

การประยุกต์ใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกในระบบของไหลจุลภาคกับการจัดการเซลล์เลือด



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต

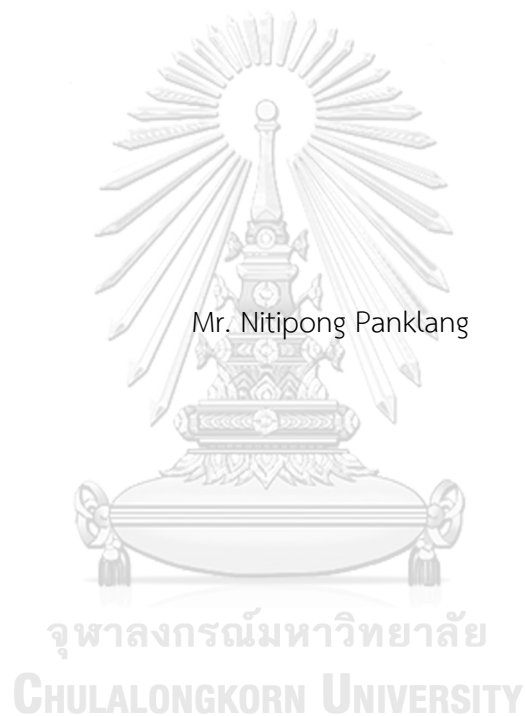
สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

APPLICATION OF DIELECTROPHORETIC FORCE IN MICROFLUIDIC SYSTEMS  
TO MANIPULATION OF BLOOD CELLS



A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Doctor of Philosophy in Electrical Engineering

Department of Electrical Engineering

FACULTY OF ENGINEERING

Chulalongkorn University

Academic Year 2020

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประยุกต์ใช้แรงไดอิเล็กโตรโพลติกในระบบของไหล จุลภาคกับการจัดการเซลล์เลือด
โดย	นายนิติพงศ์ ปานกลาง
สาขาวิชา	วิศวกรรมไฟฟ้า
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ ดร.บุญชัย เตชะอำนาจ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.อนุรัตน์ วิศิษฐ์สรอรรถ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงศ์ ตันชนุช)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ศาสตราจารย์ ดร.บุญชัย เตชะอำนาจ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ดร.อนุรัตน์ วิศิษฐ์สรอรรถ)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาภรณ์ ชีรมงคลรัมย์)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญณรงค์ บาลมงคล)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธิพรทิพย์)

นิติพงษ์ ปานกลาง : การประยุกต์ใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกในระบบของไหลจุลภาคกับการจัดการเซลล์เลือด. (

APPLICATION OF DIELECTROPHORETIC FORCE IN MICROFLUIDIC SYSTEMS TO MANIPULATION OF BLOOD CELLS) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ศ. ดร.บุญชัย เตชะ

อำนาจ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.อนูรัตน์ วิศิษฎ์สรอรรถ

การคัดแยกเซลล์หรืออนุภาคโดยใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกได้รับความนิยม เนื่องจากไม่จำเป็นต้องดัดแปลงเซลล์หรืออนุภาคเป้าหมาย. วิทยานิพนธ์นี้ ศึกษาการคัดแยกเซลล์และอนุภาคโดยใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกร่วมกับระบบของไหลจุลภาค. กระบวนการคัดแยกใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ซึ่งประกอบด้วยช่องทางไหลจุลภาคและอิเล็กโตรดแบบซีวี. การคัดแยกใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่ถูกควบคุมด้วยค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  ของแรงดันอิเล็กโตรด. การทดลองคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนจากเซลล์เม็ดเลือดแดงแสดงว่า การใช้ค่าวัฏจักรหน้าที่ทำให้เราสามารถควบคุมการกระจายตัวและการเบี่ยงเบนของเซลล์ได้. นอกจากนี้ เรายังสามารถป้องกันการสะสมของเซลล์บริเวณอิเล็กโตรดและป้องกันการอุดตันของช่องทางไหลจุลภาค. การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนจากเซลล์เลือดมีประสิทธิภาพมากกว่า 80% ที่อัตราส่วนจำนวนอนุภาคต่อจำนวนเซลล์เท่ากับ 1:2,000 และเซลล์เลือดมีความหนาแน่น  $2 \times 10^6$  cells/ $\mu$ l. การเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีนที่ช่องทางออกมีค่าสูงสุด 238 เท่า เมื่อใช้  $D_T$  เท่ากับ 0.75. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคยังถูกใช้คัดแยกเซลล์ติดเชื้อมาลาเรีย Plasmodium Falciparum จากเซลล์เลือดปกติกับตัวอย่างที่มีความหนาแน่นเซลล์เลือดสูง  $1 \times 10^6$  cells/ $\mu$ l. การทดลองแสดงว่า การเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดติดเชื้อมีค่าสูงสุด 4,739 เท่า เมื่อใช้แรงดัน  $7 V_p$ , ความถี่ 500 kHz,  $D_T$  เท่ากับ 0.85 และอัตราส่วนจำนวนของเซลล์ติดเชื้อต่อเซลล์ปกติเท่ากับ 1:1 $\times 10^6$ .

สาขาวิชา วิศวกรรมไฟฟ้า

ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนิติต .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 5871438021 : MAJOR ELECTRICAL ENGINEERING

KEYWORD: Dielectrophoresis, Electrorotation, Malaria, Microfluidic

Nitipong Panklang :

APPLICATION OF DIELECTROPHORETIC FORCE IN MICROFLUIDIC SYSTEMS

TO MANIPULATION OF BLOOD CELLS. Advisor: Prof. Boonchai Techaumnat,  
Ph.D. Co-advisor: Anurat Wisitsoraat, Ph.D.

Cell or particle separation by dielectrophoretic force is of interest because the modification of target cells or particles is unnecessary. This thesis studied the separation of cells and particles by using dielectrophoretic force and a microfluidic system. The separation process utilized a simple microfluidic device that is composed of microchannel and interdigitated electrodes. The separation used the dielectrophoretic force, which was controlled by duty cycle  $D_T$  of the electrode voltage. The experiment separating polystyrene particles from red blood cells showed that the use of duty cycle enabled us to control the dispersion and the deflection of cells. Moreover, we were able to prevent the cell accumulation at electrodes and microchannel clogging. The efficiency of particle separation was higher than 80% for particle-to-cell number ratio equal to 1:2,000 and red blood cell concentration of  $2 \times 10^6$  cells/ $\mu\text{l}$ . The maximum enrichment of polystyrene particles at the outlet was 238 times where  $D_T$  was 0.75. The microfluidic device was also used to separate Plasmodium Falciparum infected cells from normal red blood cells with high sample concentration of  $1 \times 10^6$  cells/ $\mu\text{l}$ . The experiment showed that the maximum enrichment of the infected cells was 4,739 times where the applied voltage was  $7 V_p$ , frequency was 500 kHz,  $D_T$  was 0.85 and the number ratio of the infected cells to the normal cells was  $1:1 \times 10^6$ .

Field of Study: Electrical Engineering

Student's Signature .....

Academic Year: 2020

Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ภายใต้แผนงานเสริมสร้างศักยภาพและพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ ตามทิศทางการยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม (ประเภทบัณฑิตศึกษา) ประจำปี 2562 และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปีงบประมาณ 2561. ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาตรวจสอบและแก้ไข ตลอดจนให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์, รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธิพรทิพย์ และ นางสาวอรรุสยา พัฒนวงศ์ จากภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการเตรียมเซลล์เลือด, ศาสตราจารย์ ดร.เกศินี โชติวานิช และ นางสาวนัฐพร เป็ยรักษา จาก Cell and Tissue Culture Resources Unit (CTCRU) คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับการเตรียมเซลล์เพาะเชื้อมาลาเรีย, นางธิติมา มธูรส แดเนี่ยลส์ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC) สำหรับการจัดทำอิเล็กทรอนิกส์ และ บริษัทโซวา เดนโกะ แมททีเรียลส์ (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์มอบฟิล์มไวแสง.

นิติพงศ์ ปานกลาง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....ค	
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ง	
กิตติกรรมประกาศ.....จ	
สารบัญ.....ฉ	
บทที่ 1 บทนำ..... 1	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา..... 1	
1.2 ทบทวนวรรณกรรม..... 2	
1.3 วัตถุประสงค์..... 21	
1.4 ขอบเขตการดำเนินงาน..... 21	
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 22	
บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง..... 23	
2.1 แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติก (Dielectrophoretic Force)..... 23	
2.2 อิเล็กโตรโรเตชัน (Electrorotation)..... 27	
2.3 ตัวประกอบคอลลูเซียม-มอสซอตติ (Clausius-Mossotti Factor)..... 29	
บทที่ 3 อุปกรณ์การทดลอง..... 34	
3.1 อนุภาคฉนวนและเซลล์เลือด..... 34	
3.2 อุปกรณ์ของไหลจุลภาค..... 36	
3.3 อุปกรณ์สร้างแรงดันไฟฟ้า..... 44	
3.4 การควบคุมการไหลของสารละลายภายในช่องทางไหลจุลภาค..... 50	
3.5 การสังเกตการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือดและอนุภาค..... 50	
บทที่ 4 การทดลอง..... 53	

4.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์.....	53
4.2 การทดลองหาความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือด.....	54
4.3 การทดลองคัดแยกอนุภาคและเซลล์เลือด .....	56
4.4 การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเตชัน .....	59
4.5 การทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ.....	63
บทที่ 5 ผลการศึกษาและอภิปรายผล .....	67
5.1 การคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก .....	67
5.2 การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ไฟฟ้าของเซลล์เลือดภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก.....	74
5.3 การศึกษาไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเตชันของเซลล์เลือด.....	81
5.4 การคัดแยกอนุภาคจากเซลล์เลือด .....	87
5.5 การแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์ปกติ.....	98
5.6 การเพิ่มปริมาณงานคัดแยกด้วยอุปกรณ์แบบขนาน.....	102
บทที่ 6 สรุป.....	105
6.1 แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์และอนุภาค .....	105
6.2 การเคลื่อนที่ของเซลล์ภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก .....	105
6.3 ไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเตชันของเซลล์เลือด.....	106
6.4 การแยกคัดแยกอนุภาคพอลิไสไตรีนจากเซลล์เลือด.....	106
6.5 การคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ .....	108
ภาคผนวก .....	109
ภาคผนวก ก ฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดัน .....	110
ภาคผนวก ข การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคสำหรับการทดลอง .....	111
ภาคผนวก ค การเตรียมระบบของไหลจุลภาคเพื่อทำการทดลอง.....	119
ภาคผนวก ง การย้อมเซลล์ด้วยสี Giemsa และการนับจำนวนเซลล์.....	120
ภาคผนวก จ การหารัศมีของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยการประมาณค่า .....	122



ภาคผนวก ฉ การปรับกล้องจุลทรรศน์เพื่อบันทึกภาพอนุภาคพอลิสไตรีนย้อมฟลูออเรสเซนต์ .	123
ภาคผนวก ช ผลการนับจำนวนอนุภาคและเซลล์เลือด .....	125
บรรณานุกรม .....	130
ประวัติผู้เขียน .....	136



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

การคัดแยกเซลล์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการมีความจำเป็นอย่างมากต่อการวินิจฉัยทางการแพทย์ เช่น การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด, การตรวจหาเชื้อมาลาเรียหรือเซลล์มะเร็งในเลือด เป็นต้น. ปัจจุบันวิธีการคัดแยกเซลล์ที่นิยมใช้ ได้แก่ การปั่นเหวี่ยงเซลล์โดยอาศัยความแตกต่างของความหนาแน่น (Density Gradient Based Centrifugation), การกรองด้วยเมมเบรน (Membrane Filtration), การใช้แสงเลเซอร์จับเซลล์ (Laser Tweezers), การกระตุ้นด้วยแสงฟลูออเรสเซนซ์และสนามแม่เหล็ก. ทั้งนี้ แต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น ในบางวิธีจำเป็นต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญสูงหรือต้องใช้เครื่องมือที่มีความซับซ้อน เป็นต้น. การคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก (Dielectrophoretic Force) เป็นเทคนิคหนึ่งที่กำลังมีนักวิจัยเริ่มนำมาใช้เพิ่มมากขึ้น [1, 2] ซึ่งเป็นวิธีการที่อาศัยสนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอทำให้เกิดโพลาริเซชัน (Polarization) ของเซลล์และทำให้เซลล์เคลื่อนที่เข้าหาหรือออกจากจุดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูง. การคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกมักใช้ร่วมกับอุปกรณ์ของไหลจุลภาค (Microfluidic Devices). ปัญหาอย่างหนึ่งที่ทำนายต่อการคัดแยกเซลล์เลือด ได้แก่ กรณีที่จำนวนเซลล์เป้าหมายในตัวอย่างเลือดมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับเซลล์พื้นหลัง ซึ่งทำให้การคัดแยกเซลล์ทำได้ยากขึ้น.

วิทยานิพนธ์นี้ ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการคัดแยกเซลล์เลือดด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก โดยมุ่งเน้นการคัดแยกเซลล์เป้าหมายที่มีปริมาณน้อยในตัวอย่างเลือด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย. การตรวจหาเซลล์เลือดที่ติดเชื้อมาลาเรียโดยทั่วไปใช้วิธีการส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic) ซึ่งต้องใช้ความชำนาญของผู้ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างมาก และอาจไม่พบเซลล์ที่ติดเชื้อหากมีปริมาณเซลล์น้อย. วิธีการคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกสามารถปรับระดับความไวในการคัดแยกเซลล์เป้าหมายได้ และสามารถนำเซลล์ที่คัดแยกไปใช้ในการดำเนินการต่อไปได้ เช่น การพัฒนาการของเซลล์หรือการตรวจสอบปฏิกิริยาต่อยา. การดำเนินการวิจัยได้พัฒนาระบบการคัดแยกเซลล์ติดเชื้อมาลาเรียกับตัวอย่างเลือดที่มีความหนาแน่นเซลล์สูง. การคัดแยกเซลล์ที่นำเสนอเป็นกระบวนการต่อเนื่องและทำให้เซลล์ติดเชื้อมาลาเรียในตัวอย่างหลังผ่านการคัดแยกมีการเพิ่มปริมาณ (Enrichment) สูงขึ้น. วิทยานิพนธ์นี้ ยังนำเสนอกระบวนการทดลองเพื่อหาคุณสมบัติทางไฟฟ้าภายในเซลล์เลือด ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่ส่งผลต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์. การทดลองดังกล่าว สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อหาคุณสมบัติ

ภายในเซลล์ชนิดอื่นได้. ทั้งนี้ ระบบการคัดแยกเซลล์ที่พัฒนาขึ้น สามารถขยายไปสู่การใช้งานทางของไหลแบบจุลภาคด้านอื่นๆ ซึ่งไม่จำกัดเฉพาะการคัดแยกเซลล์ติดเชื่อมมาลาเรียในวิทยานิพนธ์นี้.

## 1.2 ทบทวนวรรณกรรม

การคัดแยกเซลล์โดยใช้ระบบของไหลจุลภาคด้วยเทคนิคต่างๆ เป็นหัวข้อที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยจำนวนมาก อาทิเช่น การใช้แรงจากสนามแม่เหล็ก การใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก การใช้รูปทรงฉนวนเป็นตัวกลางสร้างความไม่สม่ำเสมอของสนามไฟฟ้า เป็นต้น. ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่งสรุปรายละเอียดได้ดังนี้.

H. Shafiee, J.L. Caldwell, M.B. Sano and R.V. Davlos [3] นำเสนอวิธีการออกแบบใหม่สำหรับอุปกรณ์ของไหลจุลภาค เพื่อการคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก โดยใช้อิเล็กโตรดและช่องทางไหล (Channel) ถูกคั่นด้วยผนังฉนวนโพลีไดเมทิลซิลอกเซน (Polydimethylsiloxane, PDMS). ผนังฉนวนดังกล่าว ป้องกันไม่ให้อิเล็กโตรดสัมผัสกับเซลล์และสารละลายบัฟเฟอร์. การคำนวณสนามไฟฟ้าภายในช่องทางไหลด้วยโปรแกรม COMSOL<sup>®</sup> แสดงให้เห็นว่าบริเวณมุมของอิเล็กโตรดที่ติดกับช่องทางไหลมีเกรเดียนต์สนามไฟฟ้าสูงที่สุด. แรงดันตกคร่อมผนังฉนวน PDMS มีค่าเท่ากับ  $250 V_{RMS}$  เมื่อแรงดันที่อิเล็กโตรดมีค่าเท่ากับ  $500 V_{RMS}$ . แรงดันตกคร่อมดังกล่าว ไม่ทำให้เกิดการเบรกดาว์ของผนังฉนวน PDMS. ความเข้มสนามไฟฟ้าภายในช่องทางไหลมีค่าไม่เกิน  $200 V/cm$  เมื่อแรงดันที่อิเล็กโตรดเท่ากับ  $250 V_{RMS}$  ความถี่  $85 kHz$ .

สำหรับการทดลองคัดแยกเซลล์ เซลล์ที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย THP-1 Human Leukemia Monocyte, MCF-7 Breast Cancer Cell และ MCF-10A Breast Cancer Cell. เซลล์ถูกแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์มีสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ  $0.01 S/m$ . การทดลองพบว่า เซลล์ THP-1 และ MCF-7 ถูกดักจับด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกชั่วคราว เมื่อจ่ายแรงดันให้กับอิเล็กโตรด  $250 V_{RMS}$ , ความถี่  $85 kHz$ . ส่วนเซลล์ MCF-10A ไม่ถูกดักจับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์ MCF-10A แตกต่างจากเซลล์ THP-1 และ MCF-7. เซลล์ที่ได้รับแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกในทิศทางเดียวกับการไหลของสารละลายจะเคลื่อนที่เร็วขึ้น. ในทางกลับกัน ความเร็วของการเคลื่อนที่ของเซลล์ลดลง เมื่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกมีทิศทางกลับกับแรงที่เกิดจากการไหลของสารละลาย. การทดลองยังพบการหมุนตัวของเซลล์ภายในช่องทางไหล. ความเร็วในการหมุนเป็นฟังก์ชันของคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์, ค่าคงตัวไดอิเล็กตริกของสารละลาย, ความหนืดของสารละลาย และความเข้มสนามไฟฟ้า. เซลล์ MCF-7 มีความเร็วในการหมุนมากกว่าเซลล์ THP-1 ประมาณ 2.4 เท่า. ส่วนเซลล์ MCF-10A ไม่เกิดการหมุน. นอกจากนั้น เซลล์ THP-1 และ MCF-7 เกิดการเรียงตัวเป็นสายโซ่ในแนวสนามไฟฟ้าที่แรงดัน  $250 V_{RMS}$  ความถี่  $85 kHz$ . การเรียงตัวเป็นสายโซ่ของเซลล์เป็นผลมาจากแรงยึดเหนี่ยวระหว่างไดโพลบนเซลล์และการกระจายตัวของสนามไฟฟ้า.

C. Derec, C. Wilhelm, J. Servais and J.C. Bacri [4] นำเสนอการออกแบบระบบของไหลจุลภาคแบบใหม่ โดยวงจรไฟฟ้าที่ใช้กำเนิดสนามแม่เหล็กถูกรวมเข้ากับช่องทางไหลบนแผ่นทองแดงที่ฉาบอยู่บนแผ่นกระจกอีพ็อกซี (Epoxy Glass). การสร้างใช้กระบวนการกัดลาย (Etching) เช่นเดียวกับวิธีการทำแผ่นวงจรสำหรับอุปกรณ์ไมโครอิเล็กทรอนิกส์. การทดลองใช้เม็ดอนุภาค (Beads) ที่มีส่วนผสมของโลหะ 10% โดยน้ำหนัก และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5  $\mu\text{m}$ . จากการทดลองพบว่า เม็ดอนุภาคมีการเบี่ยงเบนทิศทางการเคลื่อนที่ เมื่อเคลื่อนตัวผ่านช่องทางไหลในส่วนที่มีสนามแม่เหล็กไฟฟ้า.

ในการทดลองแยกเซลล์ชีวภาพ คณะผู้วิจัยใช้เซลล์มะเร็งที่แตกต่างกันสองชนิดในอัตราส่วน 55:45%. เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เซลล์มะเร็งปอดที่ย้อมสีเรืองแสง และเซลล์มะเร็งที่ผ่านการจับคู่ (Conjugate) กับอนุภาคแม่เหล็ก. การทดลอง พบว่า เซลล์มะเร็งที่จับคู่กับอนุภาคแม่เหล็กตอบสนองต่อแรงแม่เหล็กไฟฟ้าและถูกแยกทิศทางการไหลออกจากเซลล์ปกติ. เมื่อนับจำนวนเซลล์หลังจากการทดลอง พบว่า เซลล์มะเร็งปกติมีเซลล์มะเร็งที่จับคู่กับอนุภาคแม่เหล็กปะปนอยู่ในปริมาณน้อยกว่า 7%. อย่างไรก็ตาม วิธีการดังกล่าวมีข้อจำกัดตรงที่เซลล์ชีวภาพต้องผ่านการจับคู่กับอนุภาคแม่เหล็กก่อนการแยกเซลล์. นอกจากนี้ เซลล์ที่จับคู่กับอนุภาคแม่เหล็กยังถูกแรงแม่เหล็กดูดติดกับตัวนำทองแดงบริเวณช่องทางไหล.

J. Nam, H. Huang, H. Lim, C. Lim and S. Shin [5] นำเสนอการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium Falciparum* ในระยะวงแหวน (Ring Stage), Schizonts และ Trophozoites. การแยกเซลล์เม็ดเลือดใช้แรงแม่เหล็กจากแม่เหล็กถาวรร่วมกับอุปกรณ์ของไหลจุลภาค และใช้สายตัวนำที่ทำจากนิกเกิลเป็นตัวทำให้สนามแม่เหล็กเกิดความไม่สม่ำเสมอภายในช่องทางไหล. การแยกเซลล์เป็นกระบวนการต่อเนื่อง โดยใช้สนามแม่เหล็กเบี่ยงเบนทิศทางการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียออกจากเซลล์เม็ดเลือดปกติ. จากผลการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย เมื่ออัตราการไหลเท่ากับ 1.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . ประสิทธิภาพการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อในระยะ Schizonts และ Trophozoites เท่ากับ 99.2% ส่วนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อในระยะวงแหวนมีประสิทธิภาพการแยกเซลล์เท่ากับ 73%. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคมีอัตราการแยกเซลล์เลือดเท่ากับ  $1.4 \times 10^3$  Cells/s โดยตัวอย่างเซลล์มีความหนาแน่นของเซลล์เลือด  $6 \times 10^5$  Cells/ $\mu\text{l}$  และอัตราการไหลเท่ากับ 0.14  $\mu\text{l}/\text{min}$ . อัตราการไหลดังกล่าว ประสิทธิภาพการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียทั้งสองระยะมีค่าเท่ากับ 99.9%. อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการทดลองไม่ได้ระบุเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อและปริมาณเซลล์ติดเชื้อต่อปริมาตร.

Z. Wu, Y. Chen, M. Wang and A.J. Chung [6] นำเสนอการแยกอนุภาคขนาด 5.5  $\mu\text{m}$  กับ 9.9  $\mu\text{m}$  และการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาวด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาค. วิธีคัดแยกอาศัยความแตกต่างของความเฉื่อยในการเคลื่อนที่ของเซลล์หรืออนุภาค. การคำนวณด้วยวิธี

เชิงตัวเลขแสดงให้เห็นถึงผลของแรงเฉื่อยที่กระทำต่ออนุภาคขนาดเล็ก ทำให้อนุภาคขนาดเล็กแยกทิศทางการไหลออกจากอนุภาคขนาดใหญ่. จากการคำนวณด้วยวิธีไฟไนต์เอลิเมนต์ด้วยแบบจำลอง 3 มิติบนโปรแกรม COMSOL<sup>®</sup> พบว่า อนุภาคขนาด  $9.9 \mu\text{m}$  จะถูกเปลี่ยนทิศทางการไหลให้เข้าสู่แนวกึ่งกลางของช่องทางไหล. อนุภาคขนาด  $5.5 \mu\text{m}$  จะถูกเบี่ยงเบนทิศทางการไหลเข้าสู่บริเวณผนังทั้งสองข้างของช่องทางไหล.

การทดลองแยกอนุภาคขนาด  $9.9 \mu\text{m}$  จากอนุภาคขนาด  $5.5 \mu\text{m}$  พบว่า ที่อัตราการไหล  $150 \mu\text{L}/\text{min}$  ประสิทธิภาพของคัดแยกอนุภาคเท่ากับ 98.3% และอนุภาคที่ผ่านการแยกมีความบริสุทธิ์ 92.3%. การแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเซลล์เม็ดเลือดแดง พบว่า เม็ดเลือดขาวที่ผ่านการแยกมีความบริสุทธิ์ 91.0% และการแยกเซลล์มีประสิทธิภาพ 89.7% ที่อัตราการไหล  $150 \mu\text{L}/\text{min}$  และตัวอย่างเลือดมีความเข้มข้น 0.25%. เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างเลือดเป็น 0.5% ความบริสุทธิ์ของเม็ดเลือดขาวลดลงเหลือ 84.3% และการแยกเซลล์มีประสิทธิภาพ 77.9% ที่อัตราการไหลเท่ากับ  $100 \mu\text{L}/\text{min}$ . ประสิทธิภาพของการคัดแยกเซลล์ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างเลือด. นอกจากนั้น การทดลองยังพบการรั่วซึมของช่องทางไหล เนื่องจาก PDMS หลุดจากฐานกระจก.

P. Gascoyne, J. Noshari, T. J. Anderson and F. Becker [7] นำเสนอการประยุกต์ใช้วิธี Dielectrophoretic field-flow fractionation (dep-FFF) กับการคัดแยกเซลล์มะเร็งในกระแสเลือด (Circulating tumor cell, CTCs). วิธี dep-FFF ใช้การคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกพร้อมกับแรงการไหลของสารละลายที่มีลักษณะการกระจายแบบพาราโบลาตามแนวตั้งภายในช่องทางไหล. แรงลัพธ์จากผลรวมของแรงทั้งสองทำให้เซลล์ที่มีคุณสมบัติทางไดอิเล็กโตรโฟรีติกต่างกันเกิดการยกตัวและแยกแนวการไหลออกจากกัน. คณะผู้วิจัยได้ปรับปรุงกระบวนการคัดแยกเซลล์ให้สามารถคัดแยกเซลล์มะเร็งได้มากขึ้นด้วยชุดอิเล็กโตรดจำนวน 3,000 อิเล็กโตรด และช่องทางไหลที่มีความกว้าง 25 mm ยาว 300 mm ลึก 0.6 mm. ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการทดลองเป็นเม็ดเลือดแดงปกติผสมกับเซลล์มะเร็งจากการเพาะเลี้ยง ได้แก่ เซลล์มะเร็ง MDA-435, MDA-468 และ MDA-231.

ในกระบวนการคัดแยกเซลล์ แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กโตรดแบ่งออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงแรกเป็นช่วงที่ทำการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจากเซลล์มะเร็ง โดยความถี่ของแรงดันไฟฟ้าจะเท่ากับ 60 kHz และอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ  $1.5 \text{ mL}/\text{min}$ . ช่วงเวลาดังกล่าวเซลล์มะเร็งถูกดึงเข้าหาอิเล็กโตรดด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบขับเคลื่อน. เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติถูกผลักให้ลอยตัวขึ้นภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบขับเคลื่อนและแรงยกจากการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์. จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออกมีปริมาณมากกว่าเซลล์มะเร็ง. ช่วงที่ 2 เป็นการล้างเซลล์มะเร็งที่ถูกแยกและติดค้างอยู่ภายในแชมเบอร์. ในช่วงเวลานี้ แรงดันไฟฟ้าจะมีความถี่เท่ากับ 15 kHz. เซลล์มะเร็งถูกผลักออกจากอิเล็กโตรดด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบขับเคลื่อน. ด้วย

เหตุนี้ จำนวนเซลล์มะเร็ง ณ ช่องทางออกของแชมเบอร์จะมากกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดง. การคัดแยกเซลล์มะเร็งเมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเข้มข้น  $0.2 \times 10^6$  Cells/ml โดยการป้อนตัวอย่างเซลล์เข้าแชมเบอร์ในปริมาณ 10% ของปริมาตรแชมเบอร์หรือเท่ากับ 0.5 ml พบว่า สามารถแยกเซลล์มะเร็งออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงได้ 92%. การเพิ่มปริมาตรตัวอย่างเซลล์ที่ป้อนเข้าแชมเบอร์เป็น 50% และ 90% ของปริมาตรแชมเบอร์ทำให้เปอร์เซ็นต์การแยกเซลล์มะเร็งออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงจะลดลงเหลือ 70% และ 40% ตามลำดับ.

การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็ง MDA-468 และ MDA-231 ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็ง MDA-435 ทั้งนี้ เนื่องจากเซลล์มะเร็ง MDA-468 และ MDA-231 มีคุณสมบัติทางไดอิเล็กตริกและขนาดไม่แตกต่างจากเซลล์มะเร็ง MDA-435. เซลล์มะเร็งที่ผ่านการคัดแยกสามารถนำไปเพาะเลี้ยงต่อได้มากถึง 90% และมากกว่า 70% ของเซลล์ดังกล่าวมีการเจริญเติบโตหลังการเพาะ. ปัจจัยที่มีต่อประสิทธิภาพของการคัดแยกเซลล์ ได้แก่ เวลาที่ใช้ในการคัดแยก, อัตราการไหลของสารละลาย และความหนาแน่นของเซลล์. ทั้งนี้ การคัดแยกเซลล์ด้วยวิธี dep-FFF ที่นำเสนอมีข้อจำกัด คือ การคัดแยกเซลล์ไม่ใช่กระบวนการต่อเนื่อง ซึ่งปริมาณเซลล์ที่ทำการคัดแยกสามารถทำได้จำกัด, ขั้นตอนการคัดแยกเซลล์มีความซับซ้อน, กระแสไฟฟ้าจากการจ่ายแรงดันไฟฟ้าให้กับอิเล็กโตรดมีค่าสูงถึง 2.8 A ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มอุณหภูมิภายในแชมเบอร์ของอุปกรณ์ของไหลจุลภาค. นอกจากนี้ ปริมาณเม็ดเลือดแดงในตัวอย่างเลือดที่ป้อนเข้าแชมเบอร์ส่งผลต่อการคัดแยกเซลล์มะเร็งทำให้การคัดแยกเซลล์มะเร็งในทางปฏิบัติทำได้ไม่สะดวก อันเนื่องมาจากการควบคุมความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดง.

Q. Guo และคณะ [8] นำเสนอการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย Plasmodium Falciparum โดยอาศัยคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของเม็ดเลือดแดงเมื่อได้รับแรงกระทำจากภายนอก. เชื้อ Plasmodium Falciparum ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแข็งตัวและการยืดหยุ่นตัวของเซลล์เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ติดเชื้อและปริมาณของเชื้อปรสิต. การคัดแยกเซลล์ใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ภายในประกอบด้วยตัวกรองขนาดไมโครเมตรทำหน้าที่กรองเซลล์เม็ดเลือดแดงเป้าหมายที่ต้องการ. จากการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย Plasmodium Falciparum ระยะเวลาต่างๆ พบว่า อุปกรณ์ของไหลจุลภาคสามารถแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ผ่านการเพาะเชื้อมาลาเรีย 4 ถึง 44 ชั่วโมง ออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไม่ติดเชื้อมาลาเรียได้.

การทดลองคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียในระยะวงแหวนผสมกับเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติในอัตราการติดเชื้อที่ 0.04% จนถึง 0.0004% พบว่า สามารถเพิ่มอัตราการติดเชื้อขึ้นเป็น 100 เท่าจนถึง 2500 เท่าจากอัตราการติดเชื้อเริ่มต้น. นอกจากนี้ ในขณะที่ทำการทดลองคัดแยกเซลล์ไม่พบการอุดตันของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่โครงสร้างตัวกรองขนาดไมโครเมตรภายในอุปกรณ์. จากงานวิจัยนี้ ข้อดีของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้คัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ

มาลาเรีย คือ สามารถแยกเซลล์ที่ติดเชื้อในระยะต่างๆ ได้. การคัดแยกใช้คุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงรูปทรงหรือความยืดหยุ่นของเซลล์เป็นเกณฑ์ตามระยะที่ติดเชื้อ โดยไม่จำเป็นต้องใช้สนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้า. แต่ทั้งนี้ ยังมีข้อจำกัดบางประการ เช่น อุปกรณ์ของไหลจุลภาคมีรูปร่างและขั้นตอนในการสร้างที่ซับซ้อน และในการคัดแยกเซลล์จำเป็นต้องจ่ายสารละลายเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาคถึง 3 ช่องทาง ซึ่งต้องมีการปรับความเร็วให้สอดคล้องกัน และอาจเป็นสาเหตุของการรั่วไหลของสารละลายได้. นอกจากนี้ การคัดแยกเซลล์อาศัยแรงดันที่เกิดจากการไหลของสารละลายภายในช่องทางไหลของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคซึ่งยากต่อการกำหนดแรงดันที่เหมาะสมกับเซลล์เป้าหมายที่ต้องการคัดแยก.

C. Liu, L. Lagae, R. Wirix-Speetjens and G. Borghs [9] นำเสนอผลการศึกษาการแยกอนุภาคแม่เหล็กด้วยหลักการแมกเนโตโฟเรซิส (Magnetophoresis) โดยใช้สนามแม่เหล็กกระแสสลับ (Alternating Traveling Magnetic Field) บนอุปกรณ์แล็บบนชิพ (Lab-on-a-chip, LOC). การสร้างสนามแม่เหล็กเดินทางใช้ตัวนำไฟฟ้า 4 ชุดที่เป็นอิเล็กทรอนิกส์ตรงแหวนอยู่บนชิพที่สร้างบนแผ่นซิลิคอน. ความเร็วการเคลื่อนที่ของอนุภาคแม่เหล็กขึ้นอยู่กับความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์. อนุภาคที่มีคุณสมบัติทางแม่เหล็กที่แตกต่างกันจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วไม่เท่ากัน และมีค่าความถี่ตัด (Cutting Frequency) ต่างกัน.

การทดสอบการแยกอนุภาคของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่สร้างขึ้นใช้อนุภาคแม่เหล็ก 2 ชนิด ได้แก่ Dynabeads (Thermo Fisher Scientific) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง  $4.5 \mu\text{m}$  และ Micromer (Micromod Partikeltechnologie GmbH) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง  $2 \mu\text{m}$ . อนุภาค Dynabeads ถูกปรับปรุงคุณสมบัติด้วยแอนติบอดี CD45 และมีค่า Volume Magnetic Susceptibility ที่ความหนาแน่นฟลักซ์แม่เหล็ก  $1 \text{ mT}$  เท่ากับ  $0.106$ . ส่วนอนุภาค Micromer ถูกปรับปรุงคุณสมบัติด้วยสารสเตรปตาวิดิน (Streptavidin) และมีค่า Volume Magnetic Susceptibility เท่ากับ  $0.3$  ที่ความหนาแน่นฟลักซ์แม่เหล็ก  $1 \text{ mT}$ . จากการทดลอง พบว่า อนุภาค Dynabeads มีการเคลื่อนตัวภายใต้แรงแมกเนโตโฟเรติกได้ดีกว่าอนุภาค Micromer. ณ ความถี่ต่ำ อนุภาคแม่เหล็กทั้งสองเคลื่อนที่ด้วยความเร็วเท่ากัน. เมื่อความถี่เพิ่มขึ้นเป็น  $0.2 \text{ Hz}$  อนุภาค Micromer เคลื่อนตัวช้าลง. อนุภาค Dynabeads มีความเร็วในการเคลื่อนที่อยู่ระหว่าง  $3.5 \mu\text{m/s}$  จนถึง  $11.2 \mu\text{m/s}$  และความถี่ตัดอยู่ในช่วงค่าความถี่  $0.2 \text{ Hz}$  ถึง  $0.4 \text{ Hz}$ . ประสิทธิภาพของการแยกอนุภาคแม่เหล็กทั้งสองมีค่าเท่ากับ  $100\%$ . จากงานวิจัยนี้ พบว่า คณะผู้วิจัยสามารถใช้แรงแม่เหล็กไฟฟ้าแยกอนุภาคที่มีคุณสมบัติทางแม่เหล็กแตกต่างกันได้. แต่ทั้งนี้ ยังพบข้อจำกัดในการสร้างอิเล็กทรอนิกส์ตรงแหวนที่มีขั้นตอนซับซ้อนต้องอาศัยทั้งกระบวนการโฟโตลิโทกราฟี, การกัดกรดและการสปีดเตอร์ ซึ่งอาจเกิดข้อผิดพลาดขึ้นกับชิ้นงานจากกระบวนการสร้างในแต่ละขั้นตอนได้. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทดลองมีความเป็น

กรด-ต่างสูงจึงไม่เหมาะต่อการแยกเซลล์สิ่งมีชีวิตเพราะทำให้เซลล์ถูกทำลายและไม่สามารถนำเซลล์ไปใช้ประโยชน์ได้.

สำหรับงานวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์สิ่งมีชีวิตและอนุภาคขนาดเล็ก. ผู้เขียนได้สรุปรายละเอียดโดยสังเขปและแสดงไว้ในตารางที่ 1.1.





ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค.

