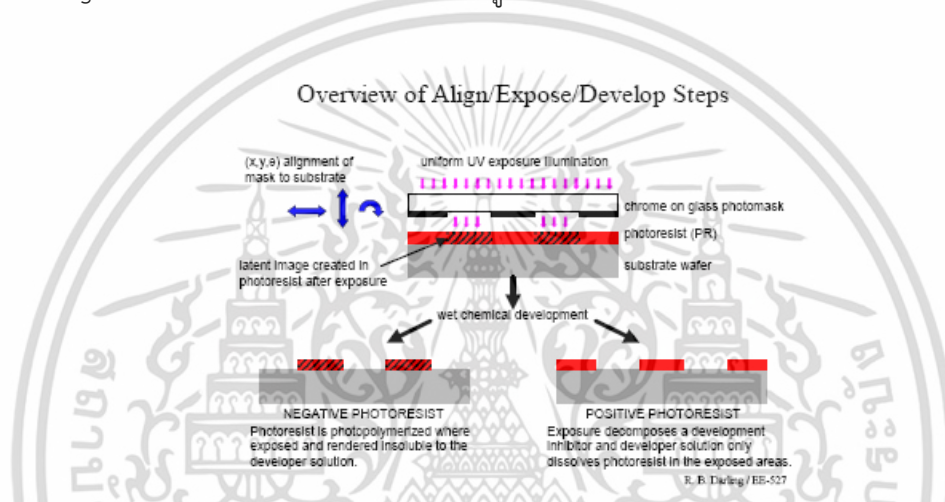
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1 แผ่นหน้ากากบังแสงต้นแบบ (Mask)

การสร้างลายวงจรบนแผ่นต้นแบบจะเริ่มจากการออกแบบโดยใช้คอมพิวเตอร์ช่วย (Computer Aid Design : CAD) ลายที่ออกแบบมักเป็นรูปทรงเลขาคณิต จากนั้นทำการสร้างลายลงบนแผ่นฟิล์ม สิ่งสำคัญในกระบวนการผลิต และนำแผ่นฟิล์มต้นแบบไปใช้คือ ต้องรักษาความสะอาดให้ดีที่สุด หากมีฝุ่นหรือสิ่งสกปรกมาเกาะบนแผ่นฟิล์มต้นแบบ ลายวงจรที่ไปปรากฏบนแผ่นฐานก็อาจผิดเพี้ยนไปได้

2.7.2 ฟิล์มไวแสง (Photoresist)

ฟิล์มไวแสงเป็นสารประกอบที่ไวต่อแสง สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดบวก (Positive Resist) และชนิดลบ (Negative Resist) ข้อแตกต่างของฟิล์มทั้งสองชนิดขึ้นอยู่กับลายวงจรที่ปรากฏบนฟิล์มหลังกระบวนการฉายแสงและล้างภาพว่าเป็นภาพเหมือน (Positive) หรือภาพกลับ (Negative) กับลายวงจรบนแผ่นต้นแบบ รูปที่ 2.32



รูปที่ 2.32 การถ่ายโอนลายวงจรบนฟิล์มไวแสง

1. ฟิล์มไวแสงชนิดบวกมีส่วนประกอบคือ สารไวแสง สารระเหยอินทรีย์ และเรซินฐาน (Base Resin) ก่อนการฉายแสง สารไวแสงไม่สามารถละลายในสารล้าง (Developer) ได้ แต่ระหว่างการฉายแสง สารไวแสงในฟิล์มจะดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนและเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของมันทำให้สามารถละลายในสารล้างได้ บริเวณที่ถูกฉายแสงก็จะถูกชะล้างออกไป

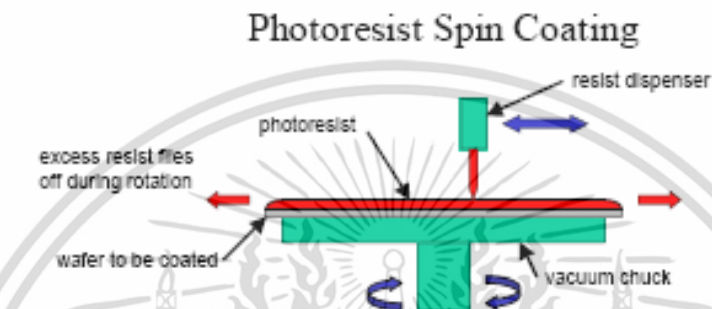
2. ฟิล์มไวแสงชนิดลบมีส่วนประกอบคือ สารไวแสงและพอลิเมอร์ ซึ่งสารไวแสงชนิดนี้มีสมบัติแตกต่างจากชนิดบวก โดยในระหว่างการฉายแสง สารไวแสงจะดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนและใช้พลังงานดังกล่าวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีเพื่อสร้างพันธะระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Polymer Linking) ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ในส่วนที่ถูกฉายแสงสูงขึ้น จึงไม่สามารถละลายในสารล้างได้ บริเวณที่ไม่ถูกฉายแสงก็จะถูกชะล้างออกไป

2.7.3 เทคนิคการเคลือบนำยาไวแสงโดยการปั่นเหวี่ยง (Spin Coating)

วัสดุบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกนำยาไวแสงและสารไดอิเล็กทริกจำพวกอินทรีย์ อย่างเช่น โพลีอีไมด์ (Polyimide) ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวที่สามารถใช้เคลือบลงบนแผ่นผลึกได้ โดยในตอนแรกจะทำการหยดสารที่ต้องการใช้เคลือบลงบนแผ่นผลึกซึ่งถูกดูดให้เป็นสุญญากาศติดอยู่บนสปินเนอร์ จากนั้นจะให้สปินเนอร์หมุนตัวด้วยความเร็วสูง ($\approx 2,000 - 8,000$ rpm) ในช่วงเวลาประมาณ 10 - 20 วินาที การหมุนแผ่นผลึกในลักษณะนี้จะทำให้ของเหลวที่หยดลงบนผิวหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

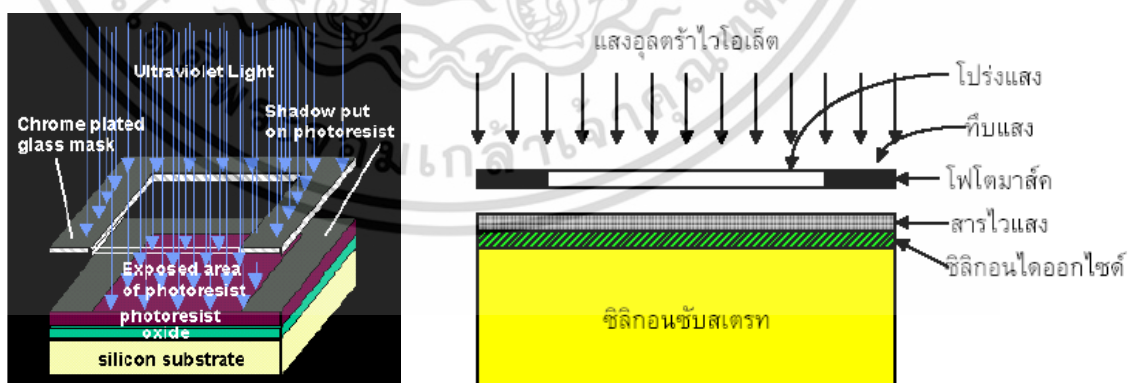
กระจายไปทั่วอย่างสม่ำเสมอและเคลือบอยู่บนเวเนผลึก โดยทั่วไปความหนาแน่นของการเคลือบจะขึ้นอยู่กับความเร็วในการสปิน และค่าความหนืดของของเหลวชนิดนั้น ๆ ขึ้นต่อไปนำเวเนผลึกไปเข้าเตาอบ (อุณหภูมิ $\approx 100^\circ\text{C}$) นานประมาณ 30 – 60 นาที เพื่อระเหยเอาตัวทำละลายออกและเหลือเป็นแผ่นฟิล์มแข็งบางเคลือบบนเวเนผลึก รูปที่ 2.33 แสดงกระบวนการเคลือบสปินออนที่ได้อธิบายไปแล้ว เทคนิคนี้เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว ซึ่งให้ผลในการเคลือบผิวหน้าที่เรียบมาก กรณีที่ใช้เทคนิคนี้ในการเติมสารเจือจะทำให้การเติมสารเจือเป็นแบบเข้มข้น



รูปที่ 2.33 การเคลือบน้ำยาไวแสงด้วยเทคนิค Spin Coating

2.7.4 การฉายแสง (Exposure)

กระบวนการฉายแสงนี้จะใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 193-400 nm) ฉายลงบนแผ่นเวเฟอร์ ซึ่งได้รับการกำหนดแบบวงจรมาจากกระบวนการทำแผ่นกันแล้วว่า ตำแหน่งใดจะเป็นตัวนำหรือฉนวน เพื่อให้เกิดการถ่ายโอนลายวงจรไปยังแผ่นฐาน รูปที่ 2.34 ซึ่งจำเป็นต้องมีการควบคุมตัวแปรต่างๆของกระบวนการให้เหมาะสม เช่น ความยาวคลื่น เวลาที่ใช้ในการฉายแสง เป็นต้น



รูปที่ 2.34 แสดงการฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตผ่านแผ่นโฟโตมาสก์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 การกัด (Etching)

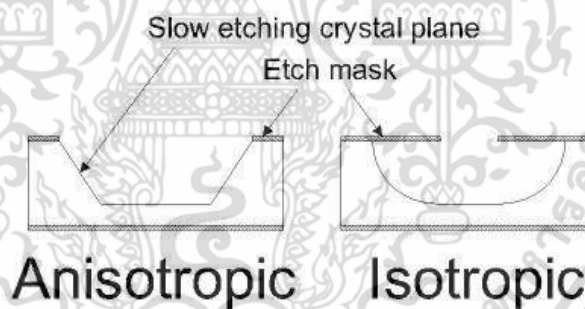
กระบวนการกัดกร่อนคือ การกัดกร่อนหรือลอกวัสดุออก อย่างเช่น พกออกไซด์หรือฟิล์มบางอื่น ๆ โดยวิธีทางเคมี อิเล็กโตรไลติก หรือการระดมยิงด้วยพลาสมา-ไอออน (Plasma-Ion Bombardment) หลังจากที่แพทเทิร์นที่ออกแบบได้ถูกถ่ายแบบจากโฟโตมาส์ลงบนน้ำยาไวแสงแล้ว จะต้องมีการลอกหรือกัดชั้นฟิล์มที่ถูกปกคลุมด้วยน้ำยาไวแสงออกบางส่วน ณ บริเวณที่กำหนด ซึ่งชั้นฟิล์มดังกล่าวอาจเป็นออกไซด์ ไนไตรด์ โพลีซิลิคอน อะลูมิเนียม หรืออาจเป็นชั้นซิลิคอนผลึกเดี่ยวก็ได้ โดยที่ชั้นน้ำยาไวแสงยังคงอยู่หลังจากผ่านกระบวนการกัดกร่อน และจะทำให้หน้าที่ป้องกันบริเวณชั้นฟิล์มที่อยู่ข้างใต้ โดยทั่วไปกระบวนการกัดกร่อนจะต้องพิจารณาถึงแพ็คเกจต่อไปนี้เป็น

(ก) การกัดกร่อนนั้นเป็นแบบไอโซทรอปิก (Isotropic เป็นการกัดกร่อนที่เหมือนกันในทุกทิศทาง) หรือ แอนไอโซทรอปิก (Anisotropic เป็นการกัดกร่อนในทิศทางใดทิศทางหนึ่ง) การกัดกร่อนทั้งสองแบบแสดงในรูปที่ 2.35

(ข) การกัดกร่อนเป็นแบบเลือกเฟ้น (Selective) หรือไม่ หมายความว่าสารที่ใช้กัดกร่อนจะกัดชั้นหน้ากาก และชั้นอื่น ๆ ด้วยอัตราการกัดกร่อนที่ต่ำกว่าชั้นที่จะกัดมากน้อยเพียงใด

(ค) อัตราการกัดกร่อนมีความสม่ำเสมอเพียงใดตลอดพื้นที่ผิวหน้าแว่นผลึก

(ง) หลังจากการกัดกร่อนแล้ว ชั้นที่อยู่ข้างใต้มีความเสียหายเกิดขึ้นหรือไม่



ก

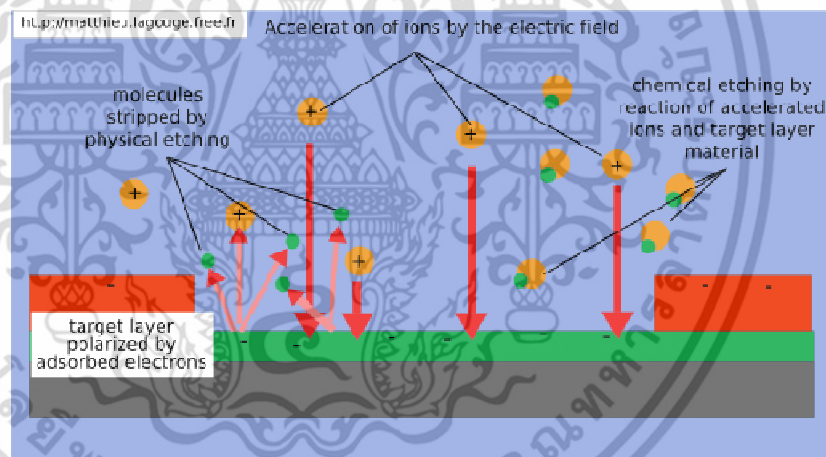
ข

รูปที่ 2.35 ภาพตัดขวางของโครงสร้างที่ถูกกัดแบบ ก) Anisotropic และ ข) Isotropic

สารที่ใช้ในการกัดกร่อนในเทคโนโลยีการผลิตไอซีเป็นตัวแรกคือ สารเคมีพวกกรดบัพเพอร์ อย่างเช่น Buffered HF ซึ่งใช้ในการกัดกร่อน SiO_2 และแก้ว การกัดด้วยสารเคมีประเภทเหล่านี้ เรียกว่าเป็น การกัดกร่อนแบบเปียก (Wet Etching) ซึ่งทำให้บริเวณที่ถูกกัดกร่อนมีลักษณะไอโซทรอปิก และเกิดเป็นลักษณะ Undercut อย่างมากข้างใต้แผ่นหน้ากาก (ในที่นี้คือ ชั้นน้ำยาไวแสง) ดังแสดงในรูปที่ 2.35 (ข) ลักษณะผิวหน้าที่กัดกร่อนด้วยน้ำยาเคมีจะขึ้นกับอุณหภูมิและอายุการใช้งานของส่วนผสมน้ำยากัดกร่อน เมื่อไรก็ตามที่ขนาดสิ่งประดิษฐ์ (Device Feature) หรือขนาดพีเชอร์ของวงจรรวมที่ต้องการผลิตและการเปิดหน้ากากหรือหน้าต่างเพื่อทำการกัดกร่อนมีขนาดเล็กลง จะต้องหลีกเลี่ยงการกัดกร่อนด้วยน้ำยาเคมี ด้วยเหตุนี้ จึงได้มีการพัฒนาการกัดกร่อนโดยใช้ปฏิกิริยาเคมีของโมเลกุลก๊าซที่แตกตัวเป็นไอออนหรือพลาสมาเข้ามาช่วย ซึ่งเรียกว่า การกัดกร่อนแบบแห้ง (Dry Etching) กระบวนการดังกล่าวแสดงในรูปที่ 2.36 โดยการใช้ก๊าซดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ป้อนเข้ามาในแชมเบอร์ปฏิกิริยา (Reaction Chamber) ซึ่งลดความดันลงเหลือประมาณ 0.01-0.1 Torr จากนั้นป้อนกำลังอาร์เอฟให้ระหว่างขั้วไฟฟ้าโลหะ 2 ขั้ว ขั้วหนึ่งเป็นแอโนดซึ่งต่อลงดิน และอีกขั้วหนึ่งเป็นแคโทดซึ่งแว่นผลึกจะวางอยู่บนขั้วนี้ แรงดันอาร์เอฟ จะทำให้เกิดการดิสชาร์จที่ค่าความดันก๊าซต่ำ และทำให้ก๊าซแตกตัวเป็นพลาสมาซึ่งประกอบด้วยอิเล็กตรอนที่มีประจุเป็นลบและไอออนบวกของฟลูออโรคาร์บอน (Fluorocarbon) หรือคลอโรคาร์บอน (Chlorocarbon) ทั้งนี้แล้วแต่กรณี วงจรไฟฟ้าที่ใช้จะถูกออกแบบเพื่อให้แคโทดมีศักย์เป็นลบ ซึ่งทำให้ไอออนบวกเคลื่อนที่เร่งตรงมายังขั้วแคโทดและวิ่งชนผิวหน้าแว่นผลึกอย่างแรงและหากศักย์ไฟตรงโดยเฉลี่ยของแคโทดมีค่าต่ำ จะทำให้การกัดกร่อนส่วนใหญ่เป็นแบบไอโซทรอปิก ชนิดของสารเจือที่ใส่กัดจะทำปฏิกิริยากับชั้นฟิล์มที่ถูกกัดและทำให้เกิดเป็นสารประกอบซึ่งระเหยเป็นไอออกจากแชมเบอร์ไปพร้อมกับก๊าซพา ในกรณีที่แคโทดมีศักย์ไฟฟ้าเป็นลบมาก การวิ่งชนของไอออนอย่างแรงจะทำให้เกิดความเสียหายบนผิวหน้าสารด้วย ลักษณะเช่นนี้จะเป็นการเพิ่มปฏิกิริยาเคมีในทิศทางที่ไอออนวิ่งชนผิวหน้าสาร ยังผลให้การกัดกร่อนมีความเป็นแอนไอโซทรอปิกมากขึ้น ๆ ซึ่งลักษณะนี้เรียกว่าการกัดกร่อนด้วยไอออนปฏิกิริยา [Reactive Ion Etch (RIE)] และใช้เป็นเทคนิคในการขุดชั้นร่อง (Trench) ที่ลึก ($\approx 2 \mu\text{m}$) ใน Si ในกระบวนการผลิตไอซี โดยที่ชั้นร่องนี้จะมีการปลุกชั้นออกไซด์เติมลงไปเพื่อใช้ในการแยกโดดตัวสิ่งประดิษฐ์ในลำดับต่อไป หรือใช้สร้างตัวเก็บประจุที่เป็นพื้นที่ใหญ่ (ในหน่วยความจำสารกึ่งตัวนำที่มีความหนาแน่นสูง) โดยไม่ต้องเสียพื้นที่ที่ผิวหน้าสารมาก

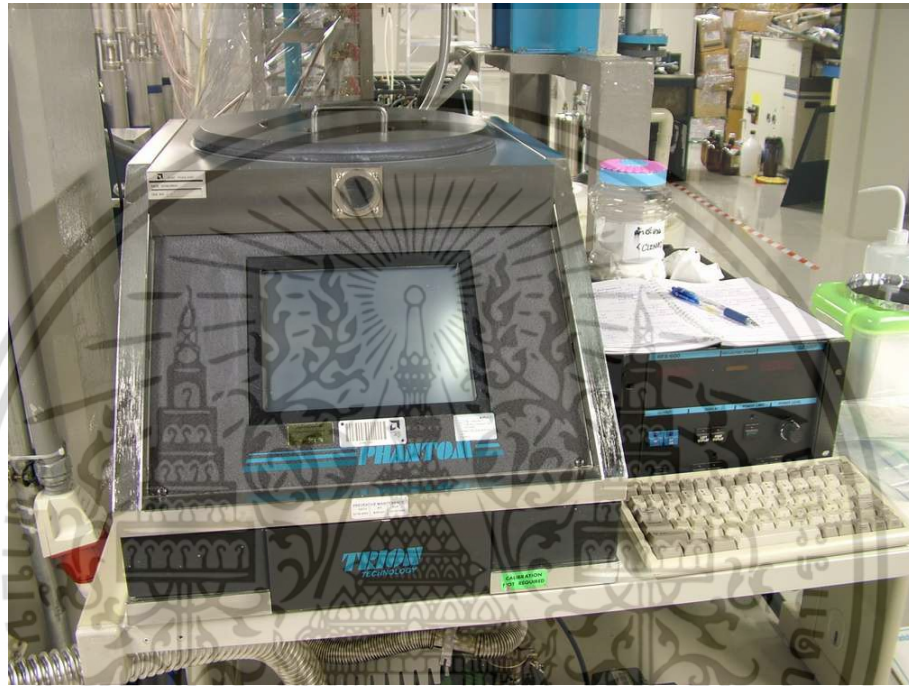


รูปที่ 2.36 แสดงการกัดกร่อนด้วยไอออนปฏิกิริยา (RIE)

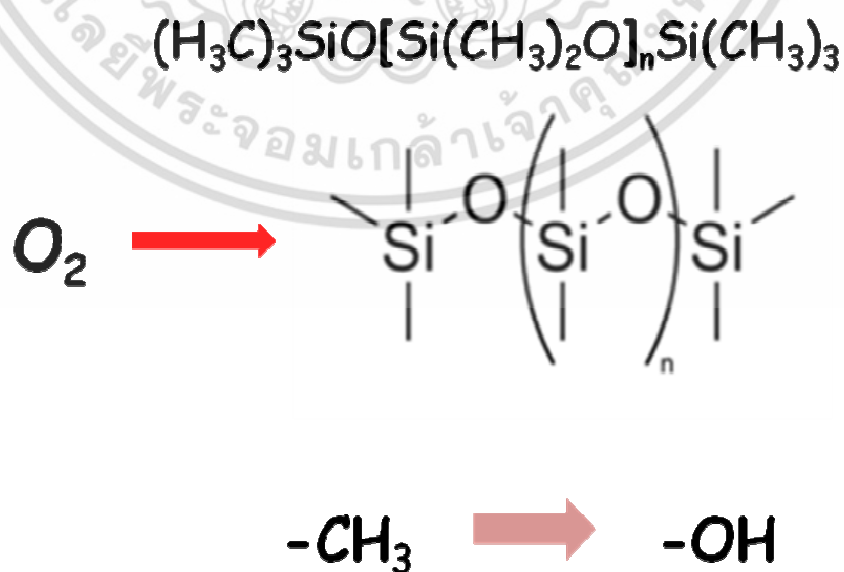
ข้อเสียของกระบวนการ RIE ก็คือ ความเสียหายจากการแผ่พลังงานซึ่งเกิดจากการระดมยิงชนิดของสารเจืออย่างแรงจึงทำให้เกิดสิ่งปนเปื้อนฝังบนผิวหน้าซึ่งกินความลึกในระดับ 100 nm ลักษณะเช่นนี้จะเป็นการเพิ่มสเตทที่ผิว เพิ่มศูนย์กลางการจับ และเพิ่มประจุออกไซด์บวก และอาจทำให้ออกไซด์เกิดการทลายก่อนถึงแรงดันอันควร ดังนั้นจึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษในระหว่างกระบวนการ RIE เพื่อพยายามลดความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น และในบางครั้งอาจต้องมีการนำแว่นผลึกไปแอนนิลที่อุณหภูมิสูง หลังจากผ่านกระบวนการกัดกร่อน

2.9 การ Bonding ด้วย RF Oxygen Plasma

เป็นวิธีการที่ใช้ประกบติดอุปกรณ์ระหว่าง PDMS Microchamber กับ อุปกรณ์อื่นๆเช่น Microheater, Glass slide, Coverglass โดยอาศัยพลังงานจากคลื่น RF ทำให้โมเลกุลของก๊าซ Oxygen ที่อยู่ภายใน Chamber เกิดการแตกตัวเป็น Plasma วิ่งเข้าชนพื้นผิวของชิ้นงาน ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นผิวของ PDMS จากเดิมที่เป็นแบบไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เป็นแบบที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และเกิดการเกาะกันแบบถาวรได้ [cady,fukuba,] รูปที่ 2.37 -2.38



รูปที่ 2.37 เครื่อง RF Plasma Cleaner



รูปที่ 2.38 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นผิว PDMS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

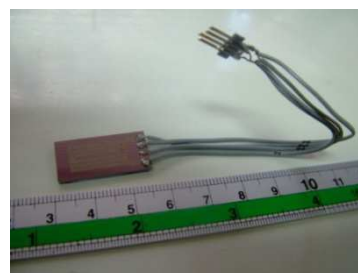
เนื่องจากงานวิจัยนี้ เป็นการสร้างอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ต้นแบบ โดยเลือกอุปกรณ์ต้นแบบไมโครฮีทเตอร์รูปแบบที่เหมาะสมที่สุดจากการวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆ ในงานวิจัย “การออกแบบและสร้างไมโครฮีทเตอร์ร่วมกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุเพอซิทริกสำหรับชีพเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ” ของ นายวิศรุต ศรีพุ่มไข่ [57] เพื่อนำมาพัฒนาต่อยอด สร้างไมโครแซมเบอร์ที่เหมาะสมกับไมโครฮีทเตอร์ดังกล่าว และประกอบรวมเข้ากับระบบควบคุมอุณหภูมิเพื่อสร้างเป็นอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ต้นแบบที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงขอกล่าวรายละเอียดเฉพาะในส่วนของการสร้างไมโครแซมเบอร์ ระบบควบคุมอุณหภูมิ และการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ต้นแบบเท่านั้น

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเริ่มต้นจากการศึกษางานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอุปกรณ์การตรวจขนาดเล็กระดับนาโนเมตรได้ โดยมุ่งเน้นศึกษาเรื่องการสร้างและประยุกต์ใช้อุปกรณ์ประเภทไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งจะประกอบไปด้วยชิ้นส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน คือ ไมโครฮีทเตอร์พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ สำหรับประกอบเป็นอุปกรณ์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์, ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ ซึ่งจะเป็นส่วนที่ทำการใส่สารละลายตัวอย่างที่ต้องการให้เกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นดีเอ็นเอตามปริมาณที่ต้องการ ในที่นี้จะขอเรียกอุปกรณ์ในส่วนนี้ว่า ไมโครแซมเบอร์ ส่วนสำคัญมากอีกส่วนคือระบบควบคุมอุณหภูมิ เนื่องจากในกระบวนการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์นั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญอย่างมากในอันที่จะทำให้กระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ จาก การศึกษางานวิจัยต่างๆ ทำให้ทราบถึงหลักการทำงานของอุปกรณ์ ขั้นตอนในการสร้างและแนวทาง สำหรับการดำเนินงานวิจัย จากนั้นก็จะทำการออกแบบไมโครฮีทเตอร์ซึ่งจะคู่ขนานไปกับการออกแบบแม่แบบสำหรับสร้างเป็นไมโครแซมเบอร์ให้มีรูปแบบที่สอดคล้องกัน จากนั้นก็จะเป็นการดำเนินการสร้างตัวอุปกรณ์ไมโครฮีทเตอร์พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ และเพื่อให้อุปกรณ์ต้นแบบดังกล่าวสามารถใช้งานได้มีประสิทธิภาพ เราต้องทำการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางไฟฟ้า และสมบัติทางความร้อนของตัวอุปกรณ์ หลังจากนั้นจะนำไมโครฮีทเตอร์ที่สร้างขึ้นไป ประกอบรวมกับระบบควบคุมอุณหภูมิ สำหรับใช้งานควบคู่กับไมโครแซมเบอร์ที่เหมาะสม ผลสำเร็จคืออุปกรณ์ต้นแบบ ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) ที่สามารถใช้งานได้จริงในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามความต้องการ

แนวคิดในการออกแบบอุปกรณ์ต้นแบบในการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์

สำหรับแนวคิดในงานวิจัยนี้ เราจะทำการออกแบบอุปกรณ์ให้สอดคล้องกับเครื่องมือที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน คือเครื่องเทอร์โมลไซเคิลอร์ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยเราจะแทนที่อุปกรณ์ดังกล่าวด้วยไมโครฮีทเตอร์พร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพ และในส่วน ของสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่บรรจุอยู่ในไมโครทิวป์ เราจะแทนที่ด้วยไมโครแซมเบอร์เช่นกัน รายละเอียดดังแสดงในรูปที่ 3.1 และ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ไมโครฮีทเตอร์
พร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพ

รูปที่ 3.1 แนวคิดในการออกแบบอุปกรณ์ไมโครฮีทเตอร์ต้นแบบ



ไมโครทิวป์

ไมโครแชมเบอร์

รูปที่ 3.2 แนวคิดในการออกแบบอุปกรณ์ไมโครแชมเบอร์ต้นแบบ

3.1 การสร้างไมโครฮีทเตอร์ พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

3.1.1 การออกแบบไมโครฮีทเตอร์ และตัวตรวจวัดอุณหภูมิ เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมอุณหภูมิในการทำพีซีอาร์

ทำการออกแบบไมโครฮีทเตอร์ และตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ให้อยู่บนอุปกรณ์เดียวกัน โดยทำการออกแบบให้สอดคล้องกับรูปแบบไมโครแชมเบอร์ ชนิด Stationary PCR Chamber ด้วยโปรแกรม L-Edit เนื่องจากเป็นโปรแกรมที่เหมาะสมในการเขียนลวดลายที่มีขนาดเล็กระดับไมโครเมตร ทำให้ได้ลวดลายที่มีความละเอียดสูง เหมาะกับงานวิจัยนี้ โดยกำหนดขนาดของอุปกรณ์ดังนี้

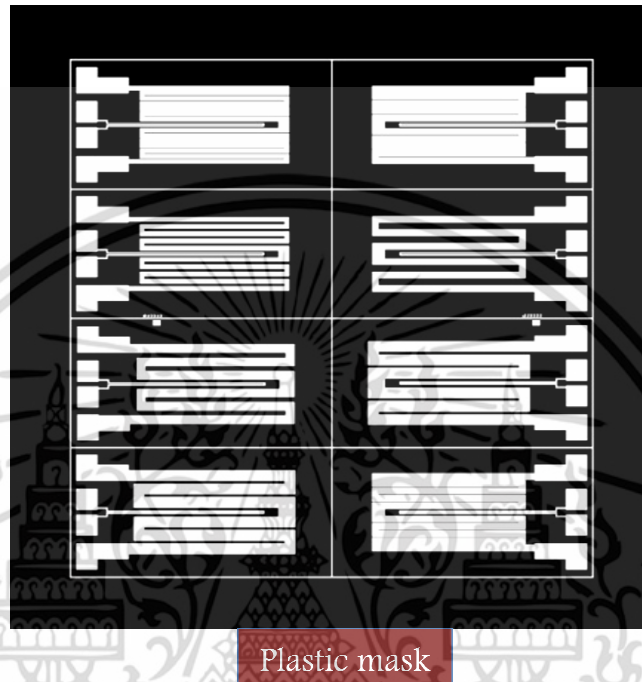
1. กำหนดขนาดความกว้างของลวดลาย (Line Width) ตัวทำความร้อนและระยะห่างของลวดลายให้แตกต่างกัน โดยขนาดความกว้างของลวดลาย อยู่ระหว่าง 400-1,000 ไมโครเมตร ทำให้ได้ไมโครฮีทเตอร์ ที่แตกต่างกันจำนวน 6 รูปแบบ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ซึ่งจะมีผลทำให้ค่าความต้านทานของไมโครฮีทเตอร์แต่ละตัวมีค่าต่างกันตามทฤษฎี

2. กำหนดขนาดความกว้างของลวดลาย (Line Width) ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ เท่ากับ 100 ไมโครเมตร เพียงขนาดเดียว

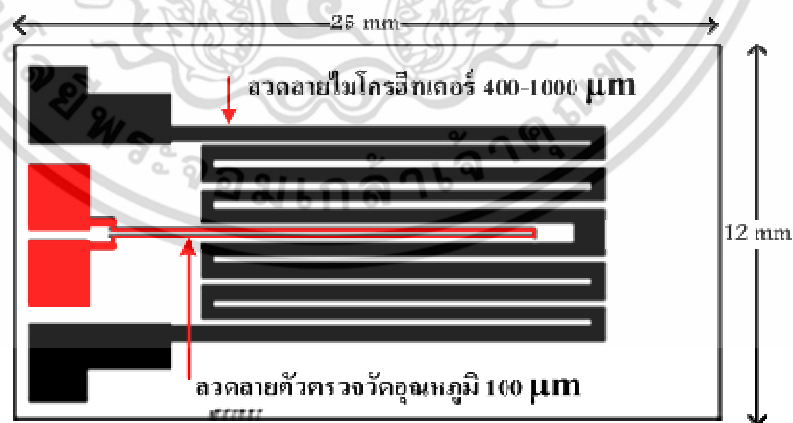
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำเป็นฟิล์มพลาสติกความละเอียดสูงสำหรับใช้เป็นหน้ากากสำหรับการสร้างลวดลายในกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี ดังแสดงในรูปที่ 3.3

4. ขนาดรวมของอุปกรณ์ กว้าง 12 มิลลิเมตรและยาว 25 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับขนาดของไมโครแฮมเบอร์ ดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.3 รูปแบบตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่พิมพ์ลงบนแผ่นฟิล์มพลาสติก



รูปที่ 3.4 ตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ที่ถูกออกแบบให้อยู่บนอุปกรณ์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การคำนวณค่าความต้านทานของอุปกรณ์ที่ออกแบบ

ในการออกแบบไมโครฮีเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมินั้นจะต้องมีการคำนวณค่าความต้านทานของอุปกรณ์เบื้องต้นก่อน เพื่อให้ทราบแนวทางและการนำไปใช้งานได้ถูกต้อง ซึ่งงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการสร้างอุปกรณ์ที่สามารถนำไปใช้งานภายนอกห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นเรื่องของแหล่งจ่ายไฟฟ้าจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณา เนื่องจากหลักการของฮีเตอร์จะใช้หลักการของการจ่ายแรงดันผ่านตัวต้านทานแล้วทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งถ้าตัวต้านทานหรือไมโครฮีเตอร์ที่สร้างขึ้นมีความต้านทานมากเกินไปก็จะส่งผลให้ เราต้องหาแหล่งจ่ายไฟที่มีค่าแรงดันสูงขึ้นตาม

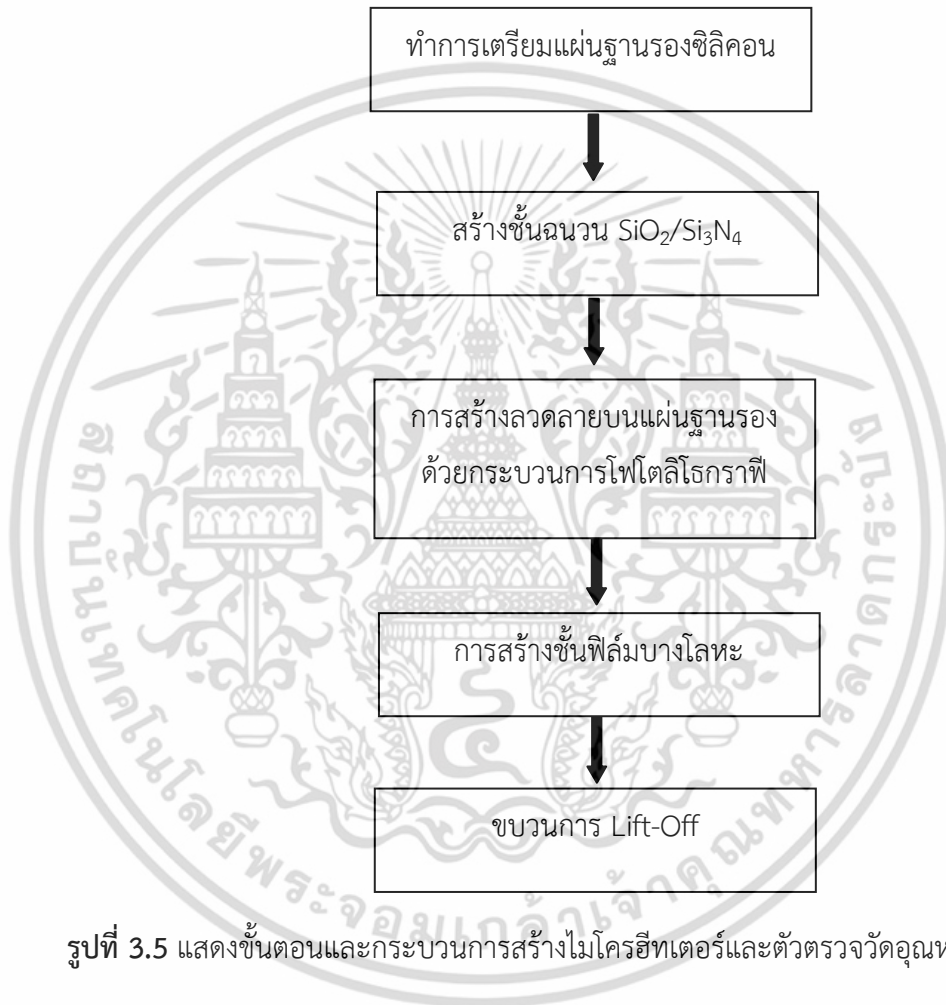
โดยพารามิเตอร์หลักที่ใช้ในการคำนวณค่าความต้านทานของอุปกรณ์ที่ออกแบบไว้ก็จะมี ค่าความต้านทานจำเพาะของวัสดุที่ใช้ทำไมโครฮีเตอร์ (ρ ของแพลทินัม คือ $1.05 \times 10^{-7} \Omega \cdot m$) ความหนาของฟิล์มโลหะที่ใช้ทำเป็นไมโครฮีเตอร์คือ 200 นาโนเมตร ขนาดของลวดลายและความยาวรวมของแต่ละรูปแบบดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สรุปเงื่อนไขการออกแบบแต่ละรูปแบบของไมโครฮีเตอร์