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทำงาน	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
F.F. Baker [10]	1994	เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว	เซลล์เลือด	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 0.7 mM สภาพนำไฟฟ้า 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ออกจากเซลล์เลือดด้วยการดักจับเซลล์มะเร็งโดยใช้แรง pDEP และ อิเล็กโตรเรซิส</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 5 <math>V_{pp}</math> ความถี่ 80 kHz</li> <li>อัตราการไหล 5 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว</li> </ul>
F.F. Becker [11]	1995	เซลล์มะเร็งเต้านม MDA-231.	เซลล์เม็ดเลือดแดง	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย Sucrose 8.5% และ Glucose 0.3% โดยน้ำหนัก สภาพนำไฟฟ้า 56 $\text{mS}/\text{m}$ และ 10 $\text{S}/\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองอิเลกโตรเรซิสของเซลล์ MDA-231 ช่วงความถี่ 10 kHz – 100-MHz</li> <li>การทดลองคัดแยกเซลล์ MDA-231 และเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยใช้แรง pDEP จับเซลล์มะเร็ง</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเลกโตรเรซิสที่หลอดกับ เซลล์จำนวน 20 เซลล์</li> <li>แรงดันไฟฟ้าที่ใช้ทดลองจับ เซลล์มะเร็ง <math>V_{ac} = 5 V_{pp}</math> ความถี่ 200 kHz</li> </ul>
X.B. Wang [12]	2000	เซลล์มะเร็งเต้านม MDA-435	เซลล์เม็ดเลือดขาว T-Lymphocyte	Dielectrophoretic field-flow fractionation (dep-FFF)	สารละลาย Sucrose 8.5% และ Glucose 0.3% โดยน้ำหนัก สภาพนำไฟฟ้า 10 $\text{mS}/\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองเป็นการแยกเซลล์ MDA-435 จากเซลล์ T-Lymphocyte ด้วยแรง nDEP</li> <li>อัตราการคัดแยกเซลล์ MDA-435 จากเซลล์ T-Lymphocyte สูงสุด 99.2% ที่แรงดัน 4 <math>V_{pp}</math> ความถี่ 40 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการแบบไม่ต่อเนื่องและมีขั้นตอนซับซ้อน</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
H. Li [13]	2002	เซลล์แบคทีเรีย <i>Listeria innocua</i> (เซลล์เป็น)	เซลล์แบคทีเรีย <i>Listeria innocua</i> (เซลล์ตาย)	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลายบัฟเฟอร์ Tris Glycine สภาวะ นำไฟฟ้า 3.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์เป็นจากเซลล์ตาย ด้วยแรง pDEP</li> <li>อิเล็กโตรฟอเรซิสมีระยะแยก 15 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>แรงดันไฟฟ้า 1 V, ความถี่ 50 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์มีประสิทธิภาพประมาณ 90%</li> <li>การคัดแยกไม่เป็นกระบวนการต่อเนื่องและการคัดแยกหนึ่งครั้งใช้ตัวอย่างเซลล์ 20 <math>\mu\text{l}</math></li> </ul>
S. Choi [14]	2005	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 15 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 6 $\mu\text{m}$	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย PBS สภาพนำไฟฟ้า 2.2 $\text{mS}/\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกอนุภาคพอลิไทรินด้วยแรง nDEP โดยใช้ระดับแรงดัน 8 <math>V_{\text{p-p}}</math> ความถี่ 8 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรฟอเรซิสเทียบตามหมู่</li> <li>อนุภาคที่คัดแยกต้องมีขนาดแตกต่างกันอย่างน้อย 50%</li> </ul>
J. G. Kraij [15]	2006	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 6 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 4 $\mu\text{m}$	Dielectrophoresis (DEP)	น้ำ DI ผสม Tween 20 เท่ากับ 0.01% และซูโครส 0.016 % w/v	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองคัดแยกอนุภาคขนาด 6 <math>\mu\text{m}</math> จาก 4 <math>\mu\text{m}</math> โดยการเรียงอนุภาคขนาด 6 <math>\mu\text{m}</math> ด้วยแรง nDEP</li> <li>การคัดแยกใช้อิเล็กโตรดแบบซีพรีมีระยะแยก 50 <math>\mu\text{m}</math> และทำมุม 45° กับช่องทางไหลจุลภาค</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 10 V, ความถี่ 1 MHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่องและอัตราการไหลเท่ากับ 1.5 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> <li>ประสิทธิภาพของการคัดแยกอนุภาคมากกว่า 95%</li> </ul>
S. Golan [16]	2008	เซลล์เม็ดเลือดแดง	-	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย PBS (ไม่ ระบุสภาพนำไฟฟ้า)	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองจับเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยแรงดันไฟฟ้า 10 <math>V_{\text{p-p}}</math> ความถี่ 1 MHz</li> <li>การจำลองสนามไฟฟ้าด้วยวิธีไฟไนต์เอลิเมนต์แสดงให้เห็นถึง <math>E</math> และ <math>\nabla E^2</math> บริเวณอิเล็กโตรดแบบมีตัวนำกึ่งกลาง</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรดที่นำเสนอกำหนดให้แรง DEP เพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่าจากอิเล็กโตรดปกติ</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
J. Jung [17]	2008	RBC และ WBC	เลือดเต็ม	Magnetophoretic (MAP)	สารละลาย Sodium Hydrosulfite 3 mM	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยก RBC และ WBC จากตัวอย่างเลือด โดยใช้ฟลักซ์แม่เหล็กภายนอก 0.3 T ที่มุม <math>\theta = 11^\circ</math> เพื่อสร้างเกรเดียนต์สนามแม่เหล็กบริเวณช่องทางไหล</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อัตราการคัดแยก RBC เท่ากับ 93.9% และ WBC 89.2%</li> <li>อัตราการไหล 20 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> <li>การแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่อง</li> </ul>
M. S. Pommer [18]	2008	เกล็ดเลือด	เลือดเต็ม	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย Tyrode สภาพนำไฟฟ้า 17 mS/cm และสารละลายซูโครส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v สภาพนำไฟฟ้า 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกเกล็ดเลือดจากเลือดเต็ม โดยการเรียงเบนเซลล์อื่นที่ไม่ต้องการ ด้วยแรง pDEP</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 100 V<sub>p-p</sub> 1 MHz</li> <li>อัตราการไหลเท่ากับ 2.5 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>เกิดเลือดที่ผ่านกราดคัดแยกมีความบริสุทธิ์ประมาณ 95%.</li> <li>อุปกรณ์มีความสามารถคัดแยกเซลล์ประมาณ 2.2x10<sup>4</sup> Cells/Sec</li> </ul>
B. Çetin [19]	2009	อนุภาคพอลิไตรเร็น ขนาด 10 $\mu\text{m}$ , เซลล์เม็ดเลือดขาว	อนุภาคพอลิไตรเร็น ขนาด 5 $\mu\text{m}$ , เซลล์ยีสต์	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย 0.75 mM Sodium Borate Buffer	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกอนุภาคพอลิไตรเร็นขนาด 5 <math>\mu\text{m}</math> จาก 10 <math>\mu\text{m}</math> และแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเซลล์ยีสต์ด้วย nDEP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกพบการสะสมของเซลล์บริเวณอิเล็กโตรด เมื่อความถี่มากกว่า 2 MHz</li> </ul>
H.-H. Cui [20]	2009	อนุภาคพอลิไตรเร็น ขนาด 3, 5 และ 10 $\mu\text{m}$	-	Dielectrophoresis (DEP)	น้ำ DI	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองคัดแยกอนุภาคพอลิไตรเร็น ขนาด 3, 5 และ 10 <math>\mu\text{m}</math> ออกจากกัน ด้วยการจับอนุภาคเป้าหมาย ด้วยแรง nDEP</li> <li>แรงดันสูงสุด 20 V<sub>p-p</sub> 10 MHz</li> <li>อัตราการไหล 0.83 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>แรงดันอิเล็กโตรดเป็นแบบไม่ต่อเนื่องและถูกควบคุมด้วยพัลส์สี่เหลี่ยมความถี่ 0.3, 1.05 และ 2.0 Hz โดยที่ <math>D_T = 0.5</math></li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
L. Wang [21]	2009	เซลล์โฮสต์ HEK293	อนุภาคพอลิโอสโตรรีน ขนาด 6 – 15 $\mu\text{m}$ , เซลล์ในช่องอกในหนู N115	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลายยาซูโครส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v สภาพนำไฟฟ้า 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์ HEK293 จากเซลล์ N115 โดยการใช้แรงดันไฟฟ้า 8 V, 100 kHz และ 4 V, 20 kHz</li> <li>การคัดแยกเซลล์ HEK293 จากอนุภาคโดยการเรียงเบนเซลล์ HEK293 ด้วยแรง nDEP และใช้แรงดันไฟฟ้า 8 V, 10 MHz และ 10 V, 50 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์ HEK293 จากอนุภาคและเซลล์ N115 มีประสิทธิภาพมากกว่า 80% และ 95% ตามลำดับ</li> </ul>
T. Nishimura [22]	2009	อนุภาคพอลิโอสโตรรีน ขนาด 7.66 $\mu\text{m}$ เค็ลือบ Streptavidin	อนุภาคพอลิโอสโตรรีน ขนาด 7.66 $\mu\text{m}$ เค็ลือบ Biotin	Adhesive Force	สารละลาย ลาย Phosphate Buffer ค่า pH = 7.4	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกอนุภาคพอลิโอสโตรรีนโดยการเรียงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคด้วยแรงเสียดทานระหว่างอนุภาคกับช่องทางไหลที่มีแถบเอียง <math>30^\circ - 60^\circ</math></li> <li>อนุภาค เค็ลือบ Biotin และ Streptavidin เพื่อให้ผิวมีแรงยึดเหนี่ยวต่างกัน</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อุปกรณ์ของไหลจุลภาคและกระบวนการที่ใช้ซับซ้อน.</li> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่อง</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
Y. Kang [23]	2009	อนุภาคพอลิโอสไตรีน ขนาด 10 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิโอสไตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$ , เซลล์ ยีสต์ขนาด 3 – 5 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (IDEP)	สารละลาย 0.75 mM Sodium Borate สภาพนำไฟฟ้า 27 mS/m	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกอนุภาคจากเซลล์ยีสต์ โดยใช้ แรง nDEP เบี่ยงเบนอนุภาค</li> <li>การแยกอนุภาคจากเซลล์ยีสต์ใช้ แรงดัน 10 V, 200 kHz</li> <li>การแยกอนุภาค 10 <math>\mu\text{m}</math> จาก 5 <math>\mu\text{m}</math> ใช้แรงดัน 7 V, 200 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ระบบของไหลจุลภาคมีแรงกัน (Hurdle) ทำจากฉนวน PDMS เพื่อทำให้เกิดความแตกต่างของ <math>\nabla E^2</math></li> </ul>
N. Lewpiriyawong [24]	2010	อนุภาคพอลิโอสไตรีน ขนาด 10 $\mu\text{m}$ และ 15 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิโอสไตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$ และ 10 $\mu\text{m}$	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย $\text{NaHCO}_3$ สภาพนำไฟฟ้า 1.31 mS/m, pH = 7.68	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกอนุภาคพอลิโอสไตรีน ขนาด 5 <math>\mu\text{m}</math> กับ 10 <math>\mu\text{m}</math> และ 10 <math>\mu\text{m}</math> กับ 15 <math>\mu\text{m}</math> ด้วยแรง nDEP โดยมีประสิทธิภาพการคัดแยกเท่ากับ 87.7% และ 100% ตามลำดับ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรดทำจาก PDMS ผสม อนุภาคเงินขนาด 1 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>
H. Shafiee [25]	2010	เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (THP-1) (เซลล์เป็น)	เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (THP-1) (เซลล์ตาย)	Contactless Dielectrophoresis (cDEP)	สารละลายซูโครส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v และ RPMI 0.725% w/v สภาพนำไฟฟ้า 110 – 115 $\mu\text{S/cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกเซลล์มะเร็งที่เป็น เซลล์เป็นจากเซลล์ตายโดยการจับ เซลล์ด้วยแรง DEP</li> <li>ประสิทธิภาพการคัดแยกสูงสุด 89.6% เมื่อใช้แรงดัน 30 <math>V_{\text{RMS}}</math>, ความถี่ 500 kHz</li> <li>ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์สูงสุด 80% เมื่อใช้แรงดันเท่ากับ 150 <math>V_{\text{RMS}}</math>, ความถี่ 142 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่อง</li> <li>อัตราการไหลเท่ากับ 0.3 <math>\mu\text{l/min}</math> และการเพิ่มอัตราการไหลมีผลต่อประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
H.-S. Moon [26]	2011	เซลล์มะเร็ง MCF-7	เซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาว	Multi-Orifice Flow Fractionation (MOFF) และ Dielectrophoresis (DEP)	สารละลายยูโทรส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v สภาพนำไฟฟ้า 570 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์มะเร็งจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยการเรียงเซลล์มะเร็งด้วยแรง pDEP ร่วมกับการใช้ MOFF</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 10 <math>V_{pp}</math> ความถี่ 900 kHz และ 2 MHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็งเท่ากับ 99.24, 94.23 และ 24.19%</li> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่องและใช้อัตราการไหลสูงเท่ากับ 126 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> <li>เซลล์มะเร็งมีความบริสุทธิ์หลังการคัดแยกต่ำเพียง 16.24%</li> </ul>
R.C. Gallo-Villanueva [27]	2011	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 4 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 1 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	น้ำกลั่นสภาพนำไฟฟ้า 1.15 $\mu\text{S}/\text{cm}$ และ pH = 5.7	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกอนุภาค 4 <math>\mu\text{m}</math> โดยใช้แรง nDEP ตักจับอนุภาค</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ใช้แรงดันไฟฟ้ากระแสตรงสูงถึง 1,000 V</li> </ul>
M. Viefhues [28]	2011	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 100 nm	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 20 nm	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 1 mM, pH = 7.4	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกแอมพลีโสมอนุภาค ขนาดไมโครเมตรด้วยแรง nDEP และใช้ฉนวน PDMS รูปตัว S เพื่อสร้างเกรเดียนต์สนามไฟฟ้า</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคใช้ทั้งแรงดันไฟฟ้า DC และ AC</li> </ul>
S. Patel [29]	2012	เซลล์ยีสต์ Saccharomyces Cerevisiae (เซลล์ตาย)	เซลล์ยีสต์ Saccharomyces Cerevisiae (เซลล์เป็น)	Reservoir-Based Dielectrophoresis (rDEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 1 mM สภาพนำไฟฟ้า 21 mS/m	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกเซลล์ยีสต์ที่ตายจากเซลล์ยีสต์ปกติ โดยการจับเซลล์ที่ตายแล้วด้วยแรง nDEP. การคัดแยกเซลล์ใช้แรงดัน <math>V_{bc} = 4\text{ V}</math>, <math>V_{ac} = 47.5\text{ V}</math> และความถี่ 1 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ข้อดีของระบบของไหลจุลภาคที่ใช้หลักการ nDEP ได้แก่ ไม่มีส่วนประกอบทางกลหรือทางไฟฟ้าบริเวณช่องทางไหล</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทำงาน	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
A. Sonnenberg [30]	2012	HMW-DNA, อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 10 $\mu\text{m}$ , อนุภาคนาโนขนาด 40 nm	เซลล์เลือด	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย PBS สภาพนำไฟฟ้า 7.6 mS/cm	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยก HMW-DNA, อนุภาคพอลิไธรีน, อนุภาคนาโนและเซลล์เลือด โดยการใช้ด้วยแรง pDEP และ nDEP</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 20 V<sub>pp</sub> 10 kHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการไม่ต่อเนื่องและการคัดแยกหนึ่งครั้งใช้ตัวอย่างเซลล์ปริมาณ 20 <math>\mu\text{l}</math></li> </ul>
P. Zellner [31]	2012	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 2 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 1 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	น้ำ DI ผสม PBS 1.2% v/v สภาพนำไฟฟ้า 200 $\mu\text{S/cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 1 และ 2 <math>\mu\text{m}</math> โดยการจับอนุภาคด้วยแรง nDEP</li> <li>การจับอนุภาคขนาด 2 <math>\mu\text{m}</math> ใช้แรงดันสูงสุด 300 V</li> <li>อนุภาคถูกจับติดกับ Micropost ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 170 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การใช้แรงดันสูงทำให้สารละลายในช่องทางไหลมีอุณหภูมิสูงขึ้น</li> <li>ประสิทธิภาพการจับอนุภาคของ PDMS Micropost ดีกว่า Silicon Micropost ประมาณ 5%</li> </ul>
M. Li [32]	2013	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 15 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 10 $\mu\text{m}$	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย 0.15 M NaCl เจือจางด้วยน้ำ DI ในอัตราส่วน 1:15	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 10 และ 15 <math>\mu\text{m}</math> ออกจากกันด้วยแรง nDEP</li> <li>แรงดันที่ใช้เป็นแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 18 และ 180 V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคเป็นกระบวนการต่อเนื่อง.</li> <li>การคัดแยกอนุภาคมีประสิทธิภาพมากกว่า 95%</li> </ul>
N. A. M. Yunus [33]	2013	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 1 $\mu\text{m}$ , 2 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไธรีน ขนาด 500 nm	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย KCl สภาพนำไฟฟ้า 19 และ 148 $\mu\text{S/cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 1 และ 2 <math>\mu\text{m}</math> จาก 500 nm ด้วยแรง nDEP เพื่อแยกอนุภาค</li> <li>แรงดันไฟฟ้าสูงสุด 30 V<sub>pp</sub> 1 MHz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรดที่หิวแบบ 3 มิติ ที่มีมุมเอียง 30°</li> <li>อัตราการไหล 0.1 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
A. Gencoglu [34]	2014	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 1, 2 $\mu\text{m}$ และเซลล์ยีสต์	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 0.5, 1 และ 2 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	น้ำ DI สภาพนำไฟฟ้า $20 \mu\text{S/cm}$ , pH = 8.0	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 0.5 <math>\mu\text{m}</math> จาก 1, 2 <math>\mu\text{m}</math> และคัดแยกเซลล์ยีสต์จากอนุภาค 1, 2 <math>\mu\text{m}</math> โดยการจับอนุภาคด้วยแรง nDEP</li> <li>การทดลองใช้คลื่นเสียงเพื่อเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งผิวหนังภายในช่องทางไหลจุลภาค</li> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 25 <math>\mu\text{m}</math> จาก 10 <math>\mu\text{m}</math> และเซลล์ยีสต์ด้วยแรง pDEP โดยใช้แรงดัน 18.75 และ 12.5 V<sub>p</sub>, 1 MHz</li> <li>อนุภาคขนาด 25 <math>\mu\text{m}</math> ถูกเคลือบด้วยทองเพื่อให้ตอบสนองต่อแรง pDEP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การจับอนุภาคและเซลล์ยีสต์ด้วยแรง nDEP ใช้แรงดันสูงถึง -800V/+900 V</li> <li>การสร้างระบบของไหลจุลภาคและแหล่งกำเนิดคลื่นเสียงมีขั้นตอนซับซ้อน</li> <li>อิเล็กโตรดเป็นแบบ 3 มิติทำจาก AgPDMS</li> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่องและมีอัตราการไหล 0.2 – 0.3 <math>\mu\text{L/min}</math></li> </ul>
L. Schmid [35]	2014	เซลล์มะเร็งผิวหนัง B16F10.	-	Acoustic Wave	สารละลาย PBS (ไม่ระบุสภาพนำไฟฟ้า)	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกเซลล์ MDA-231 จากเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยการจับเซลล์มะเร็งด้วยแรง DEP ให้ติดกับอิเล็กโตรด</li> <li>ประสิทธิภาพการดักจับเซลล์ 97% ที่ 27 <math>\mu\text{L/h}</math> และ 78.7% ที่ 80 <math>\mu\text{L/h}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ช่องทางไหลอุดตัน และเซลล์เสียหายจากแรงดันกระตุ้น</li> <li>ประสิทธิภาพการดักจับลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น</li> <li>อิเล็กโตรดเป็น PDMS ผสมอนุภาคนาโนคาร์บอน 25% w/w</li> </ul>
Y. Jia [36]	2015	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 25 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 10 และเซลล์ยีสต์	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย Sucrose 8.5% และ Glucose 0.3% โดยน้ำหนัก และ 0.7% DMEM โดยปริมาตร, สภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.1 S/m, pH = 7	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกเซลล์ MDA-231 จากเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยการจับเซลล์มะเร็งด้วยแรง DEP ให้ติดกับอิเล็กโตรด</li> <li>ประสิทธิภาพการดักจับเซลล์ 97% ที่ 27 <math>\mu\text{L/h}</math> และ 78.7% ที่ 80 <math>\mu\text{L/h}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรดเป็นแบบ 3 มิติทำจาก AgPDMS</li> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่องและมีอัตราการไหล 0.2 – 0.3 <math>\mu\text{L/min}</math></li> </ul>
J. Marchalot [37]	2015	เซลล์มะเร็งเต้านม MDA-231	เซลล์เม็ดเลือดแดง	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย Sucrose 8.5% และ Glucose 0.3% โดยน้ำหนัก และ 0.7% DMEM โดยปริมาตร, สภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.1 S/m, pH = 7	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกเซลล์ MDA-231 จากเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยการจับเซลล์มะเร็งด้วยแรง DEP ให้ติดกับอิเล็กโตรด</li> <li>ประสิทธิภาพการดักจับเซลล์ 97% ที่ 27 <math>\mu\text{L/h}</math> และ 78.7% ที่ 80 <math>\mu\text{L/h}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ช่องทางไหลอุดตัน และเซลล์เสียหายจากแรงดันกระตุ้น</li> <li>ประสิทธิภาพการดักจับลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น</li> <li>อิเล็กโตรดเป็น PDMS ผสมอนุภาคนาโนคาร์บอน 25% w/w</li> </ul>



ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดเลือกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
H. Zhu [38]	2015	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 7 $\mu\text{m}$ และ เซลล์ยีสต์ขนาด 5 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 20 $\mu\text{m}$	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย KCl สภาพนำไฟฟ้า 0.5 – 10 mS/m.	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกเซลล์ยีสต์ใช้แรง pDEP จับเซลล์.</li> <li>ประสิทธิภาพการจับเซลล์ยีสต์สูงสุด 95% ที่แรงดัน 10 <math>V_{\text{p-p}}</math>, 100 kHz, สภาพนำไฟฟ้า 5 <math>\mu\text{S/cm}</math>, อัตราการไหล 0.1 ml/h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโทรดสร้างด้วยคาร์บอนที่มีคาร์บอนบนแผ่นกระจก และมีระยะห่าง 100 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>
Y. Chen [39]	2016	เกล็ดเลือด	เซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาว	Acoustic Wave	สารละลาย PBS ผสม 10% Dextrose.	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกเกล็ดเลือดออกจากเซลล์เม็ดเลือดโดยใช้คลื่นเสียงทำให้เซลล์เม็ดเลือดยกตัวและแยกทิศทางการไหล</li> <li>ใช้ทรานส์ดิวเซอร์สร้างคลื่นเสียง ความถี่ 225 – 237 kHz (ไม่ระบุแอมพลิจูด)</li> <li>แรงดันอินพุตของทรานส์ดิวเซอร์ที่ใช้ สูงสุด 46 <math>V_{\text{p-p}}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายยีสต์ฟลูอิดไม่มีผลต่อการแยกอนุภาค</li> <li>ประสิทธิภาพการคัดเลือกเกล็ดเลือด 86.2% ที่อัตราการไหล 5 ml/min</li> </ul>
Y. Cheng [40]	2016	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 10 $\mu\text{m}$ , เซลล์เม็ดเลือดขาว	อนุภาคพอลิไทริน ขนาด 2 $\mu\text{m}$ , เซลล์เม็ดเลือด	Multi-Filtration	สารละลาย PBS (ไม่ระบุสภาพนำไฟฟ้า)	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดเลือกเซลล์และอนุภาคใช้ตัวกรองเมมเบรน Cyclopore Polycarbonate ขนาด 3 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>อัตราการไหลสูงสุด 39.1 <math>\mu\text{l/min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดเลือกอนุภาคขนาด 10 <math>\mu\text{m}</math> จาก 2 <math>\mu\text{m}</math> มีค่าการเพิ่มปริมาณเท่ากับ 2,857 เท่า</li> <li>การคัดเลือกเซลล์เม็ดเลือดขาว มีค่าการเพิ่มปริมาณ 396 เท่า</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทำงาน	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พินทิ่ง				
B. Mathew [41]	2016	เซลล์เม็ดเลือดแดง	-	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย Sucrose 8.5% และ Glucose 0.3% w/w สภาพนำไฟฟ้า 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองเปรียบเทียบสมรรถนะการเคลื่อนที่ของเซลล์ DEP ที่ระดับแรงดัน 20 V<sub>p-p</sub> ความถี่ 8 kHz และใช้เล็ทโทรลิตี้อย่าง <math>10^{\circ}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อิเล็กโตรดทำจากทองคำ</li> <li>แนวทางการเคลื่อนที่ของเซลล์ควบคุมโดยการเปิดและปิดแรงดัน</li> </ul>
Y. Wang [42]	2016	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 11 $\mu\text{m}$ , 25 $\mu\text{m}$ , 45 $\mu\text{m}$	-	Dielectrophoresis (DEP)	น้ำ DI สภาพนำไฟฟ้า 5.5 $\mu\text{S}/\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคพอลิไสตรีนตามขนาด โดยใช้แรง DEP ทำให้อนุภาคแยกตัวที่ระดับความสูงแตกต่างกัน</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ระบบของไหลจุลภาคต้องมีการระบายความร้อน</li> <li>อิเล็กโตรดมีระยะห่างไม่คงที่เพื่อเพิ่ม <math>\nabla E^2</math></li> </ul>
K. Zhao [43]	2016	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 140 nm, 500 nm และ 3 $\mu\text{m}$	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 51 nm, 140 nm, 1 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	สารละลาย $\text{K}_2\text{HPO}_4$ สภาพนำไฟฟ้า 0.01 S/m และ 0.04 S/m	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองคัดแยกอนุภาคด้วยแรง DEP โดยใช้แรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 60 - 160 V และระบบของไหลจุลภาคที่อาศัย Orifice ฉนวน PDMS ทำให้เกิดความแตกต่างของ <math>\nabla E^2</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ระบบของไหลจุลภาคสร้างได้ยาก เนื่องจากบริเวณ Orifice มีขนาดประมาณ 0.51 <math>\mu\text{m}</math>.</li> <li>อัตราการไหลต่ำ 8 nL/min</li> </ul>
L. Zhu [44]	2016	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$ และ เซลล์ ยีสต์ S. Cerevisiae	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 3 $\mu\text{m}$	Reservoir-Based Dielectrophoresis (rDEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 1 mM สภาพนำไฟฟ้า 210 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 5 <math>\mu\text{m}</math> จากขนาด 3 <math>\mu\text{m}</math> ด้วยการจับอนุภาค 5 <math>\mu\text{m}</math> โดยใช้แรงดันไฟฟ้ากระแสสลับ 500 V รววมกับแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 50V</li> <li>การเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตใช้การจับเซลล์ด้วยแรง DEP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์เป็นกระบวนการที่ไม่ต่อเนื่อง</li> <li>ตัวอย่างเซลล์มีความหนาแน่น <math>1 \times 10^3</math> Cells/<math>\mu\text{l}</math></li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
Y. Yoon [45]	2016	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 20 $\mu\text{m}$ และ เซลล์มะเร็ง MDA-231	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$ และ เซลล์เลือด	$\mu$ - Sieve Filter	สารละลายซูโครส 20% ผสมสารลดแรงตึงผิว 0.1%, สารละลาย PBS (ไม่ระบุสภาพน้ำไฟฟ้า)	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคใช้ตัวกรองขนาด 12 <math>\mu\text{m}</math> กรองอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดใหญ่</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาด 5 <math>\mu\text{m}</math> เท่ากับ</li> <li>การคัดแยกอนุภาคเป็นกระบวนการต่อเนื่อง</li> </ul>
A. Alazzam [46]	2017	เซลล์มะเร็ง MDA-231	เซลล์เลือด	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลายซูโครส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v สภาพน้ำไฟฟ้า 150 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็งออกจากเซลล์เลือดปกติ โดยการเรียงเซลล์เลือดปกติด้วยแรง nDEP แรงดันไฟฟ้า 15 <math>V_{\text{pp}}</math>, ความถี่ 40 kHz</li> <li>อัตราส่วนระหว่างเซลล์เลือดปกติกับเซลล์มะเร็งเท่ากับ <math>1:10^3</math>, <math>1:10^4</math> และ <math>1:10^5</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเป็นกระบวนการต่อเนื่องและใช้อัตราการไหล 0.1 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> <li>ความบริสุทธิ์ของเซลล์มะเร็งที่ผ่านการคัดแยกเท่ากับ 81%</li> <li>ความแม่นยำของการคัดแยกเท่ากับ 100%</li> </ul>
X. Fu [47]	2017	สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุลบ	สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุ	Free-Flow Electrophoresis (FFE)	สารละลาย 10 mM HEPES, 20 mM Bis-Tris, 1% Tween 20 และ 0.1% HPMC สภาพน้ำไฟฟ้า 120 $\mu\text{S}/\text{cm}$ และ pH = 6.8	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกแวกการไหลของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุไฟฟ้าลบกับสารละลายที่ไม่มีประจุไฟฟ้า</li> <li>ใช้แรงดันไฟฟ้ากระแสตรงสร้างสนามไฟฟ้าในทิศทางที่ตั้งฉากกับทิศทางการไหล</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ใช้ PDMS ผสม Carbon Black เป็นฉนวนกันไม่ให้อิเล็กโทรดสัมผัสกับสารละลายบัฟเฟอร์</li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พินทูลิ่ง				
C. Thomas [48]	2017	เชลล์ ยีสต์ Saccharomyces Cerevisiae.	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$	Insulator-Based Dielectrophoresis (iDEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 1 mM สภาพนำไฟฟ้า 120 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกอนุภาคและเซลล์ยีสต์โดยศึกษาถึงผลของแรงดันไฟฟ้า (DC) และสนามไฟฟ้าที่มีต่อแนวการเคลื่อนที่</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>แรงดันที่จ่ายให้กับอนุภาคและสารละลายยีสต์แตกต่างกัน ช่องทางเข้ามีค่าแตกต่างกัน</li> <li>แรงดันไฟฟ้ามีค่าสูง 200 – 800 V</li> </ul>
L. D'Amico [49]	2107	แบคทีเรีย E. Coli และ S. Aureus	เซลล์เม็ดเลือดแดง	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย 5.1 mg/ml D-Mannitol, 5 mg/ml Saponin, 0.1 mg/ml Pluronic และ 0.1 mg/ml Bovine Serum Albumin สภาพนำไฟฟ้า 40 mS/m	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองแยกแบคทีเรียจากเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยแบคทีเรียถูกแรง pDEP จับให้ติดกับอิเล็กโตรด ส่วนเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติได้รับแรง nDEP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การแยกแบคทีเรียจากเซลล์เม็ดเลือดแดงต้องใช้ระบบของไหลจุลภาค 3 ส่วน</li> <li>ประสิทธิภาพของการแยกแบคทีเรียมากกว่า 75%</li> </ul>
A. Kale [50]	2018	อนุภาคพอลิไสตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$	-	Reservoir-Based Dielectrophoresis (rDEP)	สารละลาย PBS ความเข้มข้น 1 mM ผสม Glycerol อัตราส่วน 78:22 และ อัตราส่วนนำไฟฟ้า 156 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การทดลองดักจับอนุภาคขนาด 5 <math>\mu\text{m}</math> ด้วยวิธี rDEP แบบ 3 มิติ</li> <li>แรงดันไฟฟ้ากระแสสลับสูงสุด 300 V, 1 kHz และกระแสตรงสูงสุด 100 V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>อัตราการไหล 0.12 <math>\mu\text{l}/\text{min}</math></li> <li>อนุภาคมีความหนาแน่น <math>10^3 - 10^4</math> Particles/<math>\mu\text{l}</math></li> </ul>

ตารางที่ 1.1 สรุปบทความที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค (ต่อ).

ผู้เขียนคนแรก	ปี	เซลล์/อนุภาค		วิธี	ตัวกลาง	เงื่อนไขการทดลอง	ข้อสังเกต
		เป้าหมาย	พื้นหลัง				
A. Rahmani [51]	2018	เซลล์แบคทีเรีย E. coli	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 2 $\mu\text{m}$ และ เซลล์ยีสต์	Contactless Dielectrophoresis (cDEP)	น้ำกลั่นสภาพนำไฟฟ้า เท่ากับ 1.26 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์ E. coli จากเซลล์ ยีสต์และอนุภาคโดยใช้แรง nDEP เบื้องบนเซลล์ E. coli</li> <li>การคัดแยกเซลล์ E. coli ใช้ แรงดันไฟฟ้า 69 V, 250 kHz และ อัตราการไหล 5 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาค, เซลล์ยีสต์ และเซลล์ E. coli มีเปอร์เซ็นต์ การเพิ่มปริมาณเท่ากับ 86%, 87% และ 82% ตามลำดับ</li> </ul>
W. Waheed [52]	2018	เซลล์มะเร็ง MDA-231	เซลล์เลือด	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลายซูโครส 8.5% w/v, กลูโคส 0.3% w/v สภาพนำไฟฟ้า 150 $\mu\text{S}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกเซลล์มะเร็งจากเซลล์เลือด ด้วยการใช้แรง nDEP ทำให้เซลล์ทั้งสองมีแนวการไหลแยกออกจากกัน</li> <li>แรงดันไฟฟ้า 10 <math>V_{pp}</math>, 10 kHz และ 15 <math>V_{pp}</math>, 40 kHz</li> <li>อัตราการไหล 0.17 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>แรง DEP ที่กระทำต่อ เซลล์มะเร็งและเซลล์เลือดเป็น แบบลบที่ความถี่ 10 kHz และ 40 kHz ตามลำดับ</li> </ul>
P. Tajik [53]	2019	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 15 $\mu\text{m}$ และ เซลล์ยีสต์ (เซลล์ เป็น)	อนุภาคพอลิไตรีน ขนาด 5 $\mu\text{m}$ และ เซลล์ยีสต์ (เซลล์ ตาย)	Dielectrophoresis (DEP)	สารละลาย PBS สภาพนำไฟฟ้า 0.55 และ 1.7 $\text{mS}/\text{cm}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>การคัดแยกอนุภาคขนาด 15 <math>\mu\text{m}</math> จาก 5 <math>\mu\text{m}</math> ใช้แรงดัน 2 – 12 <math>V_p</math>, 100 kHz</li> <li>การคัดแยกเซลล์ยีสต์ใช้แรงดัน 4 – 12 <math>V_p</math>, ความถี่ 1.05 MHz</li> <li>อัตราการไหล 0.25 – 3 <math>\mu\text{L}/\text{min}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ ยีสต์มากกว่า 80 % ที่ 12 <math>V_p</math></li> <li>ความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 2 Cells/<math>\mu\text{L}</math></li> </ul>

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น การคัดแยกเซลล์สิ่งมีชีวิตที่มีคุณสมบัติตามต้องการ อาทิเช่น เซลล์มะเร็ง, เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อปรสิต ฯลฯ สามารถใช้วิธีการได้หลายวิธี และแต่ละวิธีมีข้อดี-ข้อเสียที่แตกต่างกัน. แม้ว่าจะมีงานวิจัยที่ประสบผลสำเร็จในการคัดแยกเซลล์มะเร็งด้วยการใช้สนามแม่เหล็กหรือแรงแรงแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetophoretic Force) แต่ยังมีข้อจำกัดของการทำเครื่องหมาย (Labeling) เซลล์ด้วยสารแม่เหล็กก่อนทำการคัดแยก. ในงานวิจัยบางชิ้น คณะผู้วิจัยพบว่า การสร้างอุปกรณ์ของไหลจุลภาคมีความซับซ้อนและต้องอาศัยเทคนิคการสร้างที่มีความละเอียดสูง. ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยที่นำเสนอจึงมีเป้าหมายในการแก้ข้อจำกัดต่างๆ ในงานวิจัยที่ผ่านมาในอดีต. งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเซลล์เป้าหมายด้วยหลักการไดอิเล็กโตรโฟรีซิสของเซลล์ โดยใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่มีขั้นตอนการสร้างและขั้นตอนการดำเนินการที่ไม่ซับซ้อนเกินไปในการคัดแยกเซลล์เป้าหมาย และสามารถทำเป็นกระบวนการต่อเนื่องได้. นอกจากนี้ การคัดแยกเซลล์เป้าหมายสามารถปรับความไวให้เหมาะสมกับคุณสมบัติของเซลล์ได้ตามต้องการ.

### 1.3 วัตถุประสงค์

- 1.3.1 ศึกษาหลักการพื้นฐานและวิธีการแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก และแยกเซลล์เลือดของสิ่งมีชีวิตที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพ, ทางกล และทางไฟฟ้าตามที่ต้องการ โดยอาศัยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกร่วมกับอุปกรณ์ของไหลจุลภาค.
- 1.3.2 พัฒนาระบบการแยกเซลล์เลือดสภาพปกติและเซลล์เลือดที่ติดเชื้อมาลาเรียด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคได้อย่างมีประสิทธิภาพ.

### 1.4 ขอบเขตการดำเนินงาน

- 1.4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์เลือด ณ ความถี่ต่างๆ อาทิเช่น สภาพนำไฟฟ้าและสภาพยอม เป็นต้น. ลักษณะสมบัติทางไฟฟ้าจะเป็นตัวกำหนดแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ.
- 1.4.2 จัดสร้างอุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่สามารถนำมาใช้แยกเซลล์เลือดที่มีคุณสมบัติตามต้องการแบบต่อเนื่องได้.
- 1.4.3 ทดลองแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ, เม็ดเลือดขาว และอนุภาคพอลิสไตรีนด้วยระบบของไหลจุลภาค.
- 1.4.4 วิเคราะห์ผลการแยกเซลล์, ตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ที่ได้จากการคัดแยก และประเมินความสามารถในการคัดแยกและประสิทธิภาพของการคัดแยกเซลล์.

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

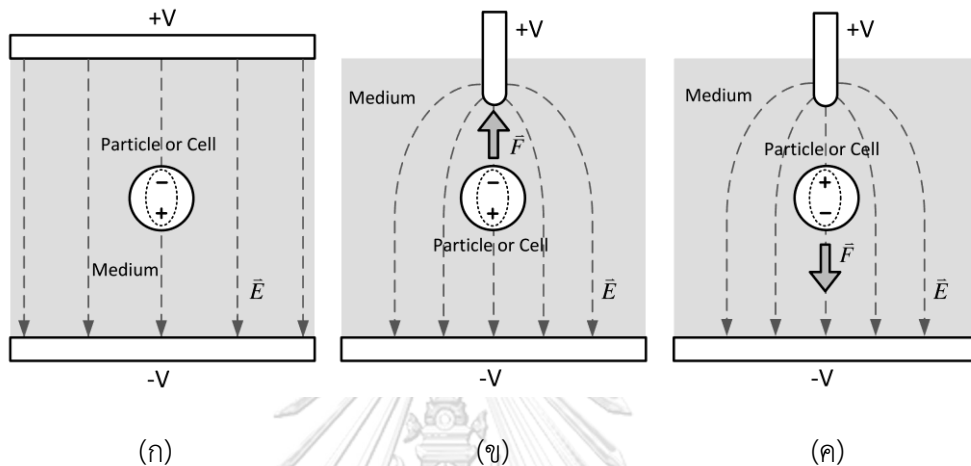
- 1.5.1 เข้าใจกระบวนการแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก และสามารถนำไปออกแบบวิธีการแยกเซลล์ชนิดอื่นๆ ตามต้องการได้.
- 1.5.2 สามารถแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว หรือเซลล์ชนิดอื่นๆ ที่มีความแตกต่างด้านสมบัติทางกลและทางไฟฟ้าได้อย่างแม่นยำ.
- 1.5.3 ได้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่สามารถนำไปขยายผลและประยุกต์ใช้กับงานวิจัยพัฒนาในสาขาที่เกี่ยวข้องต่อไป.



## บทที่ 2

### หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก (Dielectrophoretic Force)

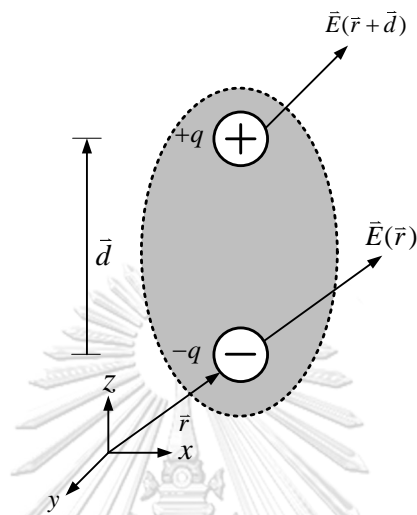


รูปที่ 2.1 โพลาริเซชันและแรงบนอนุภาคหรือเซลล์สิ่งมีชีวิตภายใต้ (ก) สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ, (ข) และ (ค) สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ.

การจัดการเซลล์เลือดไม่ว่าจะเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงหรือเซลล์เม็ดเลือดขาวต่างๆ เช่น การคัดแยกเซลล์มะเร็งจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย มีประโยชน์ในการช่วยให้การวินิจฉัยทางการแพทย์มีความแม่นยำขึ้น. การคัดแยกเซลล์เลือดของสิ่งมีชีวิตด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้คัดแยกเซลล์ที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันได้. ข้อดีของการคัดแยกเซลล์ด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกได้แก่ การไม่ต้องทำเครื่องหมาย (Label) กับเซลล์ด้วยอนุภาค สารภูมิต้านทาน (Antibiotics) หรือสารเคมีอื่นๆ. แรงสามารถถูกควบคุมไม่ให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ และใช้คัดแยกเซลล์แบบกระบวนการต่อเนื่องได้. นอกจากนี้ ผู้ปฏิบัติงานไม่จำเป็นต้องมีความรู้เฉพาะด้าน. เซลล์เลือดไม่มีผนังเซลล์ มีเพียงเยื่อหุ้มเซลล์ห่อหุ้มไซโทพลาซึม (Cytoplasm) ที่อยู่ภายในเซลล์เท่านั้น. โพลาริเซชันของเซลล์ที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความถี่. กรณีความถี่ต่ำ ภายในเซลล์มีสภาพคล้ายฉนวน (Insulation) และกระแสไฟฟ้าไม่สามารถไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากคาปาซิทีฟรีแอกแตนซ์ของเยื่อหุ้มเซลล์สูง. เซลล์จึงเกิดการโพลาริเซชันได้ยากกว่าตัวกลางล้อมรอบ. สำหรับความถี่สูง เซลล์เกิดการโพลาริเซชันได้ง่ายกว่าตัวกลางล้อมรอบ เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์ยอมให้กระแสไหลผ่านและภายในเซลล์มีสภาพเป็นไดอิเล็กตริก (Dielectric). เมื่อเซลล์อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอตามรูปที่ 2.1 (ก) แรงลัพธ์ที่เกิดจากโมเมนต์ไดโพล (Dipole Moment) อันเป็นผลจากการเกิดโพลาริเซชัน



มีค่าเท่ากับศูนย์. เมื่อเซลล์อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ จะเกิดความไม่สมดุลของแรงดังกล่าว ส่งผลให้เกิดแรงลัพธ์  $\vec{F}$  กระทำต่อเซลล์.  $\vec{F}$  ทำให้เซลล์เกิดการเคลื่อนเข้าหาหรือออกจากจุดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูง เมื่อไดโพลมีทิศทางดังแสดงในรูปที่ 2.1 (ข) และ (ค) ตามลำดับ.



รูปที่ 2.2 ไดโพลที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ.

พิจารณาไดโพลที่มีขนาดเล็กมาก ภายใต้สนามไฟฟ้าภายนอก  $\vec{E}$  และอยู่ในตัวกลางที่มีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_1$  ดังแสดงในรูปที่ 2.2. เมื่อสนามไฟฟ้าภายนอกเป็นแบบไม่สม่ำเสมอ ประจุ  $+q$  และ  $-q$  ของไดโพลจะได้รับสนามไฟฟ้าที่มีค่าแตกต่างกัน. แรงลัพธ์ที่กระทำต่อไดโพลคำนวณได้จากสมการ

$$\vec{F} = q\vec{E}(\vec{r} + \vec{d}) - q\vec{E}(\vec{r}) \quad (2.1)$$

เมื่อ  $\vec{r}$  เป็นเวกเตอร์จากจุดกำเนิดไปยังตำแหน่งประจุ  $-q$ . เนื่องจาก  $\vec{d}$  มีขนาดเล็กมากๆ เราสามารถเขียนสนามไฟฟ้าที่จุด  $+q$  ในรูปอนุกรมเทย์เลอร์ (Taylor's Series Expansion) ตามสมการ [54]

$$\vec{E}(\vec{r} + \vec{d}) \approx \vec{E}(\vec{r}) + (\vec{d} \cdot \nabla) \vec{E}(\vec{r}) \quad (2.2)$$

แทนสมการที่ (2.2) ลงในสมการที่ (2.1) จะได้

$$\vec{F} = (q\vec{d} \cdot \nabla) \vec{E}(\vec{r}) \quad (2.3)$$

เมื่อ  $\|\vec{d}\| \rightarrow 0$  และไดโพลโมเมนต์  $\vec{p} = q\vec{d}$ . แรงแลัพท์ที่กระทำต่อไดโพลมีค่าเท่ากับ

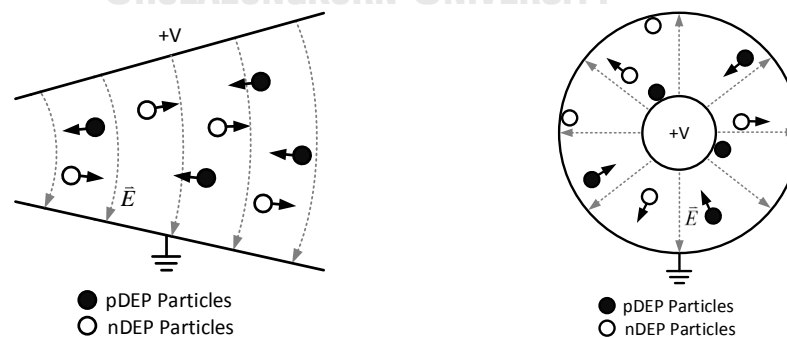
$$\vec{F}_{\text{dipole}} = (\vec{p} \cdot \nabla) \vec{E} \quad (2.4)$$

ศักย์ไฟฟ้า  $\phi_{\text{dipole}}$  ที่จุดใดๆ อันเนื่องมาจากไดโพลมีค่าเป็นไปตามสมการ

$$\phi_{\text{dipole}} = \frac{\vec{p} \cdot \vec{r}_p}{4\pi\epsilon_l r_p^3} \quad (2.5)$$

เมื่อ  $\epsilon_l$  คือค่าสภาพยอมของตัวกลางล้อมรอบไดโพล และ  $\vec{r}_p$  เป็นเวกเตอร์จากจุดกึ่งกลางไดโพลไปยังจุดที่พิจารณา และ  $r_p = \|\vec{r}_p\|$ .

แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก (Dielectrophoretic Force) เป็นแรงที่กระทำต่ออนุภาคฉนวนที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ เป็นผลให้อนุภาคเกิดการเคลื่อนตัวเข้าหาหรือออกจากจุดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูง. กรณีที่แรงทำให้อนุภาคเคลื่อนตัวเข้าหาจุดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูงกว่าตำแหน่งปัจจุบันเรียกว่าเป็นไดอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบบวก (Positive Dielectrophoresis, pDEP). กรณีที่แรงทำให้อนุภาคเคลื่อนตัวออกจากจุดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าต่ำกว่าเรียกว่าเป็นไดอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบลบ (Negative Dielectrophoresis, nDEP) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 (ข) และ (ค). รูปที่ 2.3 (ก) แสดงตัวอย่างการเคลื่อนตัวของอนุภาคภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก โดยอนุภาคมีแนวการเคลื่อนตัวตั้งฉากกับสนามไฟฟ้า. ในรูปที่ 2.3 (ข) อนุภาคมีแนวการเคลื่อนตัวขนานกับสนามไฟฟ้า.



(ก) อนุภาคเคลื่อนตัวตั้งฉากกับสนามไฟฟ้า. (ข) อนุภาคเคลื่อนตัวขนานกับสนามไฟฟ้า.

รูปที่ 2.3 การเคลื่อนตัวของอนุภาคภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก [54].

พิจารณาอนุภาคทรงกลมฉนวนที่มีรัศมี  $R$  อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าสถิต  $\vec{E}$  ที่เกิดจากแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง. เมื่อสนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอและอนุภาคทรงกลมฉนวนอยู่ในตัวกลางของเหลวที่มีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_l$ . อนุภาคทรงกลมฉนวนมีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_c$ . ศักย์ไฟฟ้าเหนี่ยวนำที่จุดใดๆ บริเวณนอกอนุภาค ( $r_p > R$ ) มีค่าเท่ากับ [55]

$$\phi_{\text{induced}} \approx \frac{(\epsilon_c - \epsilon_l)R^3 \vec{E} \cdot \vec{r}_p}{(\epsilon_c + 2\epsilon_l)r_p^3} \quad (2.6)$$

เมื่อนำสมการที่ (2.5) มาเปรียบเทียบกับสมการที่ (2.6) เราจะได้ไดโพลโมเมนต์ (Dipole Moment) เป็น

$$\vec{p}_{\text{eff}} = 4\pi\epsilon_l K(\epsilon_c, \epsilon_l)R^3 \vec{E} \quad (2.7)$$

และ

$$K(\epsilon_c, \epsilon_l) = \frac{\epsilon_c - \epsilon_l}{\epsilon_c + 2\epsilon_l} \quad (2.8)$$

เมื่อ  $K$  เป็นตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ. จากนั้น นำสมการที่ (2.7) แทนลงในสมการที่ (2.4) เราจะได้สมการแรงไดอิเล็กโตรโฟเรติก ( $\vec{F}_{\text{DEP}}$ ) ที่กระทำต่ออนุภาคทรงกลมฉนวน ได้แก่

$$\vec{F}_{\text{DEP}} = 2\pi\epsilon_l R^3 K(\epsilon_c, \epsilon_l) \nabla E^2 \quad (2.9)$$

พิจารณากรณีของอนุภาคทรงกลมฉนวนที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับ. อนุภาคทรงกลมฉนวนมีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_c$  และสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ  $\sigma_c$ . อนุภาคทรงกลมฉนวนอยู่ในตัวกลางของเหลวมีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_l$  และสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ  $\sigma_l$ . เราสามารถเขียนค่าสภาพยอมเชิงซ้อนได้เป็น

$$\epsilon = \epsilon + \frac{\sigma}{j\omega} \quad (2.10)$$

เมื่อ  $\omega$  คือความถี่เชิงมุมของแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับที่ใช้สร้างสนามไฟฟ้ามีหน่วยเป็น rad/s และ  $j = \sqrt{-1}$ . สนามไฟฟ้ากระแสสลับที่อนุภาคทรงกลมฉนวนได้รับแสดงในรูปของ

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \text{Re} \left\{ \vec{E}(\vec{r}) e^{j\omega t} \right\} \quad (2.11)$$

เมื่อ  $\vec{E}(\vec{r})$  เป็นเฟสเซอร์ของสนามไฟฟ้า.  $\vec{E}(\vec{r}) = \mathbf{E}_x(\vec{r})\vec{a}_x + \mathbf{E}_y(\vec{r})\vec{a}_y + \mathbf{E}_z(\vec{r})\vec{a}_z$  เมื่อ  $\vec{a}$  คือเวกเตอร์หนึ่งหน่วย. เช่นเดียวกับสมการที่ (2.7) เราสามารถเขียนไดโพลโมเมนต์ประสิทธิผลที่อนุภาคทรงกลมฉนวนที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับได้เป็น

$$\vec{p}_{eff} = 4\pi\epsilon_l \mathbf{K}(\omega) R^3 \vec{E} \quad (2.12)$$

ตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ  $\mathbf{K}(\omega)$  สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\mathbf{K}(\omega) = \frac{\epsilon_c - \epsilon_l}{\epsilon_c + 2\epsilon_l} \quad (2.13)$$

นำสมการที่ (2.12) แทนค่าลงในสมการที่ (2.4) เราจะได้สมการแรงไดโพลไฟฟ้าเรดิเคิลเฉลี่ยที่กระทำต่ออนุภาคทรงกลมฉนวนที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับไม่สม่ำเสมอเป็น

$$\langle \vec{F}_{DEP} \rangle = 2\pi\epsilon_l R^3 \text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\} \nabla E_{rms}^2 \quad (2.14)$$

## 2.2 อีเล็กโตรโรเตชัน (Electrorotation)

อีเล็กโตรโรเตชันเป็นปรากฏการณ์ที่อนุภาคเกิดการหมุนตัว เมื่ออยู่ภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุน. อีเล็กโตรโรเตชันเป็นวิธีการที่สามารถใช้หาค่าคุณสมบัติทางไฟฟ้าที่อยู่ภายในเซลล์หรืออนุภาคฉนวนได้. หากพิจารณาไดโพลที่มีขนาดเล็ก ดังรูปที่ 2.2 แรงบิด ( $\vec{T}$ ) ที่เกิดขึ้นเนื่องจากสนามไฟฟ้าภายนอก ( $\vec{E}$ ) มีค่าเป็น

$$\vec{T} = \left\{ \frac{\vec{d}}{2} \times q\vec{E} \right\} + \left\{ \frac{-\vec{d}}{2} \times (-q\vec{E}) \right\} \quad (2.15)$$

หรือ

$$\vec{T} = q\vec{d} \times \vec{E} \quad (2.16)$$

เมื่อแทนค่าโมเมนต์ไดโพล  $q\vec{d} = \vec{p}$  จะได้แรงบิดที่เกิดขึ้นกับไดโพลเป็น

$$\vec{T}_{\text{dipole}} = \vec{p} \times \vec{E} \quad (2.17)$$

จากสมการที่ (2.17) แรงบิดที่เกิดขึ้นกับไดโพลไม่ขึ้นอยู่กับเกรเดียนต์ของสนามไฟฟ้า แต่ขึ้นอยู่กับขนาดและทิศทางของสนามไฟฟ้า.

พิจารณานุภาคทรงกลมฉนวนที่มีรัศมี  $R$  ที่มีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_c$  และสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ  $\sigma_c$ . อนุภาคทรงกลมอยู่ในตัวกลางของเหลวที่มีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $\epsilon_l$  และสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ  $\sigma_l$ . เมื่ออนุภาคทรงกลมอยู่ภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับ  $\vec{E}(t) = E_0(\vec{a}_x \cos \omega t + \vec{a}_y \sin \omega t)$  ดังแสดงในรูปที่ 2.4 (ก). โมเมนต์ไดโพลประสิทธิผลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเช่นเดียวกับสมการที่ (2.12) ได้แก่

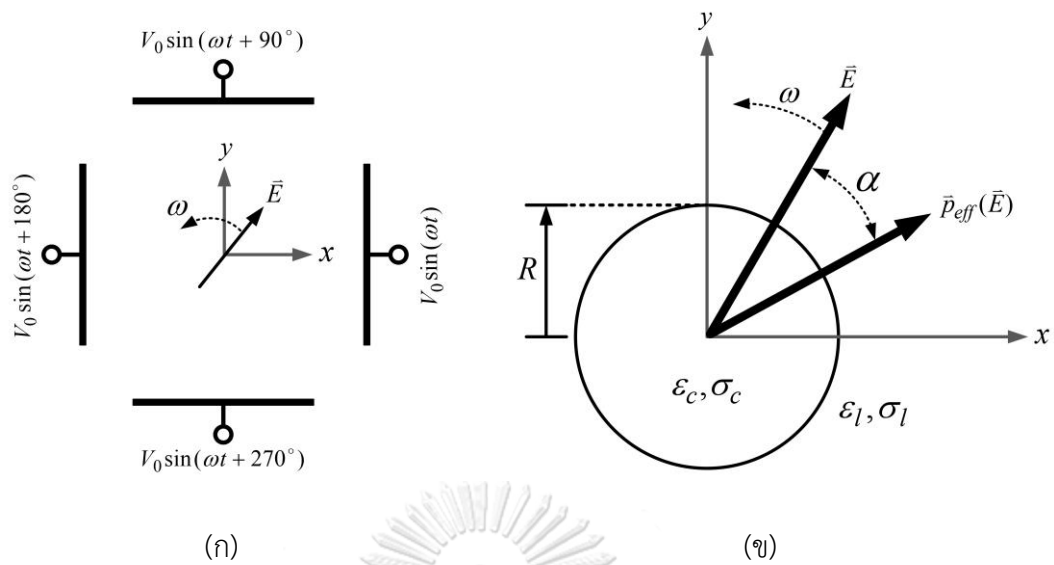
$$\vec{p}_{\text{eff}} = 4\pi\epsilon_l \mathbf{K}(\omega) R^3 \vec{E} \quad (2.18)$$

เมื่อ  $\vec{E}$  เป็นเฟสเซอร์ของสนามไฟฟ้าที่มีค่าเป็น  $\vec{E} = E_0(\vec{a}_x - j\vec{a}_y)$  และ  $\mathbf{K}(\omega)$  เป็นตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ ดังแสดงในสมการที่ (2.13).

แรงบิดเกิดขึ้นที่อนุภาคทรงกลมเนื่องจากสนามไฟฟ้าและโมเมนต์ไดโพลประสิทธิผลมีมุมเฟสต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.4 (ข). เมื่อ  $\alpha$  เป็นมุมเฟสระหว่างสนามไฟฟ้าและโมเมนต์ไดโพลประสิทธิผล. จากสมการที่ (2.17) เมื่อแทนค่าสมการที่ (2.18) แรงบิดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นขณะทรงกลมเกิดการหมุนตัวมีค่าเป็น

$$\langle \vec{T}_{\text{ROT}} \rangle = -4\pi\epsilon_l R^3 \text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\} E_{0,\text{rms}}^2 \vec{a}_z \quad (2.19)$$

เมื่อ  $\vec{a}_z$  เป็นทิศทางของแกนหมุนของอนุภาค. แกนหมุนมีทิศทางตั้งฉากกับทิศทางของสนามไฟฟ้า. หากพิจารณารูปที่ 2.4 (ข) การหมุนของอนุภาคทรงกลมเป็นไปได้ในสองทิศทาง ได้แก่ หมุนตามเข็มนาฬิกาและหมุนทวนเข็มนาฬิกา ซึ่งขึ้นอยู่กับเครื่องหมายของ  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ว่าเป็นบวกหรือลบ.



รูปที่ 2.4 การหมุนของอนุภาคทรงกลมภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุน (ก) การสร้างสนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุนทวนเข็มนาฬิกาด้วยอิเล็กทรอนิกส์ขั้ว (ข) มุมเฟส ( $\alpha$ ) ระหว่าง  $\vec{E}$  และ  $\vec{p}_{eff}$  ที่ทำให้อนุภาคทรงกลมเกิดการหมุนตัว [54].

### 2.3 ตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ (Clausius-Mossotti Factor)

ตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติบ่งชี้ถึงชนิดของแรงไดโพลเล็กโตรโพรติกที่กระทำต่ออนุภาคในสารละลายตัวกลาง. ในกรณีที่ป้อนสนามไฟฟ้ากระแสสลับ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  จะมีค่าอยู่ระหว่าง -0.5 จนถึง 1 ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางไฟฟ้าของอนุภาคกับสารละลายที่ความถี่ของสนามไฟฟ้า. เมื่อพิจารณาสมการที่ (2.13) เราพบว่า ที่ความถี่สูง  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ขึ้นอยู่กับค่าสภาพยอมของอนุภาคและสารละลาย. ที่ความถี่ต่ำ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ขึ้นอยู่กับสภาพนำไฟฟ้าของอนุภาคและสารละลาย. พิจารณาเซลล์สิ่งมีชีวิตในลักษณะทรงกลมที่ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์และของเหลวภายในที่มีสภาพนำไฟฟ้า ดังแสดงในรูปที่ 2.5. เยื่อหุ้มเซลล์ในสภาวะปกติละลายสภาพนำไฟฟ้า. ค่าสภาพยอมประสิทธิผล (Effective Permittivity) ของเซลล์ที่ความถี่  $\omega$  ขึ้นอยู่กับความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $C_m$ ), สภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์ ( $\sigma_c$ ), ค่าสภาพยอมภายในเซลล์ ( $\epsilon_c$ ) และรัศมีของเซลล์ ( $R$ ) ตามสมการ [54]

$$\epsilon_c = C_m R \left[ \frac{j\omega\tau_c + 1}{j\omega(\tau_m + \tau_c) + 1} \right] \quad (2.20)$$

เมื่อ

$$\tau_c = \frac{\epsilon_c}{\sigma_c} \quad (2.21)$$

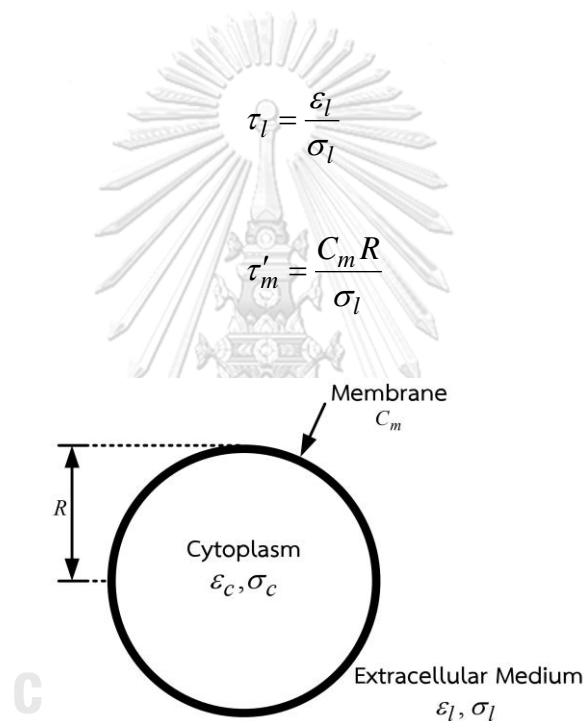
และ 
$$\tau_m = \frac{C_m R}{\sigma_c} \quad (2.22)$$

จากสมการที่ (2.13) ตัวประกอบคอลลีเซียส-มอสซอตติ เป็นไปตามสมการ

$$\mathbf{K}(\omega) = -\frac{\omega^2(\tau_l \tau_m - \tau_c \tau'_m) + j\omega(\tau'_m - \tau_l - \tau_m) - 1}{\omega^2(\tau_c \tau'_m + 2\tau_l \tau_m) - j\omega(\tau'_m + 2\tau_l + \tau_m) - 2} \quad (2.23)$$

เมื่อ 
$$\tau_l = \frac{\epsilon_l}{\sigma_l} \quad (2.24)$$

และ 
$$\tau'_m = \frac{C_m R}{\sigma_l} \quad (2.25)$$



รูปที่ 2.5 แบบจำลองเซลล์สิ่งมีชีวิตรูปทรงกลม.

การหาแรงไดโพลีโทรโพเรติกที่กระทำต่อเซลล์หรืออนุภาคที่ขึ้นอยู่กับความถี่ของสนามไฟฟ้ากระแสสลับจำเป็นต้องทราบค่า  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของสมการที่ (2.23).  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  เป็นตัวกำหนดชนิดของแรงไดโพลีโทรโพเรติกว่าเป็นแรงแบบบวกหรือแบบลบ. กรณี  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\} > 0$  และ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\} < 0$  แรงที่กระทำต่อเซลล์หรืออนุภาคเป็นแรงไดโพลีโทรโพเรติกแบบบวก (pDEP) และแรงไดโพลีโทรโพเรติกแบบลบ (nDEP) ตามลำดับ.  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์และอนุภาค รวมถึงสภาพนำไฟฟ้าของตัวกลางภายนอกเซลล์และอนุภาค. ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิस्टาโรน [54, 56, 57]. จากตารางที่ 2.1

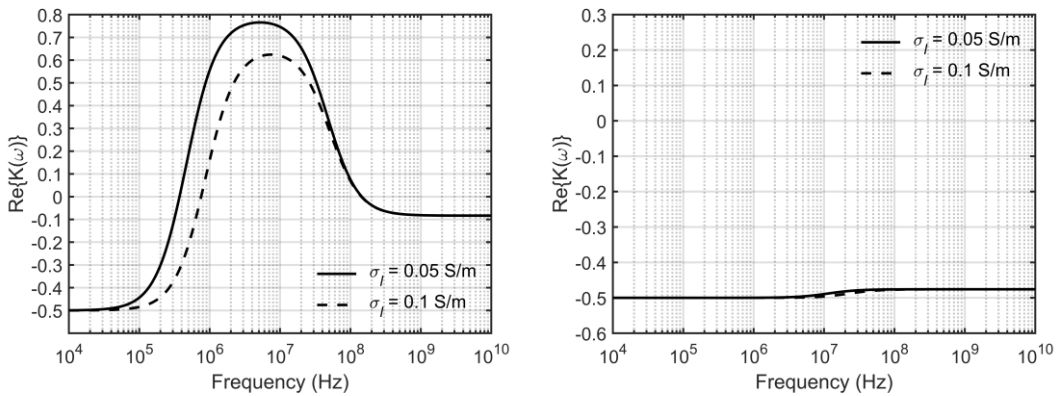
เราสามารถคำนวณ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ในช่วงความถี่ของสนามไฟฟ้าระหว่าง 10 kHz จนถึง 10 GHz ได้ ดังรูปที่ 2.6 เมื่อสารละลายบัฟเฟอร์มีสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.05 S/m หรือ 0.1 S/m และมีค่าสภาพยอมเท่ากับ  $78 \epsilon_0$  [54]. จากรูปที่ 2.6 (ก) แรงไดโพลเล็กโตรเรติกที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง แบ่งออกเป็น 3 ช่วง ขึ้นอยู่กับความถี่. พิจารณารูปที่ 2.7 เมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงอยู่ภายใต้สนามไฟฟ้า  $\vec{E}$ . กรณีความถี่ต่ำ กระแสไม่สามารถไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้. ภายในเซลล์มีสภาพคล้ายฉนวน. การสะสมของประจุที่เยื่อหุ้มเซลล์บริเวณด้านในและด้านนอกเซลล์มีความสมดุล ดังแสดงในรูป 2.7 (ก). กรณีนี้ ไดโพลโมเมนต์ประสิทธิพล  $\vec{p}$  สวนทิศทางกับสนามไฟฟ้า  $\vec{E}$ . แรง DEP ที่กระทำต่อเซลล์จึงเป็นแรง nDEP. ในความถี่ช่วงกลาง ภายในเซลล์มีสภาพเป็นไดโพลเล็กโตรริก. ค่า  $\sigma_c$  และ  $\sigma_l$  เป็นตัวกำหนดการเกิดโพราไรเซชันของเซลล์และสารละลายบัฟเฟอร์. กรณีที่  $\sigma_c > \sigma_l$  เซลล์เกิดโพราไรเซชันได้ง่ายกว่า. ประจุสะสมที่เยื่อหุ้มเซลล์บริเวณด้านในจึงมากกว่าด้านนอกเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7 (ข). แรง DEP ที่กระทำต่อเซลล์เป็นแรง pDEP เนื่องจากไดโพลโมเมนต์ประสิทธิพล  $\vec{p}$  มีทิศทางเช่นเดียวกับสนามไฟฟ้า  $\vec{E}$ . สำหรับความถี่สูง การเกิดโพราไรเซชันของเซลล์และสารละลายบัฟเฟอร์ ขึ้นอยู่กับค่า  $\epsilon_c$  และ  $\epsilon_l$  เป็นสำคัญ. กรณีที่  $\epsilon_c < \epsilon_l$  สารละลายบัฟเฟอร์เกิดโพราไรเซชันได้ง่ายกว่า. ประจุสะสมที่เยื่อหุ้มเซลล์บริเวณด้านนอกจึงมากกว่าด้านในเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7 (ค). ไดโพลโมเมนต์ประสิทธิพล  $\vec{p}$  มีทิศสวนทางกับสนามไฟฟ้า  $\vec{E}$  ทำให้แรง DEP ที่กระทำต่อเซลล์กลับมาเป็นแรง nDEP.

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีน.

พารามิเตอร์	เซลล์เม็ดเลือดแดง	อนุภาคพอลิสไตรีน	
รัศมี $R$ ( $\mu\text{m}$ ).	2.7	3	10
ความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะ $C_m$ ( $\text{mF}/\text{m}^2$ )	10	0	
ค่าสภาพยอมภายในเซลล์/อนุภาค $\epsilon_c$ (F/m)	$60 \epsilon_0$	$2.6 \epsilon_0$	
สภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์/อนุภาค $\sigma_c$ (S/m)	0.5	0	

ในรูปที่ 2.6 เรานิยามความถี่ตัดข้าม (Crossover Frequency,  $f_c$ ) เป็นความถี่ที่ทำให้ส่วนจริงของตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติมีค่าเท่ากับศูนย์. เมื่อสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_l$  ของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 0.05 S/m ความถี่ตัดข้ามของเซลล์เม็ดเลือดแดง  $f_c$  เท่ากับ 372 kHz และ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.76 ที่ความถี่ 5.2 MHz.  $f_c$  เพิ่มขึ้นเป็น 757 kHz เมื่อ  $\sigma_l$  เท่ากับ 0.1 S/m และ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.62 ที่ความถี่ 7.5 MHz. กรณีของอนุภาคพอลิสไตรีน  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าประมาณ -0.5 ที่ทุกๆ ความถี่ของสนามไฟฟ้า เมื่อ  $\sigma_l$  เท่ากับ 0.05 S/m และ 0.1 S/m.

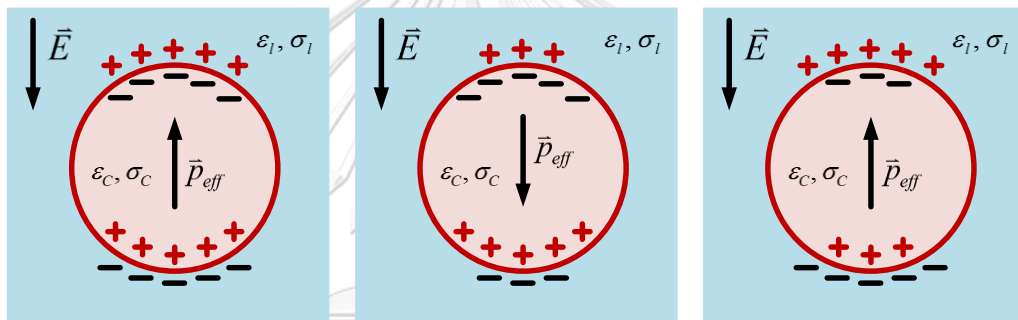




(ก) เซลล์เม็ดเลือดแดง.

(ข) อนุภาคพอลิस्टาไทรน.

รูปที่ 2.6 ค่า  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิस्टาไทรน.



(ก) ความถี่ต่ำ.

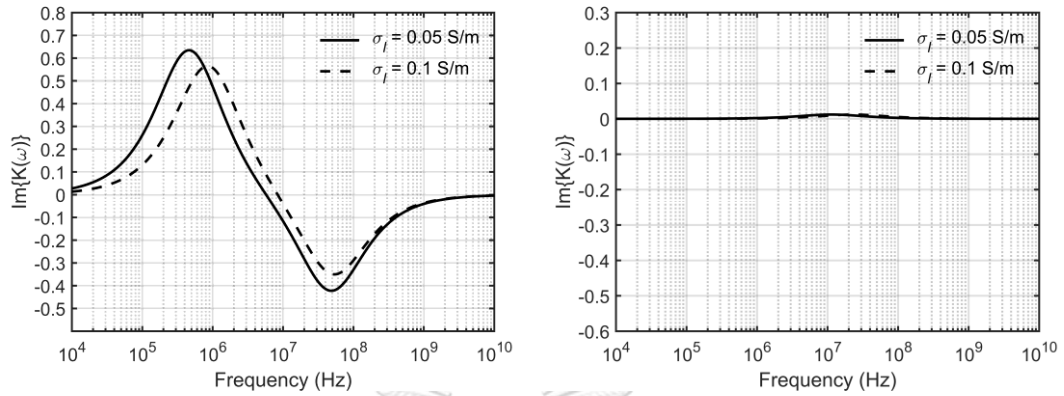
(ข) ความถี่ช่วงกลาง.

(ค) ความถี่สูง.

รูปที่ 2.7 ประจุมุมสมบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่ขึ้นอยู่กับความถี่ของสนามไฟฟ้า.

รูปที่ 2.8 แสดงค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิस्टาไทรน. จากกราฟความถี่ที่ทำให้  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าสูงสุดเรียกว่าความถี่การหมุนสูงสุด (Maximum Rotating Frequency,  $f_{RM}$ ). เซลล์เม็ดเลือดแดงมีค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  สูงสุดเท่ากับ 0.635 ที่  $f_{RM}$  เท่ากับ 461 kHz เมื่อ  $\sigma_l$  เท่ากับ 0.05 S/m. ที่  $\sigma_l$  เพิ่มเป็น 0.1 S/m ค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.57 ที่  $f_{RM}$  เท่ากับ 848 kHz. สำหรับอนุภาคพอลิस्टาไทรน  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าเท่ากับศูนย์. ที่  $\sigma_l$  ทั้งสองค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีค่าเปลี่ยนแปลงจากบวกเป็นลบที่ความถี่ช่วง 1 MHz จนถึง 10 MHz. ความถี่ ณ จุดดังกล่าวเรียกว่าความถี่วิกฤติการหมุน (Rotating Critical Frequency,  $f_{R0}$ ). เซลล์เม็ดเลือดแดงมีการกลับทิศทางการหมุนจากทวนเข็มนาฬิกาเป็นตามเข็มนาฬิกาหรือในทาง

กลับกัน. เซลล์เม็ดเลือดแดงมีค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  เท่ากับศูนย์ที่ความถี่  $f_{R0}$  เท่ากับ 5.7 MHz และ 8.4 MHz ที่  $\sigma_f$  เท่ากับ 0.05 S/m และ 0.1 S/m ตามลำดับ.



(ก) เซลล์เม็ดเลือดแดง.

(ข) อนุภาคพอลิสไตรีน.

รูปที่ 2.8 ค่า  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีน.

## บทที่ 3

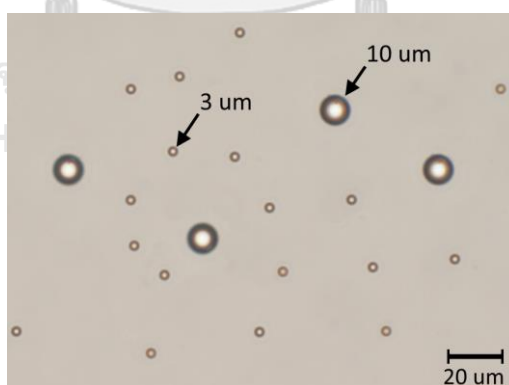
### อุปกรณ์การทดลอง

#### 3.1 อนุภาคฉนวนและเซลล์เลือด

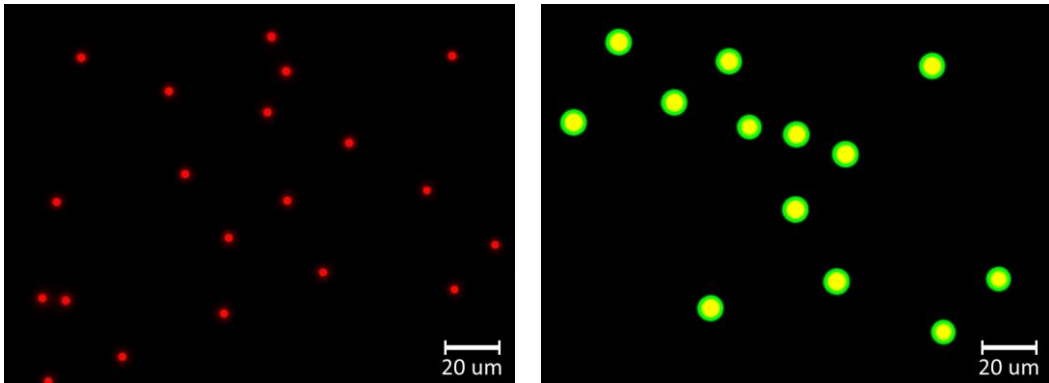
วิทยานิพนธ์นี้ ใช้อนุภาคฉนวนและเซลล์เลือดสำหรับการทดลองคัดแยกอนุภาคฉนวนและเซลล์เลือดด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาค. อนุภาคฉนวนที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

- 1) อนุภาคพอลิสไตรีน (PolyBead<sup>®</sup> 17134, Polysciences) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3  $\mu\text{m}$ .
- 2) อนุภาคพอลิสไตรีน (PolyBead<sup>®</sup> 17136, Polysciences) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10  $\mu\text{m}$ .
- 3) อนุภาคพอลิสไตรีนย้อมฟลูออเรสเซนต์สีแดง (Fluoresbrite<sup>®</sup> 19508-2, Polysciences) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2  $\mu\text{m}$ .
- 4) อนุภาคพอลิสไตรีนย้อมฟลูออเรสเซนต์สีเหลืองและเขียว (Fluoresbrite<sup>®</sup> 17156-2, Polysciences) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6  $\mu\text{m}$ .

รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะของอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และ 10  $\mu\text{m}$  ที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 60X (IX73, Olympus). รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะของอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 2  $\mu\text{m}$  และ 6  $\mu\text{m}$  ภายใต้แสงยูวีที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 60X (IX73, Olympus). อนุภาคพอลิสไตรีนถูกเก็บรักษาในน้ำปราศจากไอออนและแช่เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4°C.



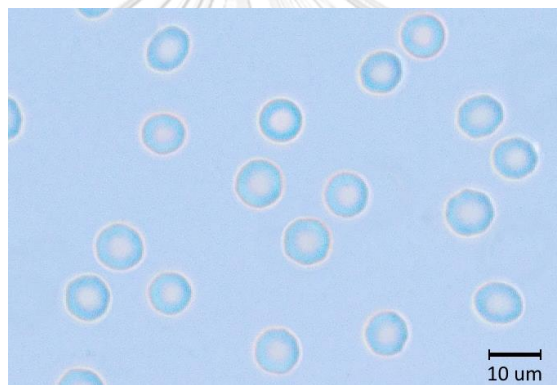
รูปที่ 3.1 อนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3 และ 10  $\mu\text{m}$ .



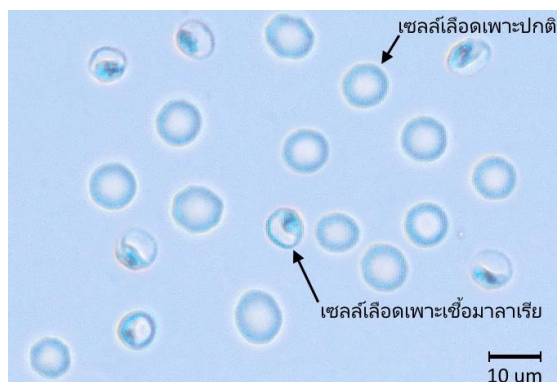
(ก) อนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 2  $\mu\text{m}$ .

(ข) อนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 6  $\mu\text{m}$ .

รูปที่ 3.2 อนุภาคพอลิสไตรีนย้อมฟลูออเรสเซนซ์.



รูปที่ 3.3 เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจากเลือดเต็มในสารละลายบัฟเฟอร์.



รูปที่ 3.4 เซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียในสารละลายบัฟเฟอร์.

เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

1) เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติมี 2 ลักษณะ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดงจากเลือดเต็มที่ได้จากอาสาสมัคร และเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้จากการเพาะเซลล์เลือดในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640. รูปที่ 3.3 แสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจากเลือดเต็มในสารละลายบัฟเฟอร์. เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ  $7.88 \pm 0.51 \mu\text{m}$  (จากตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวน 100 เซลล์). รูปที่ 3.4 แสดงลักษณะเซลล์เลือดเพาะปกติในสารละลายบัฟเฟอร์. เซลล์เลือดเพาะปกติมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ  $8.08 \pm 0.38 \mu\text{m}$ .