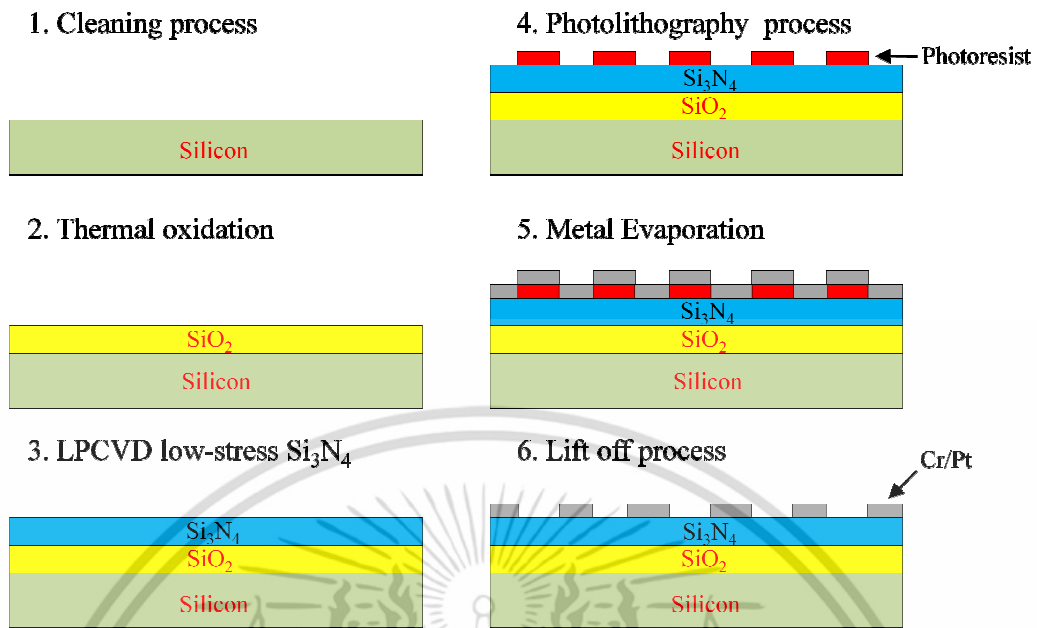
รูปแบบ	ขนาดของลวดลาย (ไมโครเมตร)	ระยะห่าง (ไมโครเมตร)	ความยาวรวม (เซนติเมตร)	ความต้านทาน จากคำนวณ (โอห์ม)
1	400	100	20.07	263
2	600	100	14.67	192
3	600	700	9.05	128
4	800	500	9.15	79.2
5	1000	300	9.25	60
6	1000	200	9.20	48.3

3.1.3 การสร้างไมโครฮีเตอร์ พร้อมตัวตรวจวัดอุณหภูมิ บนแผ่นฐานรองซิลิคอนด้วยฟิล์มบางแพลทินัม (Pt)

หลังจากออกแบบไมโครฮีเตอร์ และตัวตรวจวัดอุณหภูมิเสร็จแล้ว ก็ทำการสร้างอุปกรณ์ดังกล่าว ตามกระบวนการ CMOS Technology ณ ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ตามขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 3.5 และ 3.6



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 แสดงขั้นตอนและกระบวนการสร้างฟิล์มบางพลทินัมบนแผ่นฐานรองซิลิคอน

3.1.3.1 การเตรียมแผ่นฐานรองรับ

เป็นขั้นตอนในการทำความสะอาดแผ่นฐานรอง เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บนผิวหน้าของแผ่นฐานรองออก เพราะในกระบวนการต่างๆ สิ่งแปลกปลอมจะเกิดขึ้นได้อย่างง่ายดาย ผลกระทบของสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บนผิวหน้าของแผ่นฐานรอง สามารถสร้างความเสียหายให้กับการผลิตเนื่องจากในปัจจุบันสิ่งแปลกปลอมจะมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับลวดลายวงจรมีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ

สำหรับการเตรียมแผ่นฐานรองรับ จะเริ่มจากการทำความสะอาดแผ่นซิลิคอนเวเฟอร์ขนาด 6 นิ้ว ชนิดพี (100) โดยขั้นตอนการทำความสะอาดดังนี้

1. ล้างแผ่นซิลิคอนด้วย Piranha Solution ประกอบด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) กับกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ในอัตราส่วน 1: 3 ตามลำดับ เป็นเวลา 5 นาที
2. ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) นาน 10 นาที
3. ล้างด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการลอกชั้นของ ซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติออกไป
4. ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) นาน 5 นาที
5. เป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจน

3.1.3.2 การสร้างชั้นฉนวน

1. การสร้างชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) เป็นขั้นตอนที่จำเป็นต้องใช้ในเกือบทุกกระบวนการ โดยซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) สามารถปลูกลงบนผิวหน้าของแผ่นซิลิคอนได้ เพื่อใช้เป็นชั้นกัน หรือ ชั้นฉนวน หรือใช้ในการแยกโดตสิ่งประดิษฐ์ตัวหนึ่งออกจากสิ่งประดิษฐ์ตัวอื่นในวงจรรวม (ซึ่งเรียกว่า Oxide Isolation) หรือใช้เป็นส่วนประกอบในโครงสร้าง CMOS โดยทั่วไปการปลูกชั้นออกไซด์ สามารถกระทำได้หลายวิธี โดยในงานวิจัยนี้จะใช้เทคนิคการใช้ออกซิเดชันด้วยกระบวนการทางความร้อน โดยกำหนดความหนาของชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) ไว้ที่ 650 นาโนเมตร

2. การสร้างชั้นซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) จะใช้เทคนิคการสร้างฟิล์มซิลิคอนไนไตรด์ ด้วยเครื่องปลูกฟิล์มบางด้วยไอระเหยสารเคมีในสถานะความดันต่ำ (Low Pressure Chemical Vapor Deposition: LPCVD) ซึ่งเป็นเทคนิคการปลูกชั้นฟิล์มที่มีความบริสุทธิ์สูง มีความเครียดที่เกิดกับ ชั้นงานน้อย สามารถทำการปลูกบนผิวที่มีลักษณะสูงต่ำได้ และมีความหนาที่สม่ำเสมอ โดยกำหนด ความหนาของชั้นซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) ไว้ที่ 500 นาโนเมตร ซึ่งเหตุผลที่เลือกใช้วิธีนี้เนื่องจากได้ทำ การทดลองในตอนแรกซึ่งเนื่องจากการสร้างโดยใช้เทคนิคของ Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition (PECVD) นั้น ฟิล์มที่ได้จะมีความสามารถในการทนอุณหภูมิได้ไม่สูง เมื่อนำไป แอนนีสที่อุณหภูมิ 900°C พบว่าฟิล์มเกิดการแตกและหลุดออก

สำหรับการสร้างชั้นฟิล์ม SiO_2 และ Si_3N_4 จะใช้เงื่อนไขในการสร้างชั้นฟิล์มของศูนย์เทคโนโลยี ไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ซึ่งจะต้องมีการตรวจสอบความหนาและความสม่ำเสมอของฟิล์มทุก ครั้งด้วยเครื่องอิลลิปโซมิเตอร์ (Ellipsometer) รุ่น Rudolph FEIII ซึ่งเป็นการวัดแบบไม่ทำลาย พื้นผิวของฟิล์มอีกทั้งยังมีความแม่นยำสูง

3.1.3.3 การสร้างลวดลายด้วยกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี

1. การอบไล่ความชื้น นำแผ่นฐานรองรับที่จะเคลือบน้ำยาไวแสง มาทำการอบไล่ความชื้นที่ อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นจะทำการเคลือบสารเคมี Hexamethyldisilazane (HMDS) ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 80 วินาที เพื่อเพิ่มการยึดเกาะ เนื่องจากโดยทั่วไป น้ำยาไวแสงจะ ยึดเกาะ กับ วัสดุที่มีผิวมันได้ไม่ดี จึงอาจเกิดการหลุดร่อนของชั้นฟิล์มน้ำยา ไวแสงในระหว่างกระบวนการถ่ายแบบ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องใช้สารเคมี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพใน การยึดเกาะระหว่างน้ำยาไวแสงกับผิวชิ้นงาน โดยโมเลกุลของ HMDS จะเข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำ หลังจากนั้นลดอุณหภูมิมาที่ 23°C และคงที่ไว้นาน 60 วินาที

2. การเคลือบชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง มีอยู่หลายวิธี เช่น การหมุนเคลือบ การเคลือบด้วยสเปรย์ และการเคลือบด้วยลูกกลิ้ง เป็นต้น แต่วิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมคือ วิธีการหมุนเคลือบ (Spin Coating) โดยใช้เครื่อง Spinner เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก ประหยัดเวลา และสามารถควบคุม ความหนาของชั้นฟิล์ม ให้มีความสม่ำเสมอได้

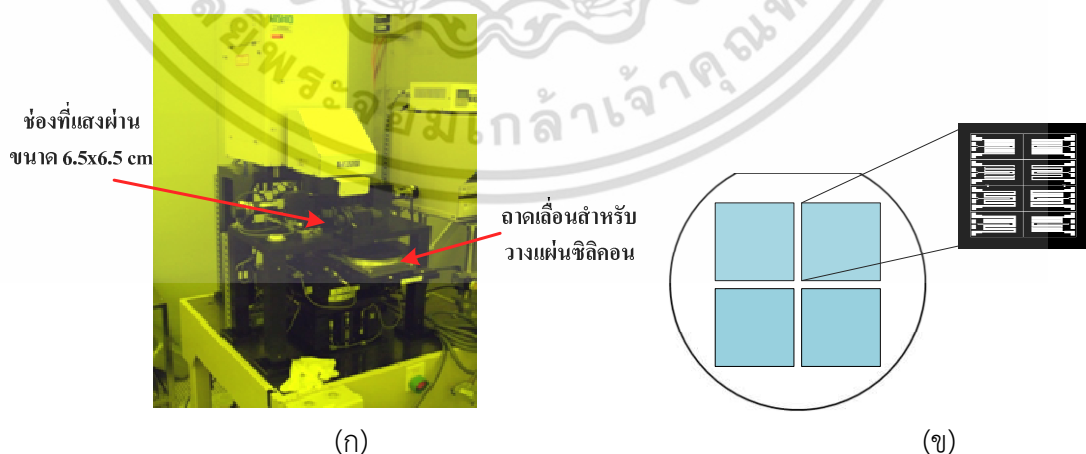
ในงานวิจัยนี้เลือกใช้น้ำยาไวแสงชนิดบวก (Positive Photoresist) เมื่อโดนแสงแล้วจะ สามารถถูกล้างออกด้วยสารเคมีสำหรับล้างน้ำยาไวแสง โดยจะทำการเคลือบน้ำยาไวแสงด้วยเครื่อง หมุนเคลือบ (Spin Coater)

ในส่วนของการเคลือบน้ำยาไวแสงด้วยเครื่องหมุนเคลือบจะต้องมีการทดลอง เพื่อหาค่า อัตราเร็วรอบที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ชั้นความหนาของชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงตามที่ต้องการ โดยจะทำการ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในทาง การค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลือบด้วยความเร็วรอบ 2 ระดับ เริ่มจากหยดน้ำยาไวแสงลงบนฐานรองรับ ทำการเคลือบด้วยความเร็วรอบของมอเตอร์ ประมาณ 500 rpm เพื่อให้ให้น้ำยาไวแสงกระจายหรือเกลี่ยให้ทั่วแผ่นฐานรองรับ จากนั้นทำการหมุนเคลือบด้วยความเร็วสูงประมาณ 3000 rpm เพื่อที่จะทำให้ฟิล์มนั้นมีความเรียบและมีความสม่ำเสมอทั่วกันทั้งแผ่น ดังนั้นปริมาณสารไวแสงที่หยดลงไป และความเร็วรอบของการเคลือบจะเป็นตัวแปรที่ต้องทำการทดลองและบันทึกค่าไว้เพื่อให้สามารถกลับมาทำให้ได้เหมือนเดิมในครั้งถัดไป ซึ่งโครงสร้างของฐานรองรับที่มีการเคลือบน้ำยาไวแสง ดังแสดงในรูปที่ 3.9 หลังจากเคลือบเสร็จจะทำการอบ (Soft Bake) ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 100 วินาที เพื่อทำการอบแห้ง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทำให้ตัวทำละลาย (Solvent) ในน้ำยาไวแสงระเหยออกไป ทำให้ชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง มีความแห้ง แข็งตัวและคงรูปอยู่ได้เมื่อผ่านกระบวนการฉายแสง ซึ่งจะช่วยเพิ่มการยึดเกาะระหว่างผิวของชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงกับผิวของชิ้นงาน นอกจากนี้ยังเป็นกระบวนการทางความร้อน เพื่อลดความเครียด (Stress) ที่เกิดขึ้นในชั้นฟิล์ม โดยมีปัจจัยที่ต้องควบคุมคือ อุณหภูมิและเวลา

3. การฉายแสงยูวีเพื่อถ่ายแบบลายวงจร โดยจะทำการฉายแสงยูวีผ่านฟิล์มหน้ากากลศาสตร์ความละเอียดสูง (Mask) ที่ได้ทำการออกแบบไว้ ด้วยเครื่องฉายแสงยูวีและเครื่องปรับจูนมาร์ส ลักษณะโครงสร้างของการฉายแสง ดังแสดงในรูปที่ 3.9

โดยการเตรียมฟิล์มหน้ากากลศาสตร์สำหรับฉายแสงนั้น จะนำฟิล์มพลาสติกความละเอียดสูงที่ได้จากขั้นตอนของการออกแบบ มาประกบติดกับแผ่นควอทซ์ให้แนบสนิทที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อให้ได้ลวดลายที่คมชัด และขนาดเท่ากับแบบฟิล์มมาร์สที่ออกแบบไว้ จากนั้นนำแผ่นฟิล์มมาร์สที่ติดกับแผ่นควอทซ์ไปติดตั้งบริเวณช่องสำหรับแสงผ่านของเครื่องฉายแสง และใช้ปั๊มสุญญากาศดูดเอาไว้เพื่อให้ติดกับช่องที่แสงผ่านของเครื่อง และนำแผ่นซิลิคอนที่ผ่านการเคลือบน้ำยาไวแสงไปวางบริเวณถาดเลื่อน โดยตัวของถาดเลื่อนจะถูกควบคุมการเลื่อนทางแกน x y และ z โดยควบคุมผ่านโปรแกรม Labview ซึ่งสามารถกำหนดพิกัดได้ตามต้องการ ในที่นี้จะทำการเลื่อนและฉายแสงตามพิกัด 4 จุด ดังแสดงในรูปที่ 3.7(ข)



รูปที่ 3.7 แสดงระบบที่ใช้ในการฉายแสงโดย (ก) แสดงตำแหน่งของช่องที่แสงผ่านและถาดเลื่อนสำหรับวางแผ่นซิลิคอน, (ข) แสดงถึงลักษณะพิกัดของตำแหน่งที่ทำการฉายแสง

สำหรับเวลาที่ใช้ในการฉายแสงก็จะต้องมีการทดลองหาค่าที่เหมาะสมสำหรับความหนาของชั้นน้ำยาไวแสง ซึ่งในงานวิจัยนี้ชั้นน้ำยาไวแสงจะมีความหนาประมาณ 1.0 ไมโครเมตร และจะใช้เวลาในการฉายแสงประมาณ 20 วินาที (เครื่องฉายแสงจะมีความเข้มประมาณ 10.6 mW/cm^2 ซึ่งจะคิดเป็น ความเข้มต่อพื้นที่กับเวลา (Dose) ก็จะใช้ความเข้มคูณกับเวลาที่ใช้ในการฉายแสง) โดยสามารถกำหนดเวลาได้จากตัวเครื่อง จะทำการฉายแสงจนครบสี่ตำแหน่ง ดังแสดงในรูปที่ 3.7

4. การล้างน้ำยาไวแสง เมื่อผ่านขั้นตอนการฉายแสงมาแล้ว ก่อนที่จะทำการล้างน้ำยาไวแสงจะต้องทำการอบที่อุณหภูมิ 110°C นาน 60 วินาที และลดอุณหภูมิลงมาอยู่ที่ 23°C เป็นเวลา 60 วินาที จึงจะเริ่มใช้น้ำยา (developer) ในการล้างน้ำยาไวแสงออกจะมีตัวแปรที่ต้องควบคุมก็คือเวลาที่ใช้ และชนิดของน้ำยา โดยจากรูปที่ 3.12 จะเห็นได้ว่าน้ำยาไวแสงในส่วนที่โดนแสง (ลวดลายของไมโครฮีทเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมิ) จะถูกล้างออกด้วยน้ำยา developer จะเหลือเฉพาะบริเวณที่ไม่โดนแสง ทิ้งไว้หลังจากนั้นทำการอบเป็นครั้งสุดท้ายที่อุณหภูมิ 120°C นาน 80 วินาที เนื่องจากภายหลังจากกระบวนการล้างลายวงจร ชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงที่เกิดเป็นลายวงจรจะมีสมบัติอ่อนนุ่ม ไม่สามารถทนทานต่อการกัดลาย (Etching) ได้ และมีความชื้นเกิดขึ้นในชั้นฟิล์มฯ จึงต้องทำการอบชั้นฟิล์มฯ เพื่อไล่ความชื้นและก่อให้เกิดการเชื่อมพันธะกันระหว่างโมเลกุล (Cross linked) ของน้ำยาไวแสง ทำให้ชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงมีความแข็งแรงเพียงพอที่จะทนต่อการกัดลายวงจรได้ โดยเงื่อนไขที่ต้องควบคุมคือ อุณหภูมิและเวลา หลังจากนั้นลดอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิห้อง ซึ่งจะทำให้ได้ลวดลายของน้ำยาไวแสงบนฐานรองรับที่เตรียมไว้ ถึงขั้นตอนนี้เป็นการเสร็จสิ้นในส่วนของการกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี

5. การตรวจสอบลวดลายหลังจากผ่านกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี ขั้นตอนนี้ถือว่าเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะขาดไม่ได้ หลังจากที่ทำขั้นตอนของโฟโตลิโธกราฟี เรียบร้อยแล้ว เพราะขั้นตอนนี้ถือได้ว่าเป็น การตรวจสอบในกระบวนการถัดไปด้วย เพราะถ้าเกิดลวดลายส่วนใดส่วนหนึ่งเกิดการขาด หรือขนาดไม่ได้ตามที่ออกแบบไว้ ถ้าไม่มีการตรวจสอบ ก็จะทำให้เกิดการผิดพลาดกับกระบวนการต่อจากนี้ทุกกระบวนการ โดยจะทำการตรวจสอบลวดลายด้วยกล้องจุลทรรศน์สำหรับตรวจสอบลวดลาย ถ้าเกิดปัญหาก็คงต้องไปเริ่มที่ขั้นตอนของการทำความสะอาดแผ่นซิลิคอนเวเฟอร์ตั้งแต่ขั้นตอนแรก

ดังนั้นในกระบวนการโฟโตลิโธกราฟีจึงต้องทำการทดลองในหลายขั้นตอน ได้แก่ ความเร็วรอบที่ใช้ในการสร้างน้ำยาไวแสงเพื่อให้ได้ความหนาของน้ำยาไวแสงตามที่ต้องการ รวมถึง ตำแหน่งในการปรับซ็อกมาส์ก เวลาในการฉายแสง (Exposure) ต้องเหมาะสมกับชั้นของน้ำยาไวแสง เพื่อที่จะให้ได้ขนาดของลวดลายเท่ากับตัวแบบที่ออกแบบไว้ และที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งก็คือเวลาที่ใช้ในการล้างน้ำยาไวแสงเพราะในขั้นตอนนี้ถ้าล้างน้ำยาไวแสงออกไม่หมดจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้นตอนถัดไป

เมื่อผ่านกระบวนการโฟโตลิโธกราฟีจะทำให้ได้หน้ากากที่เป็นน้ำยาไวแสงบนฐานรองรับซิลิคอนขนาด 6 นิ้ว ที่มีลวดลายตามที่ออกแบบไว้ ในขั้นตอนต่อไปก็จะนำหน้ากagn้ำยาไวแสงนี้ไปเป็นหน้ากากสำหรับระเหยฟิล์มโลหะด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ

3.1.3.4 การสร้างฟิล์มโลหะด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ

ในขั้นตอนนี้จะทำการระเหยโลหะโครเมียมและแพลทินัมด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ ซึ่งจะประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ การเตรียมฐานรองรับ การเตรียมห้องสุญญากาศ (Chamber) การเตรียมสารตั้งต้นในที่นี้ก็คือโครเมียม แพลทินัม การทำสุญญากาศ และการระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอน

1. การเตรียมฐานรองรับ ปกติก็จะต้องทำความสะอาดฐานรองรับแต่ในงานวิจัยนี้จะใช้แผ่นฐานรองรับที่มีน้ำยาไวแสง เป็นหน้ากาก จึงไม่ต้องทำความสะอาด

2. การเตรียมห้องสุญญากาศทุกๆ ครั้งในการระเหยสารใหม่ด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอน ต้องทำความสะอาดห้องสุญญากาศของระบบ โดยการถอดอุปกรณ์ภายในห้องสุญญากาศทุกชิ้นออกมาทำความสะอาดด้วยวิธี เช่น ชัด ฟันททราย แซ่สารเคมี ล้าง อบ รวมทั้งผนังของห้องสุญญากาศ และที่วางชิ้นงาน กำจัดฝุ่นละออง ตรวจสอบความเรียบร้อยของอุปกรณ์ต่างๆ ภายใน จากนั้นใช้ Isopropyl Alcohol (IPA) เช็ดทำความสะอาดให้ทั่วอีกครั้งหนึ่ง

3. การเตรียมสารตั้งต้น นำวัสดุแพลทินัม (Pt) มาชั่งน้ำหนักก่อนนำวางในถ้วยใส่สาร อาจจะทำการใช้ความร้อนไล่ความชื้นออกก่อนด้วย Hot Plate ที่ 120°C ถ้วยใส่สารที่ใช้ระเหยแพลทินัมในการทดลองนี้จะใช้ Fabmate Graphite แต่ต้องระวังไม่ให้ลำอิเล็กตรอนไปโดนที่ถ้วย

4. นำแผ่นชิ้นงานที่ต้องการจะสร้างชั้นฟิล์มติดกับ Holder ของเครื่อง ดังแสดงในรูปที่ 3.8 โดยในขณะที่ทำการระเหยสารนั้นจะทำการหมุน Holder ไปด้วยเพื่อเพิ่มความสม่ำเสมอของฟิล์ม



รูปที่ 3.8 แสดงลักษณะของการติดแผ่นของชิ้นงานกับตัว Holder ของเครื่อง E-Beam

ตรวจเช็คตำแหน่งและการทำงานของอุปกรณ์ภายใน ใส่สารแพลทินัม (Pt) ลงในถ้วยระเหยสาร (Crucible) ให้เรียบร้อยก่อนทำการปิดฝาของห้องสุญญากาศ

5. การทำสุญญากาศ เมื่อเตรียมห้องสุญญากาศ สาร และชิ้นงานวางในห้องสุญญากาศดีแล้วทำการปั๊มให้เป็นสุญญากาศที่ประมาณ 5×10^{-7} มิลลิบาร์ จึงจะเริ่มทำการยิงลำอิเล็กตรอน

6. การระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอน โดยปกติแพลทินัมจะยึดเกาะกับฐานรองรับชนิดต่างๆ ไม่ค่อยดี ดังนั้นในบางกรณีถ้าต้องการปลูกฟิล์มบางของแพลทินัมให้ยึดแน่นกับฐานรองรับ จึงจำเป็นต้องสร้างชั้นฟิล์มบางโครเมียม (Cr) บนฐานรองรับชั้นหนึ่งก่อนแล้วจึงปลูกฟิล์มแพลทินัม ซึ่งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพลทินัมจะยึดเกาะกับโครเมียมได้ดี ซึ่งในงานวิจัยนี้จะปลูกฟิล์มโครเมียม 20 นาโนเมตร และฟิล์มแพลทินัม 200 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการระเหยสารด้วยระบบระเหยสารในสุญญากาศ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

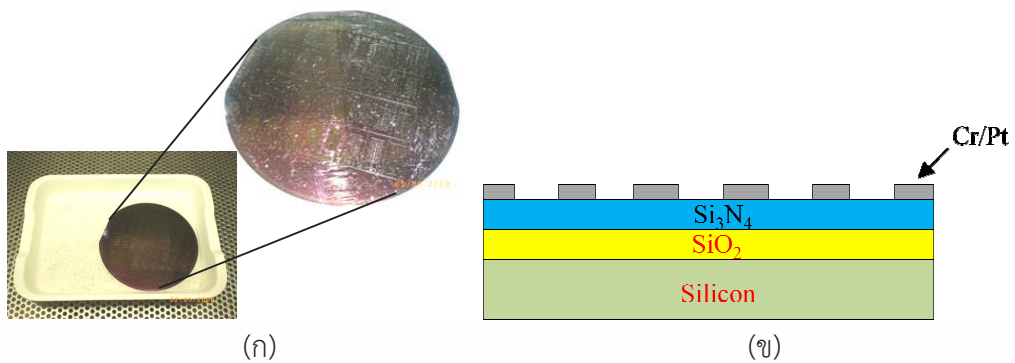
ตารางที่ 3.2 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการสร้างฟิล์มแพลทินัมด้วยระบบระเหยสารในสุญญากาศ

Base pressure	$\sim 5 \times 10^{-7}$ mbar
Power source	5.04 kV
Beam current	100-200 mA
Deposition rate	0.01 nm/sec
Crucible to substrate distance	20 cm
Substrate temperature	100°C
Substrate	Silicon 6 inch.
Film thickness	200 nm

จากการระเหยสารด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศนั้นจะทำให้ได้ฟิล์ม Cr/Pt บนฐานรองรับที่มีลวดลายของน้ำยาไวแสง ดังแสดงในรูปที่ 3.9 อยู่ซึ่งในขั้นตอนถัดไปก็จะทำการล้าง น้ำยาไวแสงออก ก็จะทำให้เหลือแต่ลวดลายของไมโครฮีทเตอร์กับตัวตรวจวัดอุณหภูมิบนฐานรองรับซิลิคอน 6 นิ้ว

3.1.3.5 การล้างน้ำยาไวแสงหลังจากการระเหยฟิล์มโลหะ

ในขั้นตอนนี้จะเป็นการล้างน้ำยาไวแสงในส่วนที่อยู่ใต้ฟิล์มโลหะออก ดังแสดงในรูปที่ 3.9 โดยการใช้สารเคมีอะซิโตน โดยจะนำแผ่นชิ้นงานมาแช่ในสารละลายอะซิโตนเพื่อให้สารละลายค่อยๆ ซึมลงไปทำปฏิกิริยากับตัวของน้ำยาไวแสง ทำให้โลหะที่อยู่บนชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงเริ่มที่จะหลุดออก ดังแสดงในรูปที่ 3.9 (ก) สุดท้ายจะได้เฉพาะลวดลายของโลหะบนฐานรองรับ ดังแสดงในรูปที่ 3.9 (ข) ในขั้นตอนนี้ถ้าฟิล์มโลหะที่สร้างไว้ยึดเกาะไม่ดี ก็จะทำให้หลุดออกมาทั้งหมด โดยหลังจากขั้นตอนนี้ก็จะต้องนำไปตรวจสอบลวดลายด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้งหนึ่ง



รูปที่ 3.9 (ก) แสดงลักษณะของชิ้นงานขณะที่ทำการล้างน้ำยาไวแสง
(ข) โครงสร้างลวดลายของโลหะบนฐานรองรับ

3.1.3.6 การแอนนัลเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม

จากทฤษฎีในบทที่ 2 เกี่ยวกับการใช้โลหะแพลทินัมเป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิจะต้องทำการแอนนัลเพื่อให้ฟิล์มแพลทินัมมีความบริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งจะต้องทำการแอนนัลด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมค่าหนึ่ง จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับช่วงของอุณหภูมิที่ใช้ในการแอนนัลฟิล์มแพลทินัม จะอยู่ในช่วง 600-1100 °C [42] โดยจากการศึกษาจากหลายๆ งานวิจัยก็จะพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม สำหรับการแอนนัลฟิล์มแพลทินัมจะขึ้นอยู่กับระบบที่ใช้เตรียมฟิล์ม เช่น ระบบสปัตเตอร์ริง ระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ก็จะศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้สำหรับการแอนนัลของระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ โดยจะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการแอนนัลเป็น 600, 900 และ 1200 °C ที่เวลาเท่ากันคือ 120 นาที ในบรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน โดยจะทำการควบคุมอัตราการเพิ่มความร้อนอยู่ที่ 5 °C/นาที ซึ่งการแอนนัลด้วยอุณหภูมิสูงนี้จะใช้เตาแอนนัลแบบแนวนอน ที่ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) รุ่น SVG THERMCO TMX2604 Diffusion Furnace ดังแสดงในรูปที่ 3.10



รูปที่ 3.10 เตาแอนนัลแบบแนวนอนที่ TMEC รุ่น SVG THERMCO TMX2604 Diffusion Furnace

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

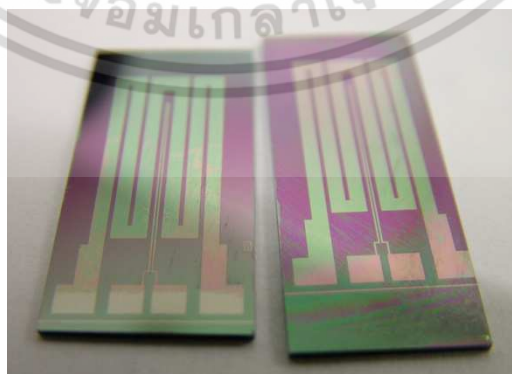
3.1.3.7 นำแผ่นงานที่เสร็จเรียบร้อยไปตัดเป็นชิ้นตามขนาดที่ออกแบบ

ขั้นตอนนี้จะเป็นการตัดแยกอุปกรณ์ออกเพื่อจะนำไปใช้งานให้แยกออกจากกันเป็นแต่ละตัว ดังรูปที่ 3.11 โดยใช้เครื่อง Wafer Dicing Saw ของบริษัทดิสโก รุ่น DAD 3350 ที่ศูนย์เทคโนโลยี ไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC)

โดยในการตัดด้วยเครื่อง Dicing Saw จะต้องทำการเตรียมชิ้นงานก่อนเข้าเครื่องตัด โดยจะทำการเคลือบฟิล์มสำหรับการตัดแผ่นเวเฟอร์ทางด้านหลังของแผ่นชิ้นงานเพื่อเป็นตัวยึดแผ่นชิ้นงานด้วย ในการเคลือบจะใช้อุณหภูมิประมาณ 80°C โดยทำการเคลือบให้เรียบที่สุด จากรูปจะเห็นได้ว่า หลังจากถูกตัดแล้ว ชิ้นงานก็ยังคงติดอยู่กับฟิล์ม และสามารถดึงออกสำหรับการนำไปใช้งานได้อย่าง สะดวก



รูปที่ 3.11 ตัวทำความร้อนและตัวตรวจวัดความร้อนที่ถูกตัดแล้ว



รูปที่ 3.12 แสดงลักษณะของไมโครฮีเตอร์ที่ถูกตัดแบ่งเป็นชิ้นอุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.8 ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับอุปกรณ์

การต่อขั้วไฟฟ้าของอุปกรณ์ เป็นอีกขั้นตอนที่สำคัญมากเพราะจะเป็นตัวที่จะกำหนดได้ว่า ชิ้นงานนั้นจะนำไปใช้งานได้หรือไม่ ในงานวิจัยนี้ได้พยายามที่จะต่อขั้วไฟฟ้าด้วยตะกั่ว กับบริเวณ ขั้วไฟฟ้าของอุปกรณ์ ซึ่งก็ได้พยายามทดลองอยู่ค่อนข้างนาน ซึ่งพบว่าสามารถที่จะบัดกรีได้ แต่ ประสิทธิภาพและความแน่นอนในการบัดกรีไม่ค่อยดีเท่าที่ควร จึงพยายามที่จะหาวิธีที่จะต่อขั้วไฟฟ้า ซึ่งก็พบว่าการใช้กาวเงิน (CMOS-Grade) สำหรับติดขาของไอซีเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการต่อ ขั้วไฟฟ้า โดยการต่อขั้วไฟฟ้าด้วยการเงินจะเริ่มจากนำกาวเงินซึ่งจะต้องอยู่ในตู้แช่แข็ง (-10°C) มา ติดบริเวณขั้วไฟฟ้ากับสายไฟที่ต้องการจะนำมาต่อ ดังแสดงในรูปที่ 3.13 หลังจากนั้นจะต้องนำไปอบ ที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้กาวแข็ง พร้อมทั้งจะนำไปใช้งานได้



รูปที่ 3.13 แสดงลักษณะของไมโครฮีตเตอร์ที่ต่อขั้วไฟฟ้าเรียบร้อยแล้ว

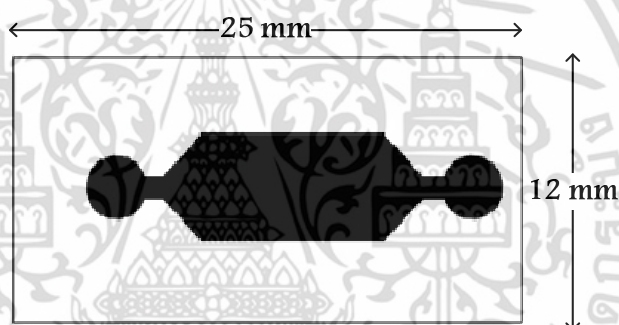
จากขั้นตอนที่ผ่านมา ทำให้ได้อุปกรณ์ไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ที่ถูกตัดแยก ออกเป็นแต่ละตัว และทำการต่อขั้วไฟฟ้าพร้อมที่จะสามารถนำไปใช้งานได้ ซึ่งการที่จะนำไปใช้งานได้ นั้น จะต้องมีการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางไฟฟ้า และสมบัติทางความร้อน ของไมโคร ฮีตเตอร์ที่สร้างขึ้น เพื่อกำหนดลักษณะเฉพาะของอุปกรณ์ และตรวจสอบว่ามีสมบัติตามที่ได้ ออกแบบไว้หรือไม่ ซึ่งรายละเอียดในการทดสอบสมบัติต่างๆของไมโครฮีตเตอร์ สามารถศึกษาได้จาก งานวิจัยเรื่อง “การออกแบบและสร้างไมโครฮีตเตอร์ร่วมกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุเพอซิทริค สำหรับชีพเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ” ของนายวิศรุต ศรีพุ่มไช้ [56]

3.2 การสร้างระบบส่วนของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ หรือไมโครแชมเบอร์ (Microchamber)

3.2.1 การออกแบบระบบส่วนของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ หรือไมโครแชมเบอร์ (Microchamber) ทำการออกแบบไมโครแชมเบอร์ ด้วยโปรแกรม L-Edit โดยกำหนดรูปแบบโครงสร้างสำหรับอุปกรณ์ PCR chip เป็นแบบ Stationary PCR chamber ดังแสดงในรูปที่ 3.14 เนื่องจากเราต้องการอุปกรณ์ที่มีการปรับแต่งและพัฒนาระบบควบคุมอุณหภูมิให้สามารถใช้งานได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งรูปแบบไมโครแชมเบอร์ดังกล่าวสอดคล้องกับแนวคิดนี้ได้เป็นอย่างดี

กำหนดขนาดของอุปกรณ์ดังนี้

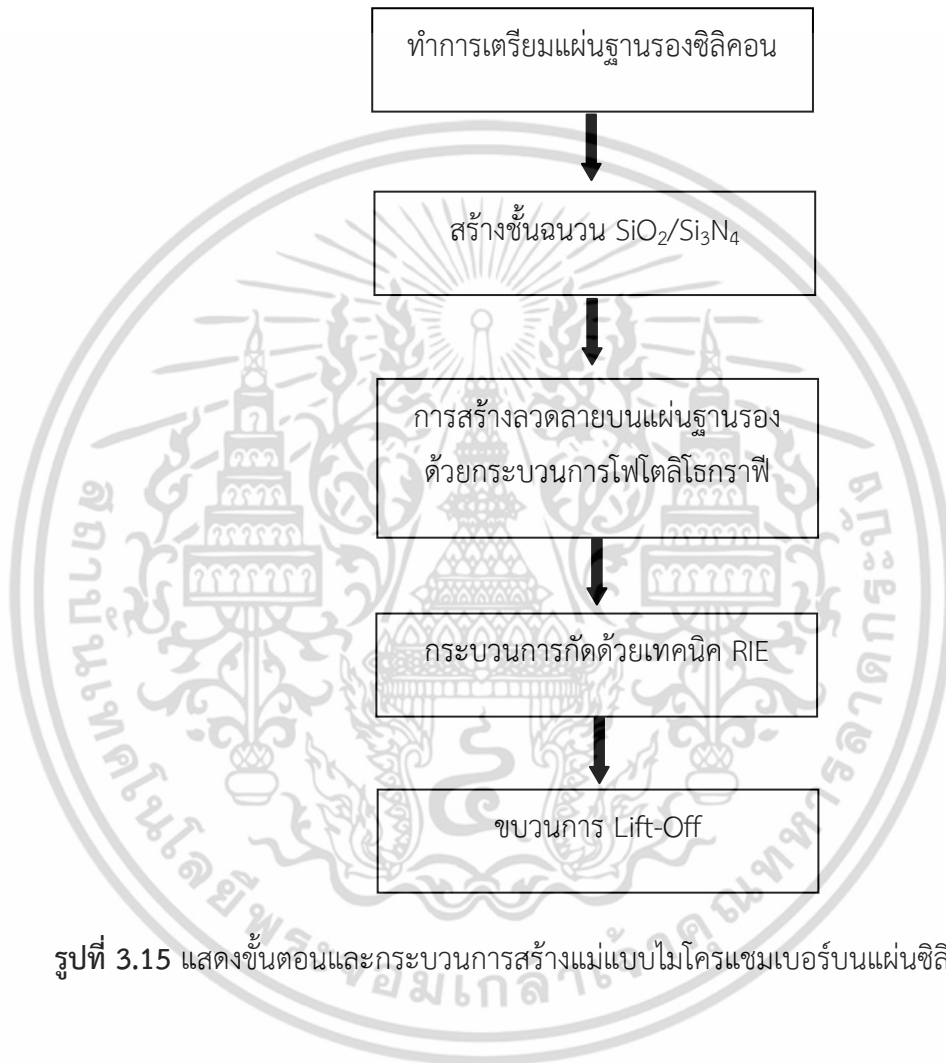
1. ขนาดความกว้าง x ยาว x ลึก ของไมโครแชมเบอร์ เท่ากับ 5.0 มิลลิเมตร x 13.0 มิลลิเมตร x 200 นาโนเมตร ตามลำดับ
2. ขนาดของชิปโดยรวม เท่ากับ 12.0 x 25.0 มิลลิเมตร
3. ปริมาตรรวมของไมโครแชมเบอร์ เท่ากับ 13 ไมโครลิตร



รูปที่ 3.14 รูปแบบไมโครแชมเบอร์ ที่ทำการออกแบบ

3.2.2 การสร้างแม่แบบไมโครแฮมเบอร์ บนแผ่นซิลิคอน

หลังจากออกแบบไมโครแฮมเบอร์เสร็จแล้ว ทำการสร้างอุปกรณ์ดังกล่าว ตามกระบวนการ CMOS Technology ณ ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ตามขั้นตอน ดังแสดงในรูปที่ 3.15 และ 3.16



รูปที่ 3.15 แสดงขั้นตอนและกระบวนการสร้างแม่แบบไมโครแฮมเบอร์บนแผ่นซิลิคอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Cleaning Process



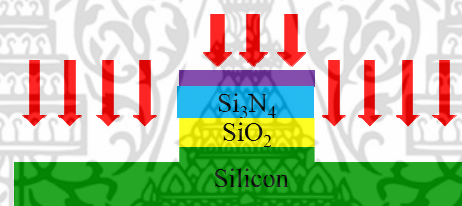
2. Thermal Oxidation LPCVD low-stress $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$



3. Photolithography Process



4. Dry Etching



5. Si Mold



รูปที่ 3.16 แสดงขั้นตอนและบวนการสร้างแม่แบบไมโครแฮมเบอร์บนแผ่นซิลิคอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.1 การเตรียมแผ่นฐานรองรับ

เป็นขั้นตอนในการทำความสะอาดแผ่นฐานรองรับ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บนผิวหน้าของแผ่นฐานรองรับ เพราะในกระบวนการต่างๆ สิ่งแปลกปลอมจะเกิดขึ้นได้อย่างง่ายดาย ผลกระทบของสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บนผิวหน้าของแผ่นฐานรองรับ สามารถสร้างความเสียหายให้กับการผลิต เนื่องจากในปัจจุบันสิ่งแปลกปลอมจะมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับลวดลายวงจรที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ

สำหรับการเตรียมแผ่นฐานรองรับ จะเริ่มจากการทำความสะอาดแผ่นซิลิคอนเวเฟอร์ขนาด 6 นิ้ว ชนิดพี (100) โดยขั้นตอนการทำความสะอาดดังนี้

1. ล้างแผ่นซิลิคอนด้วย Piranha Solution ประกอบด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) กับ กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ในอัตราส่วน 1: 3 ตามลำดับ เป็นเวลา 5 นาที
2. ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) นาน 10 นาที
3. ล้างด้วยกรดกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการลอกชั้นของ ซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติออกไป
4. ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) นาน 5 นาที
5. เป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจน

3.2.2.2 สร้างชั้นฉนวน

1. การสร้างชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) เป็นขั้นตอนที่จำเป็นต้องใช้ในเกือบทุกกระบวนการ โดยซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) สามารถปลูกลงบนผิวหน้าของแผ่นซิลิคอนได้ เพื่อใช้เป็นชั้นกัน หรือ ชั้นฉนวน หรือใช้ในการแยกโคตสิ่งประดิษฐ์ตัวหนึ่งออกจากสิ่งประดิษฐ์ตัวอื่นในวงจรรวม (ซึ่งเรียกว่า Oxide Isolation) หรือใช้เป็นส่วนประกอบในโครงสร้าง CMOS โดยทั่วไปการปลูกชั้นออกไซด์สามารถทำได้หลายวิธี โดยในงานวิจัยนี้จะใช้เทคนิคการทำออกซิเดชันด้วยกระบวนการทางความร้อน (Thermal Oxidation) โดยกำหนดความหนา ของชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) ไว้ที่ 650 นาโนเมตร

2. การสร้างชั้นซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) จะใช้เทคนิคการสร้างฟิล์มซิลิคอนไนไตรด์ ด้วยเครื่องปลูกฟิล์มบางด้วยไอระเหยสารเคมีในสภาวะความดันต่ำ (Low Pressure Chemical Vapor Deposition: LPCVD) ซึ่งเป็นเทคนิคการปลูกชั้นฟิล์มที่มีความบริสุทธิ์สูง มีความเครียดที่เกิดกับชั้นงานน้อย สามารถทำการปลูกบนผิวที่มีลักษณะสูงต่ำได้ และมีความหนาที่สม่ำเสมอ โดยกำหนดความหนาของชั้นซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) ไว้ที่ 500 นาโนเมตร

สำหรับการสร้างชั้นฟิล์ม SiO_2 และ Si_3N_4 จะใช้เงื่อนไขในการสร้างชั้นฟิล์มของศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ซึ่งจะต้องมีการตรวจสอบความหนาและความสม่ำเสมอของฟิล์มทุกครั้งด้วยเครื่องอิลลิปโซมิเตอร์ (Ellipsometer) รุ่น Rudolph FEIII ซึ่งเป็นการวัดแบบไม่ทำลาย พื้นผิวของฟิล์มอีกทั้งยังมีความแม่นยำสูง

3.2.2.3 สร้างลวดลายด้วยกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี

1. การอบไล่ความชื้น นำแผ่นฐานรองรับที่จะเคลือบน้ำยาไวแสง มาทำการอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 200 °C เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นจะทำการเคลือบสารเคมี Hexamethyldisilazane (HMDS) ที่อุณหภูมิ 80 °C นาน 80 วินาที เพื่อเพิ่มการยึดเกาะ เนื่องจากโดยทั่วไป น้ำยาไวแสงจะยึดเกาะกับวัสดุที่มีผิวมันได้ไม่ดี จึงอาจเกิดการหลุดร่อนของชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงในระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์กับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้โดยไม่ทำกำไรใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการถ่ายแบบ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องใช้สารเคมี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยึดเกาะระหว่าง น้ำยาไวแสงกับผิวชิ้นงาน โดยโมเลกุลของ HMDS จะเข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำ หลังจากนั้นลด อุณหภูมิมาที่ 23 °C และคงที่ไว้นาน 60 วินาที

2. การเคลือบชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสง มีอยู่หลายวิธี เช่น การหมุนเคลือบ การเคลือบด้วยสเปรย์ และการเคลือบด้วยลูกกลิ้ง เป็นต้น แต่วิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมคือ วิธีการหมุนเคลือบ (Spin Coating) โดยใช้เครื่อง Spinner เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก ประหยัดเวลา และสามารถควบคุม ความหนาของชั้นฟิล์ม ให้มีความสม่ำเสมอได้

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้น้ำยาไวแสงชนิดบวก (Positive Photoresist) เมื่อโดนแสงแล้วจะ สามารถถูกล้างออกด้วยสารเคมีสำหรับล้างน้ำยาไวแสง โดยจะทำการเคลือบน้ำยาไวแสงด้วยเครื่อง หมุนเคลือบ (Spin Coater) ด้วยความเร็วรอบ 2 ระดับ เริ่มจากหยดน้ำยาไวแสงลงบนฐานรองรับ ทำ การเคลือบด้วยความเร็วรอบของมอเตอร์ ประมาณ 500 rpm เพื่อให้ น้ำยาไวแสงกระจายหรือ เกลี่ยให้ทั่วแผ่นฐานรองรับ และจะทำการหมุนเคลือบด้วยความเร็วสูงประมาณ 3000 rpm เพื่อที่จะ ทำใหฟิล์มนั้นมีความเรียบและมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่น ซึ่งในงานวิจัยนี้ชั้นน้ำยาไวแสงจะมี ความหนาประมาณ 1.0 ไมโครเมตร โครงสร้างของฐานรองรับที่มีการเคลือบน้ำยาไวแสง ดังแสดงใน รูปที่ 3.9 หลังจากเคลือบเสร็จจะทำการอบ (Soft Bake) ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 100 วินาที เพื่อ ทำการอบแห้ง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทำให้ตัวทำละลาย (Solvent) ในน้ำยาไวแสงระเหยออกไป ทำใหฟิล์มน้ำยาไวแสง มีความแห้ง แข็งตัวและคงรูปอยู่ได้เมื่อผ่านกระบวนการฉายแสง ซึ่งจะช่วย เพิ่มการยึดเกาะระหว่างผิวของชั้นฟิล์มน้ำยาไวแสงกับผิวของชิ้นงาน นอกจากนี้ยังเป็นกระบวนการ ทางความร้อน เพื่อลดความเครียด (Stress) ที่เกิดขึ้นในชั้นฟิล์ม โดยมีปัจจัยที่ต้องควบคุมคือ อุณหภูมิและเวลา

3. การฉายแสงยูวีเพื่อถ่ายแบบลายวงจร โดยจะทำการฉายแสงยูวีผ่านฟิล์มหน้ากากลศาสตร์ ความละเอียดสูง (Mask) ที่ได้ทำการออกแบบไว้ ด้วยเครื่องฉายแสงยูวีและเครื่องปรับจูนมาร์ก (เทคนิคและวิธีการโดยละเอียดสามารถดูได้จากหัวข้อการสร้างไมโครฮีทเตอร์) สำหรับเวลาที่ใช้ใน การฉายแสงในงานวิจัยนี้ ประมาณ 20 วินาที (เครื่องฉายแสงจะมีความเข้มประมาณ 10.6 mW/cm² ซึ่งจะคิดเป็น ความเข้มต่อพื้นที่กับเวลา (Dose) ก็จะใช้ความเข้มคูณกับเวลาที่ใช้ในการฉายแสง) โดย สามารถกำหนดเวลาได้จากตัวเครื่อง จะทำการฉายแสงจนครบสี่ตำแหน่ง ดังแสดงในรูปที่ 3.7

4. นำแผ่นงานไปอบที่อุณหภูมิ 110 °C นาน 60 วินาที และลดอุณหภูมิลงมาอยู่ที่ 23 °C เป็น เวลา 60 วินาที

5. ทำการล้างน้ำยาไวแสง ด้วยน้ำยา (Developer)

6. ทำการอบเป็นครั้งสุดท้ายที่อุณหภูมิ 120 °C นาน 80 วินาที เพื่อไล่ความชื้นและก่อให้เกิด การเชื่อมพันธะกันระหว่างโมเลกุล (Cross Linked) ของน้ำยาไวแสง ทำใหฟิล์มน้ำยาไวแสงมี ความแข็งแรงเพียงพอที่จะทนต่อการกัดลายวงจรได้ โดยเงื่อนไขที่ต้องควบคุมคือ อุณหภูมิและเวลา หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ซึ่งจะช่วยให้ได้ลวดลายของน้ำยาไวแสงบนฐานรองรับที่ เตรียมไว้ ถึงขั้นตอนนี้เป็นการเสร็จสิ้นในส่วนของการโฟโตลิโธกราฟี

5. ทำการตรวจสอบลวดลายหลังจากผ่านกระบวนการโฟโตลิโธกราฟี ขั้นตอนนี้ถือว่าเป็น ขั้นตอนสำคัญที่จะขาดไม่ได้ หลังจากที่ทำขั้นตอนของโฟโตลิโธกราฟี เรียบร้อยแล้ว เพราะขั้นตอนนี้

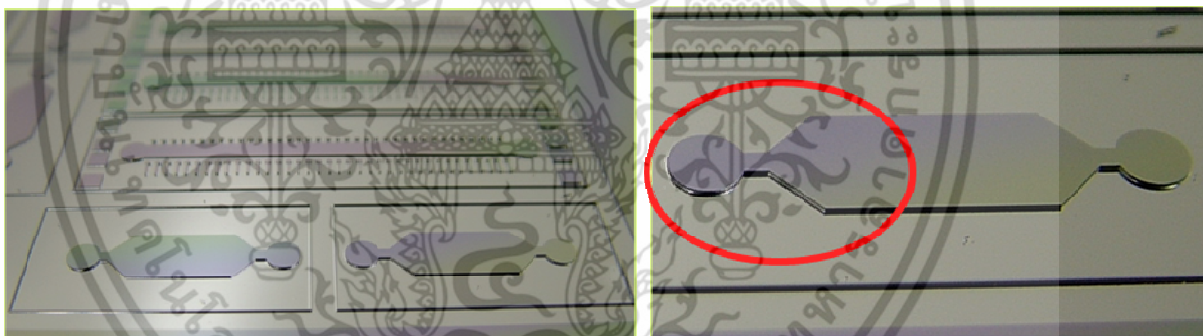
ถือได้ว่าเป็น การตรวจสอบในกระบวนการถัดไปด้วย เพราะถ้าเกิดลวดลายส่วนใดส่วนหนึ่งเกิดการ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาด หรือขนาดไม่ได้ตามที่ออกแบบไว้ ถ้าไม่มีการตรวจสอบ ก็จะทำให้เกิดการผิดพลาดกับกระบวนการต่อจากนี้ทุกกระบวนการ โดยจะทำการตรวจสอบลวดลายด้วยกล้องจุลทรรศน์สำหรับตรวจสอบลวดลาย ถ้าเกิดปัญหาก็คงต้องไปเริ่มที่ขั้นตอนของการทำความสะอาดแผ่นซิลิคอนเวเฟอร์ ตั้งแต่ขั้นตอนแรก

ดังนั้นในกระบวนการโฟโตลิโธกราฟีจึงต้องทำการทดลองในหลายขั้นตอน ได้แก่ ความเร็วรอบที่ใช้ในการสร้างน้ำยาไวแสงเพื่อให้ได้ความหนาของน้ำยาไวแสงตามที่ต้องการ รวมถึง ตำแหน่งในการปรับจูนมาส์ก เวลาในการฉายแสง (Exposure) ต้องเหมาะสมกับชั้นของน้ำยาไวแสง เพื่อที่จะให้ได้ขนาดของลวดลายเท่ากับตัวแบบที่ออกแบบไว้ และที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งก็คือเวลาที่ใช้ในการล้างน้ำยาไวแสงเพราะในขั้นตอนนี้ถ้าล้างน้ำยาไวแสงออกไม่หมดจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้นตอนถัดไป

3.2.2.4 นำแผ่นฐานที่เตรียมเสร็จแล้วไปผ่านกระบวนการกัดด้วยเทคนิค RIE

ขั้นตอนนี้ก็จะเป็นการกัดผิวหน้าของแผ่นฐานรองซิลิคอนที่ได้ขึ้นลวดลายที่ต้องการเรียบร้อยแล้ว ด้วยเทคนิค RIE ที่ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) จนได้ความลึกที่ต้องการ คือ 200 นาโนเมตร เพื่อให้ได้แม่แบบสำหรับนำไปขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ที่เลือกใช้ในการสร้างเป็นไมโครแชมเบอร์สำหรับใส่สารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์ ต่อไป ด้วยเทคนิคดังกล่าวทำให้ได้แม่แบบที่มีความคมชัดและมีความลึกตรงตามที่ออกแบบไว้ ดังแสดงในรูปที่ 3.17



รูปที่ 3.17 ลักษณะความคมและความชันของลวดลายบนแม่แบบซิลิคอนที่ผ่านกระบวนการกัดด้วยเทคนิค RIE (วงกลม)

3.3 การสร้างไมโครแชมเบอร์ จาก Polydimethylsiloxane (PDMS)

เมื่อสร้างแม่แบบซิลิคอนเสร็จแล้ว ทำการหล่อแบบด้วยพอลิเมอร์เพื่อทำเป็นไมโครแชมเบอร์ ทำการสร้าง PDMS ไมโครแชมเบอร์ สำหรับนำไปประกบติดกับตัวทำความร้อนที่สร้างขึ้นตามขั้นตอนดังนี้

1. ผสม PDMS Elastomer กับ PDMS Curing Agent ในอัตราส่วน Elastomer : Curing Agent เท่ากับ 10:1 โดยน้ำหนัก
2. คนส่วนผสมทั้งสองให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกำจัดฟองออกให้หมด (Degas) โดยนำไปใส่ในโถแก้ว (Desiccators) ซึ่งต่อกับปั๊มเพื่อดูดฟองออกจากส่วนผสมให้หมด
3. ทำกรอบครีโอล้อมรอบแบบไว้เพื่อป้องกันส่วนผสม PDMS ไหลออกนอกแบบ
4. เมื่อดูดฟองอากาศออกจนหมดแล้ว ค่อยๆ เทส่วนผสม PDMS ลงบนแผ่นแม่แบบข้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำแบบที่หล่อด้วย PDMS แล้ว ไปอบที่อุณหภูมิ 70-80 °c นาน 1 ชั่วโมง
6. เมื่อครบเวลาแล้วให้ลอกแผ่น PDMS ออกจากแผ่นแม่แบบอย่างระมัดระวัง
7. ทำการตัดชิ้นงานตามขนาดที่ออกแบบไว้ รอนำไปประกบติดกับแผ่นฐานชนิดต่างๆต่อไป

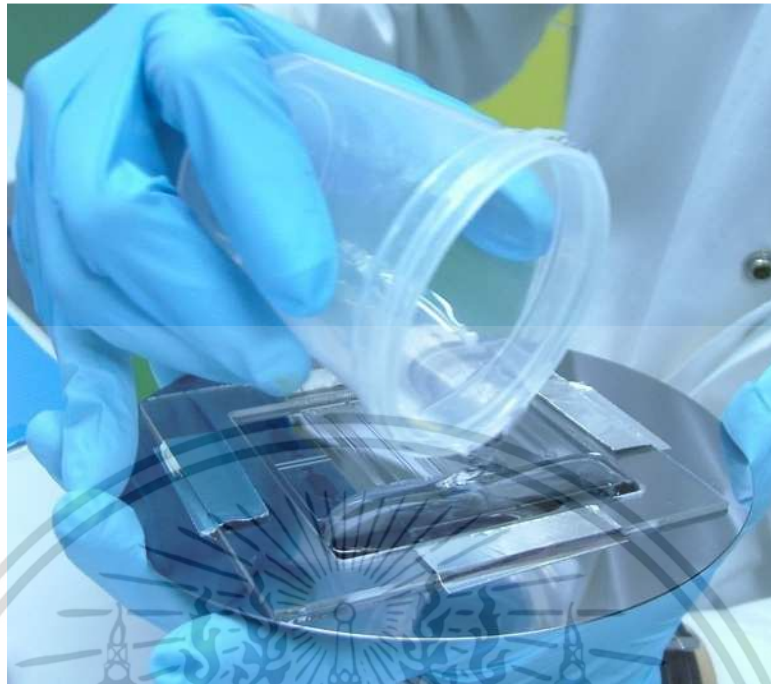


รูปที่ 3.18 ชุดส่วนผสมของ Polydimethylsiloxane (PDMS)

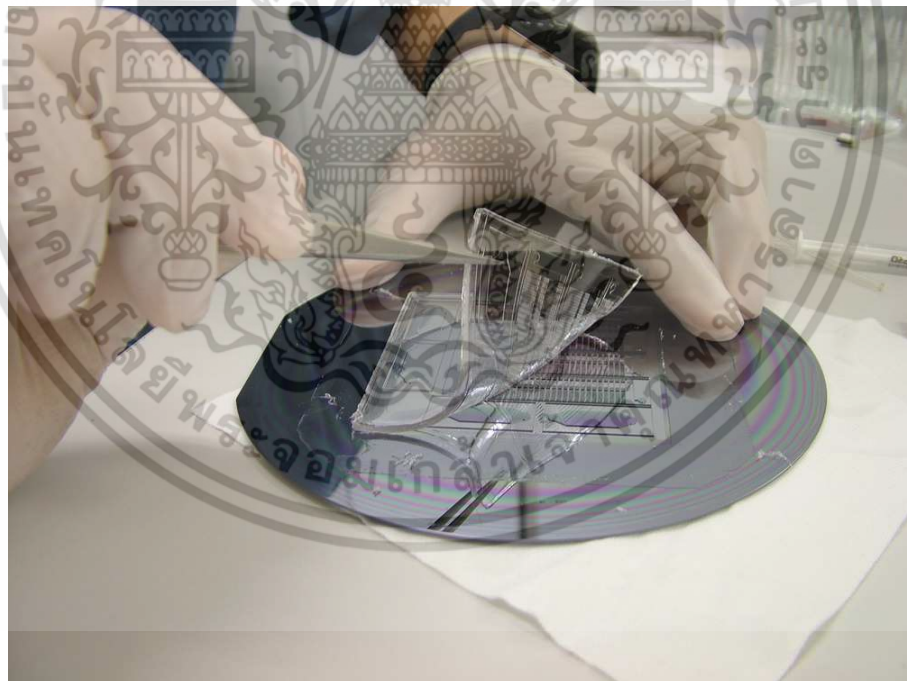


รูปที่ 3.19 โถแก้ว (Desiccators) ที่ต่อกับปั๊มสำหรับดูดฟองอากาศออกจากส่วนผสม PDMS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

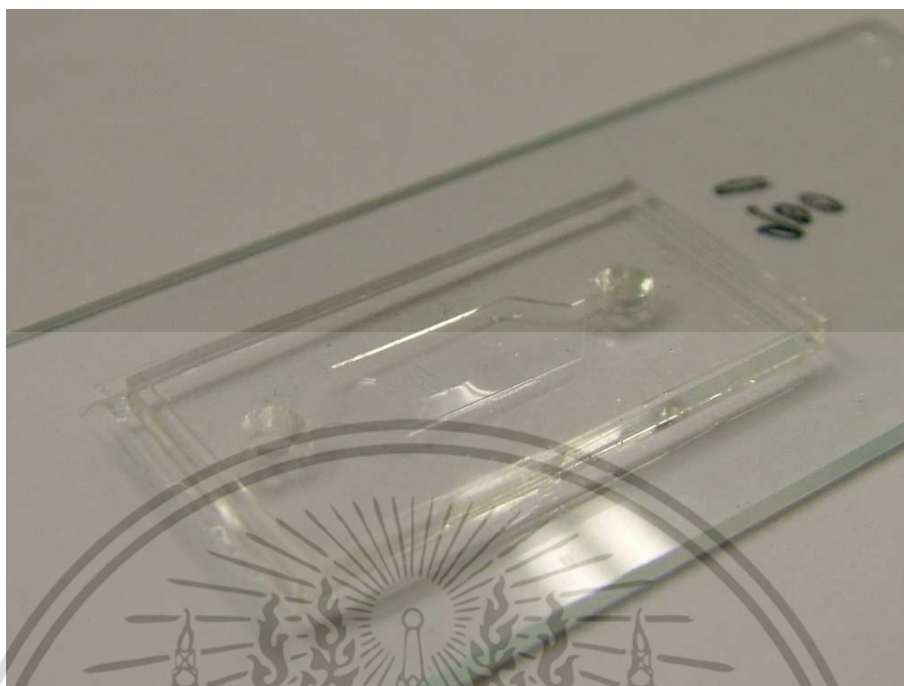


รูปที่ 3.20 วิธีการเทส่วนผสม PDMS ลงบนแผ่นแม่แบบ



รูปที่ 3.21 วิธีการลอกแผ่น PDMS ออกจากแผ่นแม่แบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.22 ลักษณะไมโครแชนเนลที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้ว

3.4 การทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดของแผ่น PDMS กับฐานรองชนิดต่างๆ

3.4.1 เพื่อให้ไมโครแชนเนลสามารถเติมสารละลายต่างๆลงไปได้โดยไม่เกิดการรั่วซึมของของเหลวต่างๆ จำเป็นจะต้องนำไมโครแชนเนลที่เตรียมเสร็จแล้วไปประกบติดกับฐานรองเพื่อให้เป็นระบบปิดทั้งหมด ด้วยเทคนิค Oxygen Plasma Bonding โดยทำการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดระหว่าง PDMS กับวัสดุชนิดต่างๆ ดังการทดลองต่อไปนี้

หาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดระหว่างช่องทางเดินของไหลที่ทำจากวัสดุพอลิเมอร์ PDMS กับแผ่นฐานรองชนิดต่างๆ ดังนี้ Glass, PDMS, SOG on Silicon, SiO₂ on Silicon และ Silicon

หาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการทำให้ของเหลวแผ่กระจายบนพื้นผิวที่เป็นแก้ว เพื่อให้ของเหลวที่บรรจุเข้าไปภายในไมโครแชนเนลได้สัมผัสกับไมโครฮีทเตอร์ได้มากที่สุด ทำให้กระบวนการทำพีซีอาร์มีประสิทธิภาพที่ดี ได้ดีเอ็นเอตามขนาดที่ต้องการ จึงทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของของเหลวบนผิวหน้าของ Cover Glass ที่ผ่านการ Modify พื้นผิวด้วย Oxygen Plasma [58-60]

ขั้นตอนการทดลอง

เครื่องมือ และวัสดุอุปกรณ์

1. เครื่อง RF Plasma Cleaner
2. Glass Slide
3. Cover Glass
4. Bare Silicon Wafer
5. SOG Coated Silicon
6. SiO₂ Coated Silicon
7. Forceps
8. Micro Pipette
9. Pipette Tip

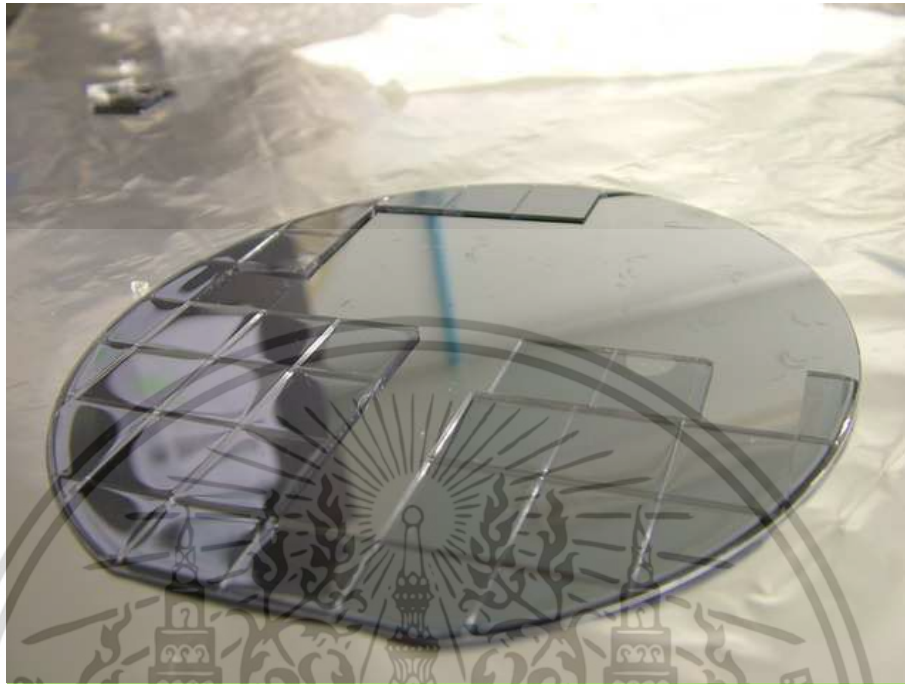
สารเคมีและน้ำยา

1. PDMS
2. น้ำกลั่น

วิธีทดลอง

1. เตรียมแผ่นฐานรองทั้ง 4 แบบ ด้วย Piranha Technique
2. เตรียมแผ่น PDMS ขนาด 1.5 x 1.5 cm. จำนวน 7 แผ่น
3. นำแผ่น Cover Glass, PDMS และแผ่นฐานรองทั้ง 4 ชนิดไปเข้าเครื่อง RF Plasma Cleaner ที่เตรียมพร้อมใช้งานไว้แล้ว โดยกำหนดเวลาของการทำ Surface Modification ไว้ที่ 15 วินาที และ เปลี่ยนค่า RF Power ที่ 40, 80 และ 120 Watt ตามลำดับ
4. นำแผ่น Cover Glass, PDMS และแผ่นฐานรองทั้ง 4 ชนิดไปเข้าเครื่อง RF Plasma Cleaner ที่เตรียมพร้อมใช้งานไว้แล้ว โดยหยายผิวหน้าที่ต้องการประกบติดกันขึ้นด้านบน และกำหนดค่า RF Power ไว้ที่ 80 watt และเปลี่ยนค่าเวลาของการทำ Surface Modification ที่ 10 วินาที 15 วินาที และ 25 วินาที ตามลำดับ
5. เมื่อครบกำหนดเวลา นำแผ่น PDMS มาประกบติดกับแผ่นฐานรองชนิดต่างๆ ดังนี้
 - นำแผ่น PDMS ทั้งสองแผ่นมาประกบติดกัน
 - นำแผ่น PDMS จำนวน 1 แผ่น มาประกบติดกับ Glass Slide
 - นำแผ่น PDMS จำนวน 1 แผ่น มาประกบติดกับ แผ่น Bare Silicon Wafer
 - นำแผ่น PDMS จำนวน 1 แผ่น มาประกบติดกับ แผ่น SiO₂ Coated Silicon
 - นำแผ่น PDMS จำนวน 1 แผ่น มาประกบติดกับ แผ่น SOG Coated Silicon
6. ทำการทดสอบการประกบติดของ PDMS กับ Substrates/Surface ชนิดต่างๆ โดยการดึงที่มุมทั้งสองของแผ่น PDMS ด้วย Forceps
7. หยดน้ำกลั่นปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนแผ่น Cover Glass ที่เงื่อนไขของการทำ Surface Modification ต่างๆ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำเปรียบเทียบกับขนาดของหยดน้ำกลั่นบนแผ่น Cover Glass ที่ไม่มีการ Modify ผิวหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

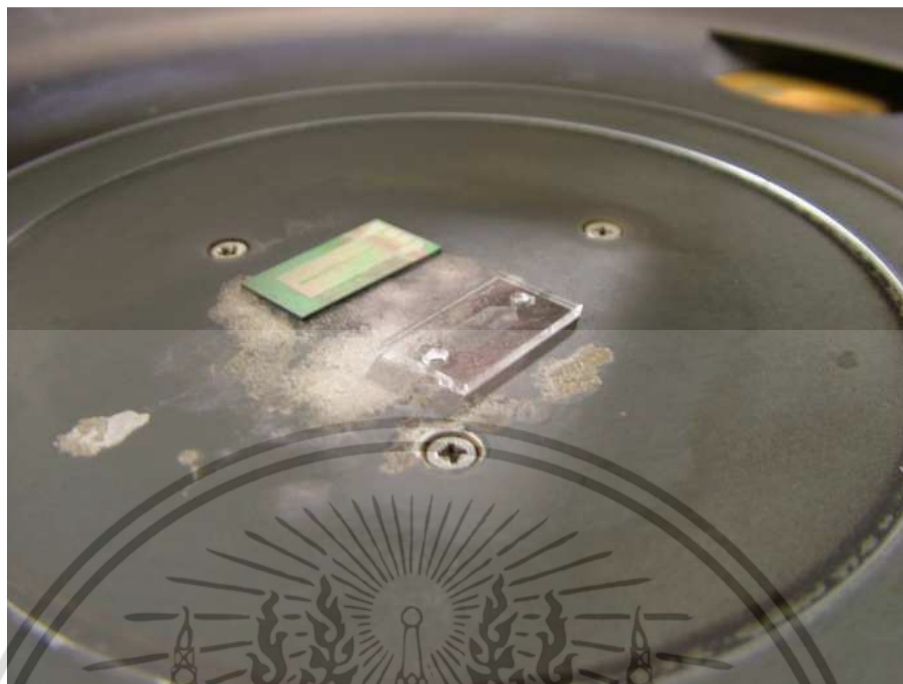


รูปที่ 3.23 การเตรียมชิ้น PDMS ตามขนาดที่ทำการทดลอง



รูปที่ 3.24 การวางชิ้นงานที่ต้องการประกบติด ภายในเครื่อง RF Plasma Cleaner

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.25 การวางชิ้นงานที่ต้องการประกบติด ภายในเครื่อง RF Plasma Cleaner

3.4.2 ผลการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดของแผ่น PDMS กับฐานรองชนิดต่างๆ

จากการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดของแผ่น PDMS กับฐานรองชนิดต่างๆ คือ Glass, PDMS, SOG on Silicon, SiO_2 on Silicon และ Silicon ด้วยเทคนิค Oxygen Plasma Bonding โดยใช้เครื่อง เครื่อง RF Plasma Cleaner พบว่าแผ่น PDMS สามารถประกบติดได้ดีกับฐานรองชนิดต่างๆ ที่นำมาทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 3.26 และตารางที่ 3.3 – 3.4

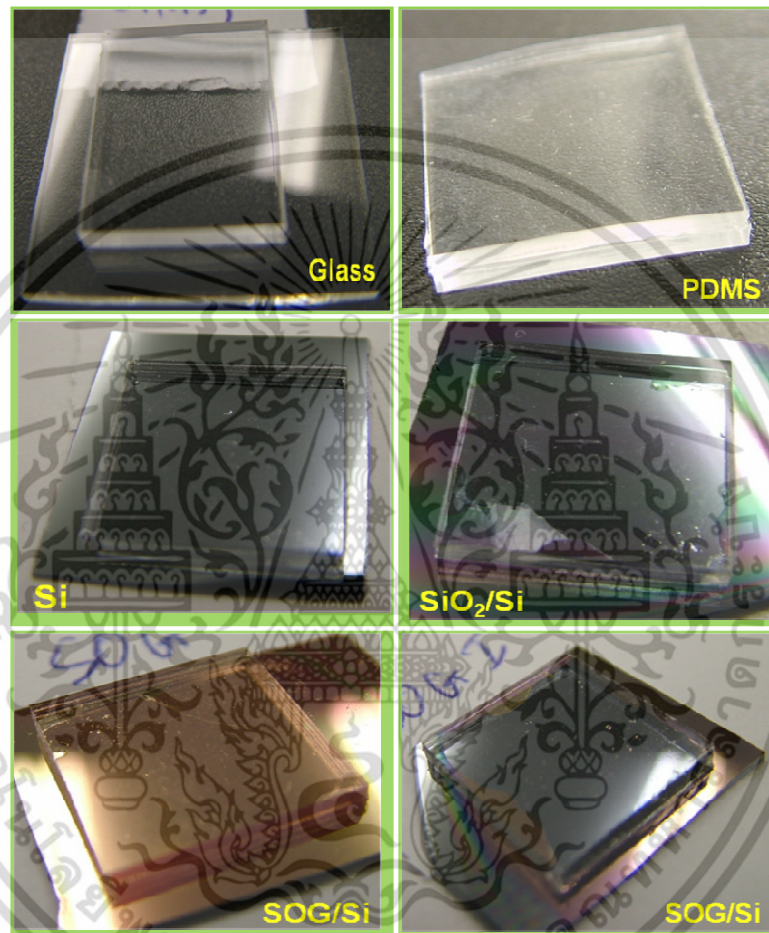
สำหรับงานวิจัยนี้ได้เลือกเอาพื้นผิวที่เป็น Glass มาประกบเป็นฐานรองไมโครแฮมเบอร์ เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีราคาถูก อันจะทำให้อุปกรณ์ดังกล่าวมีต้นทุนไม่สูงมาก เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้