2) เซลล์เม็ดเลือดแดงติดเชื้อมาลาเรียเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ผ่านการเพาะเชื้อมาลาเรีย Plasmodium Falciparum ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 ที่ประกอบด้วย HEPES,  $\text{NaHCO}_3$ , Gentamicin 40 mg/ml, และ 10% (v/v) Heat-Inactivated Human AB Serum. เซลล์ถูกเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  (5%  $\text{CO}_2$ ) เป็นเวลา 30-36 ชั่วโมง. จากนั้น เซลล์เพาะเลี้ยงถูกคัดกรองเอาเฉพาะเซลล์เลือดที่ติดเชื้อมาลาเรียด้วย Magnetic Column (LS Column, Miltenyi Biotec) และถูกแช่กลับลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640. เซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ  $8.01 \pm 0.46 \mu\text{m}$  (วัดจากเซลล์จำนวน 100 เซลล์). รูปที่ 3.4 แสดงลักษณะเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียในสารละลายบัฟเฟอร์. การจัดเตรียมเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียดำเนินการโดย Cell and Tissue Culture Resources Unit (CTCRU) คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล.

### 3.2 อุปกรณ์ของไหลจุลภาค

อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้ในการคัดแยกอนุภาคและเซลล์เลือด มีส่วนประกอบสำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ อิเล็กโตรดแบบซี่หวี (Interdigitated Electrodes) และช่องทางไหลจุลภาค (Microchannel). การสร้างช่องทางไหลจุลภาคใช้กระบวนการซอฟต์แวร์ลิโทกราฟี (Softlithography) ส่วนอิเล็กโตรดสร้างด้วยกระบวนการ Lift-Off.

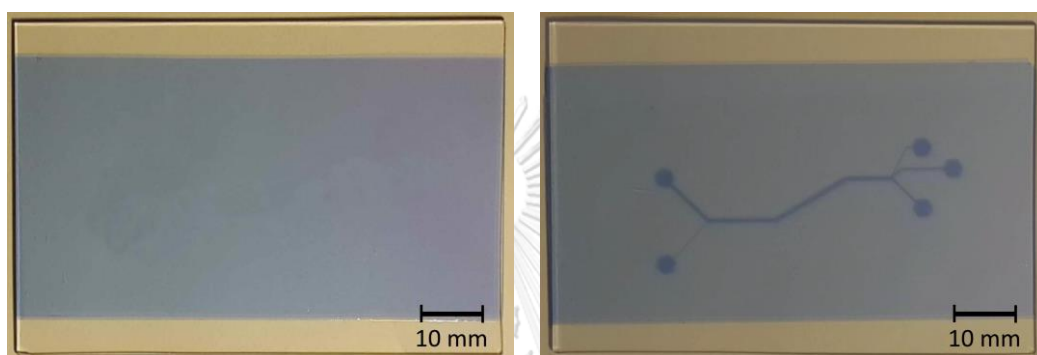
การสร้างช่องทางไหลจุลภาค แม่แบบของช่องทางไหลสามารถทำจากฟิล์มไวแสงแบบแผ่นฟิล์มหรือแบบของเหลว โดยสามารถแยกอธิบายขั้นตอนตามหัวข้อย่อยต่างๆ ดังนี้

#### 3.2.1 การสร้างแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาคจากฟิล์มไวแสง RY-3315EE (Hitachi Chemical) ทน $15 \mu\text{m}$ .

- ทำความสะอาดกระจกสไลด์ด้วยไอโซโพรพานอล (AR Grade, Qrec) ในเครื่องล้างอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที. จากนั้น ล้างกระจกสไลด์ด้วยน้ำ DI, เป่ากระจกสไลด์ให้

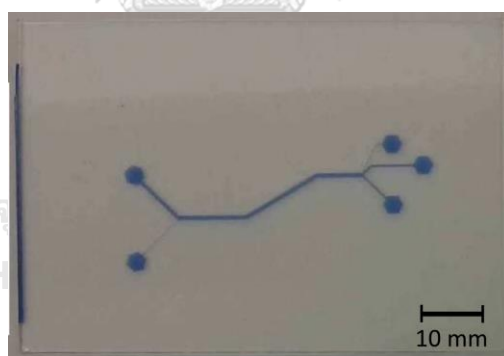
แห้ง และนำไปวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อไล่ความชื้น.

- ติดแผ่นฟิล์มไวแสงลงบนกระจกสไลด์ด้วยเครื่องรีดแบบลูกกลิ้งความร้อน (PDA3-330C) โดยใช้อุณหภูมิเท่ากับ 110°C. รูปที่ 3.5 (ก) แสดงลักษณะชิ้นงานที่แปะฟิล์มไวแสงลงบนกระจกสไลด์.
- นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที.



(ก) ก่อนฉายแสงยูวี.

(ข) หลังฉายแสงยูวี.



(ค) หลังล้างด้วย Developer.

รูปที่ 3.5 ตัวอย่างแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาคที่ทำด้วยฟิล์มไวแสงแบบแผ่นฟิล์ม.

- ฉายแสงยูวีลงบนฟิล์มไวแสงผ่านหน้ากากบังแสงที่มีรูปร่างของช่องทางไหลจุลภาคเป็นเวลา 6 วินาที. หลอดยูวีถูกเปิดทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้ความเข้มของแสงคงที่. รูปที่ 3.5 (ข) แสดงตัวอย่างชิ้นงานที่ผ่านการฉายแสงยูวีผ่านหน้ากากบังแสง.
- หลังจากฉายแสงยูวี นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 30 นาที.

- ล้างชิ้นงานด้วยส่วนผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต (AR Grade, Ajax-Finechem) กับน้ำ DI ในอัตราส่วนโซเดียมคาร์บอเนต 1 g ต่อน้ำ DI ปริมาตร 100 ml. จากนั้น ชิ้นงานถูกล้างด้วยน้ำ DI ให้สะอาดและเป่าชิ้นงานด้วยลมเพื่อไล่หยดน้ำบนชิ้นงาน.
- นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 10 นาที และอุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที. รูปที่ 3.5 (ค) แสดงตัวอย่างแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาค.

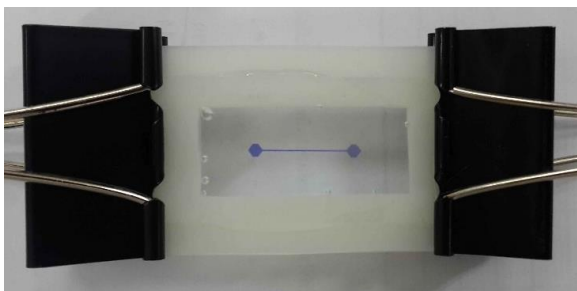
### 3.2.2 การสร้างแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาคจากฟิล์มไวแสง SU-8 5 (Micro Chem)

- ล้างกระจกสไลด์ด้วยขั้นตอน ดังรายละเอียดที่แสดงในหัวข้อที่ 3.2.1.
- ติดตั้งกระจกสไลด์ลงบนฐานของเครื่อง Spin Coater (KW-4A, Chemat Technology) และหยดฟิล์มไวแสงแบบของเหลวลงบนกระจกสไลด์จนทั่ว.
- ปั่นเหวี่ยงชิ้นงานด้วยความเร็ว 500 rpm เป็นเวลา 5 วินาที และ 1,500 rpm เป็นเวลา 30 วินาที. ฟิล์มไวแสงที่ถูกเคลือบบนผิวกระจกสไลด์มีความหนาประมาณ 10  $\mu\text{m}$ .
- นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 2 นาที และอุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 5 นาที.
- ฉายแสงยูวีลงบนฟิล์มไวแสงผ่านหน้ากากบังแสงเป็นเวลา 6 วินาที.
- นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 1 นาที และอุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 1.5 นาที.
- ล้างชิ้นงานด้วยสารละลาย Developer (1-Methoxy-2-propanol, Sigma-Aldrich) โดยแช่ชิ้นงานลงในสารละลายเป็นเวลา 3 นาที. จากนั้น ล้างชิ้นงานด้วยไอโซโพรพานอล ให้สะอาดและเป่าด้วยลม.
- นำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 120°C เป็นเวลา 5 นาที.

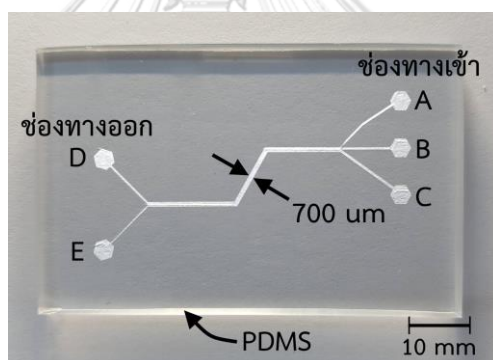
### 3.2.3 การหล่อขึ้นรูปช่องทางไหลจุลภาคด้วยสารพอลิเมอร์

- ผสมสารกันติด (Barrier-Coat No.6, ShinEtsu) กับโทลูอีน (Toluene) ด้วยอัตราส่วน 1:20 โดยปริมาตร.
- วางแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาคบนฐานของเครื่อง Spin Coater (KW-4A, Chemat Technology) และหยดสารกันติดลงบนชิ้นงานจนทั่ว.
- ปั่นเหวี่ยงชิ้นงานด้วยความเร็ว 500 rpm เป็นเวลา 12 วินาที และ 3,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที.

- ผสมสารพอลิเมอร์โพลีไดเมทิลไซลอกเซน (KE-106, ShinEtsu) กับตัวเร่งปฏิกิริยา (CAT-RG, ShinEtsu) ในอัตราส่วน 10:1 โดยมวล. สารพอลิเมอร์ถูกกวนให้เข้าด้วยเครื่องกวนแบบสั่น (G560E, Scientific Industries) เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที และนำสารผสมเข้าโถแก้วสุญญากาศ (Dessicator) เพื่อไล่ฟองอากาศ.



รูปที่ 3.6 ตัวอย่างชิ้นงานที่เทสารพอลิเมอร์ลงบนแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาค



รูปที่ 3.7 ช่องทางไหลจุลภาคสำหรับการคัดแยกเซลล์เลือดและอนุภาคพอลิสไตรีน.

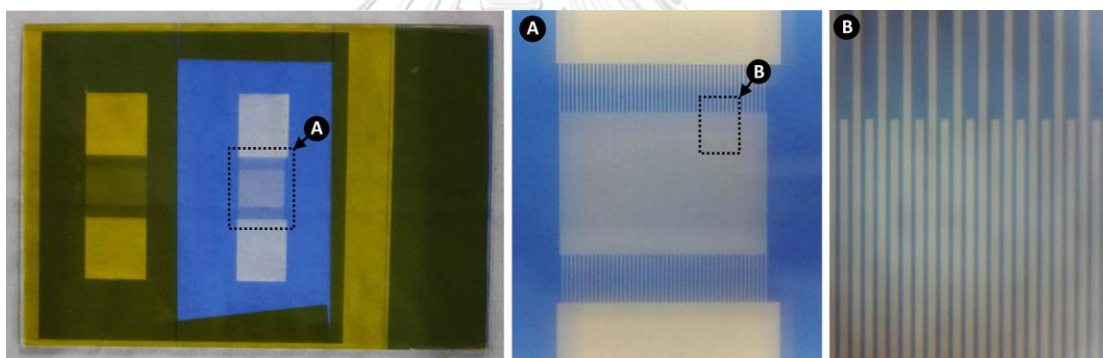
- เทสารพอลิเมอร์ลงบนแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาค โดยใช้ยางซิลิโคนความหนา 3 mm ทำเป็นแบบหล่อและปิดทับด้านบนด้วยกระจกสไลด์ที่ถูกเคลือบด้วยสารกันติด ดังแสดงในรูปที่ 3.6.
- นำชิ้นงานเข้าเตาอบความร้อน (RE53, Binder) ที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง.
- นำชิ้นงานออกจากเตาอบความร้อนและตัดชิ้นงานให้ได้ขนาดตามต้องการ. จากนั้นชิ้นงานถูกล้างด้วยโทลูอีนเป็นเวลา 2 นาที และไอโซโพรพานอลเป็นเวลา 5 นาที โดยใช้เครื่องล้างอัลตราโซนิก.



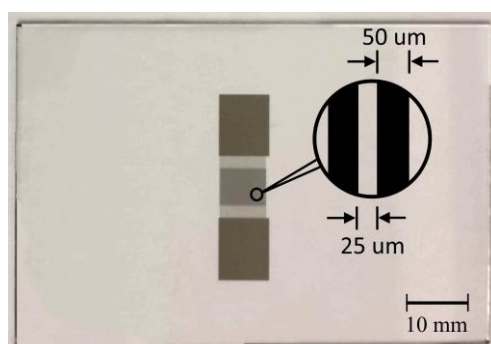
- ขั้นตอนสุดท้าย นำชิ้นงานที่ผ่านล้างทำความสะอาดวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ  $85^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง. รูปที่ 3.7 แสดงลักษณะของช่องทางไหลจุลภาคที่ใช้สำหรับ คัดแยกเซลล์เลือดและอนุภาคพอลิสไตรีน. ช่องทางไหลจุลภาคมีความกว้าง  $700\ \mu\text{m}$  และลึก  $15\ \mu\text{m}$ . ทางด้านขาเข้าประกอบด้วยช่องทางเข้า A, B และ C ส่วนทางด้านขาออกประกอบด้วยช่องทางออก D และ E.

### 3.2.4 การสร้างอิเล็กทรอนิกส์จากแม่แบบฟิล์มไวแสง RY-3315EE.

- การทำแม่แบบของอิเล็กทรอนิกส์จากฟิล์มไวแสงมีขั้นตอนเช่นเดียวกับการทำแม่แบบของช่องทางไหลจุลภาค ดังหัวข้อที่ 3.2.1. รูปที่ 3.8 แสดงแม่แบบของอิเล็กทรอนิกส์สำหรับนำไปเคลือบโลหะด้วยกระบวนการสปัตเตอร์. ชิ้นงานถูกปิดด้วยเทปพอลิเอไมด์ (Low Static Polyimide Film Tape 5419, 3M) ในส่วนที่ไม่ต้องการให้โลหะติดกับฐานกระจก.



รูปที่ 3.8 แม่แบบของอิเล็กทรอนิกส์สำหรับนำไปเคลือบโลหะด้วยกระบวนการสปัตเตอร์.



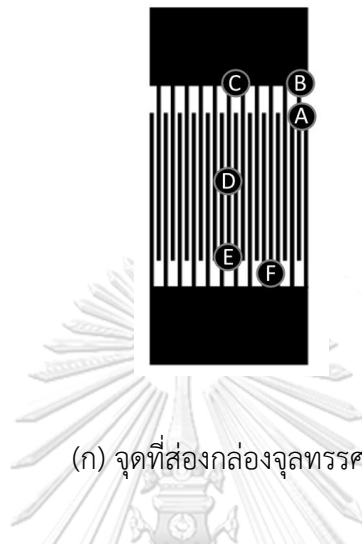
รูปที่ 3.9 อิเล็กทรอนิกส์แบบซี่หวีระยะแกป  $25\ \mu\text{m}$ .

- ชั้นงานดังแสดงในรูปที่ 3.8 ถูกนำไปเคลือบโลหะด้วยกระบวนการสปีดเตอร์. โลหะชั้นแรกที่ใช้เคลือบลงบนชั้นงานเป็นโครเมียม ส่วนชั้นที่สองเป็นอลูมิเนียมหรือทองคำ. ชั้นของโลหะดังกล่าว มีความหนาประมาณ 200 nm.
- ชั้นงานที่ผ่านกระบวนการสปีดเตอร์ถูกนำมาล้างด้วยอะซิโตน (Acetone) ในเครื่องล้างอัลตราโซนิค เพื่อนำส่วนของฟิล์มไวแสงออกจากฐานกระจก. จากนั้น ชั้นงานถูกล้างด้วยไอโซโพรพานอลในเครื่องล้างอัลตราโซนิคเป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการล้างชั้นงานด้วยน้ำ DI และเป่าด้วยลม. ขั้นตอนสุดท้าย ชั้นงานถูกวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เพื่อทำการไล่ความชื้น. รูปที่ 3.9 แสดงลักษณะของอิเล็กโตรดซีวีที่ได้จากกระบวนการ Lift-Off. อิเล็กโตรดมีความกว้างของตัวนำ 50  $\mu\text{m}$  และมีระยะห่าง 25  $\mu\text{m}$  ระหว่างอิเล็กโตรดข้างตรงกันข้าม. อิเล็กโตรดมีจำนวนทั้งหมด 100 คู่.

### 3.2.5 การสร้างแม่แบบของอิเล็กโตรดจากฟิล์มไวแสง NR9-3000PY (Futurrex).

- ติดตั้งกระจกสไลด์ที่ผ่านการทำความสะอาดลงบนฐานของเครื่อง Spin Coater และหยดฟิล์มไวแสงลงบนกระจกสไลด์จนทั่ว.
- ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 500 rpm เป็นเวลา 12 วินาที และ 3,000 rpm เป็นเวลา 40 วินาที. ชั้นฟิล์มไวแสงมีความหนาประมาณ 3  $\mu\text{m}$ .
- วางชั้นงานบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 3.5 นาที.
- ฉายแสงยูวีลงบนฟิล์มไวแสงผ่านหน้ากากบังแสงเป็นเวลา 4 วินาที.
- หลังจากฉายแสงยูวี นำชั้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 3.5 นาที.
- ล้างชั้นงานด้วยสารละลาย Developer (RD6, Futurrex) เป็นเวลา 10 วินาที และล้างด้วยน้ำ DI เป็นเวลา 5 วินาที. การล้างชั้นงานใช้วิธีจุ่มชั้นงานลงในสารละลาย Developer และน้ำ DI. จากนั้น นำชั้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C และ 100°C เป็นเวลา 2 นาทีและ 5 นาที ตามลำดับ. รูปที่ 3.10 แสดงลักษณะของฟิล์มไวแสง ณ จุดต่างๆ บนแม่แบบของอิเล็กโตรด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Eclipse E200, Nikon) กำลังขยาย 40X.
- จากแม่แบบที่ถูกทำขึ้นด้วยฟิล์มไวแสงแบบของเหลว ชั้นงานถูกนำไปเคลือบโลหะด้วยกระบวนการสปีดเตอร์.
- ชั้นงานที่ผ่านกระบวนการสปีดเตอร์ถูกนำมาล้างด้วยสารละลาย (RR5, Futurrex) ในเครื่องล้างอัลตราโซนิค เพื่อนำส่วนของฟิล์มไวแสงออกจากฐานกระจก.

- ชั้นงานถูกล้างด้วยไอโซโพรพานอลในเครื่องล้างอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการล้างด้วยน้ำ DI และเป่าด้วยลม. ขั้นตอนสุดท้าย ชั้นงานถูกวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เพื่อทำการไล่ความชื้น.



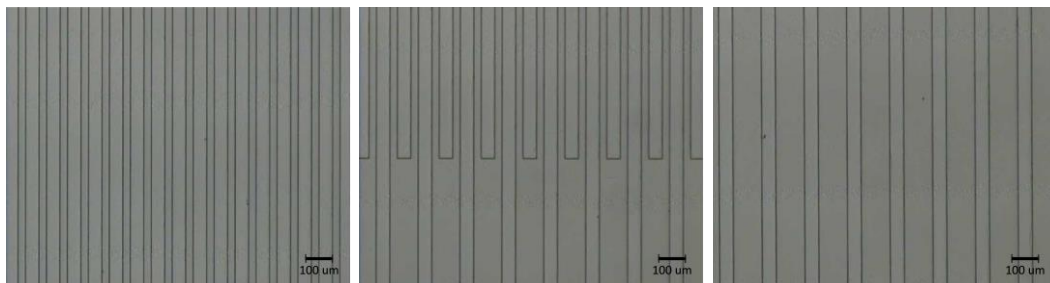
(ก) จุดที่ส่องกล้องจุลทรรศน์.



(ข) จุด A.

(ค) จุด B.

(ง) จุด C.



(จ) จุด D.

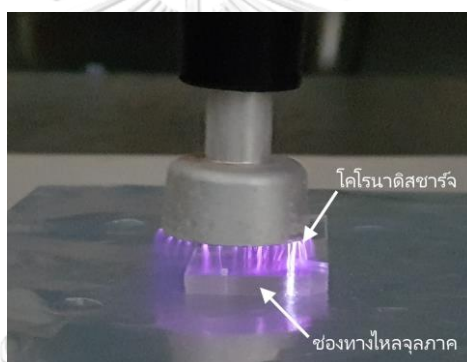
(ฉ) จุด E.

(ช) จุด F.

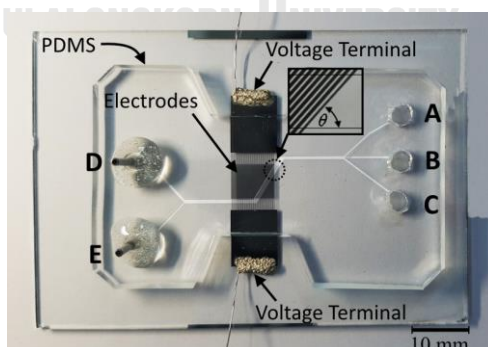
รูปที่ 3.10 ลักษณะของฟิล์มไวแสง ณ จุดต่างๆ บนแม่แบบของอีเล็คโตรด.

### 3.2.6 การประกอบช่องทางไหลจุลภาคเข้ากับฐานกระจกที่มีอิเล็กโตรด

- ช่องทางไหลจุลภาคถูกปรับสภาพพื้นผิวโดยใช้โคโรนาดีสชาร์จ (BD-20AC, Electro-Technic-Product) เป็นเวลา 2 นาที เพื่อเพิ่มความแข็งแรงในการยึดติดและป้องกันการรั่วซึมของสารละลาย. รูปที่ 3.11 แสดงการปรับสภาพพื้นผิวของช่องทางไหลจุลภาคโดยใช้โคโรนาดีสชาร์จ.
- ประกอบช่องทางไหลจุลภาคกับฐานกระจกที่มีอิเล็กโตรด จากนั้น จึงนำชิ้นงานวางบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 20 นาที.
- ทำการต่อขั้วต่อสายยางซิลิโคนที่ช่องทางออกของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคสำหรับใช้ต่อกับปั๊มกระบอกฉีดยา. รูปที่ 3.12 แสดงตัวอย่างของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ประกอบเสร็จเรียบร้อยแล้ว โดยอิเล็กโตรดทำมุมเอียง  $\theta$  กับช่องทางไหลจุลภาค.



รูปที่ 3.11 การปรับสภาพพื้นผิวของช่องทางไหลจุลภาคโดยใช้โคโรนาดีสชาร์จ.

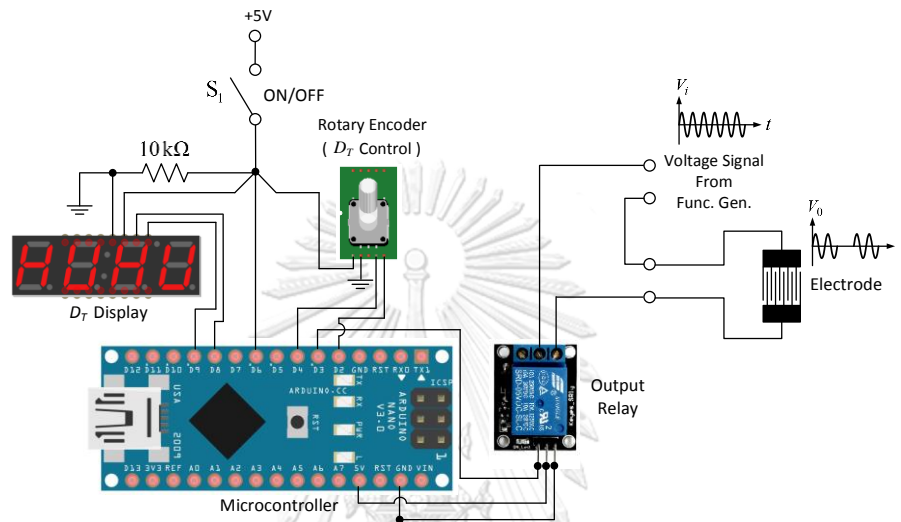


รูปที่ 3.12 อุปกรณ์ของไหลจุลภาคสำหรับการคัดแยกเซลล์และอนุภาค.

### 3.3 อุปกรณ์สร้างแรงดันไฟฟ้า

การทดลองคิดแยกอนุภาคและเซลล์เลือด, การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเตชันของเซลล์เลือดใช้อุปกรณ์สร้างแรงดันไฟฟ้าเพื่อจ่ายให้กับอิเล็กโตรด ใช้อุปกรณ์ดังต่อไปนี้

1) เครื่องกำเนิดสัญญาณ (AFG3021B, Tektronix) เป็นแหล่งกำเนิดแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ที่มีพิกัด  $10\text{ V}_p$ ,  $1\text{ }\mu\text{Hz} - 25\text{ MHz}$ .



(ก) วงจรควบคุมควบคุมวัฏจักรหน้าที่.

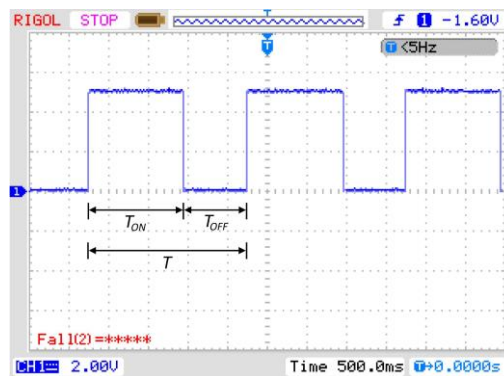


(ข) อุปกรณ์ที่ประกอบสำเร็จ.

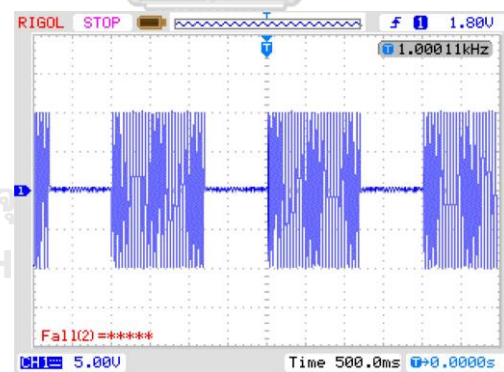
รูปที่ 3.13 อุปกรณ์ควบคุมวัฏจักรหน้าที่ของแรงดันไฟฟ้า.

2) อุปกรณ์ควบคุมวัฏจักรหน้าที่ (Duty Cycle,  $D_T$ ) ของแรงดันไฟฟ้าเป็นอุปกรณ์ควบคุมแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กโตรด. วงจรควบคุมวัฏจักรหน้าที่ประกอบด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ATmega328 ที่มีความเร็วสัญญาณนาฬิกา  $16\text{ MHz}$  เป็นตัวสร้างสัญญาณควบคุม. รูปที่ 3.13 (ก) และ (ข) แสดงรายละเอียดของวงจรและอุปกรณ์ควบคุมวัฏจักรหน้าที่ของแรงดันไฟฟ้าที่เสร็จ

เรียบร้อย. สัญญาณควบคุมเป็นรูปคลื่นสี่เหลี่ยมที่มีคาบเวลาเท่ากับ  $T$  , ช่วงเวลา  $T_{ON}$  ที่สัญญาณควบคุมมีระดับแรงดันเท่ากับ  $5 V_p$  และช่วงเวลา  $T_{OFF}$  แรงดันเป็นศูนย์. ค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  เป็นอัตราส่วนระหว่าง  $T_{ON}$  กับ  $(T_{ON} + T_{OFF})$  โดยวงจรสามารถปรับค่า  $D_T$  ได้ตั้งแต่ 0.5 จนถึง 1.0 และสามารถปรับเพิ่มหรือลดได้ขั้นละ 0.5. การปรับค่า  $D_T$  อาศัยการปรับช่วงเวลา  $T_{ON}$  ของสัญญาณควบคุมผ่าน Rotary Encoder และแสดงค่า  $D_T$  ผ่าน LED 7-Segment. คาบเวลา  $T$  สามารถตั้งค่าได้ตั้งแต่ 0.5 – 5 วินาที ผ่านการโปรแกรมโดยตรงที่ตัวไมโครคอนโทรลเลอร์.



(ก) สัญญาณควบคุม  $D_T = 0.6$ ,  $T = 2$  sec.

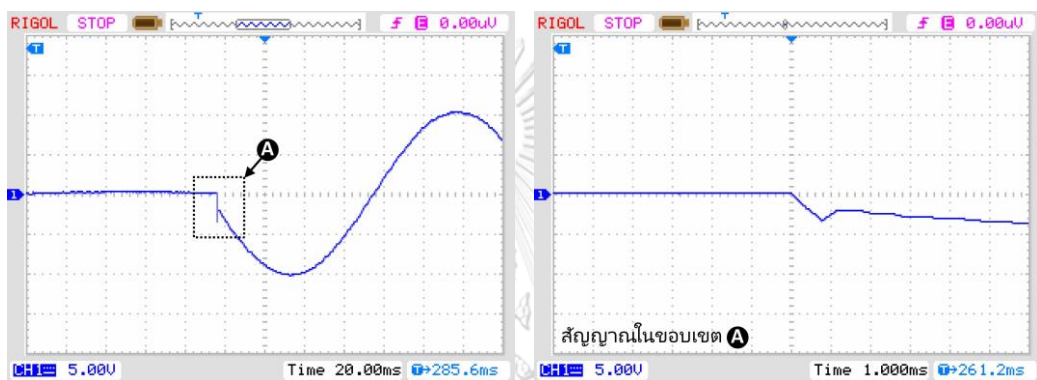


(ข) แรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ความถี่ 1 kHz สำหรับจ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์

รูปที่ 3.14 สัญญาณควบคุมและแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ขาออกของอุปกรณ์ควบคุมสัญญาณแรงดัน.

จากวงจรในรูปที่ 3.13 (ก) สัญญาณควบคุมจากไมโครคอนโทรลเลอร์ถูกส่งไปเปิด-ปิดการทำงานของเอาต์พุตรีเลย์ และรีเลย์ทำหน้าที่ควบคุมการจ่ายแรงดันไฟฟ้าให้กับอิเล็กทรอนิกส์. ด้วยเหตุนี้แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์จึงสัมพันธ์กับช่วงเวลา  $T_{ON}$  และ  $T_{OFF}$  ของสัญญาณควบคุม. รูปที่ 3.14 (ก) และ (ข) แสดงตัวอย่างของสัญญาณควบคุมและแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ความถี่ 1 kHz

สำหรับจ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์ เมื่อ  $D_T = 0.6$  และคาบเวลา  $T = 2$  sec. การเปิด-ปิดของหน้าสัมผัสรีเลย์ใช้เวลาต่ำสุดประมาณ 50 ms และจุดที่หน้าสัมผัสเปิด-ปิดไม่ตรงกับตำแหน่งที่แรงดันเท่ากับศูนย์ จึงทำให้เกิดการแกว่งของแรงดันไฟฟ้าเป็นช่วงเวลาประมาณ 1 ms. อย่างไรก็ตาม การแกว่งของแรงดันดังกล่าว ไม่ส่งผลกระทบต่อแรง DEP ที่กระทำต่อเซลล์หรืออนุภาค. รูปที่ 3.15 (ก) และ (ข) แสดงแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ขาออกของอุปกรณ์ควบคุมสัญญาณแรงดันขณะที่หน้าสัมผัสของรีเลย์เปิดและปิด ตามลำดับ. แรงดันไฟฟ้าในรูปมีแอมพลิจูด (Amplitude) เท่ากับ  $10 V_p$  และความถี่เท่ากับ 750 kHz.



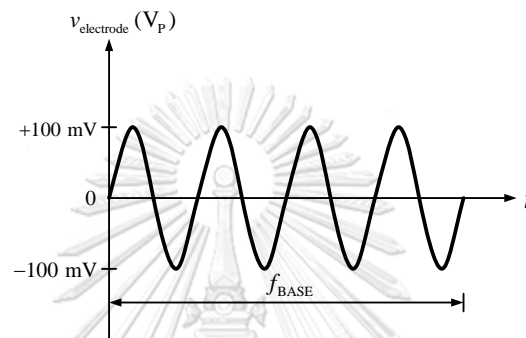
(ก) ช่วงเวลาที่หน้าสัมผัสรีเลย์ปิด.



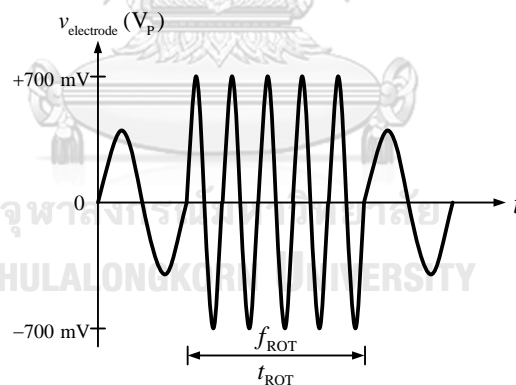
(ข) ช่วงเวลาที่หน้าสัมผัสรีเลย์เปิด.

รูปที่ 3.15 รูปคลื่นไซน์ขาออกของอุปกรณ์ควบคุมสัญญาณแรงดันและภาพขยายขณะที่รีเลย์เปิด-ปิด.

3) อุปกรณ์สร้างสัญญาณแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ 4 เฟส ใช้สำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเตชันของเซลล์เลือด โดยสัญญาณแรงดันแต่ละเฟสมีมุมต่างเฟสเท่ากับ  $90^\circ$ . สัญญาณแรงดันแต่ละเฟสมีลักษณะแสดงดังรูปที่ 3.16. รูปที่ 3.16 (ก) เป็นรูปสัญญาณแรงดันความถี่พื้นฐาน ( $f_{\text{BASE}}$ ) ที่ทำให้แรง DEP ที่กระทำต่อเซลล์เป็นแบบลบ เพื่อรักษาตำแหน่งของเซลล์ให้อยู่กึ่งกลางระหว่างอิเล็กโทรดดังแสดงในรูปที่ 4.14. รูปที่ 3.16 (ข) เป็นรูปสัญญาณของแรงดันความถี่ ( $f_{\text{ROT}}$ ) สำหรับการหมุนตัวของเซลล์ เพื่อดูทิศทางการหมุนและอัตราเร็ว.



(ก) ความถี่พื้นฐาน ( $f_{\text{BASE}}$ ).



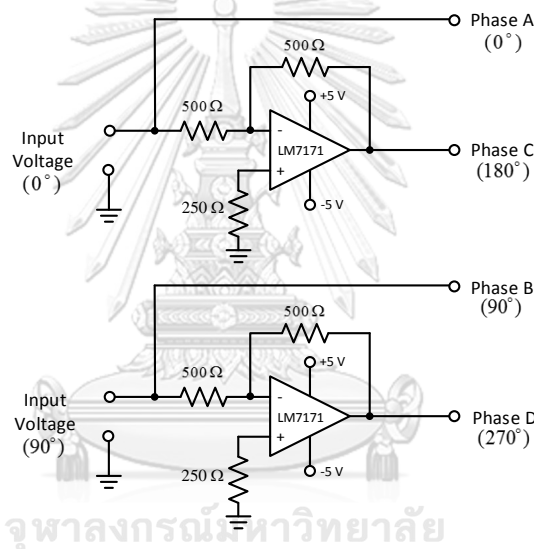
(ข) การเปลี่ยนแปลงความถี่ ( $f_{\text{ROT}}$ ) สำหรับการหมุนตัวของเซลล์.

รูปที่ 3.16 ลักษณะความถี่ของแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กโทรด.

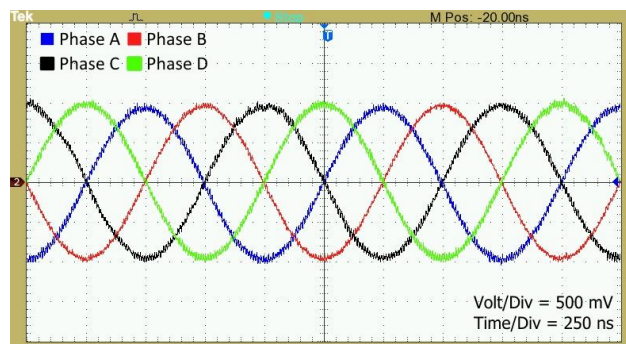
การสร้างสัญญาณแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ 4 เฟสอาศัยวงจรขยายแบบกลับขั้ว (Inverting Amplifier Circuit) ด้วยออปแอมป์ LM7171 (Texas Instruments) ดังแสดงในรูปที่ 3.17. วงจรสามารถทำงานในย่านความถี่ตั้งแต่ 10 kHz จนถึง 25 MHz โดยสัญญาณขาเข้าและขาออกมีการ



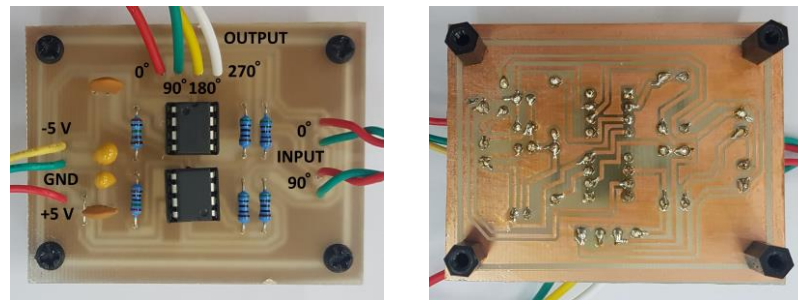
เลื่อนเฟสไม่เกิน 15 %. วงจรมีอัตราขยายแรงดันเท่ากับ -1. สัญญาณขาเข้าของวงจรเป็นแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์มีมุม  $0^\circ$  และ  $90^\circ$  ที่ได้จากเครื่องกำเนิดสัญญาณ (AFG3022C, Tektronix). จากนั้น สัญญาณขาเข้าจะถูกแยกออกเป็นแรงดันเฟส A, B, C และ D ทางด้านขาออกของวงจรที่มีมุมเฟส  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  และ  $270^\circ$  ตามลำดับ. รูปที่ 3.18 แสดงสัญญาณแรงดันเอาต์พุตของวงจรที่มีความถี่ 1 MHz,  $1 V_p$  ระหว่างเฟส A, B, C และ D. แผ่นวงจรพิมพ์ของวงจรสร้างสัญญาณแรงดันไฟฟ้า เมื่อติดตั้งอุปกรณ์ส่วนต่างๆ แสดงดังรูปที่ 3.19 (ก). แหล่งจ่ายแรงดัน  $\pm 5 V$  สำหรับจ่ายให้กับวงจรสร้างสัญญาณแรงดันไฟฟ้าใช้ไอซี LM317 (Texas Instruments) และ LM337 (Texas Instruments). วงจรทั้งหมดถูกบรรจุอยู่ในกล่องโลหะเพื่อป้องกันสัญญาณรบกวนดังรูปที่ 3.19 (ข) โดยภายนอกมีหัวต่อสายแบบ BNC สำหรับสัญญาณขาเข้าและขาออก ดังแสดงในรูปที่ 3.19 (ค).