จากการทดลองหาค่าการแผ่กระจายของของเหลวบนพื้นผิวที่เป็น Glass ที่ผ่านการ Modify ด้วยเงื่อนไขต่างๆ พบว่าในเวลาของการ Modify พื้นผิวที่เท่ากันคือ 15 วินาที เส้นผ่านศูนย์กลางของน้ำกลั่นบนพื้นผิวที่ Modify ด้วย RF Factor 80 Watt มีค่าเท่ากับ เส้นผ่านศูนย์กลางของน้ำกลั่นบนพื้นผิวที่ Modify ด้วย RF Factor 120 Watt ดังแสดงในตารางที่ 3.5 เราจึงเลือกเงื่อนไขการ Modify ผิวหน้าฐานรองที่เป็น Glass ที่ RF Factor น้อยกว่า คือ RF Factor 80 Watt

จากการทดลองหาค่าการแผ่กระจายของของเหลวบนพื้นผิวที่เป็น Glass ที่ผ่านการ Modify ด้วยเงื่อนไขต่างๆ พบว่าในการใช้ RF Factor 80 Watt ที่เท่ากัน แต่ใช้เวลา (Surface Modification Time) แตกต่างกัน เส้นผ่านศูนย์กลางของน้ำกลั่นบนพื้นผิวที่ Modify ด้วย เวลา 15 และ 25 วินาที มีค่าเท่ากัน คือ 10 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 3.6 เราจึงเลือกเงื่อนไขการ Modify ผิวหน้าฐานรองที่เป็น Glass ที่ เวลา 15 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลอง เราได้เงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดระหว่าง PDMS Microchamber และ พื้นผิวที่เป็น Glass คือ ค่า RF Factor 80 Watt และ Surface Modification Time 15 วินาที เนื่องจากที่เงื่อนไขดังกล่าว วัสดุที่ต้องการสามารถประกบกันได้ดี และยังทำให้ของเหลวสามารถแผ่กระจายบนพื้นผิวของฐานรองได้ดีอีกด้วย



รูปที่ 3.26 การประกบติดระหว่างแผ่น PDMS กับฐานรองต่างๆ ก) PDMS ข) Glass
ค) Bare Silicon ง) SiO_2 จ) SOG ฉ) SOG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการทดสอบการประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ต่างๆ ที่เงื่อนไข ค่า Surface Modification Time 15 Sec. และ RF Power 40, 80 และ 120 Watt ตามลำดับ

RF Power (Watt)	การประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ชนิดต่างๆ					
	PDMS	Glass	Silicon	SiO ₂ /Si	SOG/Si (1)	SOG/Si (2)
40	✓	✓	✓	✓	✓	✓
80	✓	✓	✓	✓	✓	✓
120	✓	✓	✓	✓	✓	✓

ตารางที่ 3.4 แสดงผลการทดสอบการประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ต่างๆ ที่เงื่อนไข ค่า RF Power 80 Watt และ Surface Modification Time 10, 15 และ 25 วินาที ตามลำดับ

Surface Mod. Time (วินาที)	การประกบติดของแผ่น PDMS กับ Substrates/Surface ชนิดต่างๆ					
	PDMS	Glass	Silicon	SiO ₂ /Si	SOG/Si (1)	SOG/Si (2)
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓
15	✓	✓	✓	✓	✓	✓
25	X	✓	X	X	✓	✓

ตารางที่ 3.5 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำกลั่นบนแผ่น Cover Glass ที่ไม่มีการ Modify ผิวหน้า และ Modify ผิวหน้า ด้วยเงื่อนไข ค่า Surface Modification Time 15 Sec. และ RF Power 40, 80 และ 120 Watt ตามลำดับ

RF Power (Watt)	เส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำ (มิลลิเมตร)
ไม่ทำการ Modify ผิวหน้า	5
40	7
80	10
120	10

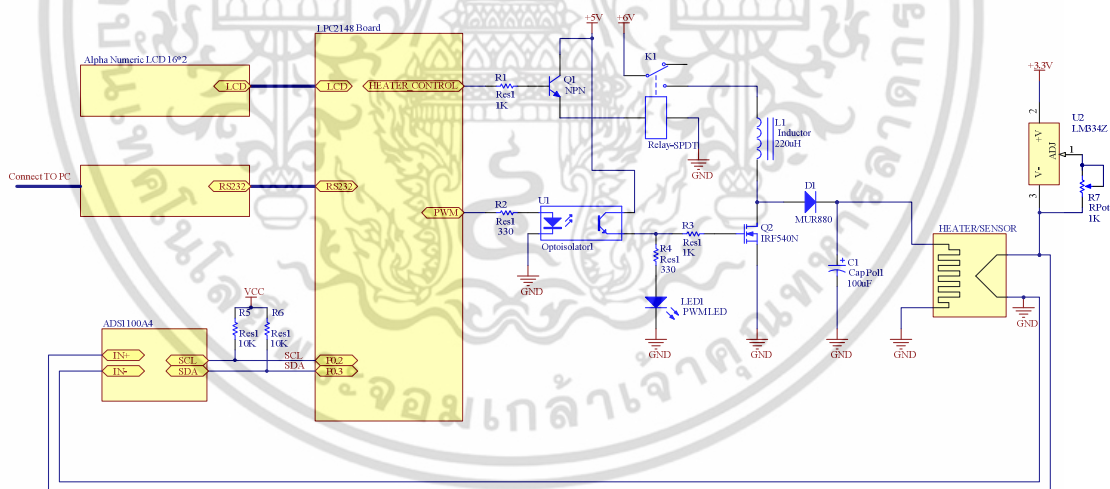
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำกลั่นบนแผ่น Cover Glass ที่ไม่มีการ Modify ผิวหน้า และ Modify ผิวหน้า ด้วยเงื่อนไข ค่า RF Power 80 Watt และ Surface Modification Time 10, 15 และ 25 Sec. ตามลำดับ

Surface Mod. Time (วินาที)	เส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำ (มิลลิเมตร)
ไม่ทำการ Modify ผิวหน้า	5
10	7
15	10
25	10

3.5 การสร้างระบบควบคุมอุณหภูมิ

ระบบควบคุมอุณหภูมิสำหรับการทำพีซีอาร์ถือเป็นส่วนสำคัญอีกส่วนหนึ่งที่จะทำให้อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเทคนิคที่เลือกมาใช้สำหรับการควบคุมอุณหภูมิจะใช้เทคนิคการควบคุมแบบพีโอดี โดยจะมีไมโครฮีเตอร์เป็นตัวทำความร้อน และมีตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน (RTD) สำหรับตรวจวัดอุณหภูมิ โดยรายละเอียดในแต่ละส่วน ดังแสดงในรูปที่ 3.27



รูปที่ 3.27 แผนผังวงจรของระบบควบคุมอุณหภูมิในงานวิจัยนี้

1. LPC2148 เป็นบอร์ดทดลอง ARM ของบริษัท อีทีที จำกัด บรรจุโปรแกรมที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ Hardware ทั้งหมดคือ

- วัดอุณหภูมิ โดยการอ่านค่าจาก ADC เบอร์ ADS1100A4 (ผ่านบัสแบบ I²C)
- ควบคุมระดับแรงดันที่จ่ายให้แก่ฮีเตอร์ โดยใช้ซอฟต์แวร์ PID Controller ร่วมกับ PWM ภายใน CPU

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. มอสเฟตกำลัง Q2 ทำหน้าที่เป็นวงจรยกระดับแรงดันกระแสตรง (Boost Converter) โดยทำงานร่วมกับ L1, D1 และ C1

3. ทรานซิสเตอร์ Q1 ทำหน้าที่ควบคุมการเปิด/ปิด การจ่ายกระแสไฟไปยังฮีตเตอร์ เนื่องจากธรรมชาติของวงจร Boost Converter จะมีแรงดันเริ่มต้นที่ VS ในที่นี้คือ 6 โวลต์ จึงต้องใช้ Q1 ตัดวงจรในกรณีที่ไม่ต้องจ่ายแรงดันให้ฮีตเตอร์

4. Optoisolator U1 ทำหน้าที่แยกระบบไฟฟ้าแรงดันสูงและไฟเลี้ยง CPU ออกจากกัน เพื่อป้องกันการเสียหายของ CPU ที่อาจเกิดจากวงจร Boost Converter

5. ไอซี LM334Z (U2) ทำหน้าที่จ่ายกระแสคงที่ 1 mA เพื่อแปลงกระแสที่ไหลผ่าน Temperature Sensor จากรูปกระแสให้อยู่ในรูปของแรงดัน

วงจรในภาพนี้จะทำหน้าที่เป็น PID Controller เพียงอย่างเดียว ในเครื่องต้นแบบรุ่นปัจจุบัน การตั้งค่าอุณหภูมิในแต่ละ Cycle จะทำมาจากโปรแกรมบนเครื่อง PC

ในเครื่องต้นแบบรุ่นนี้ โปรแกรมบน PC จะอ่านค่าอุณหภูมิจากเครื่องต้นแบบผ่านพอร์ต RS232 จากนั้นจึงทำการคำนวณฟังก์ชัน PID แล้วส่งข้อมูลมาควบคุมวงจรในรูปแบบของ Duty Cycle ที่เหมาะสม ในอัตรา 2 ครั้งต่อวินาที

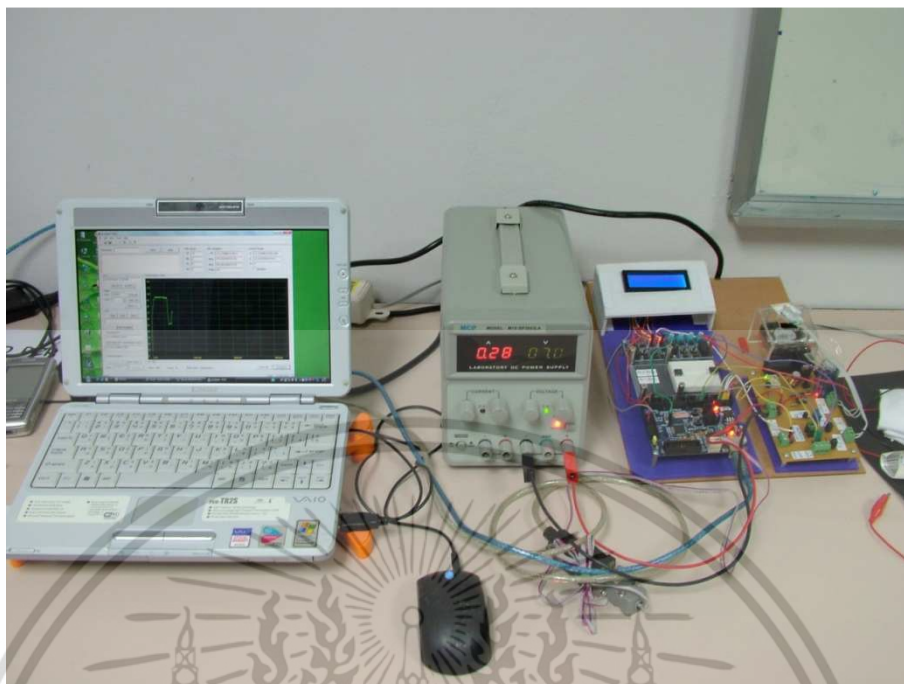
โดยโปรแกรมที่ใช้กับวงจรควบคุมการทำงานจะพัฒนาโดย ผศ.โกศล ตรีราชู ซึ่งได้ช่วยแนะนำ รวมถึงข้อเสนอแนะเกี่ยวกับระบบควบคุมอุณหภูมิ ขั้นตอนการใช้งานโปรแกรมโดยละเอียด ปรากฏในเอกสารภาคผนวก ก

ทำการสร้างแผงวงจรที่ใช้ควบคุมการทำงานของตัวทำความร้อนและระบบควบคุมอุณหภูมิ สำหรับกระบวนการฟิซิวาร์ ได้อุปกรณ์ต้นแบบ ดังแสดงในรูปที่ 3.28 - 3.29



รูปที่ 3.28 แสดงอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิสำหรับการทำฟิซิวาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.29 แสดงระบบการใช้งานอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิสำหรับการทำพีซีอาร์

3.6 การตรวจสอบสมบัติของอุปกรณ์

จากขั้นตอนที่ผ่านมา ทำให้ได้อุปกรณ์ไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ที่ถูกตัดแยกออกเป็นแต่ละตัว และทำการต่อขั้วไฟฟ้าพร้อมที่จะสามารถนำไปใช้งานได้ และไมโครแฮมเบอร์ที่พร้อมสำหรับนำไปเป็นอุปกรณ์รวมสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต่อไป ซึ่งการที่จะนำไปใช้งานได้ นั้น จะต้องมีการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางไฟฟ้า และสมบัติทางความร้อน ของไมโครฮีตเตอร์ที่สร้างขึ้น เพื่อกำหนดลักษณะเฉพาะของอุปกรณ์ และตรวจสอบว่ามีสมบัติตามที่ได้ ออกแบบไว้ และทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บของเหลวไว้ภายในไมโครแฮมเบอร์ ก่อนนำไปใช้งาน รวมถึงประสิทธิภาพของระบบควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการพีซีอาร์อีกด้วย

3.6.1 การตรวจสอบสมบัติของไมโครฮีตเตอร์

จากที่ได้กล่าวไว้ตอนต้น ว่างานวิจัยนี้ได้นำเอาเงื่อนไขการสร้างไมโครฮีตเตอร์ที่ดีที่สุดจากงานวิจัยของนายวิศรุต ศรีพุ่มไข มาพัฒนาต่อยอด จากการทดสอบสมบัติต่างๆของไมโครฮีตเตอร์ที่สร้างขึ้น พบว่าไมโครฮีตเตอร์รูปแบบที่ 2 และ 6 เป็นรูปแบบที่ดีที่สุดและเหมาะสมที่สุด ที่จะนำมาสร้างเป็นอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ต้นแบบ ต่อไป

3.6.1.1 การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ

การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพนั้นก็จะศึกษาลักษณะของฟิล์มบางโลหะที่สร้างขึ้น เช่น ความหนา ลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงความสม่ำเสมอของฟิล์มที่สร้างขึ้น โดยเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพก็จะใช้เครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Field Emission Scanning Electron Microscopy: FE-SEM) และกล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม (Atomic Force Microscope: AFM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.30 เครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ (ก) FE-SEM, (ข) AFM

3.6.1.2 การตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า

จากอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นจะต้องแสดงสมบัติความเป็นตัวต้านทานที่ดี ทั้งเมื่อก่อนทำการต่อขั้วไฟฟ้าและหลังต่อขั้วไฟฟ้า ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า เพื่อดูความเป็นตัวต้านทานที่ดี โดยการวัดสมบัติกระแส-แรงดันของตัวอุปกรณ์ ด้วยระบบวัดค่ากระแสและความต่างศักย์ (Current-Voltage Measurement System) ที่จัดขึ้นในห้องปฏิบัติการโดยใช้ Agilent E4980A 20Hz-2MHz Precision LCR Meter ดังแสดงในรูปที่ 3.31



รูปที่ 3.31 ระบบวัดค่ากระแส-ความต่างศักย์

3.6.1.3 การตรวจสอบสมบัติทางความร้อน

สำหรับการตรวจสอบสมบัติทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์นั้น ก็จะทำให้การจ่ายแรงดันไฟฟ้าให้กับตัวไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ซึ่งก็จะทำการเปลี่ยนแปลงค่าแรงดันอินพุตที่จ่ายให้กับไมโครฮีตเตอร์และบันทึกค่าของอุณหภูมิที่เกิดขึ้น ด้วยตัวตรวจวัดอุณหภูมิ โดยที่ตัวตรวจวัดอุณหภูมิจะต้องผ่านการสอบเทียบมาตรฐานมาแล้ว จากการตรวจสอบสมบัติทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์ จะทำให้ทราบถึงลักษณะเฉพาะของตัวอุปกรณ์นั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากจะทำการตรวจสอบด้วยระบบที่ได้สร้างขึ้นเองภายในห้องปฏิบัติการแล้ว ซึ่งทำให้ทราบถึงผลการตอบสนองทางความร้อนของไมโครฮีทเตอร์ แต่สิ่งที่จำเป็นจะต้องทำการทดสอบเพื่อช่วยยืนยันผลของความร้อนในเชิงความสม่ำเสมอของอุณหภูมิของไมโครฮีทเตอร์ด้วยกล้องถ่ายภาพความร้อน (FLIR Systems Cameras: Thermo Vision A40) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีโฟโตนิกส์ (PTL) ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC)



รูปที่ 3.32 กล้องถ่ายภาพความร้อน รุ่น FLIR Systems Cameras: Thermo Vision A40

ในส่วนของการใช้งานกล้องถ่ายภาพความร้อน รุ่น FLIR Systems Cameras: Thermo Vision A40 การใช้งานส่วนใหญ่ของทางห้องปฏิบัติการที่ได้ให้ความอนุเคราะห์มีความชำนาญในด้านการใช้กล้องถ่ายภาพเพื่อบันทึกภาพบุคคลหรือเครื่องมือขนาดใหญ่ ซึ่งภาพที่ได้ออกมาก็จะมีพื้นที่ขนาดใหญ่ ทำให้ภาพที่ได้ออกมาค่อนข้างที่จะมีความแม่นยำมาก แต่ในงานวิจัยนี้ นำมาใช้กับชิ้นงานที่มีขนาดเล็ก ซึ่งอาจจะทำให้ความแม่นยำในการวัดอุณหภูมิลดลง ดังนั้นจึงจะต้องทำการทดลองเพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับงานวิจัยนี้ โดยตัวแปรที่สำคัญจะประกอบไปด้วย ระยะโฟกัส การตั้งค่าการแผ่ความร้อน การเปลี่ยนอุณหภูมิที่สะท้อน และการปรับความร้อน

3.6.2 ทดสอบประสิทธิภาพของ PDMS Microchamber

3.6.2.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการกักของเหลวไว้ภายในไมโครแชมเบอร์

เมื่อทำการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการประกบติดได้แล้ว ทำการประกอบชิ้นส่วนอุปกรณ์ต่างๆเข้าด้วยกัน ดังแสดงในรูปที่ 3.33 -3.36 แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพตามขั้นตอนดังนี้

1. ทำการประกบติดแผ่น PDMS Microchamber กับ Microheater ทั้ง 2 ตัวดังกล่าวข้างต้น ที่เงื่อนไข : ค่า RF Factor 80 Watt และ Surface Modification Time 15 Sec. โดยได้ทำการล้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างทั้งหมดด้วยMethanol ก่อนจะนำเข้าเครื่อง RF Plasma Cleaner และหลังจากนำออกมาจากเครื่องก็ได้หยุด Methanol ก่อนทำการ Bond เพื่อให้สามารถเล็งแนวการประกบได้ดีขึ้น

2. จากนั้นก็ทำการเจาะรูที่ปลายทั้ง 2 ข้างของ PDMS Microchamber เพื่อเป็นช่องสำหรับใส่ และนำสารละลายออกจาก Chamber

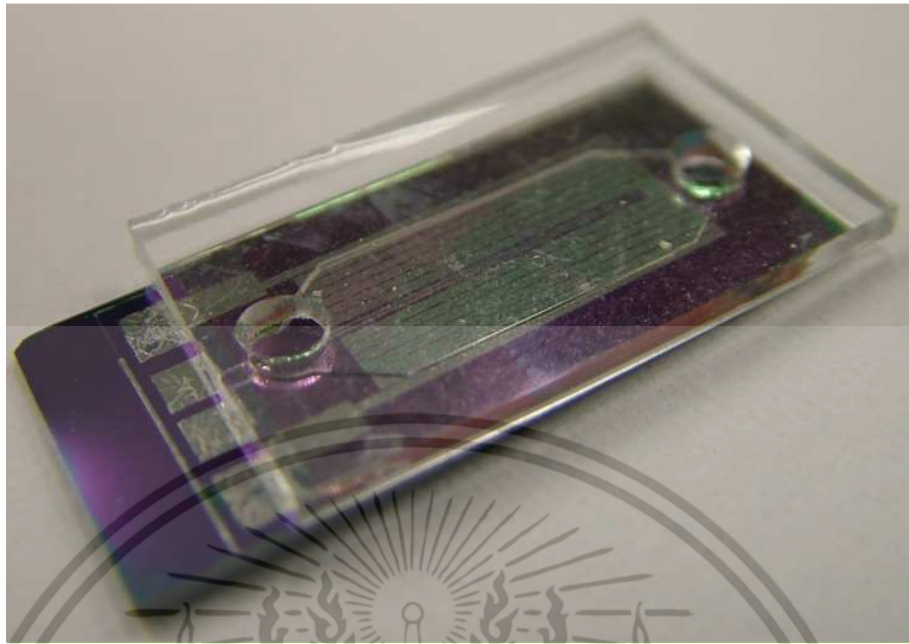
3. ต่อท่อซิลิโคนสำหรับเป็นทางเดินของไหลที่รูทั้งสองข้าง นำ PDMS ที่ผสมใหม่ปริมาณเล็กน้อยมาวางแนวรอบๆรอยต่อระหว่างรูและท่อซิลิโคน เพื่อป้องกันการรั่ว

4. จากนั้นทำการฉีดของเหลวเข้าไปภายในไมโครแชมเบอร์ สังเกตดูว่ามีรอยรั่วหรือไม่



รูปที่ 3.33 อุปกรณ์ต้นแบบไมโครฟลูอิดิกส์ที่ประกบติดกันเรียบร้อยแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



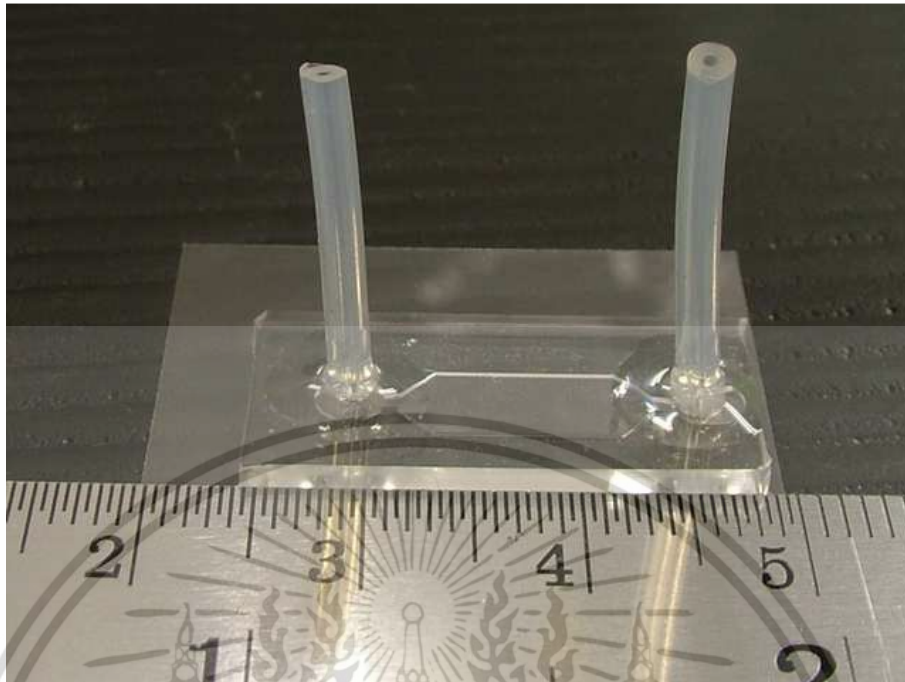
รูปที่ 3.34 อุปกรณ์ต้นแบบไมโครฟิซีอาร์ที่ประกบติดกันเรียบร้อยแล้ว



รูปที่ 3.35 อุปกรณ์ต้นแบบไมโครฟิซีอาร์ที่ต่อช่องทางเข้าออกของสารละลายแล้ว

พบว่าอุปกรณ์ต้นแบบสามารถกักเก็บของเหลวไว้ภายในได้ ไม่เกิดการรั่วซึม ดังแสดงในรูปที่ 3.37 – 3.38 จึงสามารถนำไปใช้ในการบรรจุสารตัวอย่าง และสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาฟิซีอาร์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

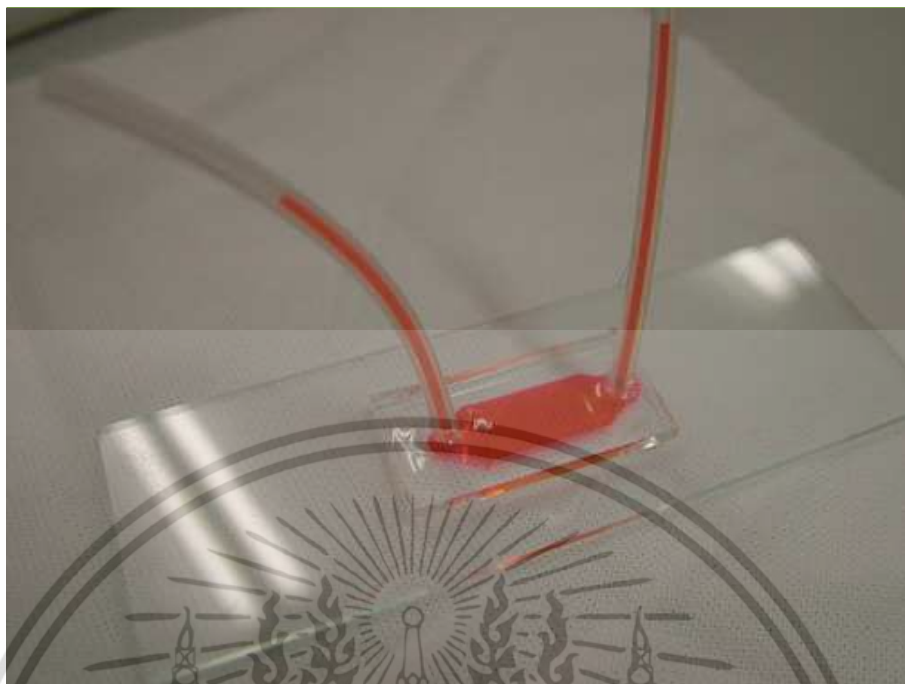


รูปที่ 3.36 อุปกรณ์ต้นแบบไมโครฟิซีอาร์ชนิด Stationary Microchamber บน Coverglass



รูปที่ 3.37 ทดสอบहारอยรั้วของ Stationary Microchamber บน Microheater

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.38 การทดสอบหารอยรั่วของ Stationary Microchamber บน Glass Slide

3.6.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการทนต่อความร้อนของอุปกรณ์

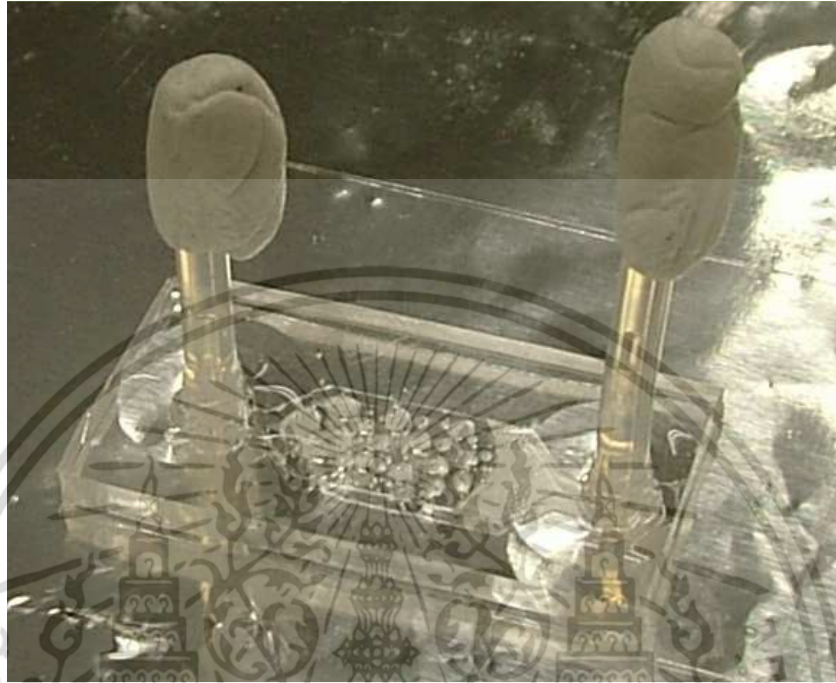
เนื่องจากอุปกรณ์ดังกล่าวต้องนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งต้องมีการเพิ่มอุณหภูมิขึ้นไปถึง 95°C ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ที่อุณหภูมิดังกล่าว ตามขั้นตอน ดังนี้

1. เติมสารละลายเข้าไปภายในไมโครแชมเบอร์ ให้เต็ม
3. ใช้วัสดุชนิดต่าง ปิดที่ปลายรูทางเข้า – ออก ของของเหลว วัสดุที่นำมาทดสอบ เช่น ดินกาวน้ำมัน (Blu-Tak), Epoxy, เทปกาวเหนียว, PDMS และน้ำมัน (Oil)
4. ใช้เทคนิคต่างๆ เพื่อป้องกันการรั่วของของเหลวภายในเมื่ออุณหภูมิภายในไมโครแชมเบอร์สูงขึ้น เช่น โดยการต่อปลายทั้งสองข้างเข้ากับกระบอกฉีดยา แล้วดันก้านกระบอกฉีดยาลงไปเพื่อดันของเหลวให้ไหลกลับลงไปอันเนื่องมาจากแรงดันของไอน้ำภายใน
5. จากนั้นนำอุปกรณ์ต้นแบบดังกล่าวไปวางบน Hotplate ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 95°C สังเกตของเหลวภายในไมโครแชมเบอร์

3.6.2.3 ผลการทดลองหาวิธีที่เหมาะสมในการป้องกันการรั่วของของเหลวภายในเมื่ออุณหภูมิภายใน Microchamber สูงขึ้น

จากการใช้เทคนิคต่างๆ ในการป้องกันการรั่วของของเหลวภายในเมื่ออุณหภูมิภายใน Microchamber สูงขึ้น เช่น ดินกาวน้ำมัน (Blu-Tak), Epoxy, เทปกาวเหนียว, PDMS และน้ำมัน (Oil) พบว่าตามวิธีการดังกล่าวข้างต้นยังไม่สามารถปิดช่องทางเข้า-ออก ของของเหลวได้สนิท เมื่อให้ความร้อนแก่อุปกรณ์ไประยะหนึ่ง พบว่าของเหลวภายในยังคงระเหยออกไปจนหมด ตัว Chamber

เองก็เกิดการโป่งพองขึ้นมา ยกเว้นการดันด้วยกระบอกฉีดยาที่ยังคงมีของเหลวเหลืออยู่เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 3.39 – 3.45

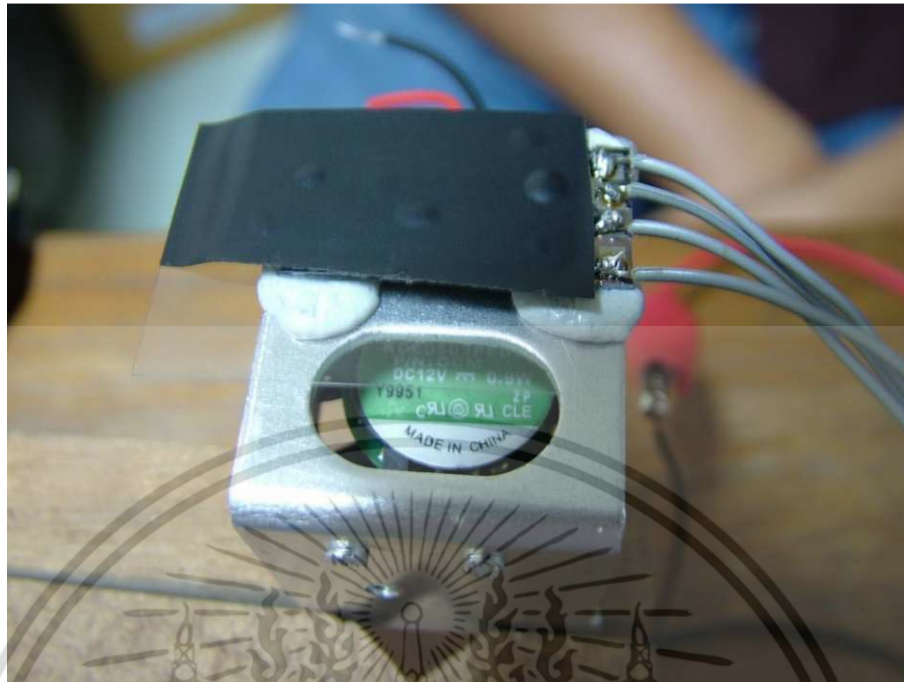


รูปที่ 3.39 การดูดปลายท่อซิลิโคนด้วยดินกาวน้ำมัน

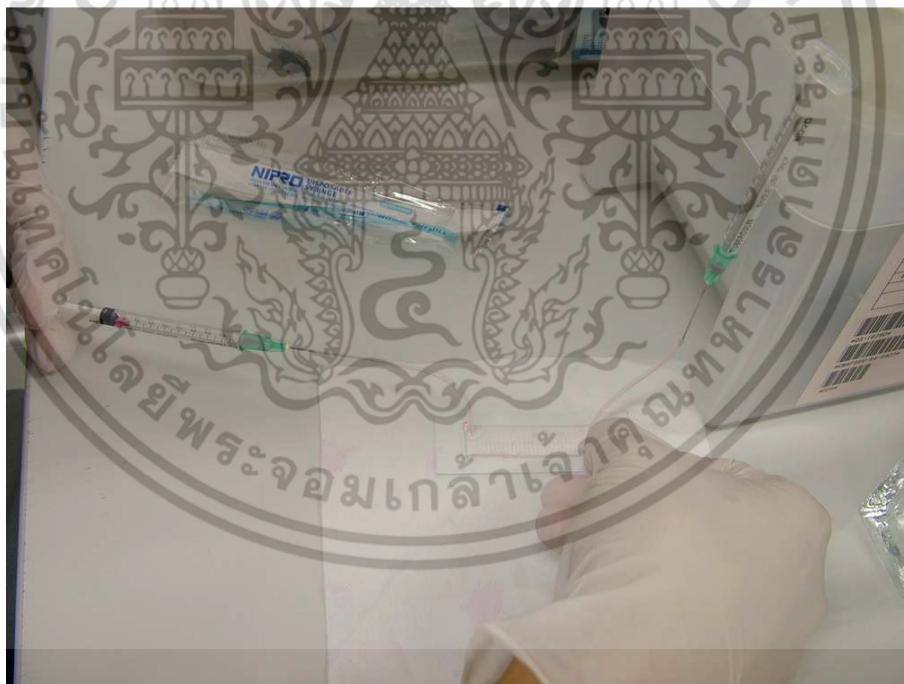


รูปที่ 3.40 การดูดปลายท่อซิลิโคนด้วย Epoxy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

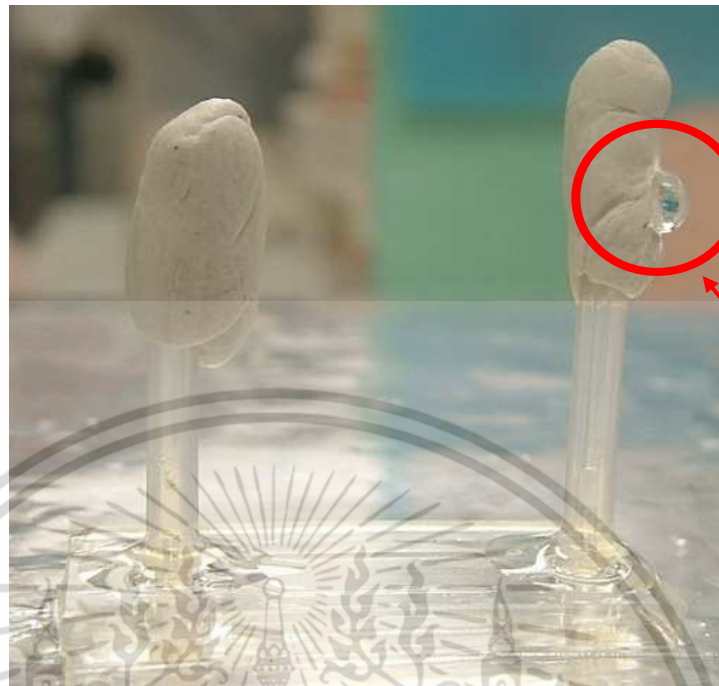


รูปที่ 3.41 การถอดปลายท่อซิลิโคนด้วยเทปกาวเหนียว



รูปที่ 3.42 จำลองการถอดปลายท่อด้วยแรงดันจากกระบอกฉีดยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



บริเวณที่ไปงนูน

รูปที่ 3.43 ของเหลวที่รั่วออกจาก Microchamber ที่อุดด้วยดินกาวน้ำมัน (วงกลม)



รูปที่ 3.44 ของเหลวที่รั่วออกจาก Microchamber ที่อุดด้วยเทปกาวเหนียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.45 การอุดปลายช่องทางเข้า-ออก ด้วย PDMS