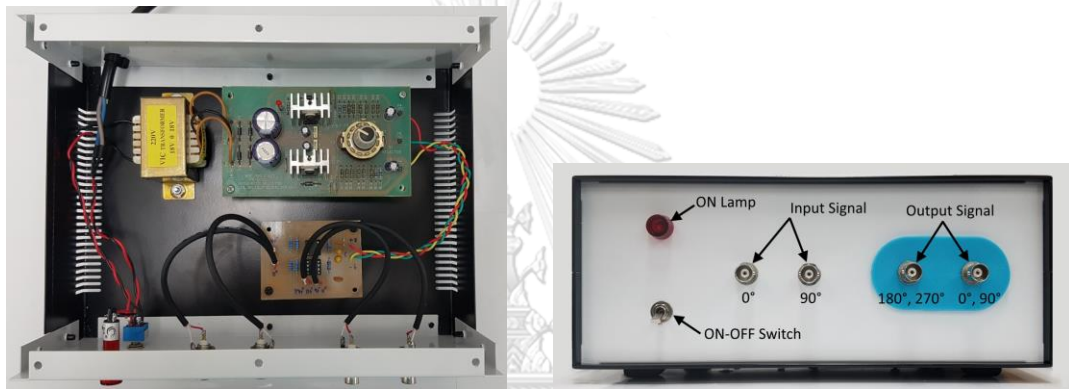
รูปที่ 3.17 วงจรสร้างสัญญาณแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ 4 เฟส



รูปที่ 3.18 สัญญาณแรงดันเอาต์พุตของวงจรที่มีความถี่ 1 MHz,  $1 V_p$ .



(ก) แผ่นวงจรพิมพ์ที่ติดตั้งอุปกรณ์เรียบร้อยแล้ว.

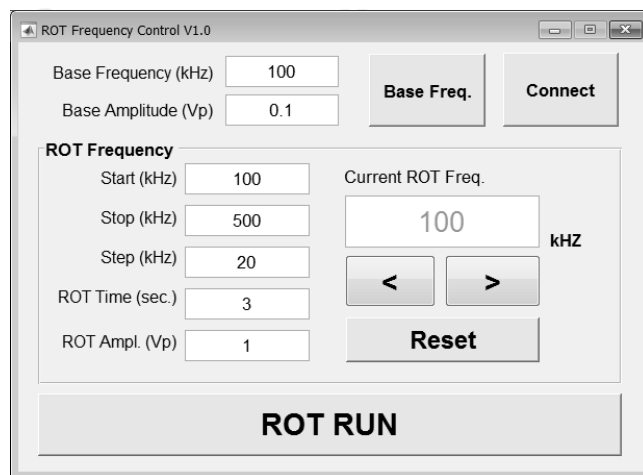


(ข) การต่อวงจรภายใน.

(ค) ช่องสัญญาณขาเข้าและขาออก.

รูปที่ 3.19 อุปกรณ์สร้างแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ 4 เฟส.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.20 โปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันสำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์.

การควบคุมความถี่  $f_{BASE}$  และ  $f_{ROT}$  รวมถึงระดับแรงดันของสัญญาณขาออก ณ ช่องสัญญาณที่ 1 และ 2 ของเครื่องกำเนิดสัญญาณกระทำโดยผ่านโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดัน ดังแสดงในรูปที่ 3.20. โปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดัน (ขาออกของเครื่องกำเนิดสัญญาณ) เขียนด้วยโปรแกรม MATLAB®. โปรแกรมเชื่อมต่อกับเครื่องกำเนิดสัญญาณผ่านพอร์ต USB 2.0. โปรแกรมสามารถทำงานบนเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งโปรแกรม MATLAB®, Instrument Control Toolbox, Tektronix AFG 3000 Series Instrument Driver และ TekVISA Connectivity Software. ฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรมสามารถดูรายละเอียดได้ที่ภาคผนวก ก.

### 3.4 การควบคุมการไหลของสารละลายภายในช่องทางไหลจุลภาค.

การป้อนตัวอย่างเซลล์เลือดและอนุภาคเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาคใช้วิธีการดูดสารละลาย บัพเฟอร์และตัวอย่างเซลล์ด้วยปั๊มกระบอกฉีดยาที่ต่อกับช่องทางออกของอุปกรณ์. ปั๊มกระบอกฉีดยาที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกเดี่ยว (NE-1000, New Era Pump Systems Inc.) และปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกคู่ (Fusion 200, Chemyx Inc.) ดังแสดงในรูปที่ 3.21. ปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกเดี่ยวมีอัตราการไหลต่ำสุด 0.01  $\mu\text{L}/\text{min}$  เมื่อใช้กับกระบอกฉีดยาขนาด 1 ml และมีอัตราการไหลสูงสุด 28  $\text{mL}/\text{min}$  เมื่อใช้กับกระบอกฉีดยาขนาด 60 ml. สำหรับปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกคู่ เมื่อใช้ร่วมกับกระบอกฉีดยาขนาด 0.5 ml และ 50 ml มีอัตราการไหลต่ำสุด 0.0001  $\mu\text{L}/\text{min}$  และสูงสุด 85  $\mu\text{L}/\text{min}$  ตามลำดับ.



(ก) แบบกระบอกเดี่ยว.

(ข) แบบกระบอกคู่.

รูปที่ 3.21 ปั๊มกระบอกฉีดยา.

### 3.5 การสังเกตการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือดและอนุภาค.

การสังเกตการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือดและอนุภาคภายในช่องทางไหลจุลภาคกระทำผ่านกล้องจุลทรรศน์ 2 แบบได้แก่



(ก) กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ.

(ข) กล้องจุลทรรศน์แบบ Upright.

รูปที่ 3.22 กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้สังเกตเซลล์และอนุภาคในการทดลอง.

1) กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (IX73, Olympus) ดังแสดงในรูปที่ 3.22 (ก). กล้องจุลทรรศน์ประกอบด้วยเลนส์ Semi-Apochromat รุ่น UPLFLN-PH กำลังขยาย 4 เท่า และ 10 เท่า. เลนส์ Semi-Apochromat รุ่น LUCPLFLN-PH กำลังขยาย 20X, 40X และ 60X. กล้องจุลทรรศน์เชื่อมต่อกับแหล่งกำเนิดแสง (U-HGLGPS, Olympus) เพื่อใช้สำหรับบันทึกภาพและวิดีโอของเซลล์หรืออนุภาคที่ย้อมฟลูออเรสเซนต์ผ่านฟิลเตอร์แสงยูวี, สีเขียว และสีฟ้า. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ถูกถ่ายด้วยกล้อง CCD (DP74, Olympus) เพื่อส่งสัญญาณภาพไปยังคอมพิวเตอร์ผ่านพอร์ตการเชื่อมต่อแบบ HDMI. กล้องสามารถบันทึกวิดีโอด้วยความเร็วสูงสุด 60 FPS ด้วยความละเอียดสูงสุด 1920x1200 Pixels และสามารถถ่ายภาพนิ่งด้วยความละเอียดเดียวกัน. โปรแกรม cellSense (Standard Version 2.2, Olympus) ถูกใช้ในการบันทึกไฟล์ภาพและวิดีโอลงบนคอมพิวเตอร์ รวมถึงดำเนินการทางเซลล์ เช่น การวัดขนาดเซลล์, การนับจำนวนเซลล์ เป็นต้น.

2) กล้องจุลทรรศน์แบบ Upright (Eclipse E200, Nikon) ดังแสดงในรูปที่ 3.22 (ข). กล้องจุลทรรศน์ประกอบด้วยเลนส์ E Plan กำลังขยาย 4X, 10X, 20X และ 40X. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ถูกถ่ายด้วยกล้อง CCD เพื่อส่งภาพไปยังคอมพิวเตอร์. กล้อง CCD ที่ใช้ได้แก่

- กล้อง CCD แบบอัตราเฟรมสูงสุด 30 FPS (WAT-231S2, Watec) สามารถบันทึกด้วยความละเอียด 640x480 Pixels และถ่ายภาพด้วยความละเอียด 720x576

Pixels. กล้องเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ด้วยอุปกรณ์รับสัญญาณ (A833, AverMedia) ผ่านทางพอร์ต USB 3.0. การบันทึกไฟล์ภาพและไฟล์วิดีโอใช้โปรแกรม AVerTV.

- กล้อง CCD แบบอัตราเฟรมสูงสุด 200 FPS (acA1300-200uc, BASLER). กล้องเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์โดยตรงผ่านพอร์ต USB 3.0. การบันทึกไฟล์วิดีโอใช้โปรแกรม Pylon Viewer โดยไฟล์วิดีโอมีความละเอียด 1280x1024 Pixels.



## บทที่ 4

### การทดลอง

#### 4.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคสำหรับการทดลองใช้สารละลายบัฟเฟอร์เพื่อล้างและรักษาสภาพของเซลล์และอนุภาคขณะทำการทดลอง. สารละลายบัฟเฟอร์มีส่วนประกอบเป็นซูโครส (AR Grade, Ajax-Finechem) 8.5 % w/v เดกซ์โทรส (AR Grade, Ajax-Finechem) 0.3 % w/v ในน้ำจืดไอออน (Deionized Water, DI). สารละลายบัฟเฟอร์เป็นสารละลายไอโซโทนิก (Isotonic) ที่มีความเข้มข้นประมาณ 0.3 M. สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์มีผลกับขนาดของแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำกับเซลล์หรืออนุภาค. การปรับสภาพนำไฟฟ้าใช้ PBS (Phosphate Buffer Saline) ที่มีความเข้มข้นประมาณ 0.15 M. การผสมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 100 ml ที่มีสภาพนำไฟฟ้า 0.02 S/m มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- นำน้ำ DI ปริมาตร 100 ml ใส่บีกเกอร์ (Beaker) วางบนเครื่องกวนสารแบบแม่เหล็ก (MS 155, HL Instrument) เติมซูโครสปริมาณ 8.5 g และเดกซ์โทรส 0.3 g. จากนั้น กวนสารละลายจนซูโครสและเดกซ์โทรสละลาย ดังแสดงในรูปที่ 4.1.
- เติม BSA (Bovine Serum Albumin) ปริมาตร 500  $\mu$ l ลงในสารละลาย. BSA ทำหน้าที่ลดการจับตัวของเซลล์และให้เซลล์ไม่ติดกับกระจกสไลด์หรืออิเล็กโตรด. สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์หลังจากเติม BSA มีค่าประมาณ 0.01 S/m.



รูปที่ 4.1 การกวนสารละลายด้วยเครื่องกวนสารแบบแม่เหล็ก.

- จากนั้น ปรับสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์ให้มีค่าเท่ากับ 0.02 S/m โดยการเติม PBS ปริมาตรประมาณ 900  $\mu\text{L}$ .
- วัดสภาพนำไฟฟ้าและความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายบัฟเฟอร์ให้ได้ตามที่ต้องการ. สารละลายบัฟเฟอร์มีค่า pH ประมาณ 7.4. สารละลายบัฟเฟอร์ถูกเก็บรักษาในหลอดทดลองที่อุณหภูมิประมาณ 4°C.

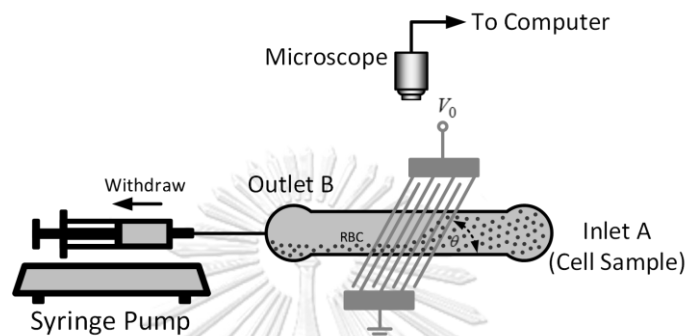
การผสมสารละลายบัฟเฟอร์ที่สภาพนำไฟฟ้าอื่นๆ มีขั้นตอนแบบเดียวกัน. ขั้นตอนการผสมมีความแตกต่างเฉพาะการเติม PBS เพื่อให้ได้สภาพนำไฟฟ้าค่าที่ต้องการเท่านั้น.

#### 4.2 การทดลองหาความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือด

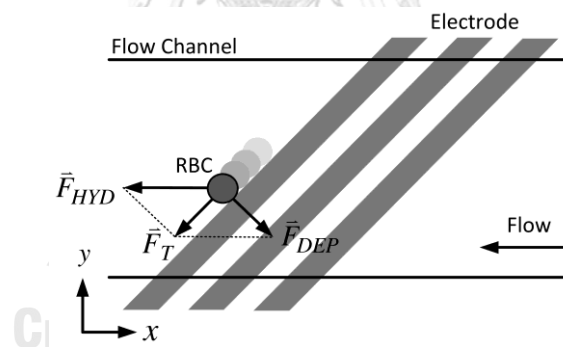
การเบี่ยงเบนทิศทางการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงใช้อิเล็กโตรดที่ทำมุม  $\theta$  กับช่องทางไหลจุลภาค. เมื่อเซลล์เคลื่อนตัวภายในช่องทางไหลผ่านอิเล็กโตรด แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวกและแรงการไหล (Hydrodynamic Force) จากช่องทางไหลที่กระทำต่อเซลล์ทำให้เซลล์เคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรด. การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรดภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก  $\vec{F}_{DEP}$  และแรงการไหล  $\vec{F}_{HYD}$ . แผนภาพเค้าร่างของการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2. การทดลองกระทำภายใต้เงื่อนไขที่แตกต่างกันของแรงดันอิเล็กโตรด ( $V_0$ ), อัตราการไหล ( $Q$ ) และมุมเอียงของอิเล็กโตรด ( $\theta$ ). การทดลองจะสังเกตผลของ  $V_0$ ,  $Q$  และ  $\theta$  ที่มีผลต่อความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์. การทดลองตัวอย่างเซลล์จะถูกป้อนเข้าที่ช่องทางเข้า A. เมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโตรดที่มีแรงดัน  $V_0$  แรงลัพธ์  $\vec{F}_T$  ที่เกิดจาก  $\vec{F}_{DEP}$  และ  $\vec{F}_{HYD}$  กระทำต่อเซลล์ทำให้เซลล์เคลื่อนตัวตามแนวอิเล็กโตรด ดังแสดงในรูปที่ 4.3. ตัวอย่างการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงตามแนวอิเล็กโตรดแสดงดังรูปที่ 4.4. การเคลื่อนที่ของเซลล์จะถูกบันทึกเป็นวิดีโอ 30 FPS ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อนำไปวัดความเร็วในการเคลื่อนที่. เงื่อนไขการทดลองอื่นๆ ประกอบด้วย

- สารละลายบัฟเฟอร์มีสภาพนำไฟฟ้าเท่ากับ 0.025 S/m.
- ช่องทางไหลจุลภาคมีความกว้าง 700  $\mu\text{m}$  และสูง 15  $\mu\text{m}$ . อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้สำหรับการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5.
- ช่องทางไหลจุลภาคทำมุม  $\theta$  กับอิเล็กโตรดเท่ากับ 30°, 38°, 45°, 53° และ 60°. การประกอบอุปกรณ์ของไหลจุลภาคให้ช่องทางไหลทำมุม  $\theta$  กับอิเล็กโตรดใช้ฐานประกอบเพื่อปรับมุม  $\theta$  ดังแสดงในรูปที่ 4.6.
- อัตราการไหล  $Q$  เท่ากับ 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0  $\mu\text{L}/\text{min}$ .
- แรงดัน  $V_0$  เป็นรูปคลื่นไซน์ที่มีระดับแรงดัน 1 – 10  $V_p$  และความถี่  $f = 5$  MHz.

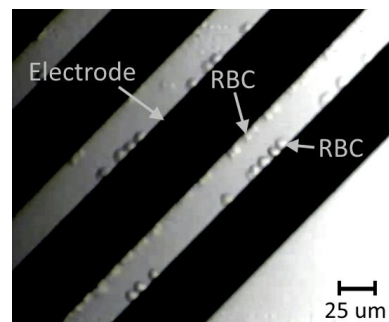
- ตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองมีเซลล์เม็ดเลือดแดงประมาณ 20,000 Cells/ $\mu\text{l}$ . การเตรียมตัวอย่างเซลล์และการนับจำนวนเซลล์สามารถดูรายละเอียดจากภาคผนวก ข.1 และ ข.2 ตามลำดับ.
- การเตรียมระบบของไหลจุลภาคก่อนเริ่มทำการทดลองสามารถดูรายละเอียดได้จากภาคผนวก ค.



รูปที่ 4.2 แผนภาพเค้าร่างของการทดลอง.

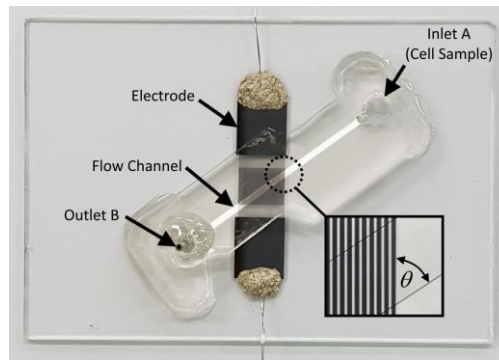


รูปที่ 4.3 แรงที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง เมื่อเซลล์เคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโทรด.

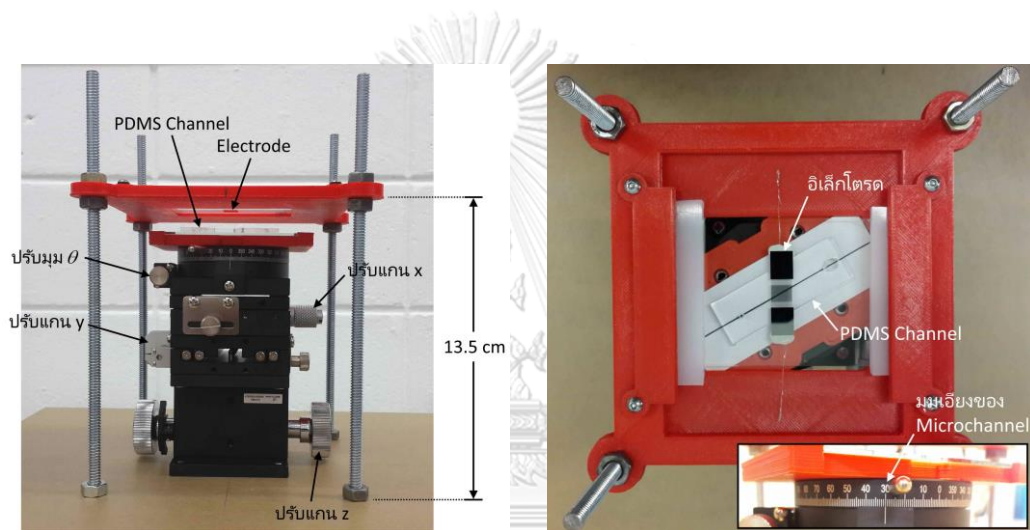


รูปที่ 4.4 การเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงตามแนวอิเล็กโทรด.





รูปที่ 4.5 อุปกรณ์ของไหลจุลภาคสำหรับการทดลอง เมื่อ  $\theta = 53^\circ$ .



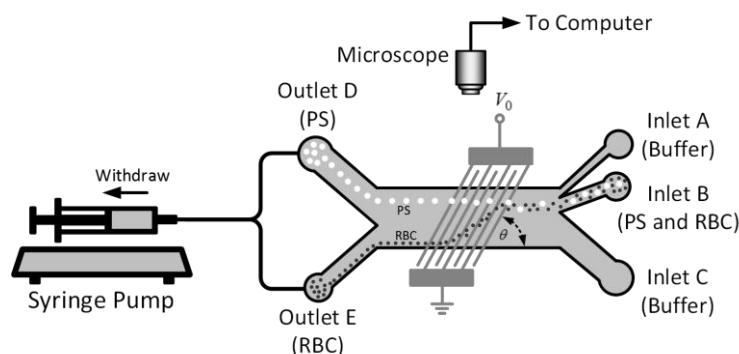
(ก) มุมมองด้านข้าง.

(ข) มุมมองด้านบน.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
รูปที่ 4.6 ฐานประกอบชิ้นงานสำหรับปรับมุม  $\theta$ .

### 4.3 การทดลองคัดแยกอนุภาคและเซลล์เลือด

การทดลองใช้อนุภาคพอลิสไตรีนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง  $3 \mu\text{m}$  และ  $10 \mu\text{m}$ . ส่วนเซลล์เลือดที่ใช้เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงที่แยกจากเลือดเต็มที่เก็บตัวอย่างจากอาสาสมัคร. การทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกอนุภาคพอลิสไตรีนออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยการเบี่ยงเบนแนวการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวก. แผนภาพเค้าร่างของการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.7. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้ประกอบด้วยช่องทางเข้า A, B และ C. แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กโตรดเป็นแบบไม่ต่อเนื่องที่สามารถปรับวัฏจักรหน้าที่ (Duty Cycle,  $D_T$ ) ได้. การใช้แรงดันไฟฟ้าแบบไม่ต่อเนื่องทำให้สามารถควบคุมแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์เลือด รวมถึงสามารถควบคุมการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือดได้.



รูปที่ 4.7 แผนภาพเค้าร่างของการทดลอง.

ในการทดลอง อนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกป้อนเข้าที่ช่องทางเข้า B ส่วนช่องทางเข้า A และ B ป้อนเฉพาะสารละลายบัฟเฟอร์. อนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไหลเข้าที่ช่องทางเข้า B มีลักษณะเป็นแถบที่มีความกว้างประมาณ  $200\ \mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 4.8 (ค). เมื่อไม่จ่ายแรงดันให้กับอิเล็กโตรดอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงไหลผ่านอิเล็กโตรดและไหลออกที่ช่องทางออก D ดังแสดงในรูปที่ 4.8 (ข) และ (ก). กรณีที่จ่ายแรงดันให้กับอิเล็กโตรด เซลล์เม็ดเลือดแดงที่เคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโตรดถูกแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ให้ไหลออกที่ช่องทางออก E. ส่วนอนุภาคพอลิสไตรีนยังมีแนวการเคลื่อนที่คงเดิมและไหลออกที่ช่องทางออก D. เงื่อนไขการทดลองอื่นๆ ประกอบด้วย

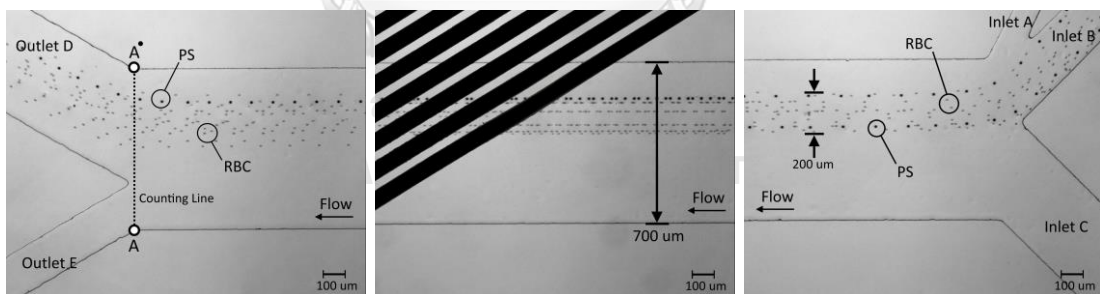
- สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์มีค่าเท่ากับ  $0.05\ \text{S/m}$ .
- ช่องทางไหลกว้าง  $700\ \mu\text{m}$  และลึก  $15\ \mu\text{m}$ . ช่องทางเข้า A มีความกว้างประมาณ  $100\ \mu\text{m}$ . ส่วนช่องทางเข้า B และ C มีความกว้างประมาณ  $200\ \mu\text{m}$  และ  $400\ \mu\text{m}$  ตามลำดับ. ช่องทางออก D และ E มีความกว้าง  $500\ \mu\text{m}$  และ  $200\ \mu\text{m}$  ตามลำดับ.
- อิเล็กโตรดทำมุม  $\theta = 30^\circ$  กับช่องทางไหลและอิเล็กโตรดมีจำนวนทั้งหมดเท่ากับ 32 คู่. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้กับการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.9.
- แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับอิเล็กโตรดเป็นรูปคลื่นไซน์ระดับแรงดัน 5, 6 และ  $7\ \text{V}_p$ . และเป็นแรงดันแบบไม่ต่อเนื่อง. สัญญาณควบคุมมีคาบเวลา  $T$  เท่ากับ 0.9 วินาที และ  $D_T$  มีค่าเท่ากับ 0.5, 0.75 และ 1.0.
- อัตราส่วนระหว่างอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง (PS:RBC) ที่ใช้ในการทดลองมีค่าเท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000. อัตราส่วน PS:RBC ที่ค่าต่างๆ มี

ความหนาแน่นของเซลล์และอนุภาคดังตารางที่ 4.1. การเตรียมอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงสามารถดูรายละเอียดในภาคผนวก ข.3 ถึง ข.5.

ตารางที่ 4.1 ความหนาแน่นของเซลล์และอนุภาคที่อัตราส่วน PS:RBC ค่าต่างๆ.

PS:RBC	PS Particles (Par./ $\mu\text{l}$ )	RBC (Cells/ $\mu\text{l}$ )
1:20	200	4,000
1:200	1,000	200,000
1:2,000	1,000	2,000,000

- การเคลื่อนที่ของอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกบันทึกเป็นวิดีโอด้วยอัตราเฟรม 100 FPS ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อนำไปนับจำนวนอนุภาคและเซลล์ที่ไหลออก ณ ช่องทางออก D และ E. การนับจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณช่องทางออกใช้เวลา 30 วินาที และทำการนับอนุภาคและเซลล์ที่เคลื่อนตัวผ่านแนวเส้นตรง A - A\* ดังแสดงในรูปที่ 4.8 (ก).
- การเตรียมระบบของไหลจุลภาคก่อนเริ่มทำการทดลองสามารถดูรายละเอียดในภาคผนวก ค.

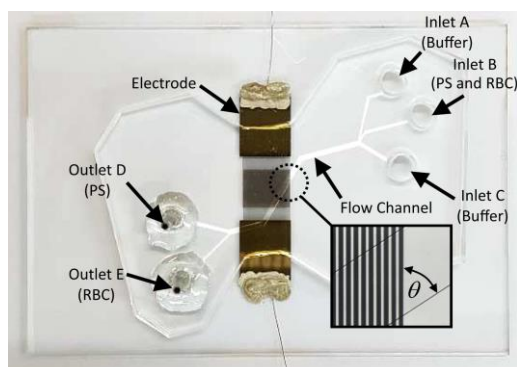


(ก) บริเวณช่องทางออก.

(ข) บริเวณอิเล็คโตรด.

(ค) บริเวณช่องทางเข้า.

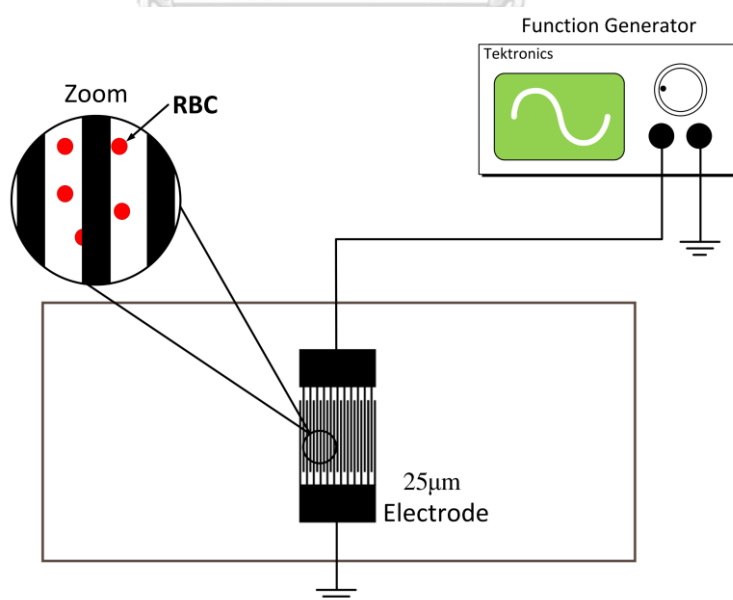
รูปที่ 4.8 การไหลของอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงภายในช่องทางไหล เมื่อ  $V_0 = 0$   $V_p$ .



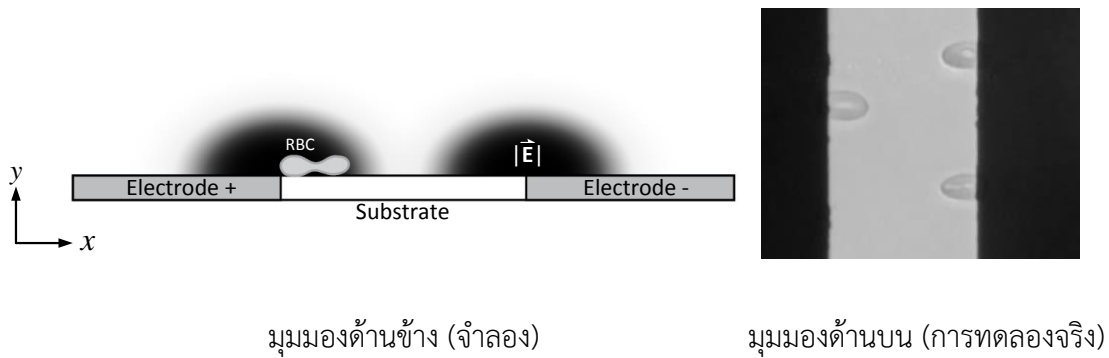
รูปที่ 4.9 อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้ในการทดลอง.

#### 4.4 การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเทชัน

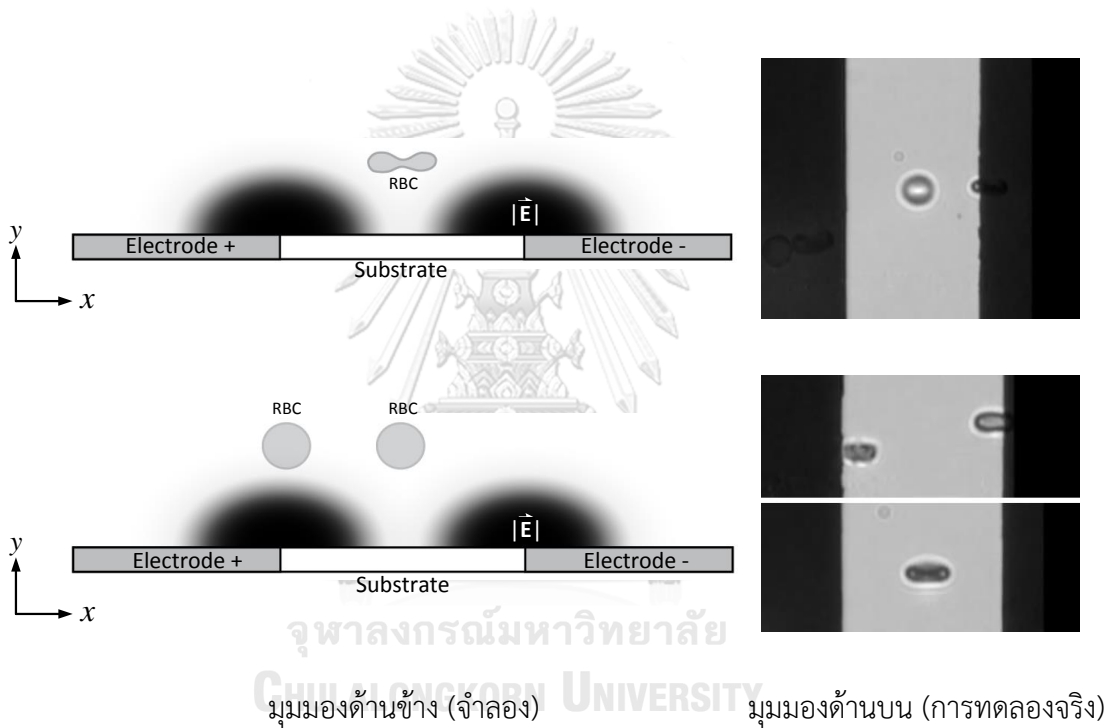
การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสของเซลล์เลือดมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองของเซลล์ต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวกและแบบลบ เมื่อความถี่ของสนามไฟฟ้ามีการเปลี่ยนแปลง การทดลองทำให้สามารถหาความถี่ตัดข้าม (Crossover Frequency,  $f_c$ ) ซึ่งเป็นความถี่ที่ไม่มีแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกกระทำต่อเซลล์. เซลล์เลือดที่ใช้ในการทดลองเป็นเซลล์เลือดเพาะปกติ (nRBC) และเซลล์เลือดเพาะเชื่อมาลาเรีย (iRBC). แผนภาพเค้าร่างของการทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสแสดงดังรูปที่ 4.10.



รูปที่ 4.10 แผนภาพเค้าร่างการทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิส.



(ก) แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวก.



(ข) แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบลบ.

รูปที่ 4.11 การตอบสนองของเซลล์เลือดต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวกและลบ.

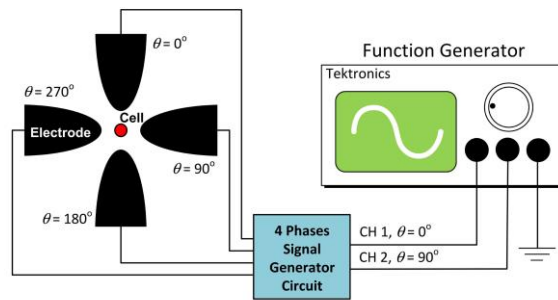
การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสของเลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีขั้นตอนการทดลองแบบเดียวกัน. ในการทดลอง ตัวอย่างเซลล์เลือดปริมาตร 20  $\mu\text{l}$  จะถูกหยดลงบนอิเล็กโตรด จากนั้นปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover Glass) โดยใช้เทปฉนวน (Low Static Polyimide Film Tape 5419, 3M) ความหนา 50  $\mu\text{m}$  รองกระจกปิดสไลด์ เพื่อให้มีระยะห่างที่เซลล์เลือดสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ. อิเล็กโตรดจะถูกจ่ายด้วยแรงดันรูปคลื่นไซน์พีกตแรงดัน

3.5  $V_p$ . ความถี่ของแรงดันจะถูกปรับจาก 500 kHz จนถึง 20 kHz โดยปรับลดความถี่ลงชั้นละ 10 kHz. การปรับความถี่เพื่อคุณลักษณะแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกที่กระทำต่อเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป. รูปที่ 4.11 (ก) แสดงการตอบสนองของเซลล์เลือดที่มีต่อแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกแบบบวก. แรงไดอิเล็กโตรโพเรติกแบบบวกทำให้เซลล์เลือดเคลื่อนตัวเข้าหาบริเวณขั้วลบของอิเล็กโตรด ดังแสดงในภาพมุมมองด้านบนจากกล้องจุลทรรศน์. เซลล์เลือดวางตัวอยู่บนระนาบของฐานกระจกบริเวณที่มีความเข้มข้นไฟฟ้าสูง ดังแสดงในภาพจำลองมุมมองด้านข้าง. รูปที่ 4.11 (ข) แสดงการตอบสนองของเซลล์เลือดที่มีต่อแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกแบบลบ. แรงไดอิเล็กโตรโพเรติกแบบลบทำให้เซลล์เคลื่อนตัวออกจากจุดที่มีความเข้มข้นไฟฟ้าสูง โดยเซลล์เลือดลอยตัวขึ้นจากระนาบฐานกระจก. การลอยตัวของเซลล์เป็นไปเป็น 2 ลักษณะได้แก่ เซลล์ลอยตัวโดยไม่เกิดการเอียงตัวและลอยตัวโดยเกิดการเอียงตัว ดังแสดงในภาพจำลองมุมมองด้านข้างและภาพมุมมองด้านบนจากกล้องจุลทรรศน์.

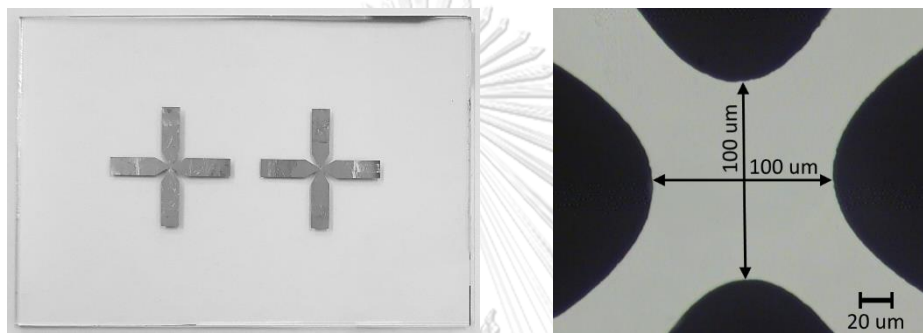
การตอบสนองของเซลล์ต่อแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกในขณะที่ทำการทดลองถูกบันทึกเป็นวิดีโอ 30 FPS ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อนำมาวิเคราะห์ผลและหาค่า  $f_C$  ของเซลล์ต่อไป.  $f_C$  จะคำนวณจากค่าเฉลี่ยของความถี่ที่แรงไดอิเล็กโตรโพเรติกที่กระทำต่อเซลล์เปลี่ยนจากแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกแบบบวกเป็นแบบลบ. สำหรับเงื่อนไขการทดลองอื่นๆ ประกอบด้วย

- สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 0.02 S/m.
- อิเล็กโตรดมีระยะห่างเท่ากับ 25  $\mu\text{m}$  และทำจากทองคำ. อิเล็กโตรดถูกเคลือบด้วย BSA ความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร ก่อนทำการทดลองเป็นเวลา 60 นาที เพื่อป้องกันเซลล์เลือดติดกับฐานกระจกและอิเล็กโตรด.
- ตัวอย่างเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการทดลองมีความเข้มข้น 1,200 Cells/ $\mu\text{l}$ . ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเซลล์เลือดสำหรับการทดลองสามารถดูรายละเอียดได้จากภาคผนวก ข.6.

การทดลองอิเล็กโตรโรเตชันเป็นการทดลองเพื่อดูพฤติกรรมการหมุนของเซลล์ที่อยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าความถี่ต่างๆ ทำให้ทราบเป็นนัยถึงค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์. การทดลองอิเล็กโตรโรเตชันทำให้เราทราบความถี่การหมุนสูงสุด (Maximum Rotating Frequency,  $f_{RM}$ ) และความถี่วิกฤติการหมุน (Rotating Critical Frequency,  $f_{R0}$ ) ของเซลล์เลือด.  $f_{RM}$  เป็นความถี่ที่ทำให้เซลล์เลือดหมุนตัวด้วยความเร็วสูงสุด. ส่วน  $f_{R0}$  เป็นความถี่ที่เซลล์เปลี่ยนทิศทางการหมุนจากทวนเข็มนาฬิกาเป็นตามเข็มนาฬิกาหรือในทางกลับกัน. แผนภาพเค้าร่างของการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12. อิเล็กโตรดที่ใช้ในการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.13 (ก). อิเล็กโตรดประกอบด้วยขั้วตัวนำที่ทำจากทองคำ 4 ขั้ว. อิเล็กโตรดขั้วตรงข้ามมีระยะห่าง 100  $\mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 4.13 (ข).