ส่วนการทดลองป้องกันการระเหยของของเหลวภายใน Microchamber ด้วย Oil ผลปรากฏว่าการใช้ Oil สามารถป้องกันของเหลวล้นออกมาภายนอกได้ ดังแสดงในรูปที่ 3.46 จึงนำวิธีการดังกล่าวไปใช้ในการป้องกันการระเหยของของเหลวในระหว่างขั้นตอนการทำพีซีอาร์ ต่อไป



รูปที่ 3.46 การอุดปลายช่องทางเข้า-ออก ด้วยน้ำมัน (Oil)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 การทดสอบประสิทธิภาพ ของระบบควบคุมอุณหภูมิ

เพื่อหาค่ากำลังไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับอุณหภูมิในแต่ละช่วงของการทำพีซีอาร์ ดังแสดงในรูปที่ 3.47 ซึ่งจะพบว่าเมื่อทำการจ่ายแรงดันให้แก่ตัวทำความร้อนตามโปรแกรมที่กำหนด จะมีการขึ้นลงของอุณหภูมิของตัวทำความร้อนได้ถูกต้องตามขั้นตอนการทำพีซีอาร์ และอุณหภูมิดังกล่าวจะมีการขึ้นและลงภายในระยะเวลาหนึ่ง แต่จะพบว่าเมื่อนำไมโครแซมเบอร์ที่สร้างจากพอลิเมอร์ไปประกบติดที่ตัวทำความร้อน พบว่าอัตราการขึ้นและลงของอุณหภูมิจะมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยจะมีอัตราการเพิ่มขึ้นและลดลงมากกว่าเดิม นั่นเป็นเพราะว่ามีการถ่ายเทความร้อนจากตัวทำความร้อนให้แก่ไมโครแซมเบอร์ รวมถึงของเหลวภายใน ทำให้เวลาที่ใช้ในการเข้าสู่อุณหภูมิที่ต้องการมากขึ้นไปด้วย ซึ่งถ้าใช้เวลามากเกินไปก็ทำให้เกิดปัญหาในการทำพีซีอาร์ และอาจทำให้การทำพีซีอาร์ไม่ประสบความสำเร็จได้ ดังนั้นจึงต้องมีการใช้อุปกรณ์ช่วยในการที่จะทำให้อุณหภูมิลดลงได้อย่างรวดเร็วมากขึ้นเพื่อให้เข้าสู่ขั้นตอนของ Annealing ได้เร็วขึ้น จึงต้องมีการติดตั้งพัดลมเพื่อช่วยให้พัดพาความร้อนออกจากของเหลวได้เร็วขึ้น ซึ่งพบว่าอัตราการลดลงของอุณหภูมิมียิ่งมากขึ้น

การทดลองเพื่อหาค่า PID ที่เหมาะสมในการควบคุมอุณหภูมิ

โดยประยุกต์ใช้หลักการปรับแต่งค่าตามหลัก Trial and Error และ วิธีการของ Ziegler-Nichols Compensation เข้าด้วยกัน ดังนี้

เริ่มจากการใช้ตัวควบคุมแบบ P-control เพียงอย่างเดียว ให้ค่า K_i และ K_d เป็นศูนย์ จากนั้นทำการปรับค่า gain (K) จนกระทั่งผลตอบสนองเกิดการ oscillate บันทึกค่า gain (K) ไว้

นำค่า gain (K) ที่ได้ไปคำนวณหาค่า K_p , K_i และ K_d ตามสูตร

$$K_p = 0.6K,$$

$$K_i = K_p / 0.5T,$$

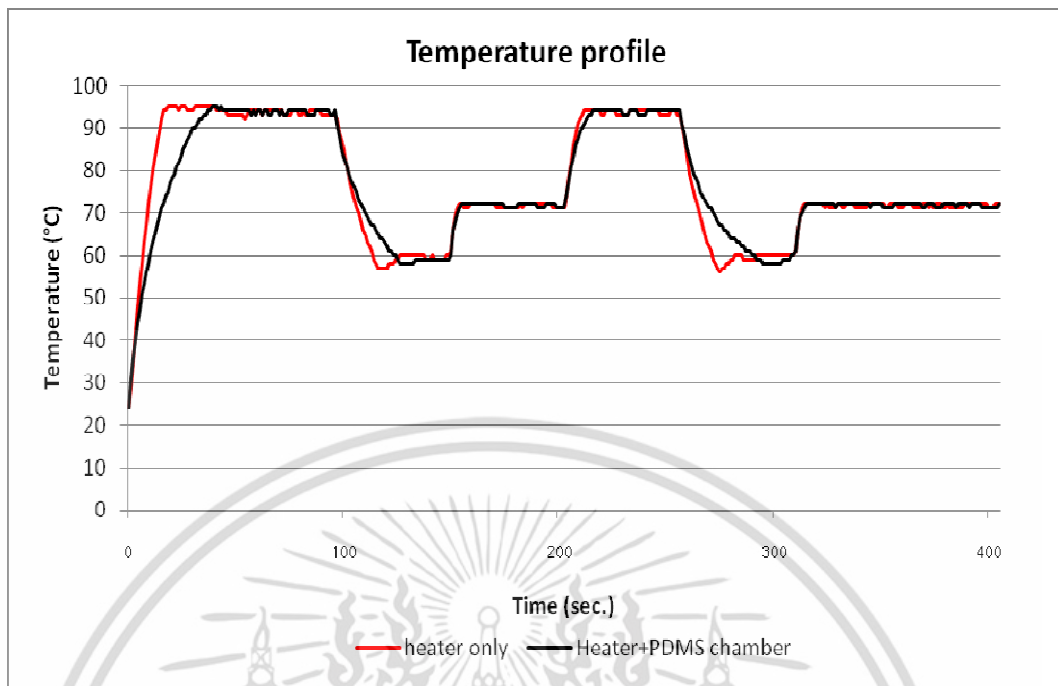
$$K_d = K_p \times 0.125T$$

โดยที่

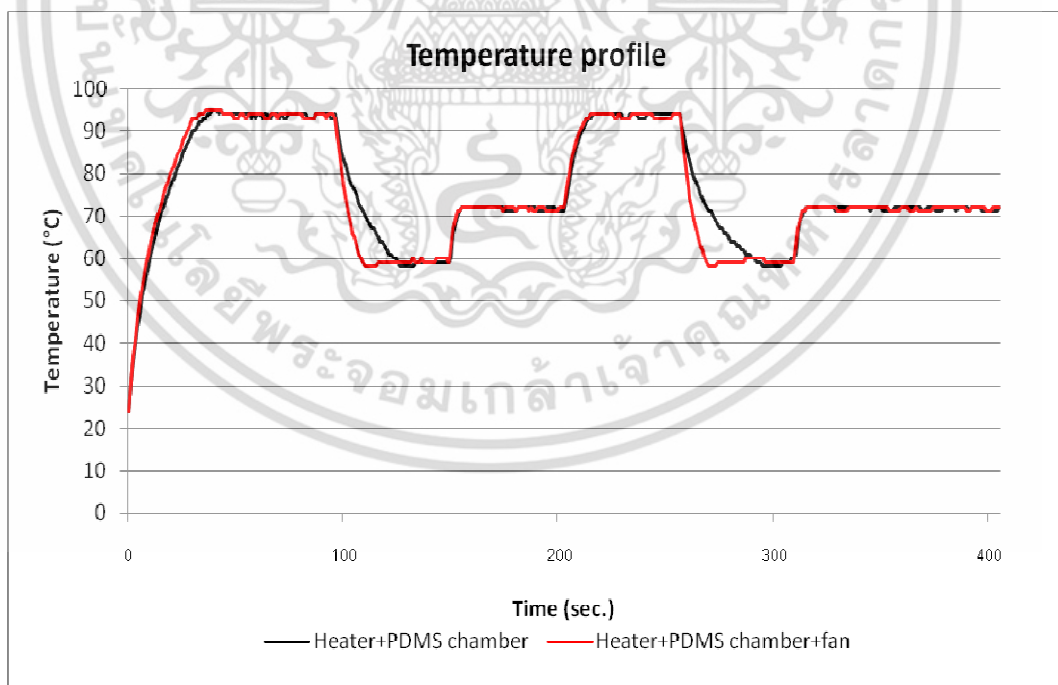
K_p : อัตราขยายสัดส่วน, ตัวแปรปรับค่าได้

K_i : อัตราขยายปริพันธ์, ตัวแปรปรับค่าได้

K_d : อัตราขยายอนุพันธ์, ตัวแปรปรับค่าได้



รูปที่ 3.47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิที่วัดได้จากการใส่แรงดันไฟฟ้าเข้าไปที่ตัวทำความร้อนอย่างเดียว (สีแดง) และตัวทำความร้อนที่มีไมโครแชมเบอร์ประกบอยู่ (สีดำ)



รูปที่ 3.48 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิที่วัดได้จากการใส่แรงดันไฟฟ้าเข้าไปที่ตัวทำความร้อนที่มีไมโครแชมเบอร์ประกบอยู่ แต่ไม่มีระบบนำพาความร้อน (สีดำ) และตัวทำความร้อนที่มีไมโครแชมเบอร์ประกบอยู่ แต่มีระบบนำพาความร้อน (สีแดง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.7 แสดงค่าอัตราการขึ้นและลงของอุณหภูมิที่ตัวนำความร้อนที่สภาวะต่างๆ

Condition	Heating Rate (°C/s)	Cooling Rate (°C/s)
Heater Only	3.3	1.7
Heater+ PDMS Chamber	1.8	0.97
Heater+ PDMS Chamber+Cooling	1.8	2.27

3.6.4 การทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามกระบวนการ PCR

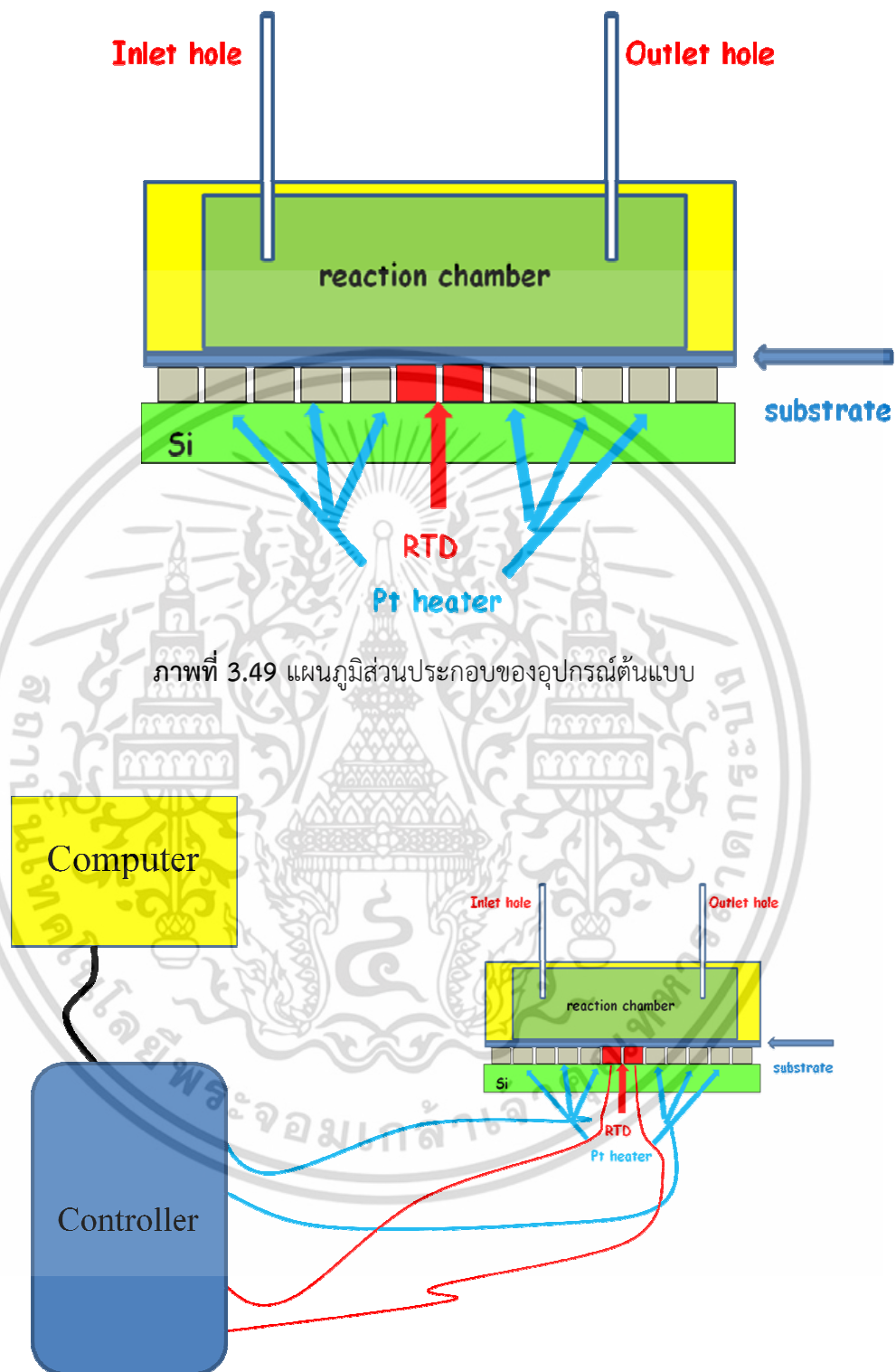
ทำการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ ตามขั้นตอนดังนี้

1. นำชิ้นงานต้นแบบ ทั้ง PDMS ไมโครแชมเบอร์ และไมโครฮีตเตอร์ มาประกอบกันเป็นอุปกรณ์สำหรับใช้งาน โดยวางส่วนของ PDMS ไมโครแชมเบอร์ลงบนไมโครฮีตเตอร์ที่มีการเชื่อมต่อเข้ากับระบบควบคุมอุณหภูมิที่พร้อมใช้งาน ดังแสดงในรูปที่ 3.49 – 3.50

2. จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการทำงานในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามกระบวนการ PCR เปรียบเทียบกับวิธีแบบเดิม (Conventional) โดยใช้ Condition เหมือนกัน แล้วเปรียบเทียบผลโดยนำไปผ่านกระบวนการ Agarose Gel Electrophoresis รายละเอียดดังแสดงในรูปที่ 3.51 – 3.55

3. ทำการบันทึกค่า Temperature Profile เพื่อดูอัตราการขึ้นลงของอุณหภูมิในแต่ละช่วงของการทำพีซีอาร์ เพื่อหา Condition ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยอุปกรณ์ต้นแบบมากที่สุด

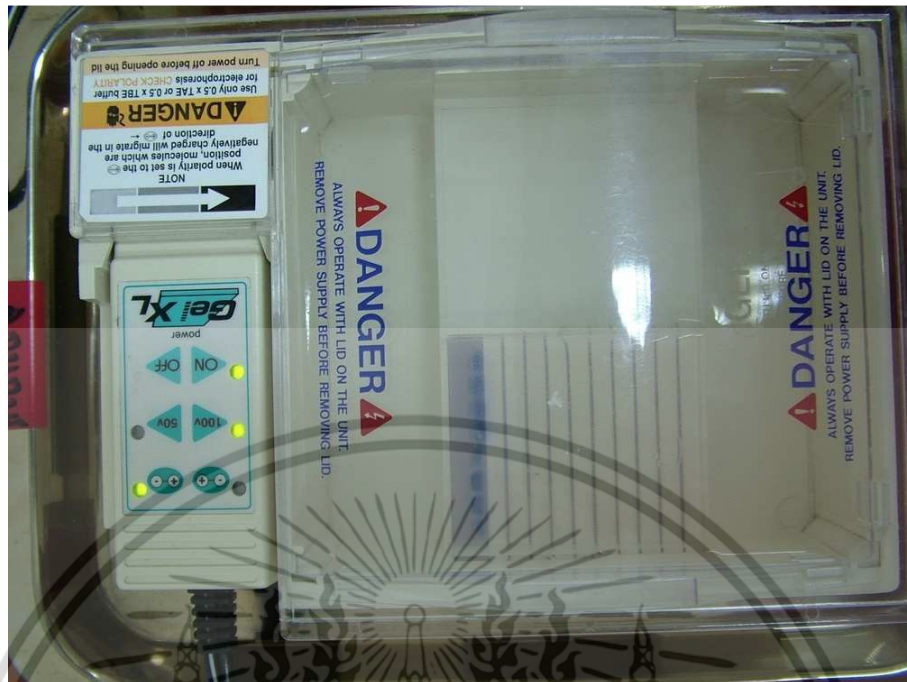
รายละเอียดขั้นตอนและเงื่อนไขต่างๆที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ ดังแสดงในบทที่ 4



ภาพที่ 3.49 แผนภูมิส่วนประกอบของอุปกรณ์ต้นแบบ

ภาพที่ 3.50 ภาพจำลองการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.51 แสดงการแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า



รูปที่ 3.52 แสดงการแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าเมื่อครบกำหนดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.53 เครื่องมือสำหรับบันทึกและพิมพ์ภาพแถบสารพันธุกรรมจากเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส



รูปที่ 3.54 แสดงภาพถ่ายแผ่นเจลเมื่อถูกส่องด้วยแสงยูวี (ซ้าย)
และภาพถ่ายผ่านซอฟต์แวร์จากคอมพิวเตอร์ (ขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

จากที่ได้กล่าวในบทที่ 3 ว่างานวิจัยนี้ได้นำเอาเงื่อนไขการสร้างไมโครฮีเตอร์ที่ดีที่สุดจากงานวิจัยของนายวิศรุต ศรีพุ่มไข มาพัฒนาต่อยอด จากการทดสอบสมบัติต่างๆของไมโครฮีเตอร์ที่สร้างขึ้น พบว่าไมโครฮีเตอร์รูปแบบที่ 2 และ 6 เป็นรูปแบบที่ดีที่สุดและเหมาะสมที่สุด รวมถึงการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มบางแพลทินัม ก็พบว่า การแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C ทำให้ได้สมบัติของไมโครฮีเตอร์ที่เหมาะสมที่สุด ที่จะนำมาสร้างเป็นอุปกรณ์ไมโครฟิซียร์ต้นแบบ ต่อไป

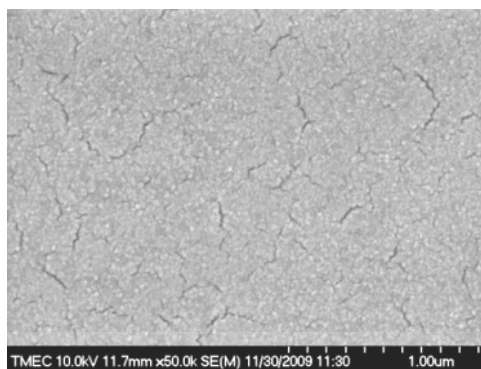
ในบทนี้จะกล่าวถึงวิธีการที่ใช้ในการตรวจวัด ผลการตรวจวัด และการวิเคราะห์สมบัติของอุปกรณ์ต้นแบบที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้นมาทั้ง 3 ส่วน คือ ไมโครฮีเตอร์ตัวที่ดีที่สุด ทั้งทางด้านกายภาพ ทางด้านไฟฟ้า และทางด้านความร้อน โดยจะอธิบายถึงระบบที่ใช้สำหรับการตรวจวัดหรือการสอบเทียบตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ระบบที่ใช้สำหรับการตรวจวัดของตัวไมโครฮีเตอร์ การทดสอบประสิทธิภาพของไมโครแฮมเบอร์ และระบบควบคุมอุณหภูมิ รวมถึงการนำไมโครฮีเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิไปใช้งานกับระบบควบคุมอุณหภูมิที่สร้างขึ้น ร่วมกับไมโครแฮมเบอร์เป็นอุปกรณ์ต้นแบบในการทำปฏิกิริยาฟิซียร์ โดยผลการตรวจสอบสมบัติโดยละเอียดของไมโครฮีเตอร์สามารถศึกษาได้จากงานวิจัยเรื่อง “การออกแบบและสร้างไมโครฮีเตอร์ร่วมกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุแพลทินัมสำหรับซีพีเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ” ของนายวิศรุต ศรีพุ่มไข [57]

4.1 การตรวจวัดสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบางแพลทินัม

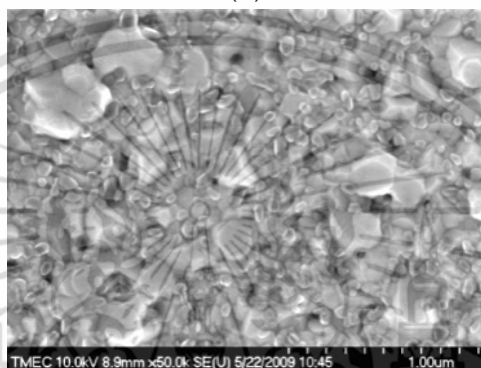
ทำการตรวจวัดสมบัติทางกายภาพของลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางแพลทินัมที่สร้างขึ้นโดยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ และนำไปแอนนีสที่อุณหภูมิต่างกัน คือ 600, 900 และ 1200 °C ตามลำดับ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Field Emission Scanning Electron Microscopy: FE-SEM)

โดยทั่วไปสำหรับการตรวจสอบลักษณะพื้นผิวของฟิล์มจะทำการศึกษาถึงความขรุขระและความสม่ำเสมอของฟิล์ม ในส่วนนี้จะแสดงให้เห็นถึงลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเงื่อนไขไม่ได้แอนนีส และเงื่อนไขเมื่อทำการแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C ดังแสดงในดั่งรูปที่ 4.1

สำหรับลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางเมื่อทำการตรวจสอบด้วยเครื่อง FE-SEM ของศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ที่กำลังขยาย 50,000 เท่า ตามรูปที่ 4.1 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าขนาดของผลึกจะมีขนาดที่โตขึ้นหลังจากที่ทำการแอนนีส โดยที่ 4.1 (ก) เป็นฟิล์มบางแพลทินัมที่ไม่ได้ทำการแอนนีสจะเห็นได้ว่าผิวฟิล์มมีความเรียบสม่ำเสมอ และเมื่อนำไปแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C เป็นเวลา 120 นาที ดังรูปที่ 4.1 (ข) พบว่าเริ่มจะมีเม็ดผลึกเริ่มโตขึ้น และเกิดรูเล็กขนาดนาโนเมตร (nano-size holes) หลายตำแหน่ง และพบว่าความหนาแน่นของ pinholes มีจำนวนลดน้อยลง [44] ในขณะที่ขนาดของ pinholes เพิ่มขึ้น และเกิดการโตขึ้นบริเวณขอบของ pinholes ที่ใหญ่ขึ้น



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะผิวของฟิล์มบางแพลทินัมจากการตรวจสอบด้วยเครื่อง FE-SEM ,
(ก) กรณีไม่ได้แอนนีส, (ข) แอนนีส 900 °C

4.2 การตรวจวัดสมบัติทางไฟฟ้า

ในขั้นตอนนี้ก็จะนำอุปกรณ์ที่ทำการต่อขั้วไฟฟ้าเรียบร้อยแล้วมาทำการตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้าเบื้องต้น เช่น ค่าความต้านทานของอุปกรณ์ สมบัติกระแส-แรงดันของตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน เป็นต้น

4.2.1 ผลการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของไมโครฮีตเตอร์

ทำการตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้าเฉพาะในส่วนของความต้านทาน ซึ่งค่าความต้านทานของไมโครฮีตเตอร์จะมีความสัมพันธ์กับเงื่อนไขของอุณหภูมิที่ใช้ในการแอนนีสด้วย ซึ่งค่าความต้านทานของไมโครฮีตเตอร์ที่ไม่ได้แอนนีส และแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สรุปค่าความต้านทานที่วัดได้ของไมโครฮีเตอร์ที่ไม่ได้แอนนีส และแอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C

รูปแบบของไมโครฮีเตอร์	ค่าความต้านทานที่ได้จากการคำนวณ (Ω)	ค่าความต้านทานที่วัดได้ (Ω)	
		ไม่ได้แอนนีส	แอนนีสที่ 900 °C
1	263	892	477
2**	192	647	346.8
3	128	433	238.5
4	79.2	274	149.9
5	60	210	112.6
6**	48.3	169	92.2

ผลจากตารางที่ 4.1 จะแสดงให้เห็นว่าค่าความต้านทานที่วัดได้ของไมโครฮีเตอร์ที่แอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C ค่าความต้านทานที่วัดได้จะมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณได้มากที่สุด

4.2.2 ผลการวัดสมบัติทางไฟฟ้าของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

ทำการตรวจวัดสมบัติทางไฟฟ้าของอุปกรณ์ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน (RTD) ซึ่งจะต้องแสดงสมบัติของความเป็นตัวต้านทาน ด้วยเครื่อง Agilent E4980A 20Hz-2MHz Precision LCR Meter ซึ่งเป็นระบบที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สมบัติทางด้านกระแส-แรงดันของตัวอุปกรณ์ โดยในการวัดนั้นจะกำหนดช่วงของแรงดันตั้งแต่ -5V ถึง +5V เพื่อจะจ่ายให้กับอุปกรณ์และทำการบันทึกค่าของกระแสต่างๆ ช่วงเวลาตามที่ตั้งไว้ ผลการวัดจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.7 – 4.10 ซึ่งเส้นกราฟความสัมพันธ์ของกระแส-แรงดันจะต้องมีความเป็นเชิงเส้น สามารถนำไปคำนวณหาค่าความต้านทานเฉลี่ยของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ (RTD) ได้ เนื่องจากค่าความชันที่ได้จากกราฟจะเป็นส่วนกลับของความต้านทาน ค่าความต้านทานที่คำนวณได้ที่เงื่อนไขต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความต้านทานเฉลี่ยของตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่คำนวณได้ที่เงื่อนไขต่างๆ

เงื่อนไขการแอนนีส	ค่าความต้านทานเฉลี่ยของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ (RTD)
ไม่ได้ทำการแอนนีส	559.33 Ω
แอนนีสที่อุณหภูมิ 900 °C	302.18 Ω

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การตรวจวัดสมบัติทางความร้อน

ในขั้นตอนของการตรวจวัดสมบัติทางความร้อนนั้น จำเป็นต้องมีการสอบเทียบมาตรฐานตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่ได้ทำการสร้างขึ้นก่อน จากนั้นจะใช้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่สร้างขึ้นสำหรับวัดอุณหภูมิที่เกิดจากไมโครฮีตเตอร์เมื่อทำการจ่ายแรงดันไฟฟ้า

4.3.1 การสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสร้างตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทาน (Resistance Temperature Detector: RTD) โดยใช้วัสดุแพลทินัม ซึ่งจะเป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิแบบฟิล์มบางบนฐานรองรับซิลิกอน ซึ่งจะใช้เป็นตัวตรวจวัดอุณหภูมิสำหรับไมโครฮีตเตอร์ ในการวัดอุณหภูมิ ถ้าจะทำให้ค่าของอุณหภูมิที่วัดได้มีความน่าเชื่อถือ ตัวตรวจวัดอุณหภูมินั้นต้องได้รับการสอบเทียบกับหัววัดอุณหภูมิที่เป็นตัวมาตรฐาน

4.3.1.1 ระบบที่ใช้ในการสอบเทียบมาตรฐาน

ระบบที่ใช้สำหรับการสอบเทียบมาตรฐานที่ใช้ในการสอบเทียบตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่เป็นฟิล์มบางแพลทินัมที่สร้างขึ้นนั้น เป็นระบบที่ใช้สำหรับสอบเทียบหัววัดมาตรฐานของหน่วยวิจัยมาตรวิทยาภาคีชาวดัตช์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง โดยระบบจะประกอบด้วยส่วนหลักๆ ที่สำคัญคือ

1. FLUKE 7103 MICRO BATH เป็นเครื่องทำอุณหภูมิมาตรฐานแบบอ่างของเหลว สามารถที่จะทำอุณหภูมิอยู่ในช่วง -30°C ถึง 125°C ความสามารถในการตั้งค่าละเอียด (resolution) 0.01°C ค่าความผิดพลาด (accuracy) $\pm 0.25^{\circ}\text{C}$ ค่าความเสถียรของการทำอุณหภูมิ (stability) $\pm 0.03^{\circ}\text{C}$ ที่อุณหภูมิ -25°C และ $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ ที่อุณหภูมิ 125°C [49] โดยลักษณะของเครื่องจะแสดงดังรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเป็นลักษณะของอ่างขนาดเล็กซึ่งภายในจะถูกบรรจุ silicone oil เพื่อใช้สำหรับงานทางด้านนี้โดยเฉพาะซึ่งจะไม่นำไฟฟ้า และทางด้านบนของเครื่องจะมีช่องสำหรับใส่ตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่ต้องการจะสอบเทียบลงไป จากนั้นก็จะทำการต่อสายจากตัวตรวจวัดอุณหภูมิเพื่อจะทำการบันทึกค่าของความต้านทานที่เปลี่ยนแปลงเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง และมีจอสำหรับแสดงอุณหภูมิทางด้านหน้า



รูปที่ 4.2 เครื่องทำอุณหภูมิมาตรฐานแบบอ่างของเหลว (Fluke 7103 Micro Bath)

2. ดิจิตอลเทอร์โมมิเตอร์ (YOKOGAWA 7563 Digital Thermometer) เป็นเครื่องมาตรฐานที่ใช้สำหรับการวัดอุณหภูมิ แสดงดังรูปที่ 4.3 ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้เป็นตัววัดค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิแพลทินัมที่สร้างขึ้น

จอแสดงค่าความต้านทานที่อ่านได้จากตัววัดอุณหภูมิ



รูปที่ 4.3 ดิจิตอลเทอร์โมมิเตอร์ (YOKOGAWA 7563 Digital Thermometer)

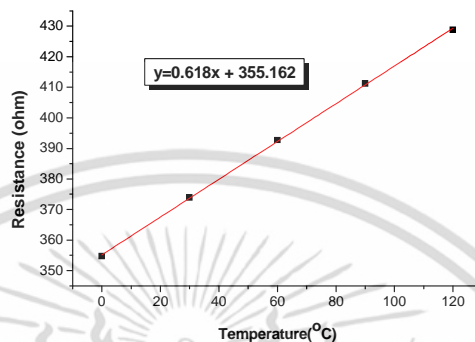
4.3.1.2 การสอบเทียบตัวตรวจวัดอุณหภูมิแพลทินัมที่สร้างขึ้น

ในการสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่สร้างขึ้นนั้นจะใช้อุณหภูมิในช่วง $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ถึง $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ โดยทำการเพิ่มของอุณหภูมิครั้งละ $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ โดยเวลาที่อุณหภูมิแต่ละช่วงจะนิ่งนั้น อยู่ที่จุดละประมาณ 30 นาที ซึ่งต้องใช้เวลาค่อนข้างนานมากในการเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิหนึ่งตัว

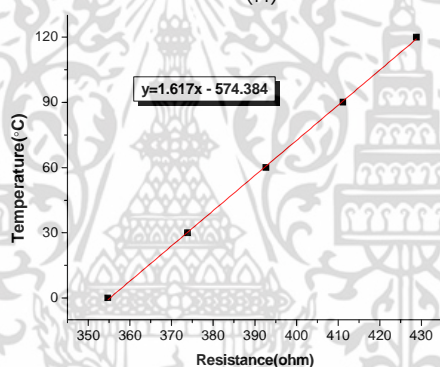
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.3 การวิเคราะห์ผลที่ได้จากการสอบเทียบ

เมื่อทำการสอบเทียบในช่วงอุณหภูมิที่ต้องการครบแล้ว จะทำให้ได้ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่อ่านได้จากตัวเครื่องกับค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิดังแสดงในรูปที่ 4.4



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานกับอุณหภูมิที่ได้จากการสอบเทียบ

จากรูปที่ 4.4 (ก) จะทำให้ได้ค่าความชัน ($\Delta R/\Delta T$) หรือค่า sensitivity ของตัวอุปกรณ์เท่ากับ 0.618 ซึ่งก็หมายความว่า ค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิจะเปลี่ยนไป 0.618 Ω เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนไป 1 $^{\circ}\text{C}$ และเมื่อได้ข้อมูลตามรูปที่ 4.4 (ก) มาแล้วนั้น ก็จะสามารถทำนายค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ณ เวลาใดๆ ได้ หรืออีกนัยก็คือเมื่อรู้อุณหภูมิก็จะรู้ค่าของความต้านทาน โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ $y=0.618x+355.162$ ส่วนข้อมูลจากรูป 4.4 (ข) ก็แสดงให้เห็นว่าเมื่อเราทราบค่าของความต้านทานก็จะสามารถที่จะรู้อุณหภูมิได้ ซึ่งการนำตัวตรวจวัดอุณหภูมิไปใช้งานนั้น เราก็เพียงแค่วัดค่าความต้านทานจากตัวตรวจวัดอุณหภูมิจากตัวตรวจวัดอุณหภูมิ แล้วก็คำนวณตามสมการ $y=1.617x-574.384$ ก็จะทำให้เราทราบอุณหภูมิได้ทันที ซึ่งนับได้ว่าเป็นหลักการที่ง่าย อีกทั้งยังมีความแม่นยำที่สูงอีกด้วย

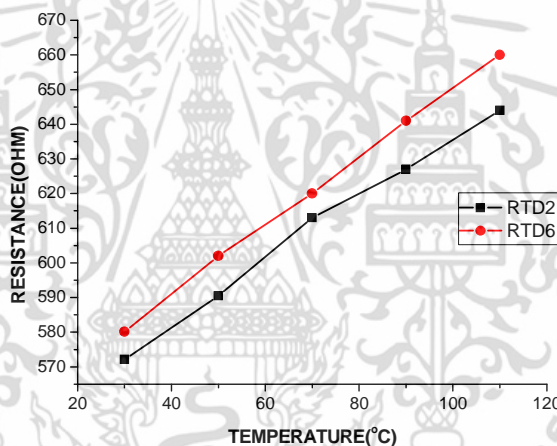
4.3.2 ผลการสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

สำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมินั้น การตรวจสอบหลักที่จำเป็นอย่างยิ่งก็คือการตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้าเพื่อศึกษาถึงผลของการต่อขั้วไฟฟ้าและความเป็นตัวต้านทาน และสิ่งที่สำคัญอีกอย่างก็คือการสอบเทียบมาตรฐาน ซึ่งผลของการสอบเทียบของแต่ละเงื่อนไขจะแสดงได้ดังต่อไปนี้

4.3.2.1 เงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนีส

ในความเป็นจริงแล้วตัวตรวจวัดอุณหภูมิในเงื่อนไขจะมีทั้งหมด 6 ตัว แต่ในการทดลองเริ่มต้นจึงเลือกนำมาสอบเทียบแค่สองตัว

ผลการสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิกรณีที่ไม่ได้ทำการแอนนีส โดยความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความต้านทานจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าถ้าเป็นกรณีในอุดมคติเส้นกราฟทั้งสองเส้นควรจะทับกันพอดี แต่จากผลถือว่าทั้งสองตัวมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก และมีค่า sensitivity ใกล้เคียงกันดังตารางที่ 4.3 ซึ่งจะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.947 \pm 0.065 \Omega/^{\circ}\text{C}$



รูปที่ 4.5 ผลการสอบเทียบของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนีส

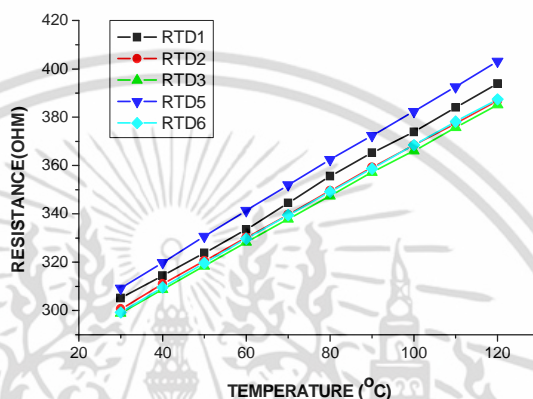
ตารางที่ 4.3 แสดงค่า sensitivity ของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนีส

ตัวที่	Sensitivity ($\Omega/^{\circ}\text{C}$)
2	0.902 ± 0.038
6	0.994 ± 0.016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2.2 เงื่อนไขเมื่อทำการแอนนัลที่อุณหภูมิ 900 °C

จากผลการวิเคราะห์ไม่ว่าจะเป็นทางด้านกายภาพ ทางด้านไฟฟ้า ก็จะพบว่าฟิล์มแพททินัมที่แอนนัลด้วยอุณหภูมิ 900 °C แสดงสมบัติที่เหมาะสม ซึ่งในกรณีผลของการสอบเทียบมาตรฐานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิก็ยังคงจะมีความเป็นเชิงเส้นที่สูงเมื่อเทียบกับเงื่อนไขข้างต้น โดยจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.6 โดยจะมีค่า sensitivity ดังตารางที่ 4.4 ซึ่งจะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.986 \pm 0.035 \Omega/^{\circ}\text{C}$ ซึ่งค่าการเบี่ยงเบนจะมีค่าน้อยกว่าเงื่อนไขที่ไม่ได้แอนนัลหนึ่งเท่า



รูปที่ 4.6 ผลการสอบเทียบของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขเมื่อแอนนัลที่อุณหภูมิ 900 °C

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า sensitivity ของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขเมื่อแอนนัลที่อุณหภูมิ 900 °C

ตัวที่	Sensitivity ($\Omega/^{\circ}\text{C}$)
1	0.996 ± 0.008
2	0.956 ± 0.005
3	0.957 ± 0.003
4	-
5	1.040 ± 0.005
6	0.979 ± 0.004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2.3 สรุปเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมิแพลทินัมที่สร้างขึ้น

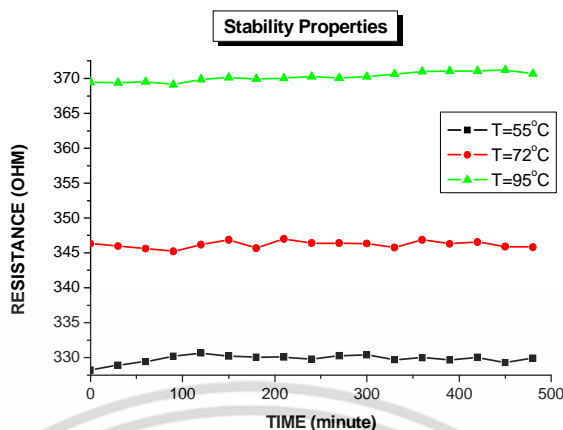
จากผลการตรวจสอบสมบัติทางด้านไฟฟ้าและผลการสอบเทียบตัวตรวจวัดอุณหภูมิในเบื้องต้นพบว่า เงื่อนไขของการแอนนัลด้วยอุณหภูมิ 900 °C นาน 120 นาที ในบรรยากาศของ ไนโตรเจน เป็นเงื่อนไขที่เหมาะสม สำหรับการสร้างตัวตรวจวัดอุณหภูมิแพลทินัม ด้วยระบบระเหยสารด้วยลำอิเล็กตรอนในสุญญากาศ เนื่องมาจากหลายเหตุผล เช่น การแอนนัลด้วยอุณหภูมิ 900 °C นั้นเมื่อดูจากผลของการสอบเทียบจะเห็นได้ว่า ค่าที่ได้จากการสอบเทียบมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก และยังเป็นลักษณะของข้อมูลที่เป็นกลุ่มเดียวกันเมื่อเทียบกับเงื่อนไขอื่น ซึ่งทำให้เห็นได้ว่าสามารถที่จะพัฒนาให้เข้าสู่การผลิตที่เป็นอุตสาหกรรมได้ เนื่องจากถ้าข้อมูลค่อนข้างที่จะเป็นกลุ่ม เมื่อทำการสร้างในจำนวนที่มากขึ้น ก็จะทำให้สามารถที่จะสุ่มมาสอบเทียบเพียงบางตัวเท่านั้น และสามารถที่จะใช้ค่าที่ได้จากการสุ่มตรวจเป็นค่าเฉลี่ยในการนำไปใช้งานได้

โดยสาเหตุอีกอย่างที่จะมาช่วยสนับสนุนแนวความคิดข้างต้น คือการที่คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงของความต้านทานกับอุณหภูมิ (Temperature Coefficient Resistivity: TCR) ซึ่งจากการแอนนัลพบว่า จะช่วยปรับปรุงค่าของ TCR ให้มีค่าเพิ่มขึ้นและเข้าใกล้ค่าที่เป็นมาตรฐานแพลทินัม ($0.003927 \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$) [42] ซึ่งค่าที่ได้จะแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการคำนวณค่าของ TCR ของอุปกรณ์แต่ละเงื่อนไข

อุณหภูมิแอนนัล (°C)	ค่า TCR ของตัวตรวจวัดอุณหภูมิแพลทินัม ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)
ไม่ได้แอนนัล	1.646×10^{-3}
900	3.269×10^{-3}

เมื่อได้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่มีสมบัติเหมาะสมสำหรับการนำไปพัฒนาต่อหรือแม้แต่กระทั่งการนำไปใช้งาน ก็จะต้องมีการทดสอบค่าที่เป็นมาตรฐานเฉพาะของแต่ละอุปกรณ์ เช่น ค่าความเสถียรภาพ ซึ่งเราก็นำตัวตรวจวัดอุณหภูมิเงื่อนไขของการแอนนัลที่อุณหภูมิ 900 °C มาทำการตรวจสอบซึ่งจะได้ผลตามรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบค่าความเสถียรภาพของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

จากผลในรูปที่ 4.7 จะแสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของตัวตรวจวัดอุณหภูมิเมื่อให้อุณหภูมิคงที่แล้วสังเกตค่าความต้านทานเมื่อเวลาผ่านไปโดยจะทำการบันทึกค่าความต้านทานทุกๆ 30 นาทีนานเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิก่อนข้างจะคงที่เมื่อเวลาผ่านไป อุณหภูมิค่าหนึ่ง โดยที่อุณหภูมิ 95 °C ค่าความต้านทานจะเปลี่ยนแปลงไปในช่วง $\pm 0.410 \Omega$, ที่อุณหภูมิ 72 °C เปลี่ยนแปลงไป $\pm 0.240 \Omega$ และที่อุณหภูมิ 55 °C เปลี่ยนแปลงไป $\pm 0.347 \Omega$ ซึ่งถ้าแปลงไปเป็นอุณหภูมิก็จะเปลี่ยนแปลงไปน้อยกว่า 0.5 องศา

4.3.3 การตรวจวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

สำหรับการตรวจวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์นั้น จะเป็นการศึกษาถึงค่าของแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับไมโครฮีตเตอร์เพื่อสามารถกำเนิดความร้อนตามอุณหภูมิที่ต้องการได้ โดยความร้อนที่เกิดขึ้นจากตัวไมโครฮีตเตอร์เมื่อมีการจ่ายแรงดันไฟฟ้า จะถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดอุณหภูมิที่สร้างขึ้นพร้อมกับไมโครฮีตเตอร์ ที่ผ่านการสอบเทียบมาตรฐานมาแล้วนั่นเอง ซึ่งทำให้สามารถวัดอุณหภูมิได้โดยตรงจากความร้อนที่เกิดขึ้นจากไมโครฮีตเตอร์

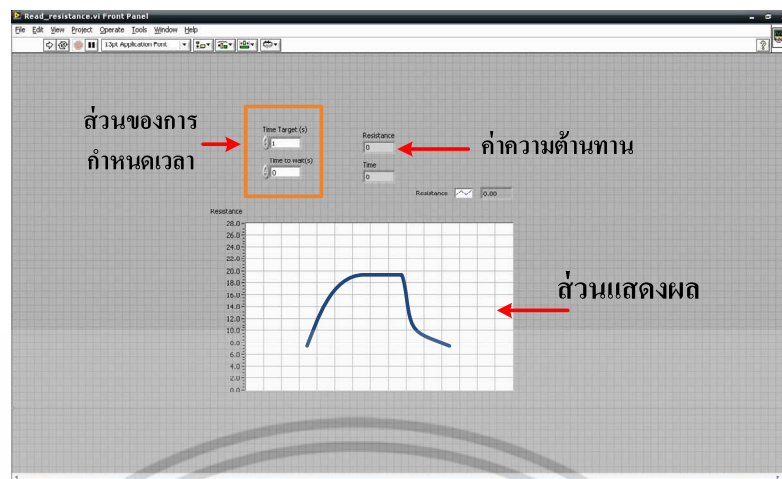
4.3.3.1 ระบบที่ใช้สำหรับการวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์

ระบบที่ใช้ในการวัดสมบัติทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์ดังรูปที่ 4.8 เป็นระบบที่ได้สร้างขึ้นเองซึ่งจะประกอบด้วยส่วนสำคัญหลักๆ ได้แก่



รูปที่ 4.8 ระบบที่ใช้ในการตรวจวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีเตอร์

1. กล่องโฟม ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวป้องกัน การรบกวนของอุณหภูมิจากภายนอกที่จะส่งผลกระทบต่อการทำงาน ในการทดลองก็จะนำไมโครฮีเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ใส่ไว้ในกล่องและพยายามควบคุมให้อุณหภูมิเริ่มต้นมีค่าเท่ากันทุกเงื่อนไขการทดลอง
2. แหล่งจ่ายแรงดัน (Power Supply) จะใช้แหล่งจ่ายแรงดันไฟฟ้าที่สามารถปรับค่าของแรงดันได้ตามต้องการ โดยจะเชื่อมต่อกับไมโครฮีเตอร์
3. มัลติมิเตอร์ จะเชื่อมต่อกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิ เพื่อใช้สำหรับการวัดค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ และสามารถที่จะเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ผ่านทางพอร์ตมาตรฐาน (General Purpose Interface Bus: GPIB)
4. คอมพิวเตอร์ จะใช้ร่วมกับโปรแกรม Labview เพื่อที่จะบันทึกค่าของความต้านทานที่อ่านได้จากเครื่องมัลติมิเตอร์ โดยหน้าต่างของโปรแกรมที่สร้างขึ้น จะแสดงดังรูปที่ 4.9 ซึ่งจะสามารถที่จะกำหนดเวลาที่ใช้ในการบันทึกค่าความต้านทานได้ ว่าต้องการบันทึกค่าทุกๆ กี่วินาที และสามารถที่จะกำหนดเวลาสิ้นสุดการทดลองได้ จะมีส่วนแสดงผลซึ่งจะแสดงเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานกับเวลา



รูปที่ 4.9 แสดงหน้าต่างของโปรแกรม Labview ที่ใช้วัดผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์

ในการทดลองนั้นจะทำการจ่ายแรงดันไฟฟ้าค่าต่างๆ ให้กับไมโครฮีตเตอร์ ซึ่งการบันทึกข้อมูลก็จะมีสองส่วนคือส่วนแรกจะเป็นการจ่ายแรงดันไฟฟ้าพร้อมกับการบันทึกค่าความต้านทานของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ ซึ่งเป็นช่วงของการเพิ่มของอุณหภูมิไปเป็นเวลาค่าหนึ่ง และจะหยุดจ่ายแรงดันไฟฟ้าเพื่อดูพฤติกรรมการลดลงของอุณหภูมิโดยจะทำการทดลองกับไมโครฮีตเตอร์ทุกรูปแบบเพื่อที่จะได้สมบัติเฉพาะของแต่ละอุปกรณ์

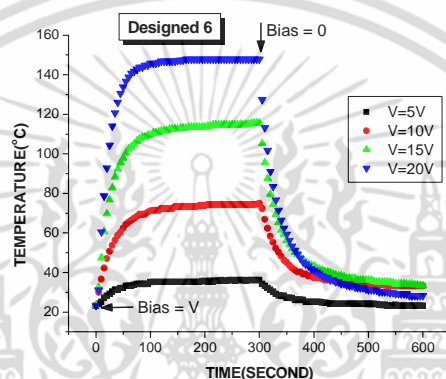
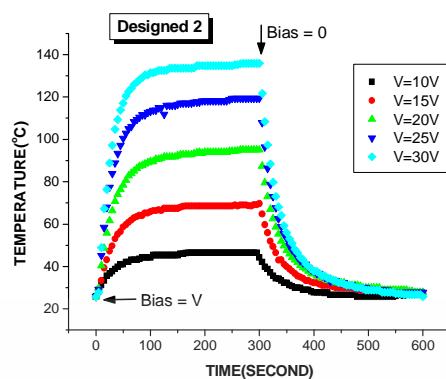
4.3.4 ผลการวัดผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ

ในส่วนของผลการทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์นั้น จะแบ่งออกตามเงื่อนไขของอุณหภูมิที่ใช้ในการแอนนัล รวมทั้งผลของไมโครฮีตเตอร์แต่ละรูปแบบ

4.3.4.1 เงื่อนไขที่ไม่ได้ทำการแอนนัล

1. ค่าคงที่ของเวลาที่ทำให้อุณหภูมิกงที่ที่แรงดันค่าหนึ่ง ในขั้นตอนนี้จะเป็นขั้นตอนที่ใช้สำหรับการตรวจสอบผลทางความร้อนของไมโครฮีตเตอร์ซึ่งจะถูกตรวจสอบด้วยระบบที่กล่าวข้างต้น โดยจะเปลี่ยนแปลงค่าแรงดันที่จ่ายให้กับไมโครฮีตเตอร์พร้อมกับการวัดอุณหภูมิที่เกิดขึ้นจากไมโครฮีตเตอร์ โดยใช้ตัวตรวจวัดอุณหภูมิชนิดความต้านทานที่ได้ทำการสร้างขึ้นพร้อมกับไมโครฮีตเตอร์ โดยจะทดลองกับไมโครฮีตเตอร์ 2 รูปแบบคือ แบบที่ 2 และ แบบที่ 6 โดยผลการวัดจะแสดงดังรูปที่

4.10

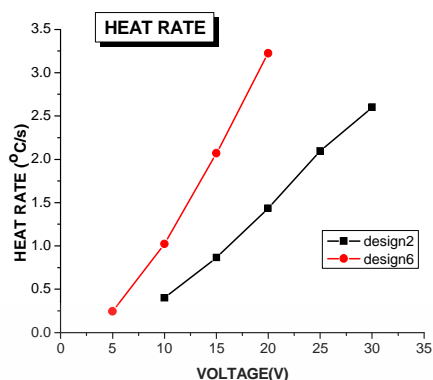


รูปที่ 4.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาของไมโครฮีเตอร์เงื่อนไข
แอนนูล

จะเห็นได้ว่าเมื่อจ่ายค่าแรงดันให้กับไมโครฮีเตอร์ที่ค่าต่างๆ อุณหภูมิของไมโครฮีเตอร์ก็จะเริ่มที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 10 วินาทีแรก และเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 50 วินาทีอุณหภูมิของไมโครฮีเตอร์เริ่มที่จะคงที่ ซึ่งรูปแบบที่ 2 นั้นจะมีค่าความต้านทานมากกว่าแบบที่ 6 ดังนั้นเมื่อจ่ายแรงดันค่าเดียวกันให้กับไมโครฮีเตอร์ทั้งสองรูปแบบ ไมโครฮีเตอร์รูปแบบที่ 6 จะให้อุณหภูมิที่สูงกว่า แบบที่ 2 ซึ่งก็จะแสดงให้เห็นได้ว่าแบบที่ 6 จะใช้พลังงานน้อยกว่า และเมื่อหยุดป้อนแรงดันไฟฟ้าให้กับไมโครฮีเตอร์ก็จะทำให้ได้ลักษณะของการลดลงของอุณหภูมิของแต่ละกรณีดังรูป ซึ่งมีลักษณะที่เป็นแนวโน้มเดียวกันทุกค่าแรงดัน

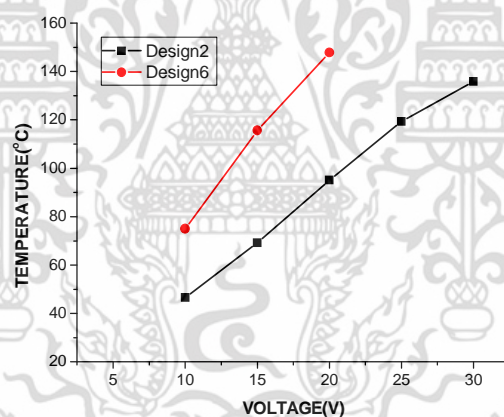
2. อัตราการทำความร้อน (Heat rate) ในส่วนนี้ก็จะทำการตรวจสอบอัตราการเพิ่มอุณหภูมิของไมโครฮีเตอร์แต่ละรูปแบบ ซึ่งผลจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.11

จากผลดังกล่าวทำให้สามารถที่จะทำนายได้ว่าเมื่อจ่ายแรงดันค่าหนึ่งให้กับไมโครฮีเตอร์แล้วจะต้องใช้เวลาเท่าใดถึงจะได้อุณหภูมิตามต้องการ ซึ่งจะสะดวกต่อการนำไปใช้งาน เมื่อแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับไมโครฮีเตอร์ต่างกัน ค่าของอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิก็จะต่างกัน โดยถ้าแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายมีค่ามากขึ้น ค่าอัตราการทำความร้อนก็จะมากขึ้นตาม



รูปที่ 4.11 แสดงอัตราการเพิ่มอุณหภูมิของไมโครฮีตเตอร์ (Heating Rate) เงื่อนไขไม่ได้แอนนิล ในรูปแบบที่ 2 และ 6

3. สรุปลักษณะเฉพาะเงื่อนไข ผลการตรวจสอบของไมโครฮีตเตอร์แต่ละรูปแบบที่จะนำไปใช้งานนั้น นอกจากจะต้องรู้ค่าคงที่ของเวลา อัตราการเพิ่มของอุณหภูมิ อีกส่วนหนึ่งที่สำคัญก็คือ ค่าอุณหภูมิสูงสุดที่แรงดันค่าหนึ่ง ซึ่งจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 ค่าอุณหภูมิสูงสุดที่แรงดันค่าต่างๆ ของไมโครฮีตเตอร์ เงื่อนไขไม่ได้แอนนิล ในรูปแบบที่ 2 และ 6

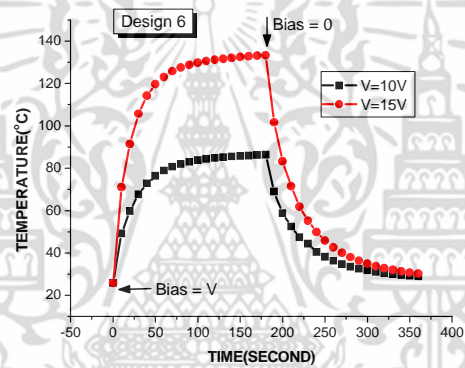
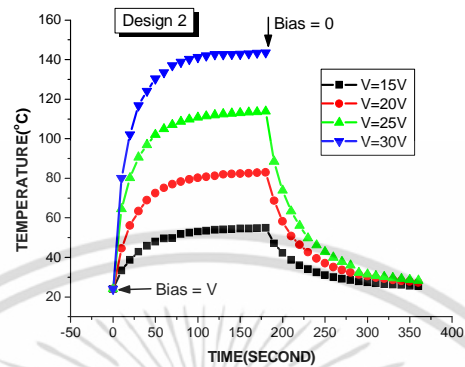
2. อัตราการทำความร้อน (Heat Rate)

จากผลการทดลองสามารถที่จะทราบว่าจะต้องใช้แรงดันอินพุตค่าใด ที่จะทำให้ได้อุณหภูมิตามต้องการ ซึ่งนับว่าเป็นส่วนสำคัญ แต่อีกส่วนหนึ่งที่สำคัญก็คือค่าของอัตราการทำความร้อน หรืออัตราการเพิ่มของอุณหภูมิ โดยจะทำการหาค่าเฉลี่ยของอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิในช่วง 30 วินาทีแรก จากรูปที่ 4.11 จะเห็นว่าเมื่อจ่ายแรงดันอินพุตให้กับไมโครฮีตเตอร์ด้วยค่าที่มากขึ้น อัตราการเพิ่มของอุณหภูมิก็จะเพิ่มสูงตามไปด้วยเช่นเดียวกับกรณีที่กำหนดค่าแรงดันค่าหนึ่งให้กับไมโครฮีตเตอร์ ซึ่งจะทำให้เห็นได้ว่าไมโครฮีตเตอร์รูปแบบที่มีค่าความต้านทานต่ำจะมีค่าของอัตราการทำความร้อนที่สูงกว่ารูปแบบที่มีค่าความต้านทานสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4.2 เงื่อนไขเมื่อทำการแอนนัลที่อุณหภูมิ 900 °C

1. ค่าคงที่ของเวลาที่ให้อุณหภูมิคงที่ที่แรงดันค่าหนึ่ง



รูปที่ 4.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาของไมโครฮีตเตอร์
เงื่อนไขแอนนัล 900 °C ในรูปแบบที่ 2 และ 6

จากผลการทดลองจะพบว่าผลของการแอนนัลที่อุณหภูมิต่างๆ จะมีผลต่อตัวตรวจวัดอุณหภูมิมากกว่า ซึ่งจากการสังเกตในกรณีที่เป็นไมโครฮีตเตอร์ การแอนนัลจะมีผลต่อค่าความต้านทานของไมโครฮีตเตอร์ ดังนั้นผลการตอบสนองทางความร้อนของแต่ละเงื่อนไข ค่อนข้างที่จะมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน ซึ่งความสัมพันธ์ก็จะเป็นดังผลที่ได้อธิบายไว้ในเงื่อนไขข้างต้น

ตารางที่ 4.6 ผลการทดลองเกี่ยวกับค่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้ (Power consumption)

อุณหภูมิ (°C)	กำลังไฟฟ้าที่ใช้ (Watt)
55	0.315±0.052
75	0.552±0.073
95	0.847±0.126

จากการออกแบบและสร้างไมโครฮีทเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิ รวมทั้งการตรวจวัดสมบัติต่างๆ ซึ่งจะทำให้ทราบถึงค่าความต้านทานของไมโครฮีทเตอร์ ค่าแรงดันอินพุทที่จะจ่ายให้กับไมโครฮีทเตอร์ จากค่าดังกล่าวจะทำให้สามารถที่จะคำนวณค่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้สำหรับไมโครฮีทเตอร์เพื่อให้ได้อุณหภูมิตามต้องการดังตารางที่ 4.6 ซึ่งจะได้จากความสัมพันธ์ของ $P=V^2/R$ ซึ่ง P ก็คือค่าของกำลังไฟฟ้านั่นเอง โดยที่อุณหภูมิ 55 °C จะต้องใช้กำลังไฟฟ้าเฉลี่ยประมาณ 0.315±0.052 วัตต์ โดยบริเวณที่เกิดความร้อนจะมีขนาด 1.2x2.5 cm² ซึ่งถ้าคิดเป็นค่ากำลังไฟฟ้าต่อพื้นที่ก็จะประมาณ 0.105 วัตต์/cm² เป็นต้น

4.4 ผลการทดสอบการประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามกระบวนการ PCR ของอุปกรณ์ต้นแบบเปรียบเทียบกับวิธีแบบเดิม (Conventional) โดยใช้ pCambia 1301 ซึ่งมีขนาด 376 Base pairs (bps) เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA Template) ทำการตั้ง Condition ของอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอนของการทำพีซีอาร์เหมือนกันทุกประการ เปรียบเทียบผลโดยนำไปผ่านกระบวนการ Agarose Gel Electrophoresis รายละเอียดการทดสอบประสิทธิภาพผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอปรากฏดังนี้

เตรียมสารละลายดีเอ็นเอตั้งต้น (PCR master mix) ดังนี้

PCR master mix		
DNA Template (pCambia 1301), 376 bps	4.0	µl
10 mM dNTP	2.0	µl
10X buffer + Mg	10.0	µl
5 µM F-primer	2.0	µl
5 µM R-primer	2.0	µl
Taq DNA polymerase (Invitrogen)	0.60	µl
MgCl ₂ (50 mM, 4mM)	8.0	µl
H ₂ O	71.40	µl
Total Volume	100	µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ทำการบรรจุสารละลายดีเอ็นเอตั้งต้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในอุปกรณ์ต้นแบบ และใช้สารละลายดีเอ็นเอตั้งต้นปริมาตร 50 ไมโครลิตรในการทำพีซีอาร์ด้วยเครื่องเทอร์โมไซเคิลเลอร์

2. ตั้ง Condition ของอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอนของการทำพีซีอาร์เหมือนกัน ดังนี้

PCR condition : Initial denaturation @ 95°C_300 sec.

Denaturation @ 94°C_60 sec.

Annealing @ 53°C_90 sec.

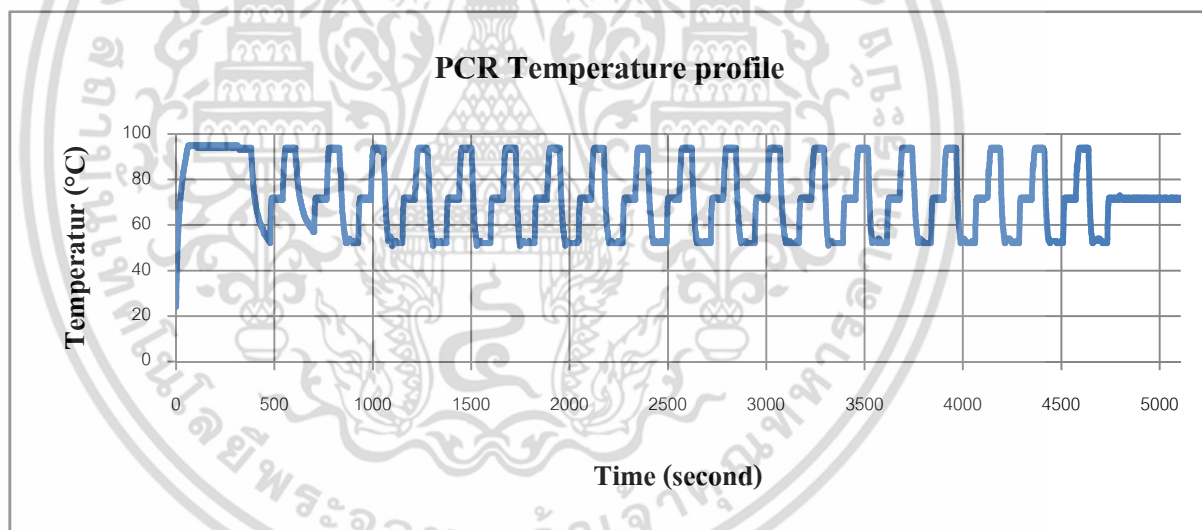
Extension @ 72°C_60 sec.

Final Extension @ 72°C_300 sec.

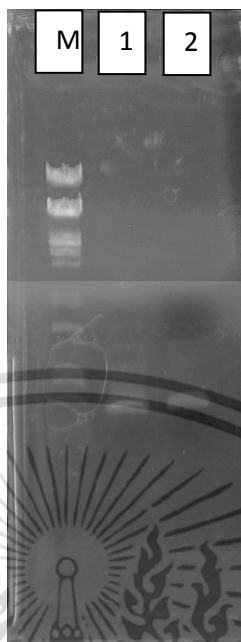
3. ทำการบันทึกค่า Temperature Profile ผลแสดงดังรูปที่ 4.14 พบว่าอัตราการขึ้นลงของอุณหภูมิในแต่ละช่วงของการทำพีซีอาร์ เป็นไปตามโปรแกรมที่ตั้งไว้

4. เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบด้วยกระบวนการ Agarose Gel Electrophoresis

พบว่าประสิทธิภาพการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของอุปกรณ์ต้นแบบสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ตรงตามขนาดที่ต้องการ แต่มีปริมาณน้อยกว่าการใช้เครื่อง ผลแสดงดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.14 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วยอุปกรณ์ต้นแบบ



รูปที่ 4.15 แสดงผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า

ช่อง M คือ Marker

ช่องที่ 1 คือดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง

ช่องที่ 2 คือดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยอุปกรณ์ต้นแบบ

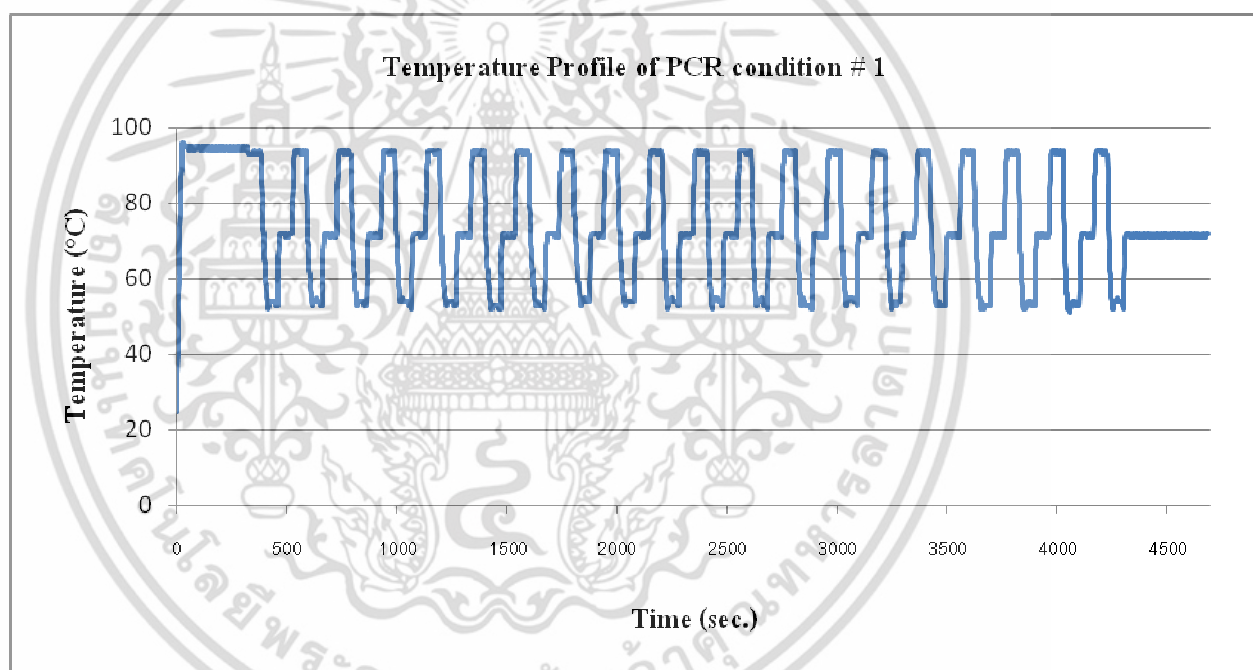
ทำการทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ต้นแบบเพื่อหา Condition ของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำพีซีอาร์ด้วยอุปกรณ์ต้นแบบ ด้วยการทำให้พีซีอาร์โดยใช้ PCR master mix แบบเดิม ทำการกำหนด Condition ของอุณหภูมิในแต่ละ Step ของกระบวนการพีซีอาร์เหมือนกัน แต่กำหนดเวลาให้แตกต่างกันจำนวน 5 Condition ดังแสดงในตารางที่ 4.7 กำหนดจำนวนรอบสำหรับการทำพีซีอาร์ไว้ที่ 20 รอบ บันทึกค่า Temperature profile ของแต่ละ Condition

พบว่าการทำงานของระบบควบคุมอุณหภูมิของอุปกรณ์ต้นแบบทำได้ดีมีประสิทธิภาพ ไม่เกิดความผิดพลาดของอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอนของการทำพีซีอาร์ ผลแสดงดังรูปที่ 4.16-4.20

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยการนำไปแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ผลแสดงดังรูปที่ 4.21

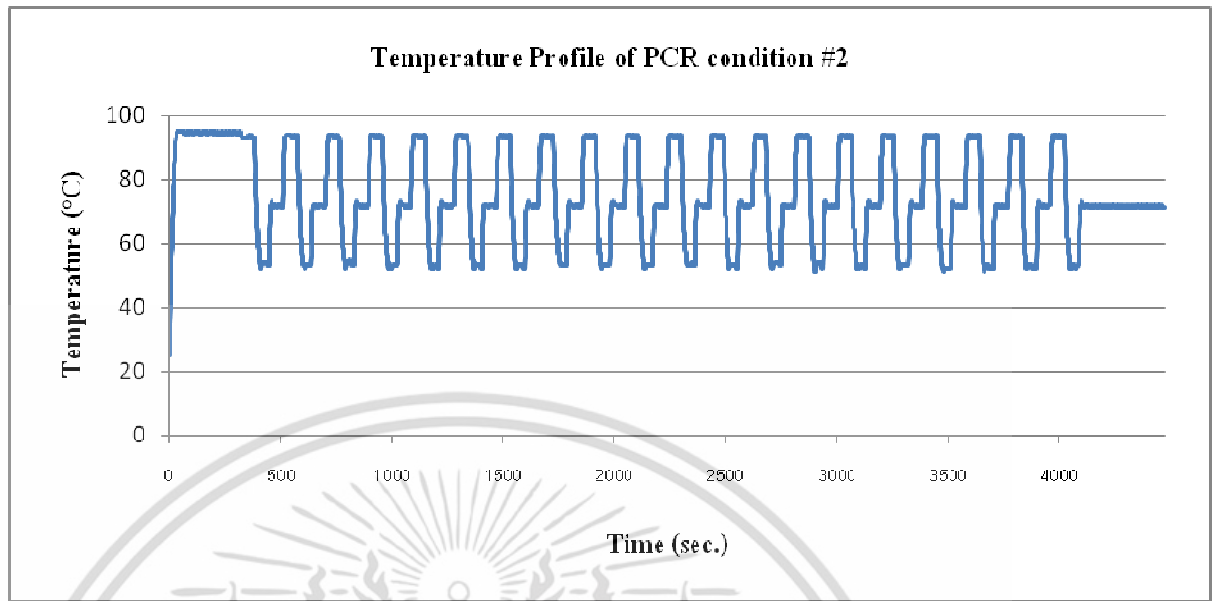
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าอุณหภูมิที่กำหนดและเวลาที่แตกต่างกันใน Condition ต่างๆที่ทำการทดลอง

Temperature (°C)	Condition 1 (sec.)	Condition 2 (sec.)	Condition 3 (sec.)	Condition 4 (sec.)	Condition 5 (sec.)
95	300	300	300	300	300
94	60	60	50	50	40
53	70	60	60	60	60
72	60	60	50	40	40
72	300	300	300	300	300

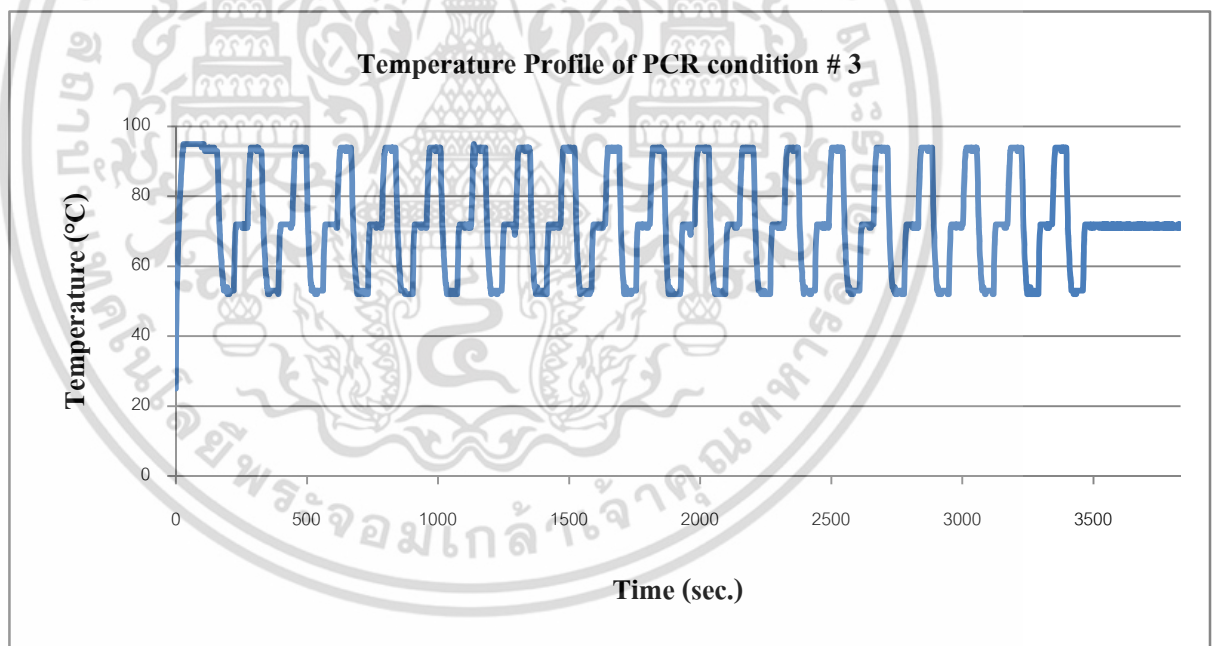


รูปที่ 4.16 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

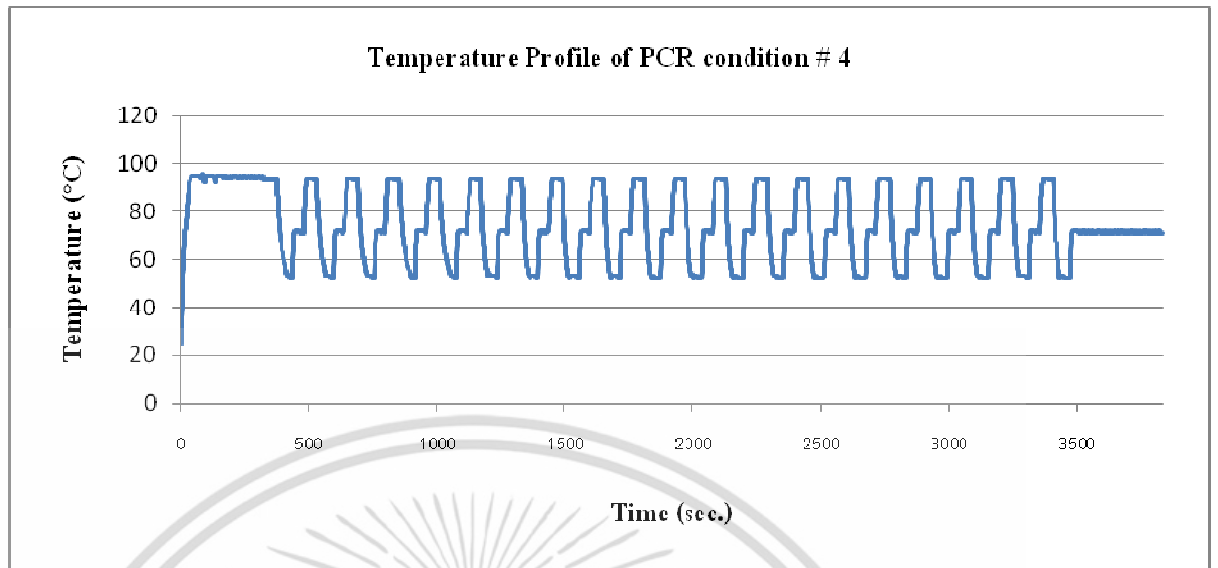


รูปที่ 4.17 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 2

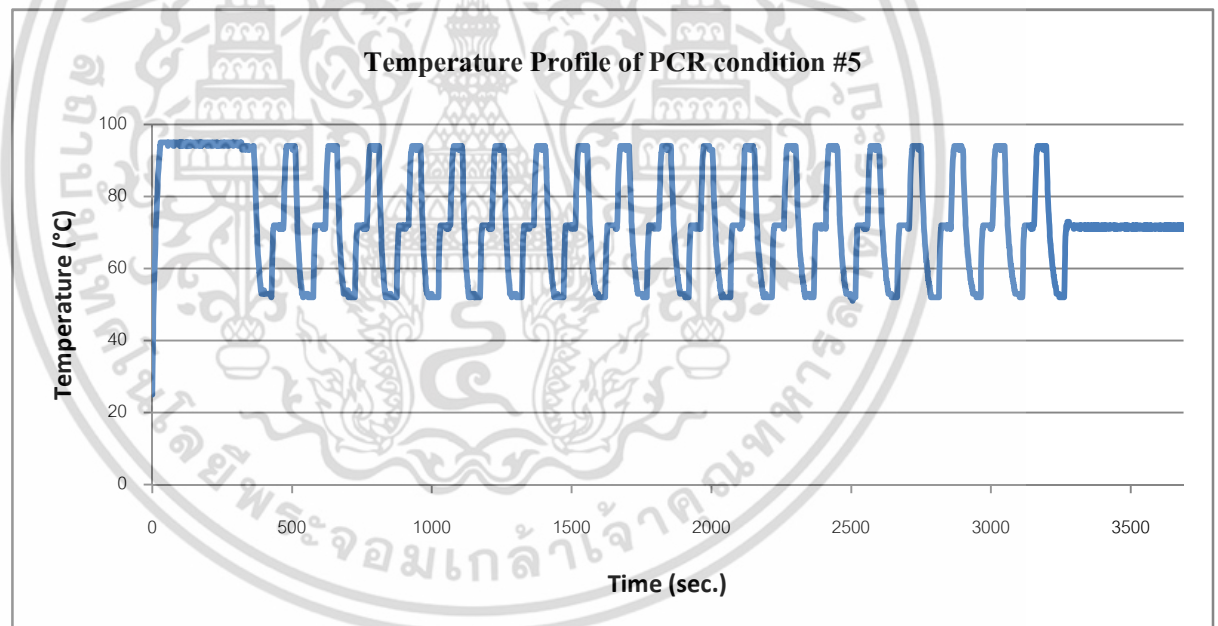


รูปที่ 4.18 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 4



รูปที่ 4.20 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 แสดงผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ช่อง M คือ Marker, ช่อง C คือตัวควบคุม, ช่องที่ 1-5 คือผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์ที่ Condition 1-5 ตามลำดับ