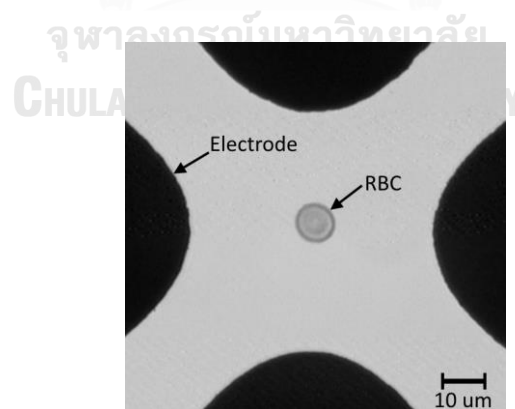
รูปที่ 4.12 แผนภาพเค้าร่างการทดลองอิเล็กโตรโรเตชัน.



(ก) อิเล็กโตรดบนฐานกระจก

(ข) ระยะแก่งระหว่างขั้วอิเล็กโตรด.

รูปที่ 4.13 อิเล็กโตรดแบบ 4 ขั้วสำหรับการทดลองอิเล็กโตรโรเตชัน.



รูปที่ 4.14 ตำแหน่งของเซลล์เลือดระหว่างอิเล็กโตรดทั้ง 4 ขั้วขณะทำการทดลอง.

การทดลองอิเล็กโตรโรเตชันของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียใช้ขั้นตอนการทดลองแบบเดียวกัน. ในการทดลอง ตัวอย่างเซลล์เลือดปริมาตร 20  $\mu\text{l}$  จะถูกหยดลงบน

อิเล็กทรอนิกส์ และปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยมีเทปฉนวน (Low Static Polyimide Film Tape 5419, 3M) ความหนา 50  $\mu\text{m}$  รองกระจกสไลด์. แรงดันรูปคลื่นไซน์ที่มีมูฟเฟส  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  และ  $270^\circ$  ถูกจ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์. ในตอนแรก แรงดันรูปคลื่นไซน์ระดับแรงดัน  $0.1 V_p$ , ความถี่ 100 kHz ถูกจ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์เพื่อจัดตำแหน่งของเซลล์เลือดให้อยู่กึ่งกลางระหว่างอิเล็กทรอนิกส์ทั้ง 4 ขั้ว ดังแสดงในรูปที่ 4.14. จากนั้น แรงดันรูปคลื่นไซน์ถูกเพิ่มระดับแรงดันเป็น  $0.45 V_p$  และเปลี่ยนความถี่เป็นความถี่  $f_{ROT}$  เพื่อให้เซลล์เกิดการหมุนตัว. การควบคุมระดับแรงดันและความถี่ของแรงดันที่จ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์ใช้โปรแกรมควบคุมแรงดันดังที่นำเสนอในบทที่ 3. การหมุนของเซลล์ภายใต้ความถี่  $f_{ROT}$  ถูกบันทึกเป็นวิดีโอ 30 FPS ผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อนำมาหาค่าความถี่  $f_{RM}$  และ  $f_{RO}$  ของแต่ละเซลล์. การหาความถี่ดังกล่าว ใช้ซอฟต์แวร์ Adobe Premiere เพื่อวัดความเร็วและสังเกตทิศทางการหมุนของเซลล์เลือด. เงื่อนไขอื่นๆ ในการทดลองประกอบด้วย

- ความถี่  $f_{ROT}$  ที่ใช้ทดลองประกอบด้วย 2 ช่วง ได้แก่ ย่าน kHz ช่วงความถี่ 100 – 600 kHz ใช้เพื่อหาความถี่  $f_{RM}$  โดยการปรับความถี่  $f_{ROT}$  ในแต่ละขั้นเท่ากับ 20 kHz. ย่าน MHz ช่วงความถี่ 1 – 25 MHz ใช้เพื่อหาความถี่  $f_{RO}$  โดยการปรับความถี่  $f_{ROT}$  ในแต่ละขั้นเท่ากับ 100 kHz.
- สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 0.02 S/m.
- อิเล็กทรอนิกส์ถูกเคลือบด้วย BSA ความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร ก่อนทำการทดลองเป็นเวลา 60 นาที เพื่อป้องกันเซลล์เลือดติดกับฐานกระจกและอิเล็กทรอนิกส์.
- ตัวอย่างเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียที่ใช้ในการทดลองมีความเข้มข้น 1,200 Cells/ $\mu\text{l}$  เช่นเดียวกับการทดลองได้อิเล็กทรอนิกส์โพเรซิส.

#### 4.5 การทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียออกจากเซลล์เลือดเพาะปกติ. การทดลองใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 แบบ โดยขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของเซลล์เลือดที่ใช้ในการทดลอง. แผนภาพเค้าร่างของการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคแบบที่ 1 และ 2 แสดงดังรูปที่ 4.15 (ก) และ (ข) ตามลำดับ. การทดลองด้วยอุปกรณ์แบบที่ 1 ตัวอย่างเซลล์เลือดเพาะทั้งสองชนิดจะถูกป้อนเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาค ณ ช่องทางเข้า B. เมื่อเซลล์เลือดเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กทรอนิกส์ เซลล์เลือดเพาะปกติส่วนใหญ่ถูกเปียงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออกที่ช่องทางออก E. ส่วนเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียยังคงมีแนวการเคลื่อนที่คงเดิมและไหลออกที่ช่องทางออก D. ช่องทางออก D และ E จะต่อกับปั๊มกระบอกฉีดยาที่มีอัตราการไหลเท่ากับ 1.25 และ 0.75  $\mu\text{l}/\text{min}$  ตามลำดับ. การทดลองด้วยอุปกรณ์แบบที่ 2 ตัวอย่างเซลล์เลือดจะถูกป้อนเข้าอุปกรณ์ที่



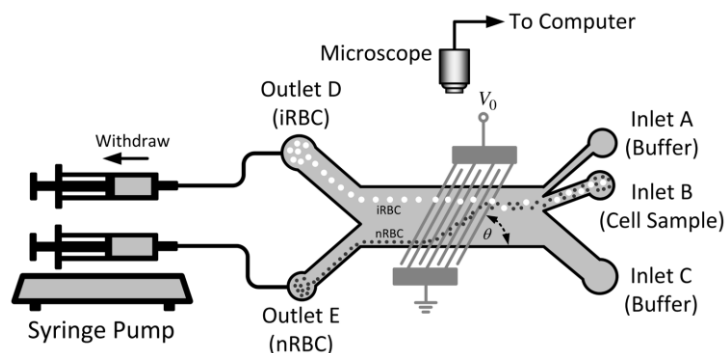
ช่องทางเข้า B. เซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียไหลออกที่ช่องทางออก C และ D ตามลำดับ. ช่องทางออก C และ D จะต่อกับปั๊มกระบอกฉีดยาที่มีอัตราการไหล ณ ช่องทางออกแต่ละด้านเท่ากับ  $0.5 \mu\text{l}/\text{min}$ . รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะของอุปกรณ์ของไหลจุลภาคทั้งสองแบบที่ใช้ในการคัดแยกเซลล์. ในขณะที่ทำการทดลอง อุปกรณ์ของไหลจุลภาคจะถูกติดตั้งอยู่บนฐานของกล้องจุลทรรศน์ เพื่อบันทึกภาพและวิดีโอการเคลื่อนที่ของเซลล์ในช่องทางไหล ณ บริเวณต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.17. รายละเอียดอื่นๆ ในการทดลองประกอบด้วย

- สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ  $0.02 \text{ S/m}$ .
- ช่องทางไหลจุลภาคที่ใช้มี 2 แบบ คือ
  - แบบที่ 1 ช่องทางไหลกว้าง  $700 \mu\text{m}$  และลึก  $15 \mu\text{m}$ . ช่องทางไหลประกอบด้วยช่องทางเข้า 3 ช่องทาง ซึ่งมีความกว้าง  $100, 200$  และ  $400 \mu\text{m}$ . สำหรับช่องทางออกมี 2 ช่องทาง โดยมีความกว้าง  $500$  และ  $200 \mu\text{m}$ .
  - แบบที่ 2 ช่องทางไหลมีกว้าง  $800 \mu\text{m}$  และลึก  $15 \mu\text{m}$ . ช่องทางไหลมีช่องทางเข้าเพียง 2 ช่องทาง โดยมีความกว้าง  $600 \mu\text{m}$  และ  $200 \mu\text{m}$ . ช่องทางออกมี 2 ช่องทางและมีความกว้าง  $400 \mu\text{m}$  เท่ากัน.
- แรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์ระดับแรงดัน  $6, 7$  และ  $7.5 \text{ Vp}$ . ความถี่เท่ากับ  $400, 500$  และ  $600 \text{ kHz}$ .  $D_T$  มีค่าเท่ากับ  $0.75$  และ  $0.85$ . การเลือกใช้ระดับแรงดัน, ความถี่ และค่า  $D_T$  ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียกับเซลล์เลือดเพาะปกติ (iRBC:nRBC).
- อัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC และความหนาแน่นของเซลล์ทั้งสองชนิดแสดงในตารางที่ 4.2. วิธีการผสมตัวอย่างเซลล์ที่อัตราส่วนต่างๆ สามารถดูรายละเอียดได้ในภาคผนวก ข.7.

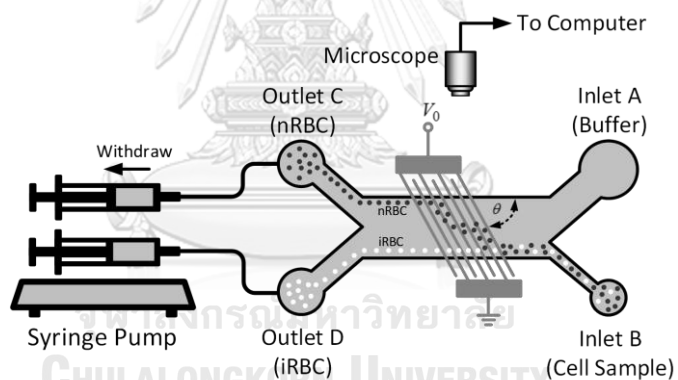
ตารางที่ 4.2 ความหนาแน่นของเซลล์ที่อัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC ค่าต่างๆ.

iRBC:nRBC	iRBC (Cells/ $\mu\text{l}$ )	nRBC (Cells/ $\mu\text{l}$ )	ช่องทางไหล
1:5	$2.5 \times 10^4$	$1.25 \times 10^5$	แบบที่ 1
1:50	$4 \times 10^4$	$2 \times 10^6$	
1:500	$4 \times 10^3$		
$1:5 \times 10^3$	400		
$1:5 \times 10^4$	20	$1 \times 10^6$	แบบที่ 2
$1:5 \times 10^5$	2		
$1:1 \times 10^6$	1		

- การทดลองคัดแยกเซลล์ใช้เวลา 40 นาที ด้วยอัตราการไหลรวม 1 และ 2  $\mu\text{L}/\text{min}$ .
- การล้างเซลล์ออกจากช่องทางไหลใช้เวลา 20 นาที ด้วยอัตราการไหลรวม 2  $\mu\text{L}/\text{min}$ .



(ก) ช่องทางไหลแบบที่ 1.

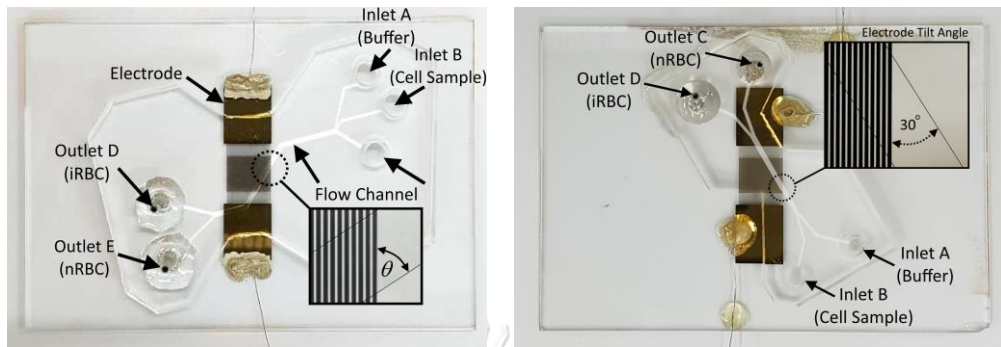


(ข) ช่องทางไหลแบบที่ 2.

รูปที่ 4.15 แผนภาพเค้าร่างของการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย.

อุปกรณ์ของไหลจุลภาคแบบที่ 1 มีลักษณะของช่องทางไหลจุลภาค ณ จุดต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 ซึ่งใช้กับการทดลองอนุภาค. รูปที่ 4.18 (ก), (ข) และ (ค) แสดงลักษณะของช่องทางไหลจุลภาคของอุปกรณ์แบบที่ 2 บริเวณช่องทางออก, บริเวณอิเล็กโตรดที่มีมุมเอียง  $30^\circ$  และบริเวณช่องทางเข้า ตามลำดับ. เซลล์เลือด ณ ช่องทางออก D จะถูกเก็บและนำไปย้อมสี Giemsa เพื่อนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเลือดเพาะปกติ. จำนวนเซลล์ที่นับได้จะถูกนำไปคำนวณการ

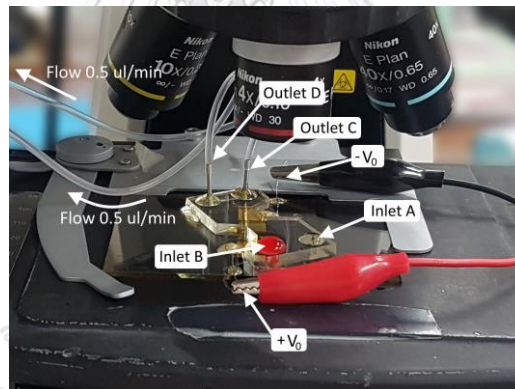
เพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียด้วยสมการที่ (ง.1) ในภาคผนวก ง. ขั้นตอนการย้อมเซลล์เลือดด้วยสี Giemsa และขั้นตอนการนับจำนวนเซลล์เลือด สามารถดูรายละเอียดในภาคผนวก ง.



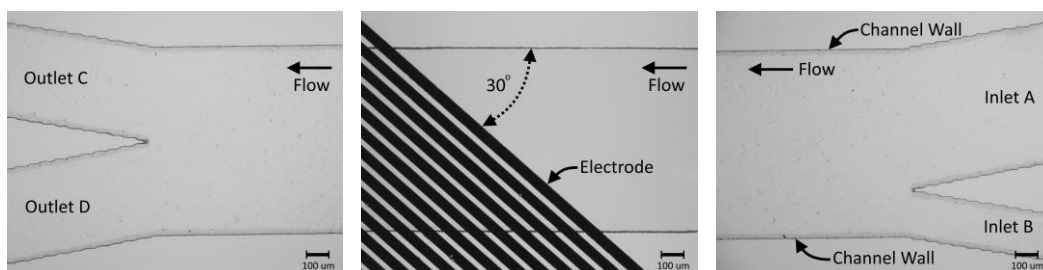
(ก) ช่องทางไหลแบบที่ 1.

(ข) ช่องทางไหลแบบที่ 2.

รูปที่ 4.16 ช่องทางไหลจุลภาคและอิเล็กโตรดที่ใช้ในการทดลอง.



รูปที่ 4.17 การต่ออุปกรณ์ของไหลจุลภาคขณะทำการทดลอง.



(ก) ช่องทางออก.

(ข) อิเล็กโตรด.

(ค) ช่องทางเข้า.

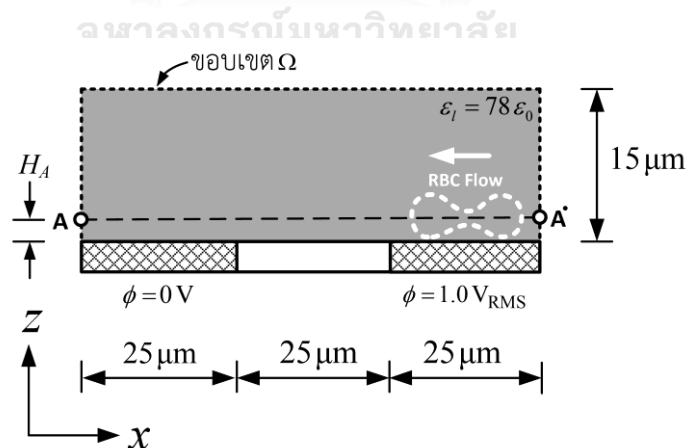
รูปที่ 4.18 ลักษณะของช่องทางไหลจุลภาคที่จุดต่างๆ.

## บทที่ 5

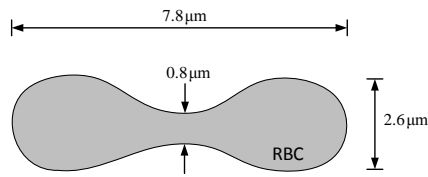
### ผลการศึกษาและอภิปรายผล

#### 5.1 การคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก

การคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก (Dielectrophoretic, DEP) ที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell, RBC) และอนุภาคพอลิสไตรีน (Polystyrene, PS) ใช้แบบจำลอง 2 มิติ ดังแสดงในรูปที่ 5.1. แบบจำลอง 2 มิติสร้างด้วยโปรแกรม GiD. แบบจำลองประกอบด้วยอิเล็กโตรดที่มีศักย์ไฟฟ้าเท่ากับศูนย์และ  $1.0 V_{RMS}$ . อิเล็กโตรดมีความกว้างและระยะแยกเท่ากับ  $25 \mu m$ . ภายในขอบเขต  $\Omega$  เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าสภาพยอม ( $\epsilon_1$ ) เท่ากับ  $78\epsilon_0$  และมีความสูงเท่ากับ  $15 \mu m$ . สนามไฟฟ้าที่ขอบเขต  $\Omega$  มีค่าเป็นศูนย์. สารละลายบัฟเฟอร์มีสภาพนำไฟฟ้า ( $\sigma_1$ ) เท่ากับ  $0.025 S/m$ . เส้นตรง  $A - A'$  เป็นแนวการคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง. การคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง ความสูง  $H_A$  มีค่าเท่ากับ  $1.3 \mu m$  โดยความสูงดังกล่าวสัมพันธ์กับขนาดของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นจานแบบเว้าสองหน้า (Biconcave Disc) ดังแสดงในรูปที่ 5.2. การคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $3 \mu m$  และ  $10 \mu m$  ความสูง  $H_A$  มีค่าเท่ากับ  $1.5 \mu m$  และ  $5 \mu m$  ตามลำดับ. การคำนวณศักย์ไฟฟ้า  $\phi$  และสนามไฟฟ้า  $\vec{E}$  ใช้โปรแกรม Elmer และโปรแกรมอ่านค่า  $\phi$  และ  $\vec{E}$  ที่เขียนด้วยโปรแกรม MATLAB. การอ่านค่า  $\phi$  และ  $\vec{E}$  ใช้ไฟล์ข้อมูลจากโปรแกรม GiD และ Elmer ได้แก่ไฟล์ mesh.nodes, mesh.boundary และ case.flavia.res.



รูปที่ 5.1 แบบจำลอง 2 มิติและเงื่อนไขขอบเขต.



รูปที่ 5.2 มิติและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดง [58].

การคำนวณแรงไดโพลไฟฟ้าใช้คุณสมบัติต่างๆ ของอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง ดังแสดงในบทที่ 2 ตารางที่ 2.1. รัศมีของเซลล์เม็ดเลือดแดงได้จากการประมาณรูปร่างของเซลล์จากทรงกลมแบนตรงกลางไว้ให้เป็นทรงกลมที่มีรัศมี  $R$  โดยมีรายละเอียดแสดงในภาคผนวก จ. ภายในขอบเขต  $\Omega$  ของแบบจำลองถูกแบ่งเป็นเอลิเมนต์สี่เหลี่ยมจำนวน 140,933 เอลิเมนต์และมีจำนวนโนดเท่ากับ 141,846 โนด. รูปที่ 5.3 แสดงศักย์ไฟฟ้าและสนามไฟฟ้าในขอบเขต  $\Omega$  ที่ได้จากการคำนวณ.



(ก) ศักย์ไฟฟ้า.

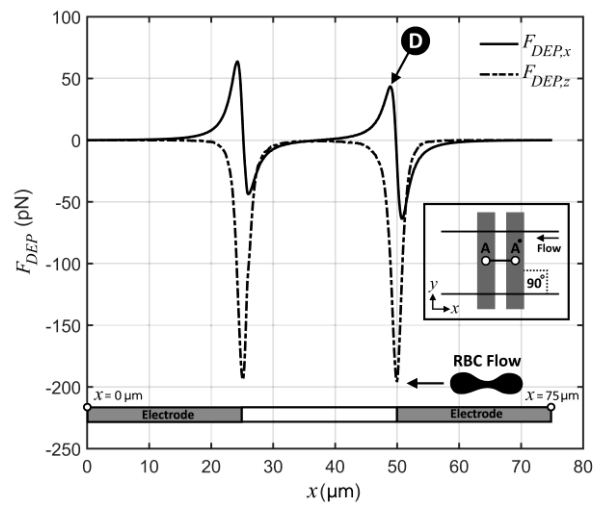


(ข) สนามไฟฟ้า.

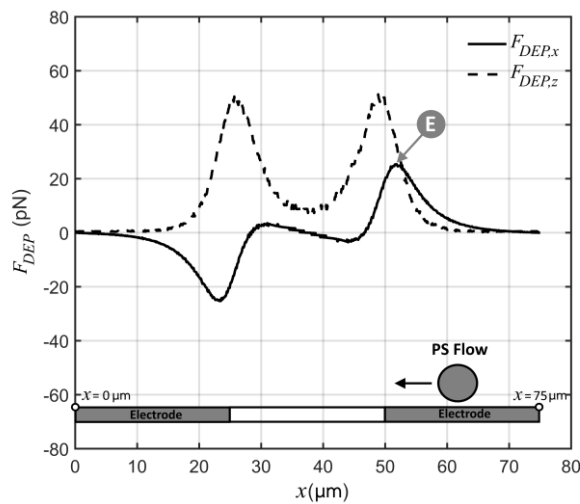
รูปที่ 5.3 ผลการคำนวณศักย์ไฟฟ้าและสนามไฟฟ้าบริเวณอิเล็กโทรดที่มีระยะแกบ 25  $\mu\text{m}$ .

จากรูปที่ 5.3 (ข) สนามไฟฟ้ามีค่าสูงสุด ณ บริเวณขอบอิเล็กโทรด. รูปที่ 5.4 แสดงผลการคำนวณแรงไดโพลไฟฟ้าตามแนวแกน  $x$  และ  $z$  ที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาค

พอลิสไตรีนตามแนวเส้นตรง A - A<sup>•</sup> ที่ความถี่ของสนามไฟฟ้าเท่ากับ 5 MHz และสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์ภายในขอบเขต  $\Omega$  เท่ากับ 0.025 S/m เซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนมี  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  เท่ากับ 0.84 และ -0.5 ตามลำดับ ที่ความถี่ไฟฟ้านี้.



(ก) แรงไดโพลไฟฟ้าที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง.

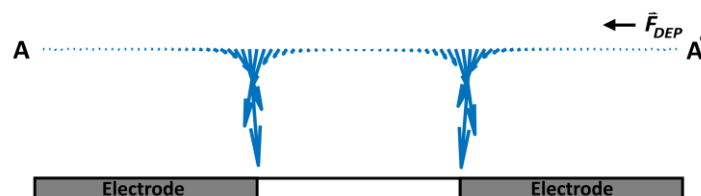


(ข) แรงไดโพลไฟฟ้าที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีน.

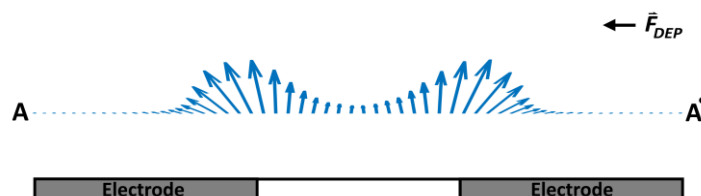
รูปที่ 5.4 แรงไดโพลไฟฟ้าที่กระทำตามแนวแกน  $x$  และ  $z$  บนเส้นตรง A - A<sup>•</sup>.

พิจารณาแบบจำลองในรูปที่ 5.1 เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโทรดในทิศทางตามแรงการไหล  $\vec{F}_{HYD}$  ของสารละลายบัฟเฟอร์. ในกรณีที่แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก  $\vec{F}_{DEP,x}$  ที่มีทิศทางตรงข้ามกับทิศทางการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและมีขนาดเท่ากับ  $\vec{F}_{HYD}$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงจะถูกจับติดกับอิเล็กโทรด. จากรูปที่ 5.4 (ก)  $\vec{F}_{DEP,x}$  ที่จุด D มีค่าเท่ากับ +43.51 pN และแรงมีทิศตรงข้ามกับทิศทางการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง. ด้วยเหตุนี้ จุด D จึงเป็นตำแหน่งที่เซลล์เม็ดเลือดแดงมีโอกาสถูกจับติดกับอิเล็กโทรด หาก  $\vec{F}_{DEP,x}$  มีค่ามากพอ. แรง  $\vec{F}_{DEP,z}$  มีทิศ -Z และมีค่าสูงสุดเท่ากับ -196 pN. แรง  $\vec{F}_{DEP,z}$  ดึงให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวติดกับฐานกระจกและช่วยให้เซลล์เม็ดเลือดแดงถูกจับได้ง่ายขึ้น.

รูปที่ 5.4 (ข) แสดงแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกตามแนวแกน  $x$  และ  $z$  ที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีนตามแนวเส้นตรง A - A'. จุด E เป็นตำแหน่งที่  $\vec{F}_{DEP,x}$  มีค่าสูงสุดและแรงมีทิศตรงข้ามกับทิศทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคพอลิสไตรีน. แรง  $\vec{F}_{DEP,x}$  มีค่าสูงสุดเท่ากับ +25 pN. และมีทิศ +Z จึงผลักให้อนุภาคลอยตัว. ด้วยเหตุนี้ การกักอนุภาคพอลิสไตรีนให้อยู่ที่บริเวณขอบอิเล็กโทรดต้องใช้แรงดันอิเล็กโทรด  $V_0$  มากกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดง. แรง  $\vec{F}_{DEP,z}$  ที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีนมีค่าสูงสุดเท่ากับ +51 pN. รูปที่ 5.5 (ก) และ (ข) แสดงทิศทางแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก  $\vec{F}_{DEP}$  ที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีน. แรง  $\vec{F}_{DEP}$  เป็นผลรวมของ  $\vec{F}_{DEP,x}$  และ  $\vec{F}_{DEP,z}$ .



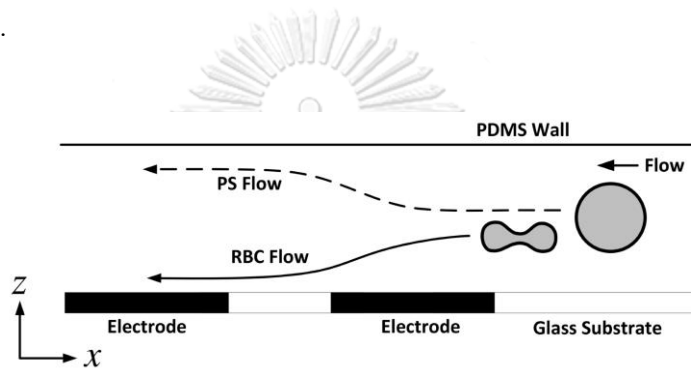
(ก)



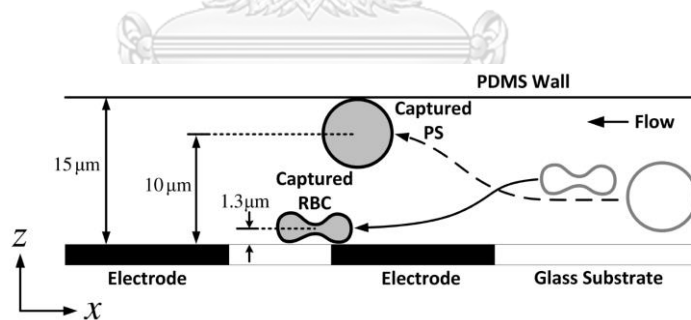
(ข)

รูปที่ 5.5 ทิศทางแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก  $\vec{F}_{DEP}$  ตามแนวเส้นตรง A - A' ที่กระทำต่อ (ก) เซลล์เม็ดเลือดแดง (ข) อนุภาคพอลิสไตรีน.

จากรูปที่ 5.5 (ก) และ (ข) แรงที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนเป็นแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวก (pDEP) และแบบลบ (nDEP) ตามลำดับ. เซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนจึงมีลักษณะการเคลื่อนตัวที่แตกต่างกัน. การเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนภายในช่องทางไหลจุลภาคกรณี  $\vec{F}_{DEP,x} < \vec{F}_{HYD}$  เป็นไปตามรูปที่ 5.6. เซลล์เม็ดเลือดแดงถูก  $\vec{F}_{DEP,z}$  ดึงให้แนวการเคลื่อนที่ในแนวแกน  $z$  ต่ำลง. ในทางกลับกัน อนุภาคพอลิสไตรีนถูก  $\vec{F}_{DEP,z}$  ผลักให้เคลื่อนที่ห่างจากระนาบอิเล็กโตรด ซึ่งจะทำให้รับแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่มีขนาดลดลง.



รูปที่ 5.6 การเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีน เมื่อ  $\vec{F}_{DEP,x} < \vec{F}_{HYD}$ .

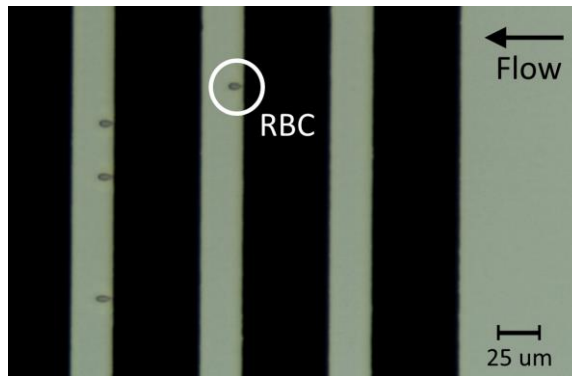


รูปที่ 5.7 การเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีน เมื่อ  $\vec{F}_{DEP,x} \geq \vec{F}_{HYD}$ .

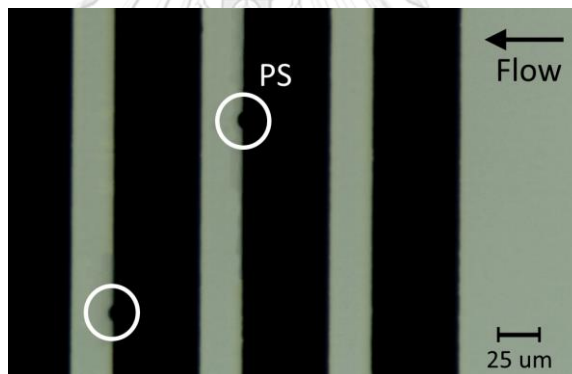
เมื่อ  $\vec{F}_{DEP,x} \geq \vec{F}_{HYD}$  เซลล์เม็ดเลือดแดงถูก  $\vec{F}_{DEP,z}$  ดึงให้เคลื่อนตัวต่ำลงมา. จากนั้นเซลล์เม็ดเลือดแดงถูก  $\vec{F}_{DEP,x}$  จับให้หยุดการเคลื่อนที่บริเวณขอบอิเล็กโตรด ดังแสดงในรูปที่ 5.7. สำหรับอนุภาคพอลิสไตรีน  $\vec{F}_{DEP,z}$  ผลักให้อนุภาคยกตัวสูงขึ้น และ  $\vec{F}_{DEP,x}$  หยุดการเคลื่อนที่ของอนุภาคในตำแหน่งที่อนุภาคยกตัวจนติดกับผนังช่องทางไหล. การที่อนุภาคพอลิสไตรีนลอยตัวขึ้นส่งผลให้  $\vec{F}_{DEP,x}$  และ  $\vec{F}_{DEP,z}$  ที่กระทำต่ออนุภาคลดลง. การหยุดการเคลื่อนที่ของอนุภาคพอลิสไตรีนจึงต้องใช้แรงดันอิเล็กโตรด  $V_0$  ที่ทำให้  $\vec{F}_{DEP,x} \geq \vec{F}_{HYD}$  ที่ตำแหน่งดังกล่าว. แรงดัน



$V_0$  ที่ใช้หยุดการเคลื่อนที่ของอนุภาคพอลิสไตรีนจึงมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดแดง. รูปที่ 5.7 แสดงตำแหน่งที่อนุภาคพอลิสไตรีนจะหยุดการเคลื่อนที่ที่ระยะ  $z = 10 \mu\text{m}$  เมื่อผนังช่องทางไหลมีความสูง  $15 \mu\text{m}$ .



(ก) ตำแหน่งที่เซลล์เม็ดเลือดแดงถูกจับ เมื่อ  $V_0 = 1.41 V_{\text{RMS}}$  และ  $Q = 0.78 \mu\text{l}/\text{min}$ .



(ข) ตำแหน่งที่อนุภาคพอลิสไตรีนถูกจับ เมื่อ  $V_0 = 5.23 V_{\text{RMS}}$  และ  $Q = 0.46 \mu\text{l}/\text{min}$ .

รูปที่ 5.8 ตำแหน่งที่เซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนถูกจับติดกับอิเล็กโทรด.

จากการทดลองจับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโทรดที่มีระยะแวกเท่ากับ  $25 \mu\text{m}$  ด้วยอัตราการไหล  $0.78 \mu\text{l}/\text{min}$  ( $1,232 \mu\text{m}/\text{sec}$ ) แรงดัน  $V_0$  ต่ำสุดที่สามารถจับเซลล์เม็ดเลือดแดงให้ติดกับอิเล็กโทรด ณ ตำแหน่ง D มีค่าเท่ากับ  $1.41 V_{\text{RMS}}$ . รูปที่ 5.8 (ก) แสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ถูกจับติดกับอิเล็กโทรดจากการทดลอง. จากค่าแรงดันจับเซลล์ดังกล่าว และผลการจำลองแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก  $\vec{F}_{\text{DEP},x}$  ที่จุด D เราสามารถคำนวณหาขนาดของ  $\vec{F}_{\text{DEP},x}$  ที่จุด D เมื่อ  $V_0 = 1.41 V_{\text{RMS}}$  ด้วยสมการความสัมพันธ์ของแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกกับแรงดันไฟฟ้ายกกำลังสอง

$$\frac{F_{DEP2}}{F_{DEP1}} = \left( \frac{V_2}{V_1} \right)^2 \quad (5.1)$$

เมื่อ  $F_{DEP1}$  และ  $F_{DEP2}$  เป็นขนาดของแรงไดโพลีโทรโฟเรติกที่ค่าแรงดันไฟฟ้า  $V_1$  และ  $V_2$  ตามลำดับ. ดังนั้น แรง  $\bar{F}_{DEP,x}$  เมื่อ  $V_0 = 1.41 V_{RMS}$  มีขนาดเท่ากับ

$$F_{DEP,x} = 43.51 \left( \frac{1.41}{1.0} \right)^2 = 86.5 \text{ pN} \quad (5.2)$$

จากการทดลอง เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวด้วยแรงการไหล  $\bar{F}_{HYD}$  ของสารละลายบัฟเฟอร์ด้วยอัตราการไหล  $0.78 \mu\text{L}/\text{min}$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวด้วยความเร็ว  $v$  เท่ากับ  $1,232 \mu\text{m}/\text{sec}$ . การจับเซลล์เม็ดเลือดแดงให้ติดกับขอบิเล็กโตรดจึงต้องใช้แรง  $\bar{F}_{DEP,x}$  ที่มีขนาดเท่ากับ  $86.5 \text{ pN}$  ดังแสดงในสมการที่ (5.2). ขนาดของ  $\bar{F}_{HYD}$  คำนวณได้ตามสมการที่ (5.3). สารละลายบัฟเฟอร์มีสัมประสิทธิ์ความหนืด  $\eta$  เท่ากับ  $1.0016 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดงมีรัศมี  $R$  เท่ากับ  $2.7 \mu\text{m}$ .

$$F_{HYD} = 6\pi\eta Rv = 62.8 \text{ pN} \quad (5.3)$$

จากสมการที่ (5.3) แรง  $\bar{F}_{HYD}$  มีขนาดเท่ากับ  $62.8 \text{ pN}$ . เราสามารถคำนวณแรงดัน  $V_0$  ที่ทำให้  $\bar{F}_{DEP,x}$  มีขนาดเท่ากับ  $\bar{F}_{HYD}$  ได้เป็น

$$V_0 = 1.41 \sqrt{\frac{62.8}{86.5}} = 1.2 V_{RMS} \quad (5.4)$$

$V_0$  เท่ากับ  $1.2 V_{RMS}$  ทำให้  $\bar{F}_{DEP,x}$  มีขนาดเท่ากับ  $\bar{F}_{HYD}$  และทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงถูกจับติดกับขอบิเล็กโตรด. แรงดัน  $V_0$  ที่คำนวณได้ตามสมการที่ (5.4) แตกต่างจากค่า  $V_0$  ที่ได้จากการทดลองประมาณ 16%.

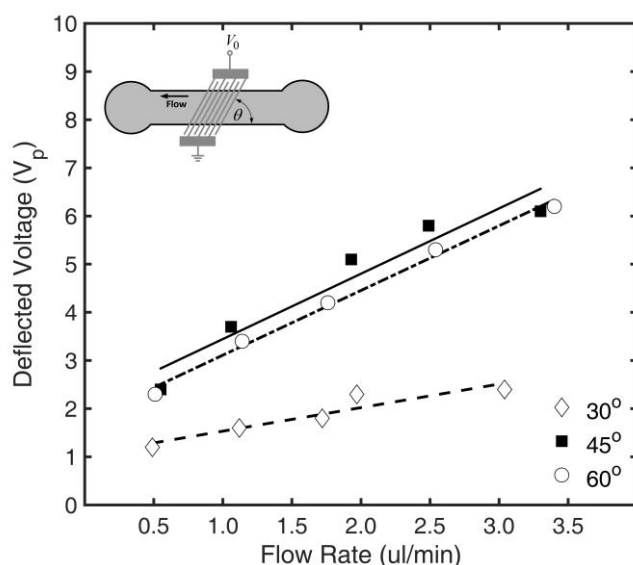
กรณีของอนุภาคพอลิสไตรีน แรงดัน  $V_0$  ที่สามารถจับอนุภาคให้ติดกับอิเล็กโตรดจากการทดลองมีค่าเท่ากับ  $5.23 V_{RMS}$  เมื่ออัตราการไหล  $Q = 0.46 \mu\text{L}/\text{min}$ . รูปที่ 5.8 (ข) แสดงลักษณะของอนุภาคพอลิสไตรีนที่ถูกจับติดกับอิเล็กโตรด. อนุภาคถูกทำให้หยุดการเคลื่อนที่ที่ระยะ  $z = 10 \mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 5.7. จุดดังกล่าว  $\bar{F}_{DEP,x}$  มีขนาดเท่ากับ  $313 \text{ pN}$  ที่  $V_0 = 5.23 V_{RMS}$ . แรง

$\vec{F}_{HYD}$  ที่กระทำต่ออนุภาคพอลิस्टาไทรนมีค่าเท่ากับ 68.9 pN. ด้วยเหตุนี้  $V_0$  ที่ทำให้  $\vec{F}_{DEP_x}$  มีขนาดเท่ากับ  $\vec{F}_{HYD}$  จากการคำนวณด้วยสมการที่ (5.4) มีค่าเท่ากับ 2.46  $V_{RMS}$ .  $V_0$  จากการคำนวณน้อยกว่าค่าจากการทดลองและมีความแตกต่างประมาณ 50%. ความแตกต่างของ  $V_0$  ดังกล่าว อาจเป็นผลมาจากแรงดันตกบริเวณผิวอิเล็กโทรดเนื่องจากออกไซด์โลหะบนผิวอิเล็กโทรดอลูมิเนียมที่มีความต้านทานสูง.