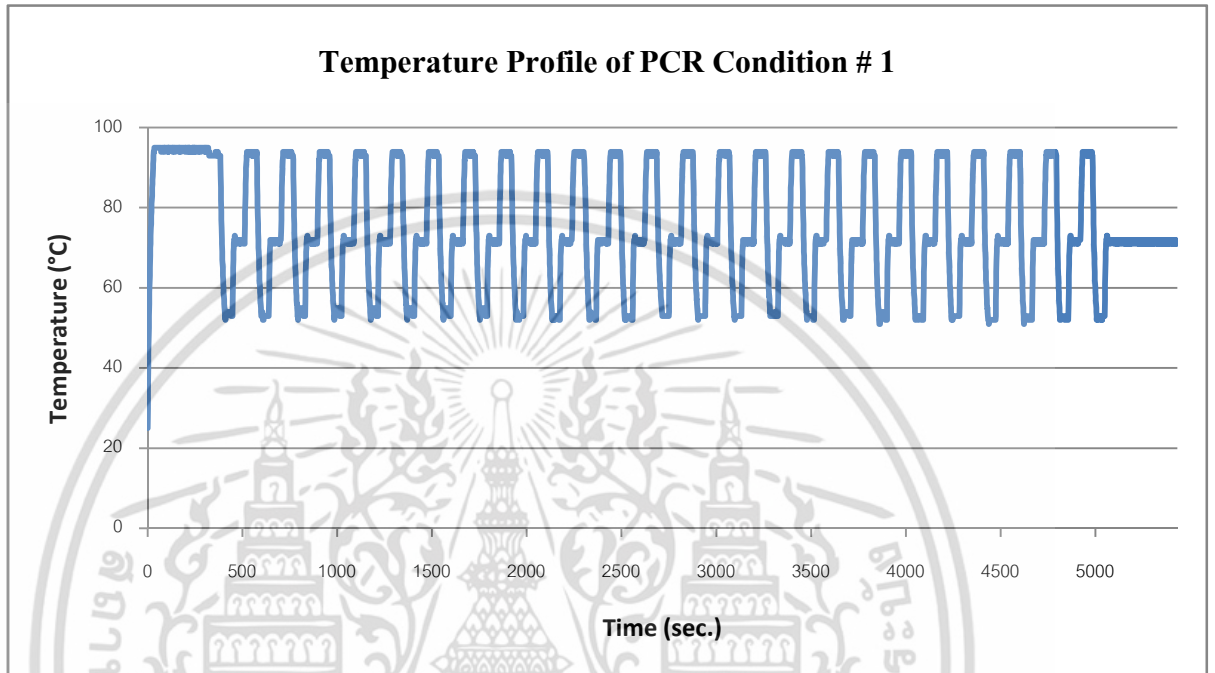
จากรูปที่ 4.21 จะเห็นว่าจากการทำพีซีอาร์ที่ Condition 5 (ช่องที่ 5) มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แต่ปริมาณยังคงน้อยกว่าการใช้เครื่อง (ช่อง C) ซึ่งไม่น่าเป็นไปได้ เนื่องจาก Condition ดังกล่าวใช้เวลาในแต่ละช่วงอุณหภูมิน้อยกว่าทุก Condition ที่ทำพร้อมกัน ดังนั้นจึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้งด้วย Condition เดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.8 เพื่อหาสาเหตุว่าเกิดข้อผิดพลาดจากจุดใดได้บ้าง

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าอุณหภูมิที่กำหนดสำหรับ Condition ต่างๆที่ทำการทดลองซ้ำ

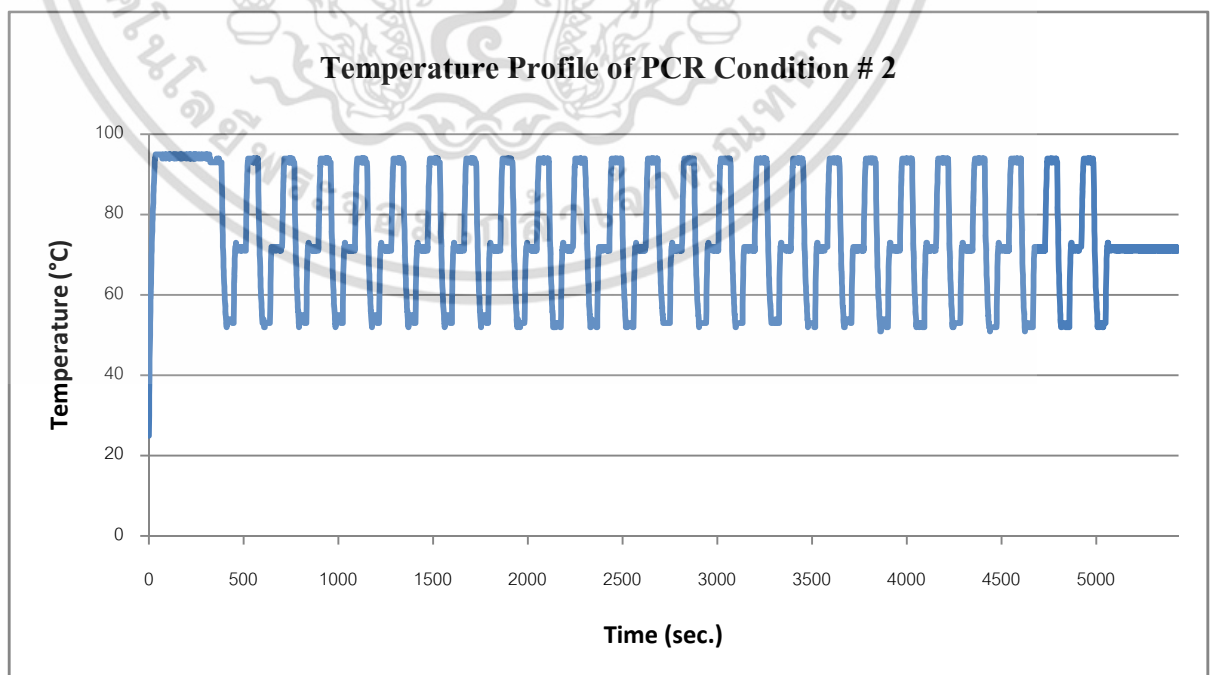
Temperature (°C)	Condition 1 (sec.)	Condition 2 (sec.)	Condition 3 (sec.)	Condition 4 (sec.)	Condition 5 (sec.)
95	300	300	300	300	300
94	60	60	50	50	40
53	70	60	60	60	60
72	60	60	50	40	40
72	300	300	300	300	300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำหนดจำนวนรอบของการทำพีซีอาร์ไว้ที่ 25 รอบ เมื่อเสร็จแล้วบันทึกค่า Temperature profile ผลแสดงดังรูปที่ 4.22 - 4.26 จากนั้นทำการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ผลแสดงดังรูปที่ 4.27

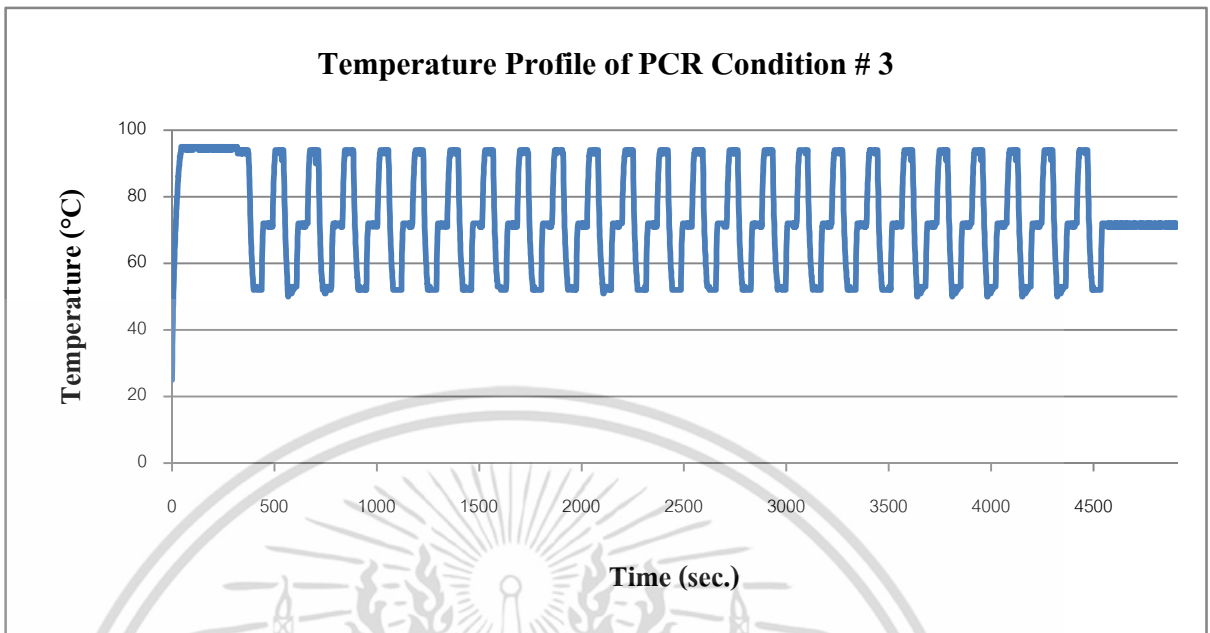


รูปที่ 4.22 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 1

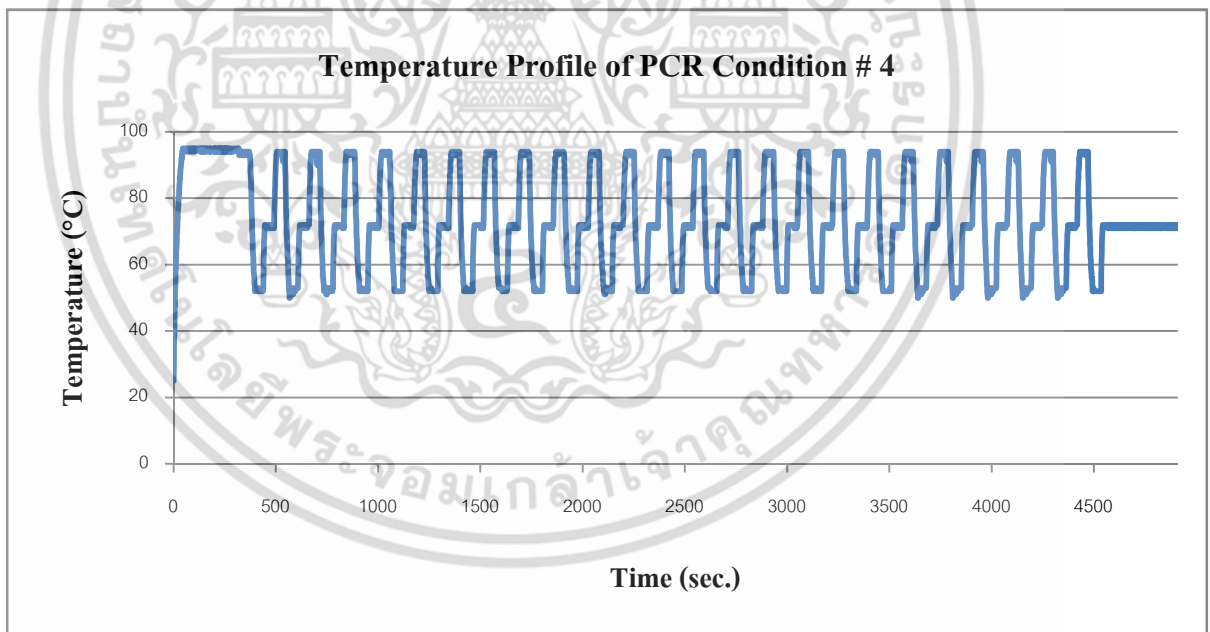


รูปที่ 4.23 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

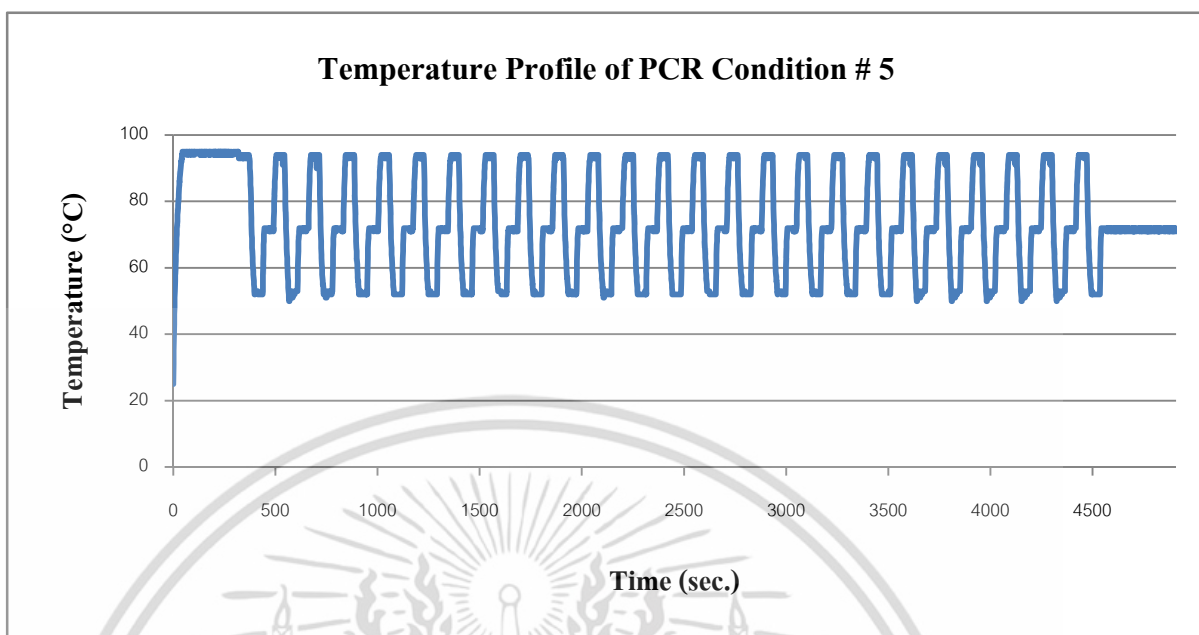


รูปที่ 4.24 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 3



รูปที่ 4.25 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.26 แสดง Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่ 5



รูปที่ 4.27 แสดงผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ช่อง M คือ Marker, ช่องที่ 1-5 คือผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์ที่ Condition 1-3 ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.27 พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอจากการทำพีซีอาร์ด้วย condition ที่ 1 เท่านั้น แสดงว่าเป็น condition ที่เหมาะสมสำหรับอุปกรณ์ต้นแบบ ซึ่งจะกำหนดให้เป็น Condition อ้างอิงต่อไป

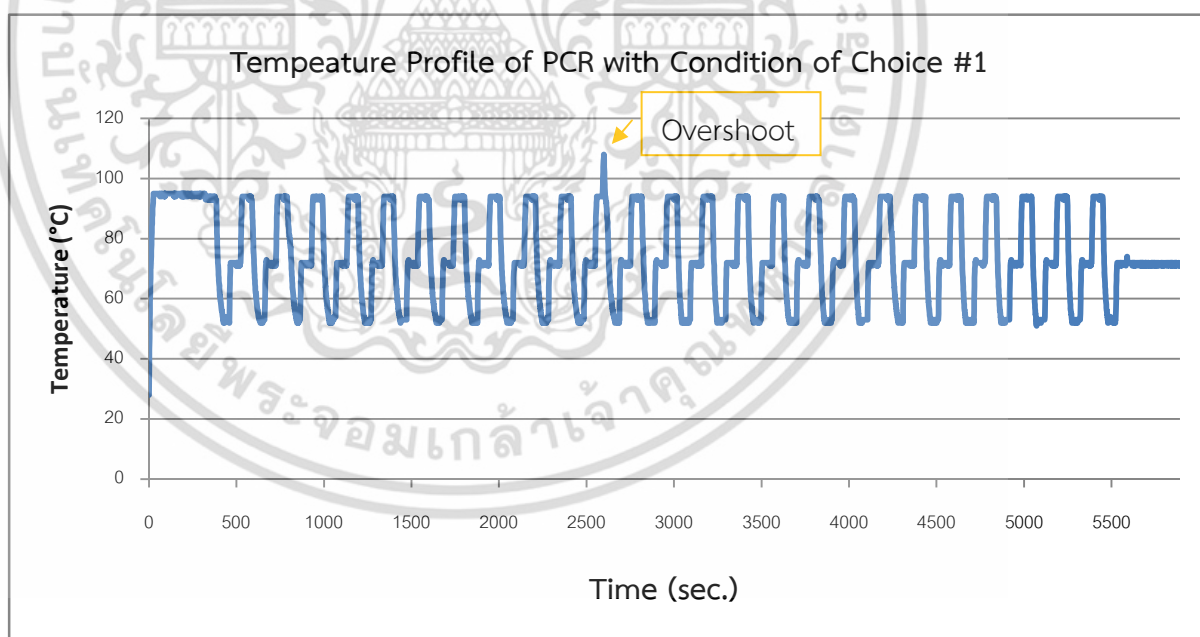
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ต้นแบบซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยเงื่อนไขเดิมดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่าการทำงานของระบบควบคุมอุณหภูมิของอุปกรณ์ต้นแบบเกิดการ Overshoot ของอุณหภูมิในการทำครั้งแรก แต่ในการทำครั้งที่ 2 ทำได้ดีมีประสิทธิภาพ ไม่เกิดความผิดพลาดของอุณหภูมิในแต่ละขั้นตอนของการทำพีซีอาร์ ผลแสดงดังรูปที่ 4.28-4.29

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยการนำไปแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดตามดีเอ็นเอต้นแบบที่ใส่ลงไป ผลแสดงดังรูปที่ 4.30

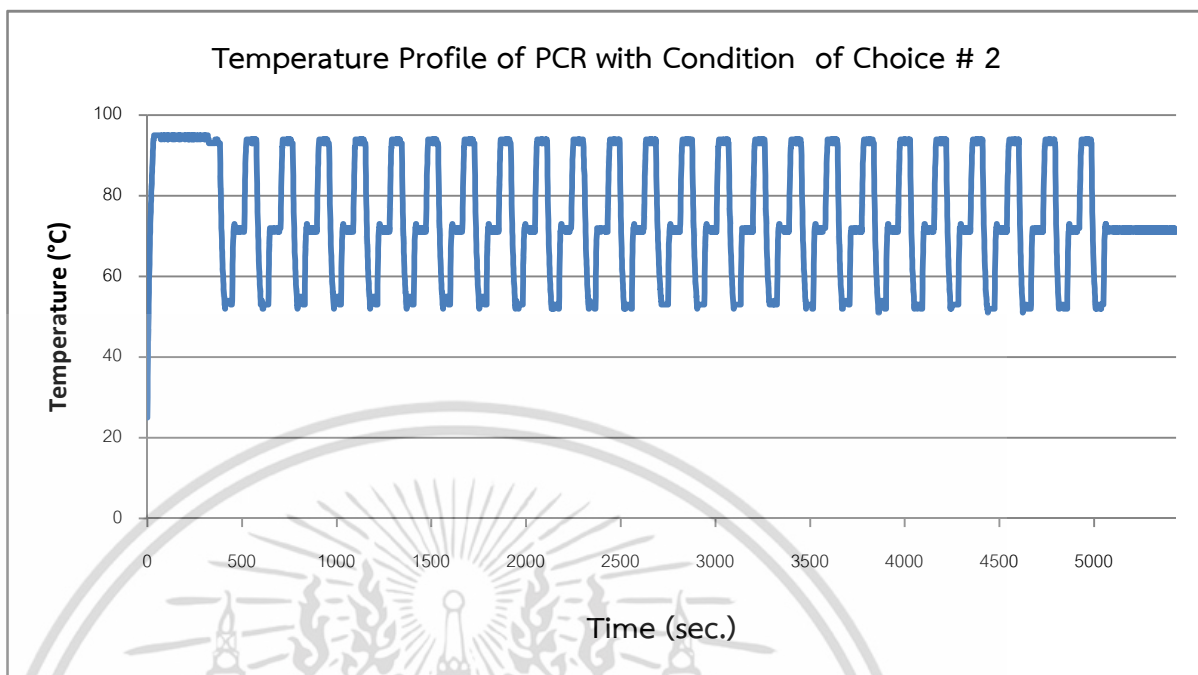
ตารางที่ 4.9 แสดงค่าอุณหภูมิที่กำหนดสำหรับ Condition ที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้

Temperature (°C)	Condition 1 (sec.)
95	300
94	60
53	70
72	60
72	300



รูปที่ 4.28 แสดง Temperature profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม พบการเกิด Overshoot

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 แสดง Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสม



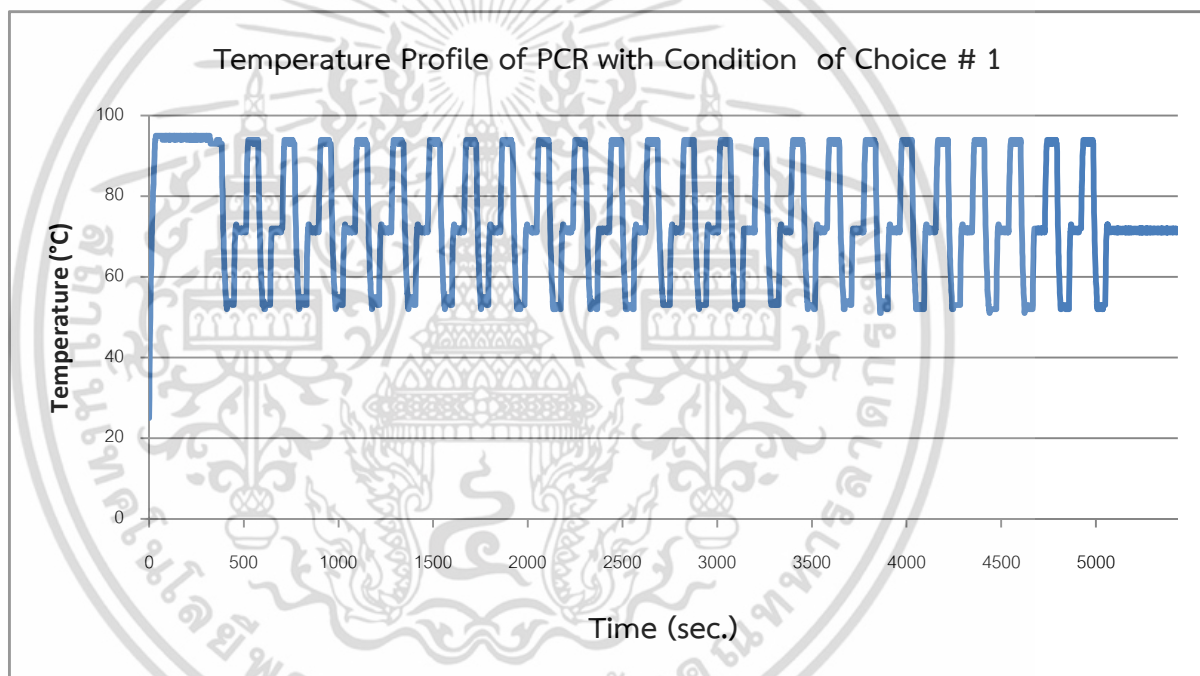
รูปที่ 4.30 แสดงผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ช่อง M คือ Marker, ช่องที่ 1 และ 2 คือผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์ซ้ำด้วย Condition เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

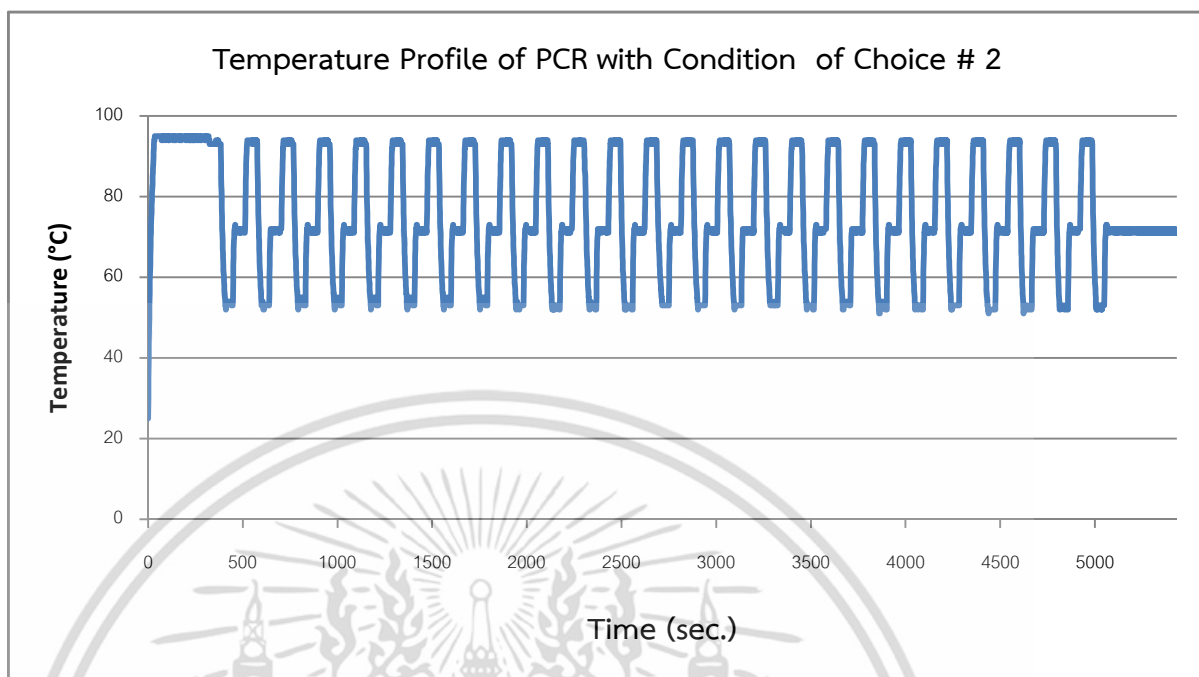
จากรูปที่ 4.30 พบว่าเกิดแถบจางๆในช่องที่ 1 ซึ่งเกิดจาก Non-Specific DNA อาจเป็นไปได้ว่าเกิดความผิดพลาดจากการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งสอดคล้องกับ Temperature profile ในรูปที่ 4.28 ซึ่งมีการ Overshoot ของอุณหภูมิเกิดขึ้นในขั้นตอนของการทำพีซีอาร์ อันเป็นสาเหตุให้เกิด Non-Specific DNA เกิดขึ้น

ทำการทดลองซ้ำ ด้วย Condition เดิม ที่เลือกตั้งแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าการทำงานของระบบควบคุมอุณหภูมิของอุปกรณ์ต้นแบบมีประสิทธิภาพ ไม่เกิดการ Overshoot ของอุณหภูมิในการทำเหมือนครั้งแรก ผลแสดงดังรูปที่ 4.31-4.32

ผลการการตรวจสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยการนำไปแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดตามดีเอ็นเอต้นแบบที่ใส่ลงไป ผลแสดงดังรูปที่ 4.33



รูปที่ 4.31 แสดง Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสมครั้งที่ 1



รูปที่ 4.32 แสดง Temperature Profile ของการทำพีซีอาร์ด้วย Condition ที่เหมาะสมครั้งที่ 2



รูปที่ 4.33 แสดงผลการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ช่อง M คือ Marker, ช่องที่ 1 และ 2 คือผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์ซ้ำด้วย Condition เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.33 พบว่าอุปกรณ์ต้นแบบมีประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาฟิชชัน และสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีระบบการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม จึงสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างถูกต้อง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ สามารถสร้างตัวทำความร้อน พร้อมตัวตรวจวัดความร้อนบนฐานรองซิลิกอนด้วยฟิล์มบาง สร้างแม่แบบส่วนของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ หรือไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) บนแผ่นซิลิกอน โดยเริ่มทำการการออกแบบด้วยซอฟต์แวร์ L-Edit และทำการสร้างตัวทำความร้อนด้วยกระบวนการ CMOS และสร้างอุปกรณ์ไมโครแชมเบอร์ ด้วยวัสดุโพลีเมอร์ สร้างระบบควบคุมอุณหภูมิที่มีความแม่นยำสูง สร้างอุปกรณ์รวมที่สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้

จากงานวิจัย สามารถสร้างอุปกรณ์ต้นแบบที่เปรียบเสมือนห้องปฏิบัติการขนาดเล็กระดับไมโครเมตร (Micro PCR) สำหรับเป็นอุปกรณ์ช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวนี้จะประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ คือ เซนเซอร์ตรวจวัดอุณหภูมิ ตัวทำความร้อน ไมโครแชมเบอร์ การเชื่อมพันธะระหว่างไมโครแชมเบอร์กับส่วนเซนเซอร์ และระบบควบคุมอุณหภูมิของอุปกรณ์ในช่วงต่างๆ ที่เหมาะกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ การตรวจวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ที่เกี่ยวข้องของตัวอุปกรณ์รวมที่สร้างขึ้นที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เมื่อเทียบกับเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่มีราคาแพงมากๆ ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้ได้อย่างทั่วถึง

จากความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จะทำการออกแบบและสร้างไมโครฮีตเตอร์ร่วมกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุแพลทินัมสำหรับซีพีเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ จากนั้นนำมาประกอบเข้ากับไมโครแชมเบอร์ เพื่อทำเป็นอุปกรณ์ต้นแบบในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งในการดำเนินงานวิจัยก็จะต้องทำการศึกษาค้นคว้าและทำการวิจัยอย่างต่อเนื่อง สามารถสรุปเป็นแต่ละหัวข้อตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ได้ดังนี้

1. การออกแบบ จากการที่ได้ทำการศึกษางานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบห้องปฏิบัติการขนาดเล็กระดับไมโครเมตร เพื่อมุ่งหวังที่จะสร้าง ไมโครฮีตเตอร์ ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ และระบบควบคุมอุณหภูมิ ให้เหมาะสมกับไมโครแชมเบอร์ เพื่อประกอบขึ้นมาเป็นอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) สำหรับเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ดังนั้นในการออกแบบของงานวิจัยนี้ จึงพยายามที่จะนำหลักการของแต่ละส่วนมารวมกันให้อยู่ภายในอุปกรณ์ที่เป็นชิ้นเดียวกัน ซึ่งได้ออกแบบไมโครฮีตเตอร์ให้มีตัววัดอุณหภูมิอยู่ด้วย เพื่อให้สามารถที่จะทราบอุณหภูมิที่เกิดจากไมโครฮีตเตอร์ไปพร้อมกัน และจากความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ทำให้สามารถที่จะออกแบบตัวทำความร้อนให้มีขนาดและอยู่บริเวณตำแหน่งตามต้องการของอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) ได้

2. การสร้าง จากกระบวนการที่ใช้ในการสร้างไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิสำหรับอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) นั้น ใช้เทคโนโลยีพื้นฐานของ CMOS ณ ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) ซึ่งทำให้สามารถที่พัฒนาเพื่อจะออกสู่อุตสาหกรรมได้ สำหรับไมโครฮีตเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมินั้นจะสร้างจากวัสดุแพลทินัม จึงทำให้ทนต่อสารเคมี ไม่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน มีความสามารถในการทำซ้ำ

3. เมื่อทำการสร้างไมโครฮีตเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมิเสร็จแล้วก็จะทำการตรวจสอบสมบัติด้านต่างๆ เช่น ทางด้านกายภาพด้วยเครื่อง FE-SEM, AFM, EDS ซึ่งจะพบว่าการแอนนีสที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นไมโครฮีตเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิสำหรับอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) และจากการตรวจสอบจะทำให้ได้ค่าเฉพาะของอุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับตัวตรวจวัดอุณหภูมิก็จะทำให้ทราบค่า Sensitivity และสมการที่จะใช้แปลงค่าความต้านทานไปเป็นอุณหภูมิ และค่าความเสถียร ส่วนไมโครฮีทเตอร์ก็จะทำให้ทราบค่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้ อัตราการทำความร้อน เป็นต้น

4. ในการนำอุปกรณ์ต้นแบบไปใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ นั้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบที่มีขนาด 376 คู่เบส ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องเทอร์มอลไซเคิลอร์ที่ใช้กันในปัจจุบัน แต่ก็ยังพบว่าต้องมีการพัฒนาระบบให้สามารถใช้งานได้สะดวกกว่านี้

ข้อเสนอแนะของงานวิจัย

จากการดำเนินงานวิจัย ทำให้สามารถที่จะออกแบบและสร้างไมโครฮีทเตอร์ที่มีตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุที่เป็นโลหะแพลทินัมสำหรับอุปกรณ์ไมโครพีซีอาร์ (Micro PCR) ซึ่งจากความรู้และประสบการณ์ที่ได้รับจากการดำเนินงานวิจัยทำให้สามารถที่จะนำมาพัฒนางานวิจัยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นโดยจะเสนอแนะในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยหรือการพัฒนางานวิจัย ดังหัวข้อต่อไปนี้

1. ด้านการศึกษาของงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จากการศึกษาของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างไมโครฮีทเตอร์ การสร้างตัวตรวจวัดอุณหภูมิ วัสดุที่นิยมใช้คือโลหะแพลทินัมซึ่งเป็นวัสดุที่เหมาะสม แต่เนื่องจากแพลทินัมยังมีราคาที่สูง ดังนั้นแนวทางที่จะพัฒนางานวิจัยนี้ควรที่จะศึกษาถึงวัสดุชนิดอื่นๆ ที่สามารถจะนำมาใช้ทำเป็นไมโครฮีทเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมิเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้งาน