## 5.2 การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ไฟฟ้าของเซลล์เลือดภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก

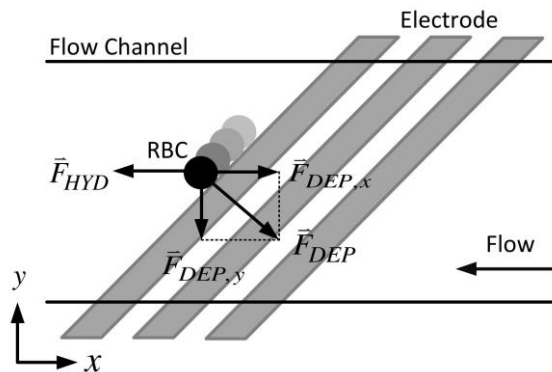
### 5.2.1 แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์เม็ดเลือดแดง

การศึกษาส่วนนี้ เป็นการหาค่าแรงดันอิเล็กโทรด  $V_0$  ที่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเริ่มตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกและเกิดการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่. เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ใช้เป็นเซลล์ที่แยกจากเลือดเต็ม. สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 0.025 S/m. อิเล็กโทรดทำมุม  $\theta$  กับช่องทางไหลจุลภาคและทิศทางการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง. อิเล็กโทรดที่ใช้ในการทดลองทำจากทองคำและมีระยะแคบเท่ากับ 25  $\mu\text{m}$ . มุม  $\theta$  มีค่าเท่ากับ 30°, 45° และ 60°. ความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์ที่เคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโทรดถูกควบคุมผ่านอัตราการไหล  $Q$  ของสารละลายบัฟเฟอร์ภายในช่องทางไหลจุลภาค. อัตราการไหล  $Q$  อยู่ระหว่าง 0.5  $\mu\text{L}/\text{min}$  จนถึง 3.5  $\mu\text{L}/\text{min}$ . แรงดัน  $V_0$  เป็นรูปคลื่นไซน์มีความถี่  $f$  เท่ากับ 5 MHz. รูปที่ 5.9 แสดงแรงดันเบี่ยงเบนเซลล์ที่สัมพันธ์กับ  $Q$  และ  $\theta$  ค่าต่างๆ.



รูปที่ 5.9 แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์ที่อัตราการไหล  $Q$  และมุม  $\theta$  ค่าต่างๆ.

จากรูปที่ 5.9 แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์แปรผันตามอัตราการไหลหรือความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง. แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น. มุม  $\theta$  เท่ากับ  $30^\circ$  แรงดันที่ใช้ในการเบี่ยงเบนเซลล์มีค่าต่ำกว่าที่มุม  $\theta$  เท่ากับ  $45^\circ$  และ  $60^\circ$ . สำหรับมุม  $\theta$  เท่ากับ  $45^\circ$  และ  $60^\circ$  แรงดันที่ใช้ในการเบี่ยงเบนเซลล์มีค่าใกล้เคียงกัน.



รูปที่ 5.10 แรงที่กระทำต่อเซลล์บริเวณขอบอิเล็กโทรด.

### 5.2.2 ความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง

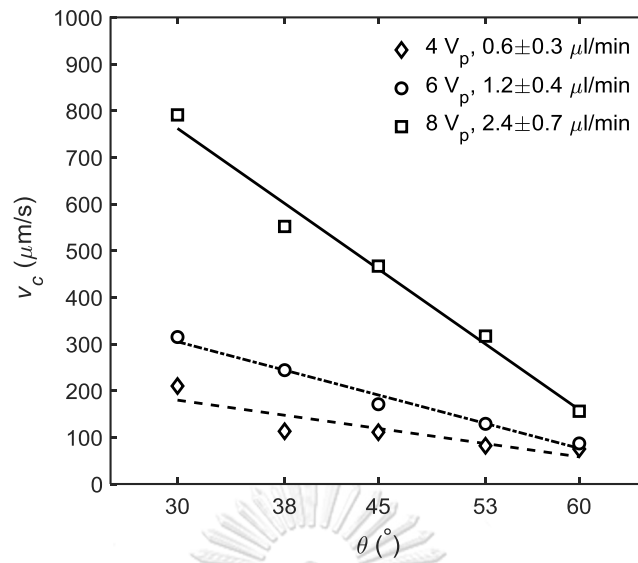
ผู้วิจัยได้วัดความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงตามขอบอิเล็กโทรดขณะที่เซลล์อยู่ภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติก  $\vec{F}_{DEP}$  และแรงการไหล  $\vec{F}_{HYD}$ . รูปที่ 5.10 แสดงทิศทางของ  $\vec{F}_{DEP}$  และ  $\vec{F}_{HYD}$  ที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและทำให้เซลล์เบี่ยงเบนแนวทางการเคลื่อนที่.  $\vec{F}_{DEP,x}$  ทำให้เซลล์เคลื่อนตัวข้างและ  $\vec{F}_{DEP,y}$  บังคับให้เซลล์เคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโทรด. ณ ค่าแรงดันที่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการเบี่ยงเบนแนวทางการเคลื่อนที่  $\vec{F}_{DEP,x}$  ไม่จำเป็นต้องมีขนาดเท่ากับ  $\vec{F}_{HYD}$ . แรง  $\vec{F}_{DEP,x}$  และ  $\vec{F}_{DEP,y}$  ต้องมีค่ามากพอที่จะทำให้เซลล์เคลื่อนตัวข้างและสามารถทำให้เซลล์เคลื่อนที่ตามขอบอิเล็กโทรดได้. ตารางที่ 5.1 แสดงความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงตามขอบอิเล็กโทรด  $v_C$  ที่แปรผันตามอัตราการไหล  $Q$  และมุม  $\theta$  ของอิเล็กโทรด. การทดลองใช้อิเล็กโทรดที่ทำจากอลูมิเนียม. กรณี  $V_0 < 4 V_p$  เซลล์เม็ดเลือดแดงไม่เกิดการเบี่ยงเบนและเคลื่อนที่ตามขอบอิเล็กโทรด. ส่วนกรณี  $V_0 > 8 V_p$  แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติก  $\vec{F}_{DEP}$  ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงสะสมที่บริเวณอิเล็กโทรด. ทั้งสองกรณี จึงไม่ได้ทำการวัดความเร็ว  $v_C$ .

รูปที่ 5.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเร็ว  $v_C$  กับมุม  $\theta$  เมื่อ  $V_0$  เท่ากับ  $4 V_p$ ,  $6 V_p$  และ  $8 V_p$  ที่สัมพันธ์กับ  $Q$  เท่ากับ  $0.6 \pm 0.3 \mu\text{L}/\text{min}$ ,  $1.2 \pm 0.4 \mu\text{L}/\text{min}$  และ  $2.4 \pm 0.7 \mu\text{L}/\text{min}$  ตามลำดับ. มุม  $\theta$  เท่ากับ  $30^\circ$  เซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเร็ว  $v_C$  สูงที่สุดเมื่อเทียบกับมุม  $\theta$  อื่น. ความเร็ว  $v_C$  ลดลงเมื่อมุม  $\theta$  เพิ่มขึ้น เมื่อ  $V_0$  มีค่าคงที่. รูปที่ 5.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง

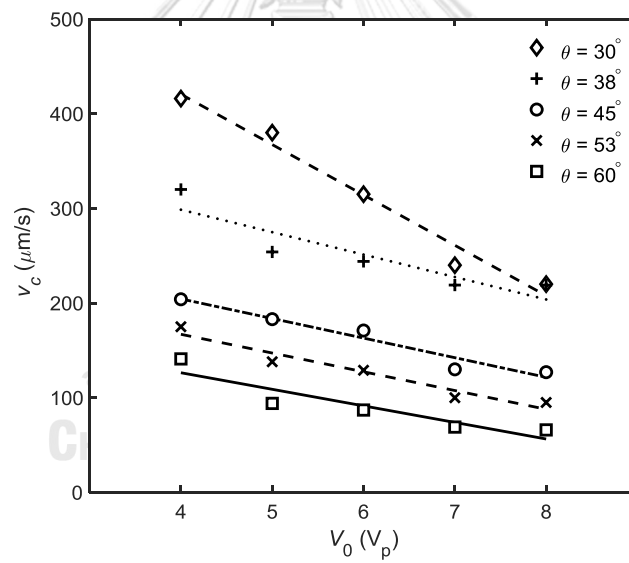
ความเร็ว  $v_C$  กับ  $V_0$  เมื่อ  $Q = 1.2 \pm 0.4 \mu\text{L}/\text{min}$ .  $V_0$  เท่ากับ  $4 V_p$  เซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเร็ว  $v_C$  มากที่สุดในทุกๆ มุม  $\theta$ .  $v_C$  ลดลง เมื่อ  $V_0$  มีค่าเพิ่มขึ้น. ถึงแม้ว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรดด้วยความเร็ว  $v_C$  สูงสุดที่  $V_0$  เท่ากับ  $4 V_p$  แต่จากการทดลองพบเซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนเท่านั้นที่ตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกและเกิดการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่. การลดแรงดัน  $V_0$  ให้ต่ำกว่า  $4 V_p$  พบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไม่ตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกเพิ่มมากขึ้น. ด้วยเหตุนี้ ในทางปฏิบัติ การเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงจึงจำเป็นต้องใช้  $V_0$  ที่สูงขึ้น เพื่อให้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกมีค่ามากพอ.

ตารางที่ 5.1 ความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง ( $\mu\text{m}/\text{s}$ ) ตามแนวอิเล็กโตรด.

Average Flow Rate ( $\mu\text{L}/\text{min}$ )	$\theta$ ( $^\circ$ )	Electrode Voltage ( $V_p$ )				
		4	5	6	7	8
$0.6 \pm 0.3$	60	75	-	-	-	-
	53	82	-	-	-	-
	45	111	-	-	-	-
	38	113	-	-	-	-
	30	210	-	-	-	-
$1.2 \pm 0.4$	60	141	94	87	69	66
	53	175	138	129	100	95
	45	204	183	171	130	127
	38	320	254	244	219	219
	30	416	380	315	240	220
$2.4 \pm 0.7$	60	-	-	-	-	156
	53	-	-	-	-	317
	45	-	-	-	-	467
	38	-	-	-	-	552
	30	-	-	-	-	791

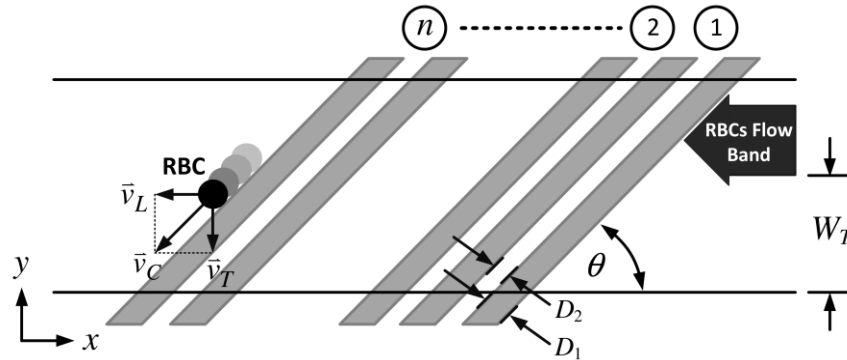


รูปที่ 5.11 ความสัมพันธ์ระหว่าง  $v_c$  กับ  $\theta$ .



รูปที่ 5.12 ความสัมพันธ์ระหว่าง  $v_c$  กับ  $V_0$  เมื่อ  $Q = 1.2 \pm 0.4 \mu\text{l/min}$ .

### 5.2.3 การวิเคราะห์ผลของค่าวัฏจักรหน้าที่ของรูปคลื่นแรงดันไฟฟ้าต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์



รูปที่ 5.13 การเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณขอบอิเล็กโทรดและพารามิเตอร์ต่างๆ.

การเบี่ยงเบนแนวทางการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง เราสามารถจ่ายแรงดันอิเล็กโทรด  $V_0$  เป็นแบบช่วงเวลา เพื่อควบคุมการเบี่ยงเบนและการเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโทรดของเซลล์และเพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์อุดตันช่องทางไหล. พิจารณากรณีที่เรากำหนด  $V_0$  เป็นแบบช่วงเวลา โดยระยะเวลาการจ่ายแรงดันควบคุมด้วยค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$ . รูปที่ 5.13 แสดงการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณขอบอิเล็กโทรดและพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการประมาณค่า  $D_T$ . จากรูปที่ 5.13 กำหนดให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่เป็นแถบ โดยมีความสูงตามแนวแกน  $y$  เมื่อเทียบกับผนังของช่องทางไหลเท่ากับ  $W_T$ . การประมาณค่า  $D_T$  พิจารณาจากการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงในช่วงเวลา  $T_{ON}$  และ  $T_{OFF}$ . ช่วงเวลา  $T_{ON}$  จ่ายแรงดันให้กับอิเล็กโทรด. เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโทรดเป็นระยะ  $W_T$  ในแนวตั้งฉาก. ระยะ  $W_T$  มีค่าเป็น

$$W_T = v_T T_{ON} \quad (5.5)$$

เมื่อ  $v_T$  เป็นความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงในแนวตั้งฉาก. ในขณะเดียวกันช่วงเวลา  $T_{ON}$  เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่ในแนวนอนเป็นระยะ  $W_L$  ตามทิศทางการไหลของสารละลายด้วยความเร็ว  $v_L$ . ระยะ  $W_L$  มีค่าเป็น

$$W_L = v_L T_{ON} = W_T \cos \theta \quad (5.6)$$

เมื่อ  $\theta$  เป็นมุมเอียงระหว่างอิเล็กโทรดกับช่องทางไหลจุลภาค.

ช่วงเวลา  $T_{OFF}$  แรงดัน  $V_0$  มีค่าเท่ากับศูนย์. เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่ตามแนวนอนด้วยแรงการไหล  $\vec{F}_{HYD}$  ของสารละลายบัฟเฟอร์. ระยะที่เซลล์เคลื่อนที่มีค่าเป็น

$$v_L T_{OFF} = \frac{n(D_1 + D_2)}{\sin \theta} - W_L \quad (5.7)$$

เมื่อ  $n$  เป็นจำนวนอิเล็กโทรด.  $D_1$  และ  $D_2$  เป็นความกว้างของตัวนำอิเล็กโทรดและระยะแกปของอิเล็กโทรด ดังแสดงในรูปที่ 5.13.

จากสมการที่ (5.5) – (5.7) สามารถเขียนสมการ  $D_T$  ได้เป็น

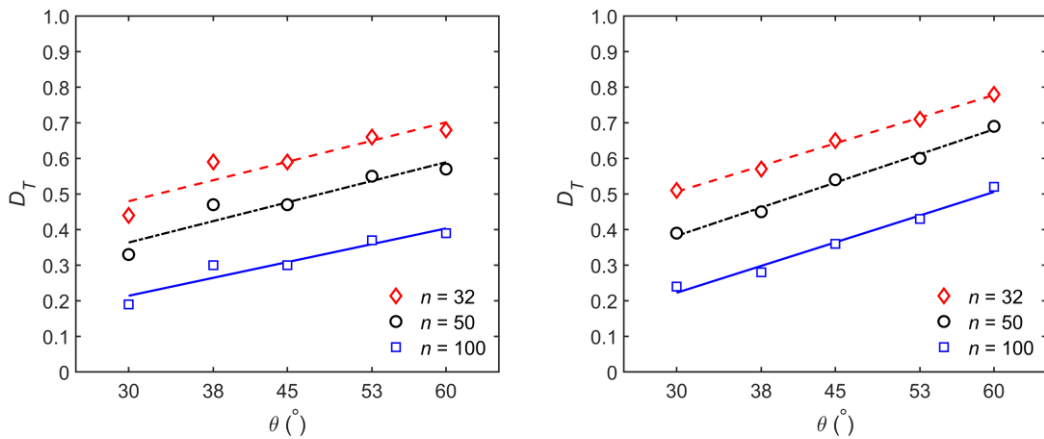
$$D_T = \frac{T_{ON}}{T_{ON} + T_{OFF}} = \frac{W_T}{W_T + \frac{v_T}{\sin \theta} \left\{ \frac{n(D_1 + D_2) - W_T \cos \theta}{v_Q} \right\}} \quad (5.8)$$

เมื่อ  $v_Q$  เป็นความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงภายใต้  $\vec{F}_{HYD}$ . จากสมการที่ (5.8) แทนค่า  $v_T = v_C \sin \theta$  ได้เป็น

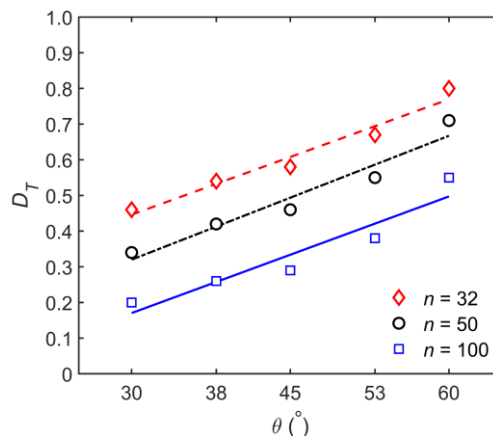
$$D_T = \frac{W_T}{W_T + \frac{v_C}{v_Q} \{n(D_1 + D_2) - W_T \cos \theta\}} \quad (5.9)$$

รูปที่ 5.14 (ก) – (ค) แสดงผลการคำนวณค่า  $D_T$  ด้วยสมการที่ (5.9) ที่สัมพันธ์กับ  $V_0$ ,  $\theta$ ,  $n$  และ  $Q$ . จากกราฟ  $D_T$  แปรผันตามมุม  $\theta$ . การเพิ่มขึ้นของมุม  $\theta$  ทำให้ค่า  $D_T$  เพิ่มขึ้นด้วย. ในทางกลับกัน  $D_T$  แปรผกผันกับจำนวนอิเล็กโทรด  $n$ . การเพิ่ม  $n$  ทำให้ค่า  $D_T$  ลดลง เมื่อ  $V_0$  และ  $Q$  คงที่.





(ก)  $V_0 = 4 V_p$  และ  $Q = 0.6 \pm 0.3 \mu\text{l/min}$ . (ข)  $V_0 = 6 V_p$  และ  $Q = 1.2 \pm 0.4 \mu\text{l/min}$ .

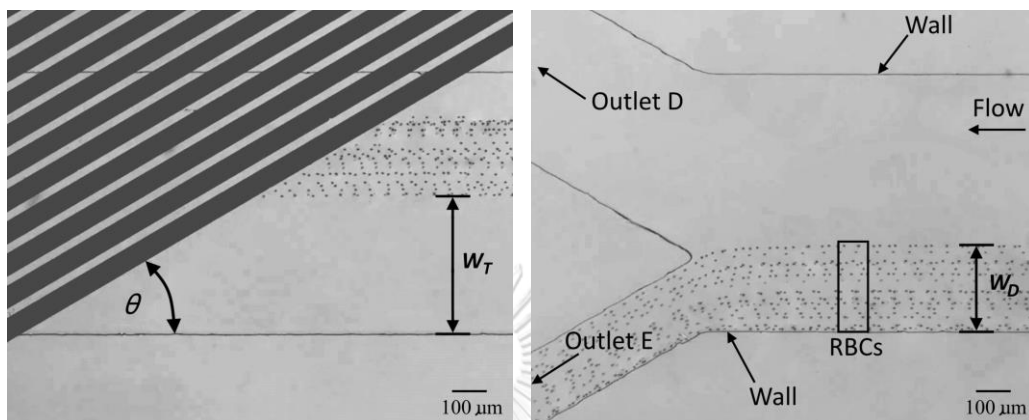


(ค)  $V_0 = 8 V_p$  และ  $Q = 2.4 \pm 0.7 \mu\text{l/min}$ .

รูปที่ 5.14 ค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  เมื่อ  $V_0$ ,  $\theta$ ,  $n$  และ  $Q$  มีการเปลี่ยนแปลง.

การทดลองเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยค่า  $D_T$  ที่คำนวณจากสมการที่ (5.9) กระทำภายใต้เงื่อนไขค่า  $D_T = 0.5$ ,  $V_0 = 8 V_p$ ,  $\theta = 30^\circ$ ,  $n = 32$  คู่ และ  $Q = 2.4 \pm 0.7 \mu\text{l/min}$ . เงื่อนไขการทดลองดังกล่าว สัมพันธ์กับค่า  $D_T$  ในกราฟรูปที่ 5.14 (ค). รูปที่ 5.15 แสดงลักษณะการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณอิเล็กโตรดและช่องทางออกของอุปกรณ์ของไหลจุลภาค. เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ไหลเข้าหาอิเล็กโตรดมีระยะ  $W_T$  ประมาณ  $370 \mu\text{m}$  และแถบการไหลของเซลล์มีความกว้างประมาณ  $210 \mu\text{m}$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงที่เคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโตรดมีการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออก ณ ช่องทางออก E ทั้งหมด. เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวเป็น

แถบที่มีความกว้าง  $W_D$  เท่ากับ  $240 \mu\text{m}$ . จากรูปที่ 5.15 (ข) การเบี่ยงเบนเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกจำกัดด้วยความกว้าง  $W_D$  เมื่อ  $W_D$  มีขนาดเท่ากับความกว้างของช่องทางออก E. อย่างไรก็ตาม การปรับความกว้าง  $W_D$  ให้ลดลงสามารถทำได้โดยการปรับค่า  $V_0$  และ  $D_T$ .



(ก) บริเวณอินเล็ตทรอด.

(ข) บริเวณช่องทางออก.

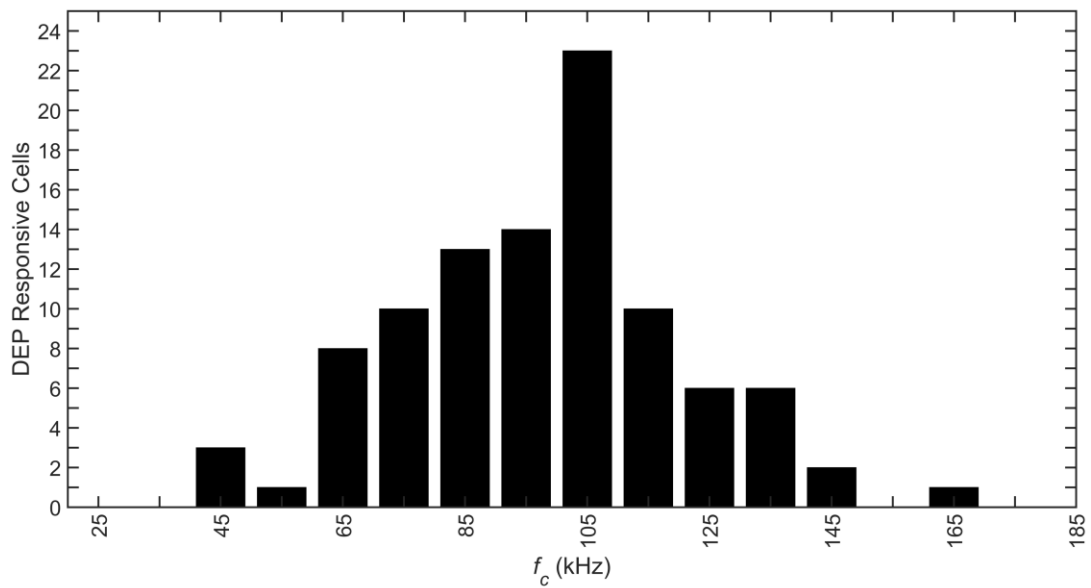
รูปที่ 5.15 ลักษณะการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงภายในช่องทางไหลของอุปกรณ์ของไหลจุลภาค.

### 5.3 การศึกษาไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเทชันของเซลล์เลือด

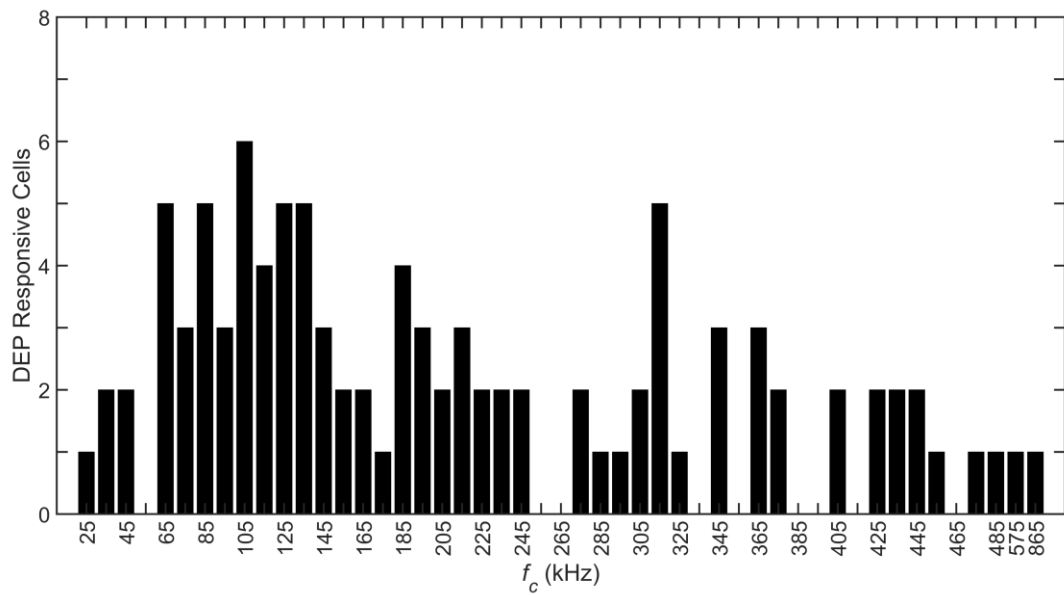
#### 5.3.1 ผลการทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเทชัน

การทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสทำกับเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย โดยมีสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ  $0.02 \text{ S/m}$ . แรงดันอิเล็กโตรด  $V_0$  มีค่าเท่ากับ  $3.5 V_p$  และมีความถี่ระหว่าง  $20 \text{ kHz}$  จนถึง  $500 \text{ kHz}$ . รูปที่ 5.16 (ก) และ (ข) แสดงการกระจายของความถี่ตัดข้าม  $f_C$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย ตามลำดับ. ณ ความถี่  $f_C$  แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์มีค่าเท่ากับศูนย์

จากรูปที่ 5.16 (ก) เซลล์เลือดเพาะปกติมีค่า  $f_C$  อยู่ระหว่าง  $45 \text{ kHz}$  ถึง  $165 \text{ kHz}$ .  $f_C$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $98 \text{ kHz}$  และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ  $23 \text{ kHz}$ .  $f_C$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีการกระจายตัวในช่วงความถี่  $24 \text{ kHz}$  ถึง  $865 \text{ kHz}$  ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากการที่เซลล์เลือดมีระยะการติดเชื่อแตกต่างกัน.  $f_C$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $217 \text{ kHz}$  และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ  $144 \text{ kHz}$ . จากผลการทดลอง ความถี่ตัดข้ามเฉลี่ยของเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีค่ามากกว่าเซลล์เลือดเพาะปกติ.

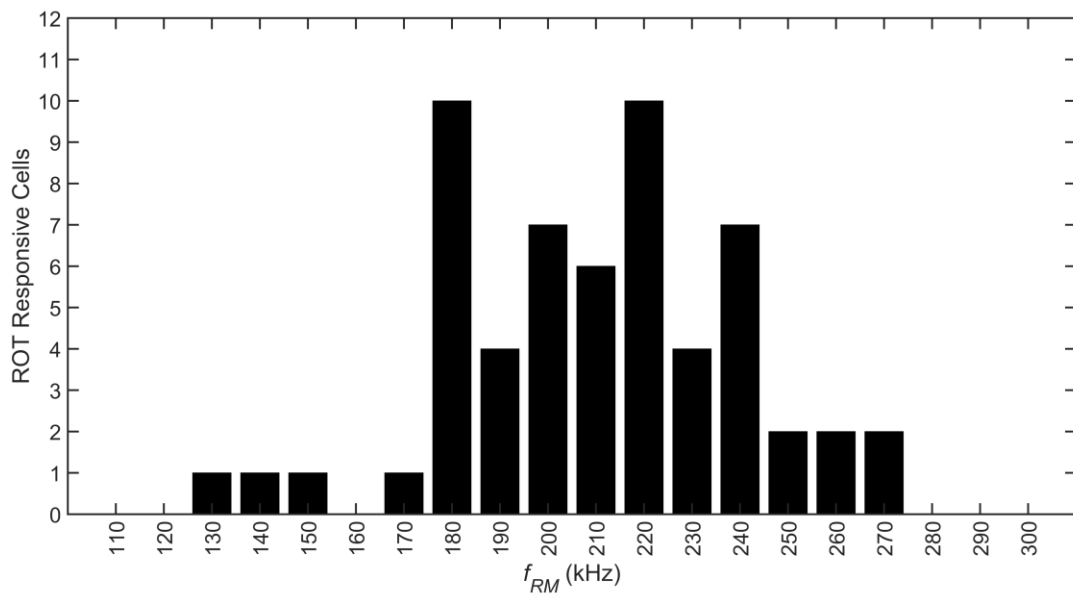


(ก) เซลล์เลือดเพาะปกติ.

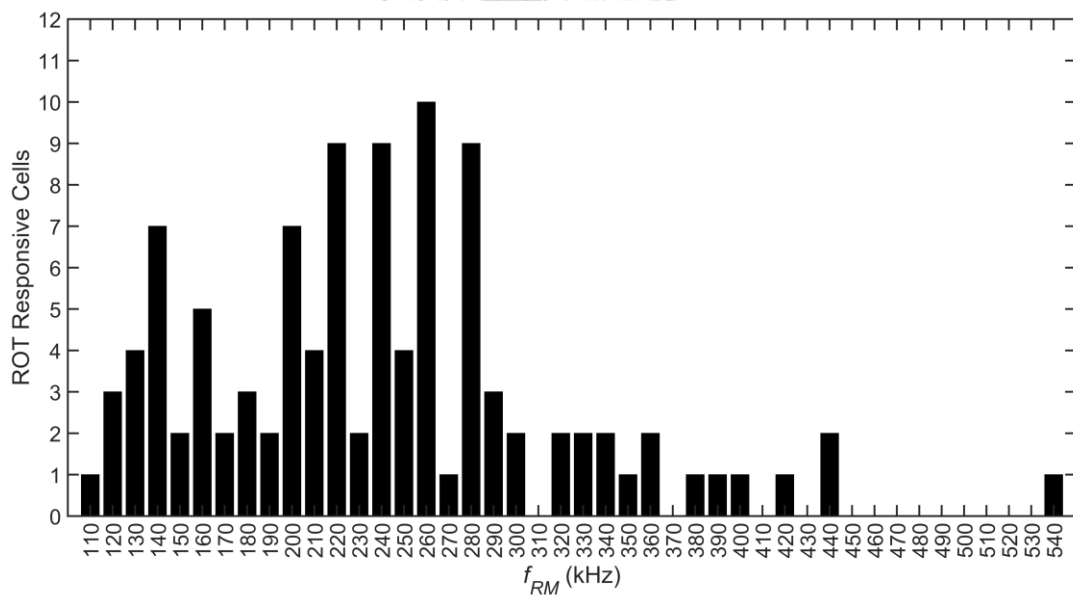


(ข) เซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย.

รูปที่ 5.16 การกระจายตัวของความถี่ตัดข้าม  $f_c$  ของเซลล์เลือด.

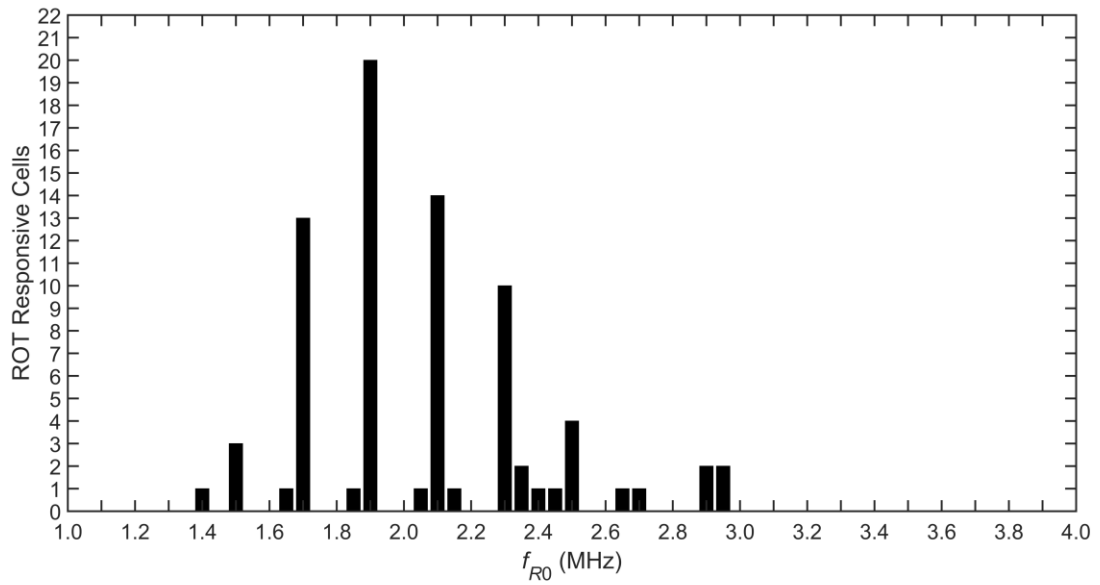


(ก) เซลล์เลือดเพาะปกติ.

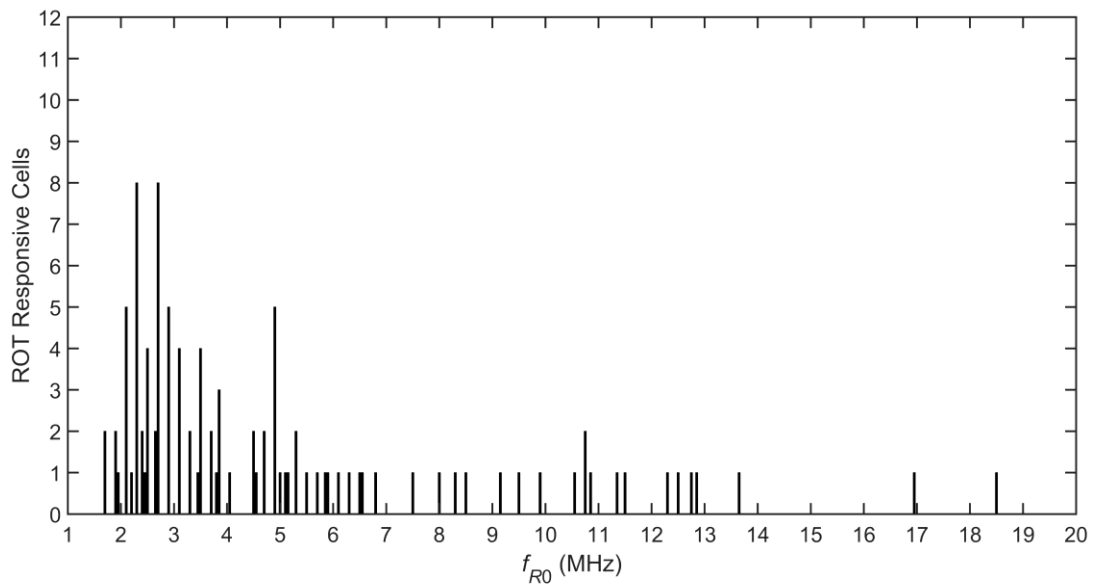


(ข) เซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย.

รูปที่ 5.17 การกระจายตัวของความถี่การหมุนสูงสุด  $f_{RM}$  ของเซลล์เลือด.



(ก) เซลล์เลือดเพาะปกติ.



(ข) เซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย.

รูปที่ 5.18 การกระจายตัวของความถี่วิกฤติการหมุน  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือด.

รูปที่ 5.17 (ก) และ (ข) แสดงการกระจายตัวของความถี่การหมุนสูงสุด  $f_{RM}$  ซึ่งแรงบิดของการหมุนของเซลล์มีขนาดสูงสุด.  $f_{RM}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติอยู่ในช่วงความถี่ 130 kHz จนถึง 270 kHz. ส่วน  $f_{RM}$  ของเซลล์เพาะเชื้อมาลาเรียมีการกระจายกว้างมากกว่าเซลล์เลือดเพาะปกติในช่วงความถี่ 110 kHz จนถึง 540 kHz.  $f_{RM}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 210 kHz และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 30 kHz. ในขณะที่  $f_{RM}$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 239 kHz และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 80 kHz.

รูปที่ 5.18 (ก) และ (ข) แสดงการกระจายตัวของความถี่วิกฤติการหมุน  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย ตามลำดับ. ณ ความถี่  $f_{R0}$  แรงบิดมีค่าเป็นศูนย์และเป็นจุดที่เซลล์เลือดเปลี่ยนทิศทางการหมุน.  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.1 MHz และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.4 MHz.  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.0 MHz และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 3.5 MHz. ตารางที่ 5.2 แสดงค่ามัธยฐาน, ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ  $f_C$ ,  $f_{RM}$  และ  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือดเพาะทั้งสองชนิด.

ตารางที่ 5.2 ค่ามัธยฐาน, ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความถี่  $f_C$ ,  $f_{RM}$  และ  $f_{R0}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย.

Frequency	nRBC		iRBC	
	Median	Average	Median	Average
$f_C$ (kHz)	95	98±23	185	217±144
$f_{RM}$ (kHz)	210	209.8±30	240	239±80
$f_{R0}$ (MHz)	2.05	2.1±0.4	3.5	5±3.5

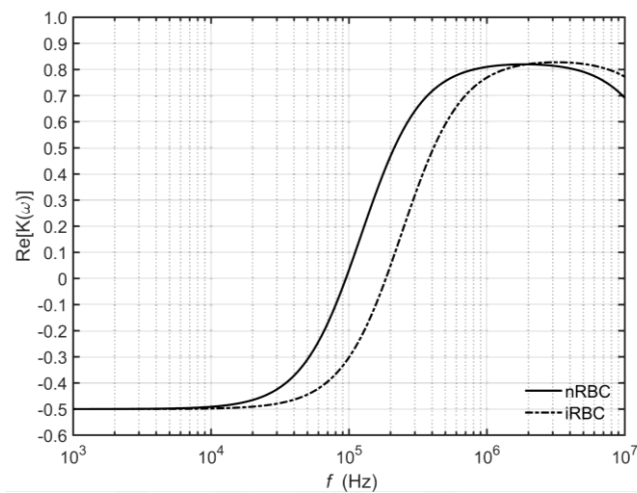
### 5.3.2 อภิปรายผลการทดลอง

จากตารางที่ 5.2 ค่ามัธยฐานของ  $f_C$  และ  $f_{R0}$  ถูกนำไปคำนวณสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_C$  ภายในเซลล์และความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$ . การคำนวณใช้สมการของตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติที่ละเลยผลของค่าสภาพยอมภายในเซลล์  $\epsilon_C$  และค่าสภาพยอมของสารละลายบัฟเฟอร์  $\epsilon_f$  ดังสมการ [54]

$$\mathbf{K}(\omega) = - \frac{1 + jC_m R \left( -\frac{1}{\sigma_l} + \frac{1}{\sigma_C} \right) \omega}{2 \left( 1 + jC_m R \left( \frac{1}{2\sigma_l} + \frac{1}{\sigma_C} \right) \omega \right)} \quad (5.10)$$

ตารางที่ 5.3 ผลการคำนวณสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_C$  และความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะ  $C_m$ .