2. ด้านการออกแบบสำหรับงานวิจัยนี้การออกแบบไมโครฮีทเตอร์และตัวตรวจวัดอุณหภูมินั้นจะเห็นได้ว่าบริเวณที่ใช้ในการต่อขั้วไฟฟ้ากับบริเวณที่ต้องการให้เกิดความร้อนอยู่ใกล้กันมาก ดังนั้นในการออกแบบควรที่จะให้บริเวณที่ใช้ในการต่อขั้วไฟฟ้ากับบริเวณที่ต้องการให้เกิดความร้อนมีระยะห่างกัน เพื่อป้องกันผลของความร้อนที่เกิดขึ้นซึ่งจะส่งผลต่อค่าความต้านทานบริเวณผิวสัมผัสของขั้วไฟฟ้าและสิ่งที่สำคัญในการเลือกฐานรองรับ ค่าการนำความร้อนเพราะจะมีผลต่อการออกแบบลวดลายของไมโครฮีทเตอร์

3. สำหรับระบบควบคุมอุณหภูมินั้นควรที่จะมีการพัฒนาต่อในส่วนของช่วงที่ต้องการให้อุณหภูมิลดลงและสามารถที่จะนำไปใช้งานได้สะดวกและง่าย

4. ควรมีการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบที่มีจำนวนคู่เบสมากกว่าที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ จะทำให้อุปกรณ์ดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลายสาขามากกว่านี้

บรรณานุกรม

- [1] Samantha Frost. "Annual American Political Science Association meeting." [Online] <http://unitcrit.blogspot.com/2010/09/second-week-of-classes-samantha-frost.html> 2015
- [2] [Online] Available : <http://pixgood.com/human-cell-nucleus-diagram.html> 2015
- [3] รศ.ดร. ภิญโญ พานิชพันธ์และคณะ. "ชีวโมเลกุล." [Online]. Available : http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/biomolecule/chapter5_2.html 2015
- [4] ธนากรณ์ ชูศรี. "โครโมโซม." [Online] Available : <http://genetics.blogspot.com/2012/08/gene-chromosome-segment-encode-single.html> 2015
- [5] Jirawan Chaiyasit. "กรณีศึกษา." [Online]. Available : <http://archive.wunjun.com/udontham/3/151.html> 2015
- [6] แพทย์หญิงคุณหญิงพรทิพย์ โรจนสุนันท์. นิติเวชศาสตร์การชันสูตรศพ. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์วิญญูชน. 2547
- [7] นายแพทย์วิโรจน์ ไวยวุฒิ. นิติเวชศาสตร์การพิสูจน์พยานหลักฐาน. กรุงเทพฯ: พิมพ์ที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล บางกอกน้อย. 2532
- [8] John P. Uyemura. "Physical Design of CMOS Integrated Circuits using L-Edit." USA : PWS Publishing Company. 1995
- [9] Zhang,C.S., Xu,J.L., Ma,W.L. and Zheng,W.L. (2006) PCR microfluidic devices for DNA amplification. *Biotechnol. Adv.*, 24: 243–284.
- [10] Chunsun Zhang and Da Xing. (2007) Miniaturized PCR chips for nucleic acid amplification and analysis: latest advances and future trends. *Nucleic Acids Research*, Vol. 35, No. 13: 4223–4237
- [11] Roper,M.G., Easley,C.J. and Landers,J.P. (2005) Advances in polymerase chain reaction on microfluidic chips. *Anal. Chem.*, 77: 3887–3894.
- [12] Auroux,P.-A., Koc,Y., deMello,A., Manz,A. and Day,P.J.R. (2004) Miniaturized nucleic acid analysis. *Lab Chip*, 4: 534–546.
- [13] Gnanappa AK, Cathy K, Slattery O, Sheehan M. Thermal performance analysis of a silicon microreactor for rapid DNA analysis. (2006), The Tenth Intersociety Conference on Thermal and Thermomechanical Phenomena in Electronics Systems (ITHERM'06): San Diego, CA, USA: 1330–1335.
- [14] Hataoka Y, Zhang LH, Yukimasa T, Baba Y. Rapid microvolume PCR of DNA confirmed by microchip electrophoresis. *Anal. Sci*, (2005) 21: 53–56.
- [15] Matsubara Y, Kerman K, Kobayashi M, Yamanura S, Morita Y, Tamiya E. Microchamber array based DNA quantification and specific sequence detection from a single copy via PCR in nanoliter volumes 20. *Biosens. Bioelectron* (2005): 1482–1490.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [16] Noh J, Sung SW, Jeon MK, Kim SH, Lee LP, Woo SI. In situ thermal diagnosis of the micro-PCR system using liquid crystals, *Sens. Actuators A Phys* (2005) 122: 196–202.
- [17] Yan WP, Du LQ, Wang J, Ma LZ, Zhu JB. Simulation and experimental study of PCR chip based on silicon, *Sens. Actuators B Chem* (2005) 108: 695–699.
- [18] Gong H, Ramalingam N, Chen L, Che J, Wang Q, Wang Y, Yang X, Yap PHE, Neo CH. Microfluidic handling of PCR solution and DNA amplification on a reaction chamber array biochip. *Biomed. Microdevices* (2006) 8: 167–176.
- [19] Li SF, Fozdar DY, Ali MF, Li H, Shao DB, Vykoukal DM, Vykoukal J, Floriano PN, Olsen M, et al. A continuous-flow polymerase chain reaction microchip with regional velocity control, *J. Microelectromech. Syst* (2006) 15: 223–236.
- [20] Liu CN, Toriello NM, Mathies RA. Multichannel PCR-CE microdevice for genetic analysis, *Anal Chem* (2006) 78: 5474–5479
- [21] Hsieh TM, Luo CH, Lee GB, Liao CS, Huang FC. A micromachined low-power-consumption portable PCR system, *J. Med. Biol. Eng* (2006) 26: 43–49.
- [22] Hu GQ, Xiang Q, Fu R, Xu B, Venditti R, Li DQ. Electrokinetically controlled real-time polymerase chain reaction in microchannel using Joule heating effect, *Anal. Chim. Acta* (2006) 557: 146–151
- [23] Jia XY, Niu ZQ, Chen WY, Zhang WP, Polydimethylsiloxane (PDMS)-based spiral channel PCR chip, *Electron. Lett* (2005) 41: 890–891
- [24] Kim JA, Lee JY, Seong S, Cha SH, Lee SH, Kim JJ, Park TH. Fabrication and characterization of a PDMS-glass hybrid continuous-flow PCR chip. *Biochem. Eng. J* (2006) 29: 91–97
- [25] Lien KY, Lee WC, Lei HY, Lee GB. Integrated reverse transcription polymerase chain reaction systems for virus detection. *Biosens. Bioelectron* (2007) 22: 1739–1748
- [26] Niu ZQ, Chen WY, Shao SY, Jia XY, Zhang WP. DNA amplification on a PDMS-glass hybrid microchip. *J. Micromech. Microeng* (2006) 16: 425–433
- [27] Xiang Q, Xu B, Fu R, Li D. Real time PCR on disposable PDMS chip with a miniaturized thermal cycler. *Biomed. Microdevices* (2005) 7: 273–279
- [28] Chen ZY, Wang J, Qian SZ, Bau HH. Thermally-actuated, phase change flow control for microfluidic systems. *Lab Chip* (2005) 5: 1277–1285
- [29] Wang H, Chen JF, Zhu L, Shadpour H, Hupert ML, Soper SA. Continuous flow thermal cycler microchip for DNA cycle sequencing. *Anal. Chem* (2006) 78: 6223–6231

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [30] Yao LY, Liu BA, Chen T, Liu SB, Zuo TC. Micro flow-through PCR in a PMMA chip fabricated by KrF excimer laser. *Biomed. Microdevices* (2005) 7: 253–257
- [31] Tsai NC, Sue CY. SU-8 based continuous-flow RT-PCR bio-chips under high-precision temperature control. *Biosens. Bioelectron* (2006) 22: 313–317
- [32] Northrup MA, Ching MT, White RM, Watson RT. DNA amplification in a microfabricated reaction chamber. (1993) *Proceedings of the 7th International Conference on Solid-State Sensors and Actuators (Transducers '93)*, 7–10 June: Yokohama, Japan: 924–926.
- [33] Yu HM, Chien CH. Miniaturized PCR-chip for DNA amplification with an external peristaltic pump. *J. Mech. Med. Biol* (2005) 5:81–87
- [34] Shen KY, Chen XF, Guo M, Cheng J. A microchip-based PCR device using flexible printed circuit technology. *Sens. Actuators B Chem* (2005) 105: 251–258
- [35] Kopp MU, de Mello AJ, Manz A. Chemical amplification: continuous-flow PCR on a chip. *Science* (1998) 280: 1046–1048
- [36] Zhao Y, Zhang X. A novel pressure indicator for continuous flow PCR chip using micro molded PDMS pillar arrays. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc* (2005) 845:AA5.10.1–AA5.10.6.
- [37] Tsai NC, Sue CY. SU-8 based continuous-flow RT-PCR bio-chips under high-precision temperature control. *Biosens. Bioelectron* (2006) 22: 313–317
- [38] Zhang CS, Xu JL, Wang JQ, Wang HP. Continuous-flow polymerase chain reaction microfluidics by using spiral capillary channel embedded on copper. *Anal. Lett* (2007) 40: 497–511
- [39] Wang W, Li ZX, Guo ZY. Numerical simulation of micro flow-through PCR chip. *Microscale Therm. Eng* (2005) 9: 281–293
- [40] M. Bu, T. Melvin, G. Ensell, J.S. Wilkinson and A.G.R. Evans, Design and theoretical evaluation of a novel microfluidic device to be used for PCR, *J Micromech Microeng* 13 (2003): S125–S130
- [41] D.S. Lee, S.H. Park, H. Yang, K.H. Chung, T.H. Yoon and S.J. Kim et al., Bulk-micromachined submicroliter-volume PCR chip with very rapid thermal response and low power consumption, *Lab Chip* 4 (2004): 401–407
- [42] C.G.J. Schabmueller, A.G.R. Evans, A. Brunnschweiler, G.J. Ensell, D.L. Leslie and M.A. Lee, Design, fabrication and packaging of closed chamber PCR-chips for DNA amplification, *Proc SPIE* 4019 (2000): 362–369
- [43] D.S. Yoon, Y.S. Lee, Y. Lee, H.J. Cho, S.W. Sung and K.W. Oh et al., Precise temperature control and rapid thermal cycling in a micromachined DNA polymerase chain reaction chip, *J Micromech Microeng* 12 (2002), pp 813–823

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [44] Z. Zhao, Z. Cui, D. Cui and S. Xia, Monolithically integrated PCR biochip for DNA amplification, *Sens Actuators A Phys* 108 (2003), pp. 162–167.
- [37] I. Rodriguez, M. Lesaicherre, Y. Tie, Q. Zou, C. Yu and J. Singh et al., Practical integration of polymerase chain reaction amplification and electrophoretic analysis in microfluidic devices for genetic analysis, *Electrophoresis* 24 (2003), pp. 172–178.
- [45] Chiyang Yu, Wenshian Liang, Iching Kuan, Chehung Wei, Weiguo Gu, Fabrication and characterization of a flow-through PCR device with integrated chromium resistive heaters, *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* 38 (2007): 333–339
- [46] K. Sun, A. Yamaguchi, Y. Ishida, S. Matsuo and H. Misawa, A heater-integrated transparent microchannel chip for continuous-flow PCR, *Sens Actuators B Chem* 84 (2002), pp. 283–289
- [47] T.M.H. Lee, M.C. Carles and I.M. Hsing, Microfabricated PCR-electrochemical device for simultaneous DNA amplification and detection, *Lab Chip* 3 (2003), pp. 100–105
- [48] Weinberg, F.J., 1986, *Advance Coinbustion Method*, London, Academic Press, pp. 183-236.
- [49] Gwiy-SangChung, Chael-HanKim, RTD characteristicsformicro-thermalsensors, *MicroelectronicsJournal* 39 (2008): 1560–1563.
- [50] Smithells. *Metals Reference Book*. 6th. Edn.
- [51] M. Sreemany, S. Sen. / *Applied Surface Science* 253 (2006): 2739-2746
- [52] Y. Mo, Y. Okawa, M. Tajima, T. Nakai, N.Yoshiike and K. Natukawa, *Sens. Actuators, B, Chem.* 79 (2001), p. 175
- [53] R.M. Tiggelaar et al. / *Sensors and Actuators A* 152 (2009): 39–47
- [54] S.L. Firebaugh, K.F. Jensen and M.A.Schmidt, *J. Microelectromech. Syst.* 7 (1998), pp. 128.
- [55] A. Ehrlich, U. Weiß, W. Hoyer and T.Geßner, *Thin Solid Films* 300 (1997), pp. 122
- [56] Fluke Hart Scientific, 7103 Micro-Bath User's Guide
- [57] นายวิศรุต ศรีพุ่มไข. “การออกแบบและสร้างไมโครฮีตเตอร์ร่วมกับตัวตรวจวัดอุณหภูมิด้วยวัสดุแพลทินัมสำหรับชิพเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ.” วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชานาโนวิทยา และนาโนเทคโนโลยี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีลาดกระบัง, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2553.
- [58] Sung M. Hong. et. al. Hydrophilic Surface Modification of PDMS Using Atmospheric RF Plasma, *Journal of Physics: Conference Series* 34 (2006), p. 656–661

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [59] Marioara AVRAM. et. al. Plasma Surface Modification for Selective Hydrophobic Control. ROMANIAN JOURNAL OF INFORMATION ROMANIAN JOURNAL OF INFORMATION SCIENCE AND TECHNOLOGY. Volume 11 , Number 4, 2008, p. 409-422
- [60] C. Jongwannasiri and S. Watanabe. Effects of RF Power and Treatment Time on Wettability of Oxygen Plasma -Treated Diamond-like Carbon Thin Films. International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 5, No. 1, February 2014



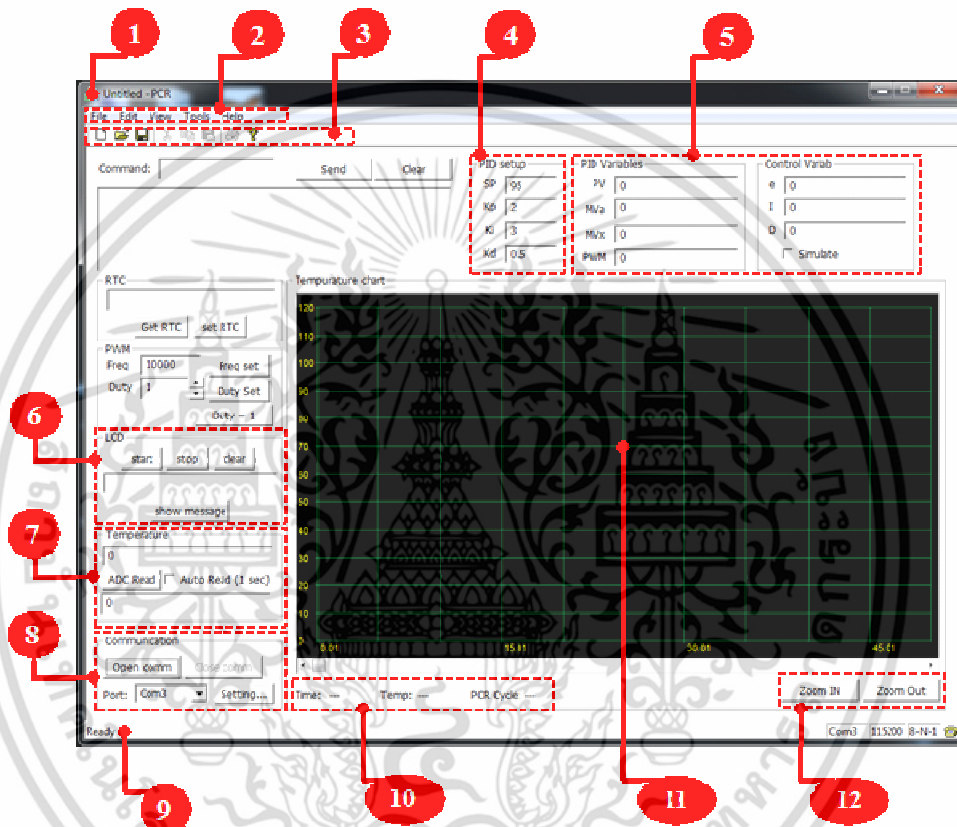
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

โปรแกรมสำหรับระบบควบคุมอุณหภูมิ

1. ส่วนประกอบของโปรแกรม

โปรแกรมสำหรับควบคุมอุณหภูมิในงานวิจัยนี้ มีส่วนประกอบดังนี้



1. แถบหัวเรื่อง (Title Bar) แสดงชื่อโปรแกรมและชื่อไฟล์งาน
2. เมนู (Menu) เป็นที่รวบรวมคำสั่งทั้งหมดสำหรับสั่งให้โปรแกรมทำงาน
3. แถบเครื่องมือ (Toolbar) เป็นแถบเครื่องมือที่เป็นลักษณะทางลัด ซึ่งจะเป็นคำสั่งที่ถูกเรียกใช้งานบ่อย
4. ช่องปรับค่าพารามิเตอร์ของตัวควบคุมแบบพีไอดี (PID Setup) จะเป็นช่องที่แสดงค่าของอุณหภูมิที่ตั้งไว้ รวมถึงพารามิเตอร์ที่สำคัญสำหรับการควบคุม
5. ส่วนแสดงผลการควบคุมอุณหภูมิ รวมทั้งแสดงผลของพารามิเตอร์แต่ละค่า
6. ส่วนของคำสั่งที่จะทำการแสดงผลบนจอ แอลซีดี (LCD)
7. ส่วนของการแสดงค่าของอุณหภูมิที่อ่านได้ และค่าที่ได้จาก ADC
8. ส่วนของการเลือกช่องทางสำหรับการเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์
9. แถบแสดงสถานะของโปรแกรมพร้อมใช้งาน
10. ส่วนของการแสดงเวลา อุณหภูมิที่ตั้งไว้ รวมถึงจำนวนรอบที่กำลังดำเนินการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปขอประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

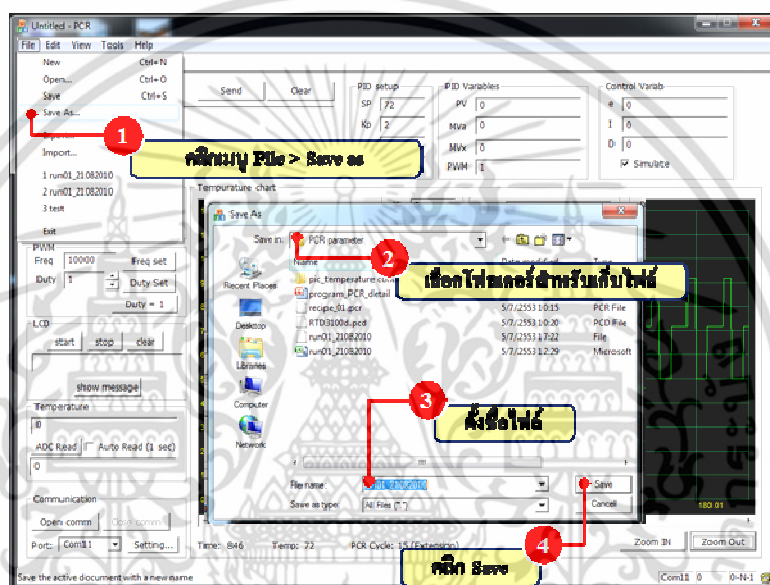
11. หน้าจอที่แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่วัดได้กับเวลา
12. เป็นส่วนที่ใช้สำหรับการ ย่อ-ขยาย กราฟในหน้าจอข้อที่ 11

2. การบันทึกและการนำข้อมูลออก (Save & Export)

เมื่อทำการทดลองเสร็จเรียบร้อยแล้ว ควรทำการบันทึกข้อมูลอุณหภูมิที่ได้จากการทดลอง กราฟของอุณหภูมิ เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวไปทำการวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยมีวิธีการบันทึกข้อมูล ดังนี้

2.1 การบันทึกข้อมูลลงเครื่องคอมพิวเตอร์ (Save)

เมื่อต้องการจะเก็บข้อมูลลงเครื่องให้ทำตามขั้นตอนดังนี้

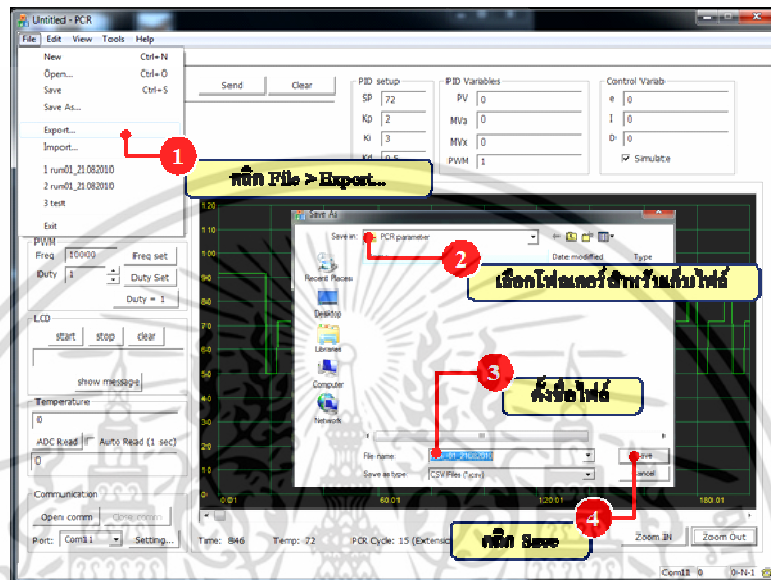


1. คลิกเมนู เลือก File > Save As... เพื่อทำการบันทึกข้อมูล ซึ่งจะใช้กับกรณีทำการบันทึกข้อมูลเป็นครั้งแรก
2. เลือกไฟล์เตอร์สำหรับที่จะใช้เก็บไฟล์
3. ตั้งชื่อไฟล์
4. คลิก Save เพื่อบันทึกข้อมูล

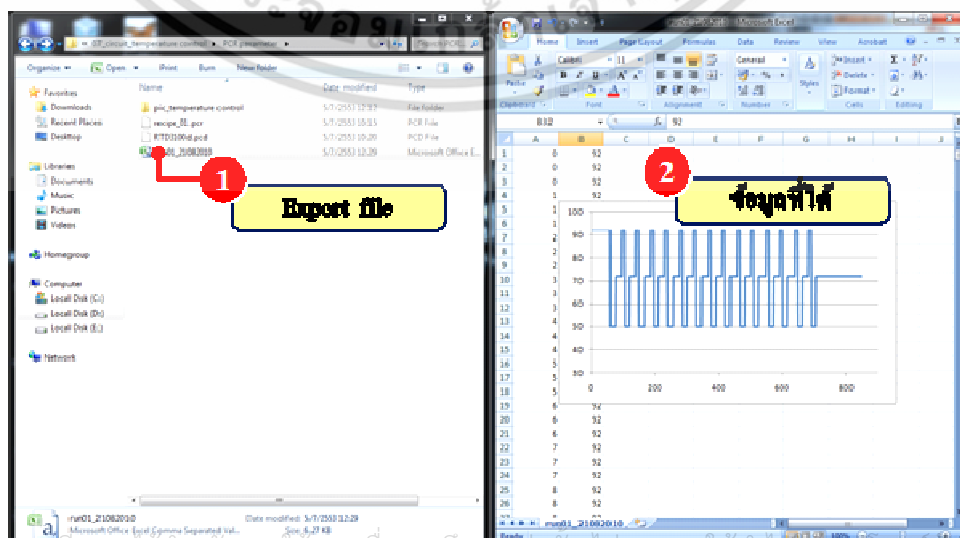
ดังนั้นในการใช้งานครั้งต่อไปเราสามารถที่จะเปิดไฟล์ที่บันทึกไว้ มาวิเคราะห์ผลการทดลองหรือทำการทดลองซ้ำ ก็จะทำให้ได้เงื่อนไขเหมือนเดิม

2.2 การนำข้อมูลออกจากโปรแกรม (Export)

หลังจากที่ทำการบันทึกกราฟ และเงื่อนไขที่ใช้ในการทดลองแล้ว ขั้นตอนนี้จะเป็นการนำข้อมูลดิบ หรือข้อมูลเชิงตัวเลข เพื่อนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองที่จำเพาะยิ่งขึ้น โดยตัวโปรแกรมสามารถที่จะนำข้อมูลออก ในนามสกุล .csv ซึ่งจะสามารถนำไปใช้กับโปรแกรม Excel, Origin เป็นต้น สำหรับการนำข้อมูลออกจะทำได้ดังนี้



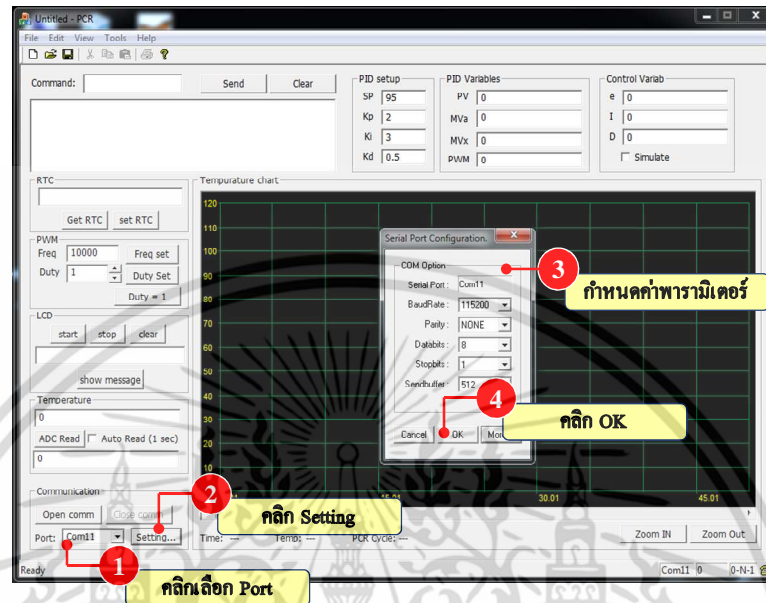
1. คลิกเลือก File > Export... ก็จะมีหน้าต่างปรากฏขึ้นมา
2. เลือกโฟลเดอร์สำหรับใช้เก็บไฟล์ข้อมูล
3. ตั้งชื่อไฟล์
4. คลิกเลือก Save โปรแกรมก็จะทำการ Export จากที่เห็นเป็นลักษณะของกราฟ ออกไปเป็นตัวเลขและเก็บไว้ในโฟลเดอร์ที่กำหนดไว้ ซึ่งสามารถนำไปใช้งานกับ โปรแกรม Excel ได้ทันที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเนื้อหาเว็บไซต์มีการแก้ไข ไม่สามารถแก้ไขใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์

สำหรับการเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์จะการใช้การติดต่อทางพอร์ตอนุกรม RS232 สำหรับการรับ-ส่งข้อมูลระหว่างระบบควบคุมอุณหภูมิกับคอมพิวเตอร์ โดยการตั้งค่าการเชื่อมต่อจะมีวิธีการดังนี้



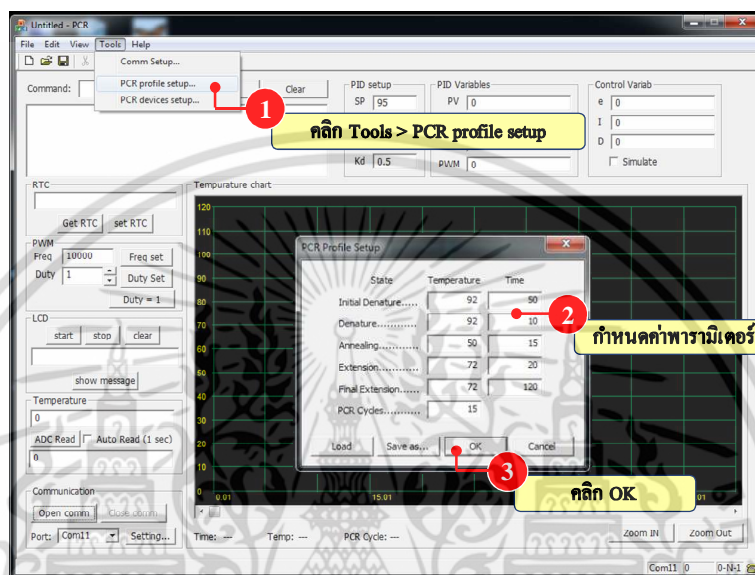
1. คลิกเลือก Port ให้ตรงกับช่องเสียบ USB ที่ใช้เชื่อมต่อกับระบบควบคุมอุณหภูมิ
2. คลิกที่ Setting... จะปรากฏหน้าต่างเล็กๆ ดังรูป
3. จากนั้นทำการกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น การเลือก Port, Baudrate, Databits
4. คลิก OK เพื่อเป็นการยืนยันการตั้งค่า

ค่าที่กำหนดไว้จะถูกบันทึกไว้ สำหรับการใช้งานในครั้งต่อไป ในกรณีที่เปลี่ยนช่องเสียบ USB จากเครื่องคอมพิวเตอร์นั้น ตัวโปรแกรมจะทำการตรวจสอบและแจ้งให้ทราบสำหรับการกำหนดค่าใหม่

4. การกำหนดคำสั่งในแถบเครื่องมือ

4.1 การกำหนดอุณหภูมิในการทำพีซีอาร์ (PCR Profile Setup)

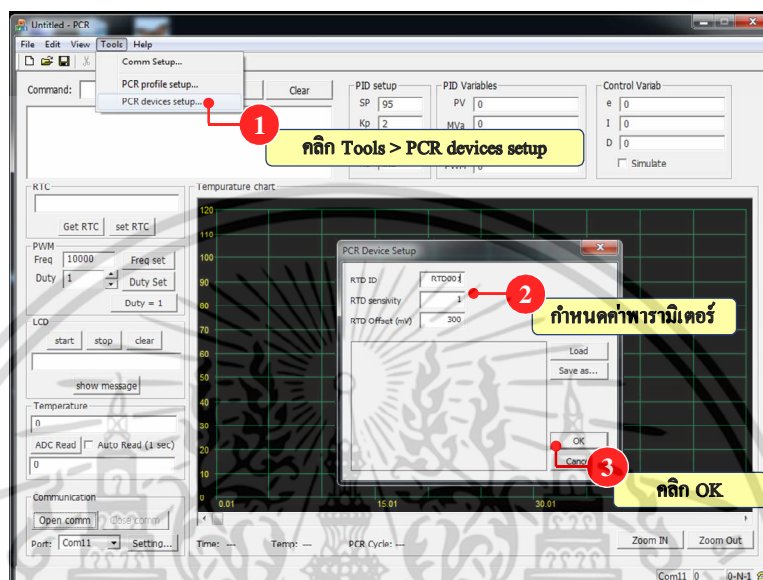
ในการทำพีซีอาร์นั้นจะอาศัยการเปลี่ยนช่วงของอุณหภูมิเพื่อทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ สำหรับโปรแกรมนี้ จะสามารถกำหนดค่าของอุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ ในแต่ละช่วงของการทำพีซีอาร์ได้ตามต้องการ เพียงแค่ทำการใส่ค่าที่ต้องการลงในโปรแกรม ซึ่งการกำหนดค่าของอุณหภูมิในแต่ละช่วงจะทำได้ดังต่อไปนี้



1. คลิก Tools > PCR profile setup จะปรากฏหน้าต่างสำหรับการใส่ค่าของอุณหภูมิและเวลาสำหรับการทำพีซีอาร์ ในแต่ละช่วง รวมถึงจำนวนรอบที่จะใช้สำหรับการทำพีซีอาร์
2. กำหนดค่าพารามิเตอร์ตามต้องการ โดยในขั้นตอนนี้ผู้ทดลอง สามารถที่จะบันทึกเงื่อนไขในการทำในแต่ละครั้งโดยทำการ คลิกที่ปุ่ม Save as... เพื่อบันทึกเงื่อนไขไว้ หรือผู้ใช้สามารถที่จะเรียกข้อมูลที่ใช้สำหรับการทำครั้งก่อน มาทำการทดลองอีกครั้ง โดยกดที่ปุ่ม Load... เมื่อทำการกำหนดค่าพารามิเตอร์เรียบร้อยแล้ว
3. คลิก OK เพื่อยืนยัน โปรแกรมก็จะจำเงื่อนไขไปตลอดจนกว่าจะมีการกำหนดเงื่อนไขใหม่

4.2 การกำหนดค่าพารามิเตอร์สำหรับตัวอุปกรณ์

สำหรับโปรแกรมนี้ได้สร้าง เพื่อให้การใช้งานสะดวกและง่ายต่อการนำไปใช้งานสำหรับผู้ทดลองเอง โดยโปรแกรมสามารถที่จะกำหนดพารามิเตอร์สำหรับอุปกรณ์นั้นๆ ได้ โดยที่ตัวโปรแกรมจะทำการคำนวณและปรับให้เหมาะสมกับอุปกรณ์นั้นๆ ซึ่งนับว่าเป็นข้อดีที่สามารถนำไปใช้กับอุปกรณ์ในเงื่อนไขต่างๆ ได้ โดยที่ไม่จำเพาะกับเฉพาะบางอุปกรณ์เท่านั้น โดยการกำหนดค่าจะทำได้ดังนี้



1. คลิก Tools > PCR devices setup... จะปรากฏหน้าต่างสำหรับการกำหนดค่าพารามิเตอร์ของอุปกรณ์ตรวจวัดอุณหภูมิ (RTD)
2. กำหนดค่าพารามิเตอร์ตามลักษณะของตัวตรวจวัดอุณหภูมิ เช่น RTD ID, RTD Sensitivity, RTD Offset และผู้ใช้สามารถที่จะบันทึกเงื่อนไขใหม่ หรือเรียกใช้เงื่อนไขเดิมมาใช้งาน เหมือนกับกรณีของการกำหนดอุณหภูมิ
3. คลิก OK เพื่อยืนยัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวอมรรัตน์ เล็กวิชัย
 ชื่อ (ภาษาอังกฤษ) Amornrat Lekwichai
 วันเดือนปีเกิด 13 มิถุนายน 2514 ที่กรุงเทพมหานคร
 ที่อยู่ 2/196 หมู่ที่ 8 ตำบลกระทุ่มล้ม อำเภอสสามพราน จังหวัดนครปฐม
 73220
 โทรศัพท์ 081-9212479

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี คณะเทคนิคการแพทย์ สาขา เทคนิคการแพทย์
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 ปริญญาโท คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ภาควิชานิติเวชศาสตร์
 สาขา นิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
 ปริญญาเอก วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สาขา
 นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
 ทหารลาดกระบัง

ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์

1. A. LEKWICHAJ, S. PORNTHEERAPHAT, W. BUNJONGPRU, W. SRIPUMKHAJ, J. SUPADECH, S.RAHONG, C.HRUANUN, A. POYAI, AND J. NUKEAW," A Disposable Polydimethylsiloxane Microdevice for DNA Amplification", Advanced Materials Research, Vols. 93-94, 2010, pp 105-108.
2. W. Sripumkhaj, A. Lekwichai, W. Bunjongpru, S. Porntheeraphat, B. Tunhoo, E. Ratahaudomphisut, T. Kamsri, C. Hruanun, A. Poyai AND J. Nukeaw, "On-Chip Platinum Micro-Heater with Platinum Temperature Sensor for A Fully Integrated Disposable PCR Module", Advanced Materials Research, Vols. 93-94, 2010, pp 129-132.

ผลงานที่ได้นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ

1. A. Lekwichai, S. Porntheeraphat, W. Bunjongpru, J. Supadech, K. Tantasariwong, W.Sripumkhaj, S. Rahong, and J. Nukeaw, "The Study of the Optimum Condition for PDMS Bonding with Several Substrates in Microfluidic Application"Proceeding of the 4th International Conference on Sensors, July, 29-31 2009, Bangkok, Thailand. (Poster presentation)
2. A. LEKWICHAJ, S. PORNTHEERAPHAT, W. BUNJONGPRU, W. SRIPUMKHAJ, J. SUPADECH, S.RAHONG, C.HRUANUN, A. POYAI, AND J. NUKEAW," A Disposable Polydimethylsiloxane Microdevice for DNA Amplification" International conference on FUSEM (2009), Bangkok, Thailand. (Poster presentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. **Amornrat Lekwichai**, Supanit Porntheerapat, Witsaroot Sripumkhai¹, Win Bunjongpru, Praphaphan Wipatawit, Sakon Rahong, Amporn Poyai, and Jiti Nukeaw, "Characterization of transparent heater provided for continuous flow PCR device," The 16th International Conference on Flow Injection Analysis, April, 25-30 2010, Pattaya, Thailand. (poster presentation)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้