Parameters	nRBC	iRBC
$R$ ( $\mu\text{m}$ )	4.04	4.005
$\varepsilon_l$ (F/m)	$78 \varepsilon_0$	
$\sigma_l$ (S/m)	0.02	
$\varepsilon_C$ (F/m)	$60 \varepsilon_0$	
$\sigma_C$ (S/m)	0.26	0.38
$C_m$ (mF/m <sup>2</sup> )	11.9	6.0



รูปที่ 5.19  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย.

ตารางที่ 5.4 เปรียบเทียบสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_C$  และความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะ  $C_m$  ของเซลล์เลือด.

เซลล์	$C_m$ (mF/m <sup>2</sup> )	$\sigma_C$ (S/m)	อ้างอิง
เซลล์เลือดเพาะปกติ	11.9	0.26	จากผลการทดลอง
	9	0.52	[11]
	10	0.5	[54]
	11.8	0.31	[59, 60]
เซลล์เพาะเชื่อมมาลาเรีย	6	0.38	จากผลการทดลอง
	9	$0.95 \sigma_{\text{ext}}$	[59, 60]

การหาค่า  $C_m$  และ  $\sigma_C$  ใช้โปรแกรมที่เขียนด้วย MATLAB สุ่มค่า  $C_m$  และ  $\sigma_C$  ที่ทำให้  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  และ  $\text{Im}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  มีค่าเท่าศูนย์ ณ ค่าความถี่ที่ตรง  $f_C$  และ  $f_{R0}$  ตามลำดับ. ตารางที่ 5.3 แสดงพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการคำนวณและผลการคำนวณ  $\sigma_C$  และ  $C_m$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรีย. รัศมี  $R$  ของเซลล์เลือดทั้งสองชนิดได้จากการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์จำนวน 100 เซลล์. สภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_C$  ภายในเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีค่ามากกว่าเซลล์เลือดเพาะเชื่อมปกติ. ความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะ  $C_m$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีค่าน้อยกว่าเซลล์เลือดเพาะเชื่อมปกติ. ค่า  $\sigma_C$  และ  $C_m$  ที่คำนวณได้ของเซลล์ทั้งสองชนิดมีความสอดคล้องกับผลการศึกษากิจการงานวิจัยที่ผ่านมา ดังแสดงในตารางที่ 5.4. รูปที่ 5.19 แสดงกราฟ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียที่คำนวณจากพารามิเตอร์ในตารางที่ 5.3. จากกราฟรูปที่ 5.19 เซลล์เลือดเพาะปกติมี  $f_C$  เท่ากับ 95 kHz ซึ่งเท่ากับค่าที่ได้จากการทดลอง.  $f_{R0}$  มีค่าเท่ากับ 2.053 MHz และแตกต่างจากค่าที่ได้จากการทดลองประมาณ 0.3%. เซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมี  $f_C$  และ  $f_{R0}$  เท่ากับ 185.1 kHz และ 3.449 MHz ตามลำดับ. ความถี่ทั้งสองแตกต่างจากค่ามาตรฐานที่ได้จากการทดลองประมาณ 0.054% และ 0.033%.

กราฟ  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ดังกล่าว สามารถใช้เลือกความถี่  $f$  ของแรงดันอิเล็กโตรด  $V_0$  สำหรับใช้ในการคัดแยกเซลล์เลือดทั้งสองชนิด. หลักการเลือกความถี่  $f$  ได้แก่ เซลล์เลือดเพาะปกติต้องตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกและเซลล์ส่วนใหญ่เกิดการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ที่ความถี่ดังกล่าว. ส่วนเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกน้อยกว่าหรือต้องไม่ได้รับผลของแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก. ตัวอย่างเช่น หากเราใช้ความถี่  $f = 500$  kHz สำหรับคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ พบว่า  $\text{Re}\{\mathbf{K}(\omega)\}$  ของเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียมีค่าเท่ากับ 0.76 และ 0.59 ตามลำดับ. ด้วยเหตุนี้ แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์เลือดเพาะปกติมากกว่าเซลล์เลือดเพาะเชื่อมมาลาเรียประมาณ 25%.

## 5.4 การคัดแยกอนุภาคจากเซลล์เลือด

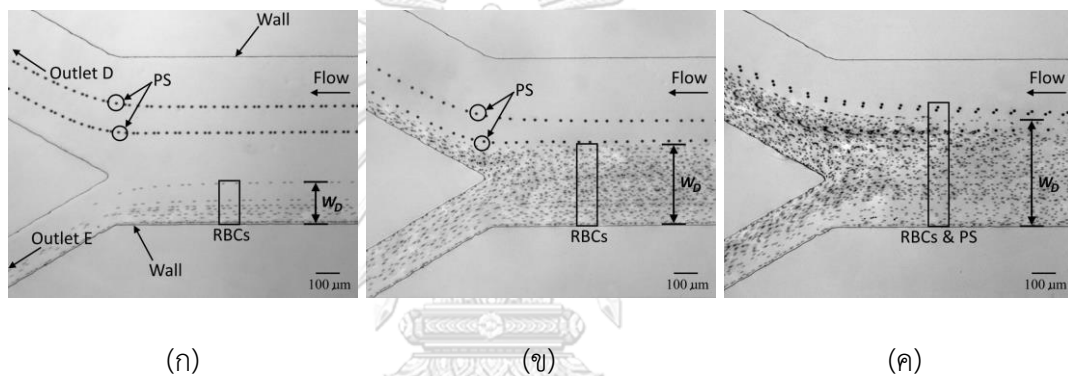
### 5.4.1 ผลของความหนาแน่นเซลล์เลือดต่อการคัดแยก

การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน (PS) ขนาด  $10 \mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือด (RBC) ใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่อิเล็กโตรดทำมุม  $30^\circ$  กับช่องทางไหลและจำนวนอิเล็กโตรดเท่ากับ 32 คู่. การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงใช้อัตราส่วนจำนวน PS:RBC เท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000 ที่สัมพันธ์กับความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $4 \times 10^3$ ,  $2 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{l}$  ตามลำดับ. รูปที่ 5.20 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณช่องทางออก เมื่อแรงดันอิเล็กโตรด  $V_0 = 6 V_p$ , ความถี่  $f = 5$  MHz, ค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$

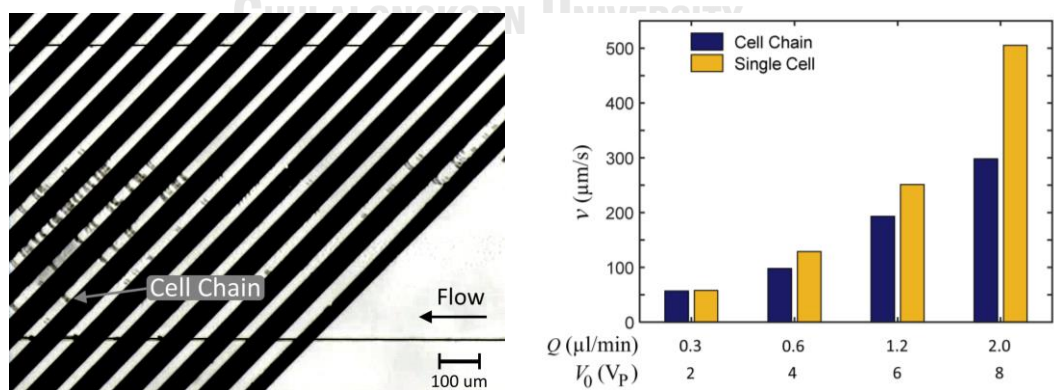


= 0.5 และอัตราการไหล  $Q = 1.8 \mu\text{l}/\text{min}$ . จากรูปที่ 5.20 (ก) แสดงกรณีที่มีความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $4 \times 10^3 \text{ Cells}/\mu\text{l}$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีการเบี่ยงเบนแนวทางการเคลื่อนที่และไหลออก ณ ช่องทางออก E. ความกว้าง  $W_D$  ของแนวการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $180 \mu\text{m}$ . อนุภาคพอลิสไตรีนมีแนวทางการเคลื่อนที่แยกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงอย่างชัดเจน โดยอนุภาคพอลิสไตรีนไหลออก ณ ช่องทางออก D.

การเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็น  $2 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^6 \text{ Cells}/\mu\text{l}$  ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงมีการเบี่ยงเบนแนวทางการเคลื่อนที่ลดลง. ความกว้าง  $W_D$  ของแนวการไหลของเซลล์เม็ดเลือดแดงเพิ่มเป็น  $340 \mu\text{m}$  และ  $550 \mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 5.20 (ข) และ (ค). เซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนจึงไหลออกที่ช่องทางออก D พร้อมกับอนุภาคพอลิสไตรีน.



รูปที่ 5.20 ลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงมีความหนาแน่น (ก)  $4 \times 10^3 \text{ Cells}/\mu\text{l}$ , (ข)  $2 \times 10^5 \text{ Cells}/\mu\text{l}$  และ (ค)  $2 \times 10^6 \text{ Cells}/\mu\text{l}$ .



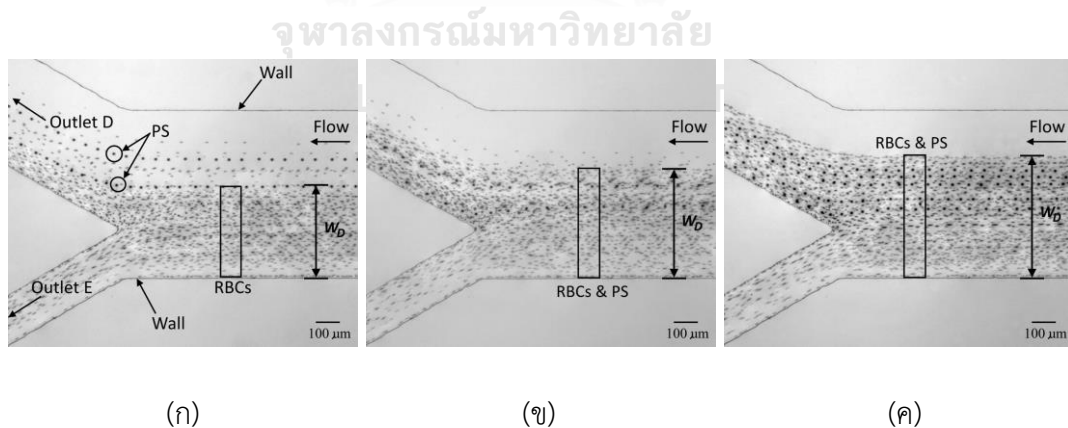
(ก) สายโซ่เซลล์ที่เคลื่อนตัวตามแนวอเล็กโตรด (ข) ความเร็ว  $v$  ของเซลล์เดี่ยวและสายโซ่เซลล์

รูปที่ 5.21 การเรียงตัวเป็นสายโซ่ของเซลล์และความเร็วในการเคลื่อนที่ตามแนวอเล็กโตรด

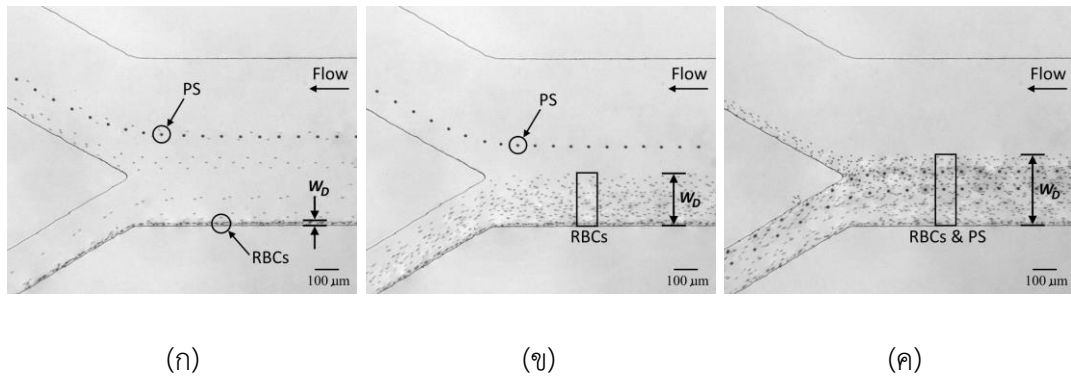
รูปที่ 5.21 (ก) แสดงการเรียงตัวเป็นสายโซ่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เชื่อมระหว่างคู่อิเล็กโตรด เมื่อเซลล์มีความหนาแน่นเท่ากับ  $1 \times 10^5$  Cells/ $\mu$ l. การเรียงตัวเป็นสายโซ่ของเซลล์ทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรด ( $v$ ) ลดลง. รูปที่ 5.21 (ข) แสดงการเปรียบเทียบความเร็ว  $v$  ระหว่างเซลล์เดี่ยวกับสายโซ่เซลล์ที่อัตราการไหล  $Q$  และแรงดัน  $V_0$  ค่าต่างๆ. ความเร็ว  $v$  ของสายโซ่เซลล์มีค่าน้อยกว่าเซลล์เดี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อ  $V_0$  มีค่าเพิ่มขึ้น.

#### 5.4.2 ผลของแรงดันอิเล็กโตรด $V_0$ และวัฏจักรหน้าที่ $D_T$ ต่อการคัดแยก

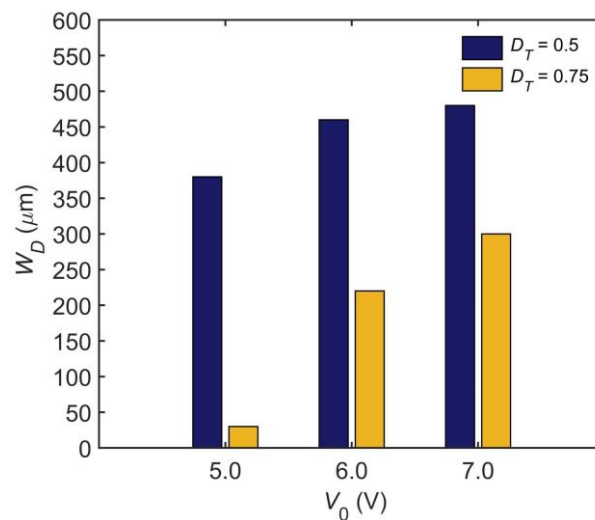
การทดลองได้ทำการปรับค่าแรงดันอิเล็กโตรด  $V_0$  และค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  เพื่อดูผลกระทบที่มีต่อลักษณะการกระจายตัวและการเบี่ยงเบนของเซลล์เม็ดเลือดแดง. รูปที่ 5.22 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อค่า  $D_T = 0.5$  และ  $V_0$  เท่ากับ 5, 6 และ 7  $V_p$ . อัตราส่วนจำนวน PS:RBC = 1:2,000 และอัตราการไหล  $Q = 1.6$   $\mu$ l/min. จากรูปที่ 5.22 (ก) เมื่อ  $V_0$  เท่ากับ 5  $V_p$  การกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีความกว้าง  $W_D$  เท่ากับ 380  $\mu$ m. รูปที่ 5.22 (ข) และ (ค) แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อเพิ่ม  $V_0$  เป็น 6 และ 7  $V_p$  ตามลำดับ. การเพิ่ม  $V_0$  มีผลทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงมีการกระจายตัวเพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเร็วในการเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรดลดลง. เมื่อ  $V_0$  เท่ากับ 6 และ 7  $V_p$  พบว่า ความกว้าง  $W_D$  เพิ่มขึ้นเป็น 460  $\mu$ m และ 480  $\mu$ m ตามลำดับ. นอกจากนี้ รูปที่ 5.22 ยังแสดงให้เห็นว่า การใช้ค่า  $D_T$  เท่ากับ 0.5 ไม่สามารถแยกอนุภาคพอลิสไตรีนออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์. เซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนยังคงไหลออก ณ ช่องทางออก D.



รูปที่ 5.22 ลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อ  $D_T = 0.5$  และ  $V_0$  เท่ากับ (ก) 5  $V_p$ , (ข) 6  $V_p$  และ (ค) 7  $V_p$ .



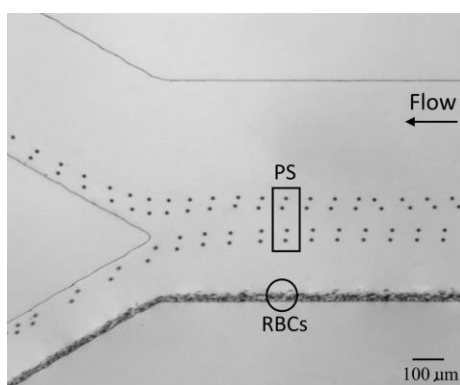
รูปที่ 5.23 ลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อ  $D_T = 0.75$  และ  $V_0$  เท่ากับ (ก)  $5 V_p$ , (ข)  $6 V_p$  และ (ค)  $7 V_p$ .



รูปที่ 5.24 ความกว้าง  $W_D$  ของแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดง.

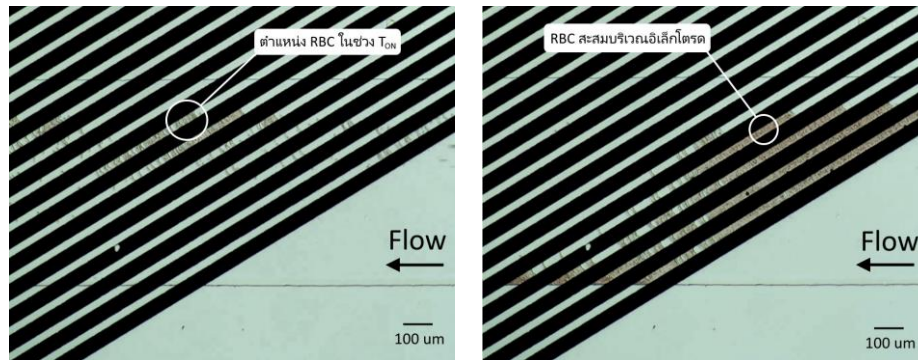
รูปที่ 5.23 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อค่า  $D_T = 0.75$  และ  $V_0$  เท่ากับ 5, 6 และ  $7 V_p$ . อัตราส่วนจำนวน PS:RBC = 1:2,000 และอัตราการไหล  $Q = 2.4 \mu\text{L}/\text{min}$ . การเพิ่มค่า  $D_T$  ทำให้การกระจายตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ 5.22 ที่  $V_0$  ค่าเดียวกัน. จากรูปที่ 5.23 (ก) เซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่ถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ให้ไหลออก ณ ช่องทางออก E. ส่วนอนุภาคพอลิสไตรีนไหลออก ณ ช่องทางออก D. อย่างไรก็ตาม เซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนไม่ตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกและไหลออกที่ช่องทางออก D เนื่องจากแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกมีค่าต่ำ. การเพิ่ม  $V_0$  เป็น  $6 V_p$  ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงมีการกระจายตัวเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 5.23 (ข). ความกว้าง  $W_D$  เท่ากับ  $220 \mu\text{m}$ . แรงไดอิเล็กโตร

โพเรติกที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงมีค่ามากพอและสามารถเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงให้แยกจากอนุภาคพอลิสไตรีนได้ทั้งหมด. รูปที่ 5.23 (ค) การเพิ่ม  $V_0$  เป็น  $7 V_p$  ทำให้แรงไดอิเล็กโตรโพเรติกที่กระทำต่อเซลล์เพิ่มขึ้น. เซลล์เม็ดเลือดแดงมีความเร็วในการเคลื่อนที่ตามแนวอิเล็กโตรดลดลง. ความกว้าง  $W_D$  เพิ่มขึ้นเป็น  $300 \mu\text{m}$  และพบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนไหลออกที่ช่องทางออก D. นอกจากนี้ อนุภาคพอลิสไตรีนยังถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ให้ไหลออกที่ช่องทางออก E. รูปที่ 5.24 แสดงการเปรียบเทียบความกว้าง  $W_D$  เมื่อ  $V_0$  และ  $D_T$  มีการเปลี่ยนแปลง.



รูปที่ 5.25 ลักษณะการไหลของอนุภาคและเซลล์บริเวณช่องทางออก เมื่อ  $D_T = 1.0$  และ  $V_0 = 6 V_p$ .

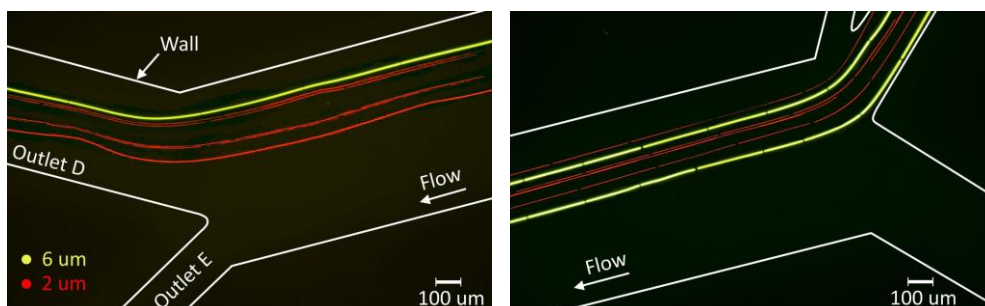
รูปที่ 5.25 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณช่องทางออก เมื่อค่า  $D_T = 1.0$  และ  $V_0 = 6 V_p$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออกที่ช่องทางออก E ทั้งหมด. อนุภาคพอลิสไตรีนบางส่วนถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออกที่ช่องทางออก E ด้วยเช่นกัน. การที่เซลล์เม็ดเลือดแดงได้รับแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกตลอดเวลาทำให้เกิดการสะสมของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณอิเล็กโตรด. การสะสมของเซลล์เม็ดเลือดแดงดังกล่าว ทำให้ช่องทางไหลเกิดการอุดตันได้. รูปที่ 5.26 แสดงการเปรียบเทียบของการสะสมเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณอิเล็กโตรดระหว่างการให้  $V_0 = 6 V_p$  ด้วยค่า  $D_T$  เท่ากับ 0.75 และ 1.0. ความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $2 \times 10^5$  Cells/ $\mu\text{L}$ . จากรูปที่ 5.26 (ก) การใช้ค่า  $D_T = 0.75$  มีการสะสมของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณอิเล็กโตรดน้อยกว่า. เซลล์เลือดถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่เฉพาะช่วงเวลา  $T_{ON}$ . ส่วนช่วงเวลา  $T_{OFF}$  เซลล์ไม่ได้รับแรงไดอิเล็กโตรโพเรติก. เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโตรดด้วยแรงการไหลของของสารละลายบัฟเฟอร์. การใช้ค่า  $D_T = 1.0$  ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงได้รับแรงไดอิเล็กโตรโพเรติกตลอดเวลา. เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวตามแนวอิเล็กโตรดด้วยความเร็วต่ำทำให้เกิดการสะสมของเซลล์บริเวณอิเล็กโตรด ดังแสดงในรูปที่ 5.26 (ข).

(ก)  $D_T = 0.75$ .(ข)  $D_T = 1.0$ .

รูปที่ 5.26 การสะสมของเซลล์เม็ดเลือดแดงบริเวณอิเล็กโตรดภายในช่องทางไหล.

#### 5.4.3 การคัดแยกอนุภาคตามขนาดที่แตกต่าง

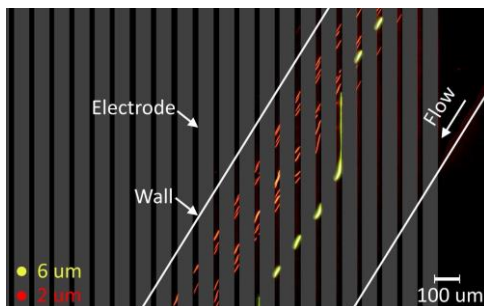
การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $6\ \mu\text{m}$  จากอนุภาคขนาด  $2\ \mu\text{m}$  และดูผลของแรงดัน  $V_0$  และค่า  $D_T$  ที่มีต่อการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคทั้งสอง. การคัดแยกอนุภาคใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติกแบบลบเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $6\ \mu\text{m}$ . การทดลองใช้อนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $2$  และ  $6\ \mu\text{m}$  ที่ย้อมฟลูออเรสเซนส์สีแดงและสีเขียว ตามลำดับ. รายละเอียดการกำหนดแหล่งกำเนิดแสง, ฟิลเตอร์ และโปรแกรมบันทึกภาพ แสดงในภาคผนวก ฉ. การทดลองคัดแยกอนุภาคใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาค ดังแสดงในรูปที่ 4.9. อนุภาคทั้งสองถูกป้อนเข้าอุปกรณ์ ณ ช่องทางเข้า B และภายในช่องทางไหลมีอัตราการไหล  $Q$  เท่ากับ  $1\ \mu\text{L}/\text{min}$ . การไหลของอนุภาคบริเวณช่องทางเข้าภายในช่องทางไหลมีลักษณะเป็นแถบที่มีความกว้างประมาณ  $200\ \mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 5.27 (ข). เมื่อแรงดัน  $V_0$  เท่ากับศูนย์ อนุภาคทั้งสองชนิดไหลออก ณ ช่องทางออก D ทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 5.27 (ก).



(ก) บริเวณช่องทางออก.

(ข) บริเวณช่องทางเข้า.

รูปที่ 5.27 ลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคทั้งสองภายในช่องทางไหลจุลภาค เมื่อ  $V_0 = 0\ V_p$ .

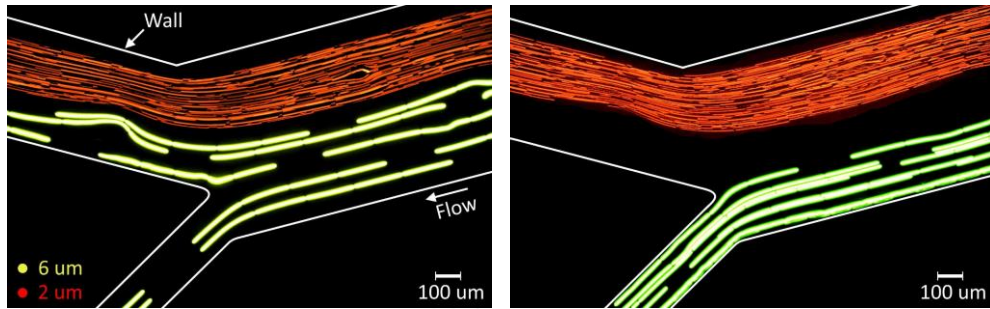


รูปที่ 5.28 การเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$ .

เมื่อจ่ายแรงดัน  $V_0$  ให้กับอิเล็กโทรด อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ถูกแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบลบเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ เมื่ออนุภาคเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโทรด. อนุภาคขนาด 2  $\mu\text{m}$  มีแนวการเคลื่อนที่คงเดิม เนื่องจากผลของแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบลบมีขนาดน้อยกว่า. รูปที่ 5.28 แสดงลักษณะการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  เมื่อ  $V_0 = 7.5 V_p$ ,  $D_T = 0.75$  และ  $Q = 1 \mu\text{l}/\text{min}$ . จากรูป ช่วงเวลา  $T_{ON}$  อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  เคลื่อนตัวตามแนวอิเล็กโทรดภายใต้แรง ไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบลบและแรงการไหลของสารละลาย. อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  จึงมีแนวการเคลื่อนที่แยกจากอนุภาคขนาด 2  $\mu\text{m}$ . สำหรับช่วงเวลา  $T_{OFF}$  อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  เคลื่อนตัวตามการไหลของสารละลายด้วยแรงการไหล.

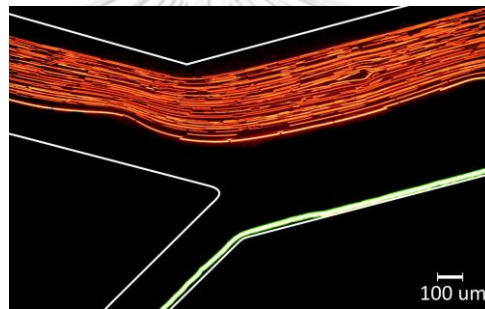
รูปที่ 5.29 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคบริเวณช่องทางออก เมื่อ  $V_0 = 5.5 V_p$  และอัตราส่วนระหว่างอนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  กับ 2  $\mu\text{m}$  เท่ากับ 1:20. อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  มีความหนาแน่นเท่ากับ 1,000 Particles/ $\mu\text{l}$ . การเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  สามารถควบคุมผ่านค่า  $D_T$  ของแรงดัน  $V_0$ . กรณี  $D_T = 0.35$  อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ถูกเบี่ยงเบนให้มีแนวการเคลื่อนที่แยกจากอนุภาคขนาด 2  $\mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 5.29 (ก). อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ไหลออก ณ ช่องทางออก D และ E. เมื่อ  $D_T$  ถูกเพิ่มเป็น 0.5 และ 0.75 อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ถูกเบี่ยงเบนให้ไหลออก ณ ช่องทางออก E ทั้งหมด. กรณี  $D_T = 0.75$  อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  มีความกว้างของแนวการเคลื่อนที่ ( $W_D$ ) ต่ำกว่า  $D_T = 0.5$  ดังแสดงในรูปที่ 5.29 (ข) และ 5.29 (ค).  $D_T = 0.5$  เป็นค่าต่ำสุดที่สามารถใช้ในการเบี่ยงเบนอนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ให้ไหลออก ณ ช่องทางออก E ทั้งหมด. รูปที่ 5.30 แสดงลักษณะการไหลของอนุภาคบริเวณช่องทางออก เมื่อ  $V_0 = 7.5 V_p$  และ  $D_T = 0.75$ . อนุภาคขนาด 6  $\mu\text{m}$  ไหลออก ณ ช่องทางออก E ทั้งหมดในทำนองเดียวกับกรณีที่  $V_0 = 5.5 V_p$  และ  $D_T = 0.75$ . อนุภาคขนาด 2  $\mu\text{m}$  ส่วนใหญ่ไหลออก ณ ช่องทางออก D แต่มีอนุภาคบางส่วนเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออกที่ช่องทางออก E เนื่องจากแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่ออนุภาคมีค่าเพิ่มขึ้น. ดังนั้น เราจึงสามารถสรุปได้ว่า ภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบลบ

เราสามารถควบคุมแนวการเคลื่อนที่ของอนุภาคด้วยขนาดของแรงดันและค่า  $D_T$  ได้เช่นเดียวกับการใช้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกแบบบวก.



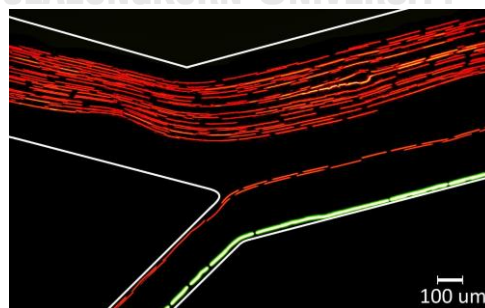
(ก)  $D_T = 0.35$ .

(ข)  $D_T = 0.5$ .



(ค)  $D_T = 0.75$ .

รูปที่ 5.29 การเคลื่อนที่ของอนุภาคบริเวณช่องทางออก เมื่อ  $V_0 = 5.5 V_p$  และ  $Q = 1 \mu\text{L}/\text{min}$ .



รูปที่ 5.30 การเคลื่อนที่ของอนุภาคบริเวณช่องทางออก เมื่อ  $V_0 = 7.5 V_p$ ,  $D_T = 0.75$  และ  $Q = 1 \mu\text{L}/\text{min}$ .

#### 5.4.4 การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนจากเซลล์เม็ดเลือดแดง

การทดลองใช้อัตราส่วนจำนวนระหว่างอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง (PS:RBC) เท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000 โดยที่อัตราส่วนจำนวน PS:RBC ค่าต่างๆ มีความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $4 \times 10^3$ ,  $2 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^6$  Cell/ $\mu$ l ตามลำดับ. แรงดันอิเล็กโตรด  $V_0$  เท่ากับ 6 V<sub>p</sub> และการทดลองมีอัตราการไหลเฉลี่ยเท่ากับ 1.7  $\mu$ l/min. จำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E ถูกนำมาใช้คำนวณการเพิ่มปริมาณ (Enrichment), ประสิทธิภาพการคัดแยก (Separation Efficiency) และความบริสุทธิ์ (Purity) ของอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D. ผลการนับจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E ที่ได้จากการทดลองสามารถดูรายละเอียดได้จากภาคผนวก ข. ตารางที่ 5.5 ถึง 5.7 แสดงความบริสุทธิ์ของอนุภาคพอลิสไตรีน ( $P_{PS}$ ), การเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีน ( $E_{PS}$ ) และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน ( $\eta_{PS}$ ) ณ ช่องทางออก D ตามลำดับ. การคำนวณ  $E_{PS}$ ,  $\eta_{PS}$  และ  $P_{PS}$  ใช้สมการที่ (5.11), (5.12) และ (5.13) ตามลำดับ.

$$E_{PS} = \frac{(N_{D,PS} / N_{D,RBC})}{(N_{B,PS} / N_{B,RBC})} \quad (5.11)$$

$$\eta_{PS} = \frac{N_{D,PS}}{(N_{D,PS} + N_{E,PS})} \times 100\% \quad (5.12)$$

$$P_{PS} = \frac{N_{D,PS}}{(N_{D,PS} + N_{D,RBC})} \times 100\% \quad (5.13)$$

เมื่อ  $N_{X,Y}$  คือจำนวนของ  $Y$  (อนุภาคพอลิสไตรีนหรือเซลล์เม็ดเลือดแดง) ณ ช่องทางเข้าหรือช่องทางออก  $X$ .

ตารางที่ 5.5 ความบริสุทธิ์ของอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D.

Ratio PS:RBC	$D_T$		
	0.5	0.75	1.0
1:20	86.63	84.17	86.10
1:200	2.71	44.17	31.95
1:2,000	N/A	10.60	14.10

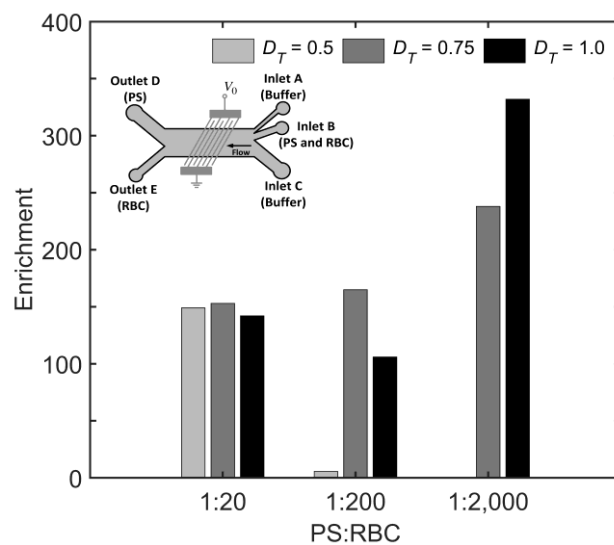


ตารางที่ 5.6 การเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D.

Ratio PS:RBC	$D_T$		
	0.5	0.75	1.0
1:20	148.89	153.00	142.22
1:200	5.57	165.30	105.96
1:2,000	N/A	237.62	332.06

ตารางที่ 5.7 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D.

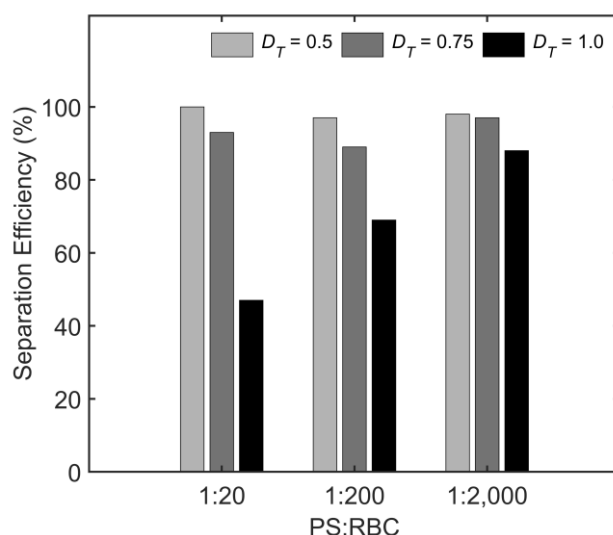
Ratio PS:RBC	$D_T$		
	0.5	0.75	1.0
1:20	100%	92.47%	47.27%
1:200	97.12%	89.43%	69.16%
1:2,000	97.78%	96.68%	87.55%



รูปที่ 5.31 การเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D.

รูปที่ 5.31 แสดงการเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D ( $E_{PS}$ ). การใช้ค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T = 0.75$  ทำให้  $E_{PS}$  มีค่ามากกว่า 150 เท่าในทุกอัตราส่วนจำนวน PS:RBC. สำหรับกรณีค่า  $D_T = 0.5$ ,  $E_{PS}$  ลดลงจาก 148.89 เท่า เหลือ 5.57 เท่า เมื่ออัตราส่วนจำนวน

PS:RBC เพิ่มจาก 1:20 เป็น 1:200.  $E_{PS}$  ลดลงเป็นผลมาจากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่น้อยลงและมีเซลล์จำนวนมากไหลออกที่ช่องทางออก D.



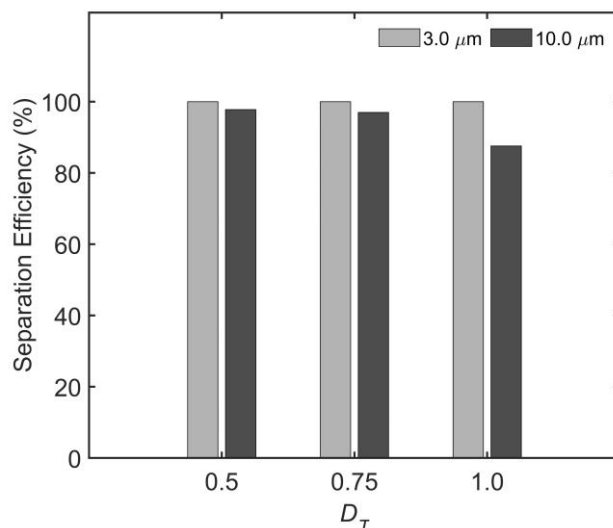
รูปที่ 5.32 ประสิทธิภาพของการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D.

รูปที่ 5.32 แสดงประสิทธิภาพของการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน ณ ช่องทางออก D ( $\eta_{PS}$ ).  $\eta_{PS}$  ลดลง เมื่อค่า  $D_T$  เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ เป็นผลจากแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่เพิ่มขึ้นและทำให้อนุภาคพอลิสไตรีนจำนวนหนึ่งเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ไหลออกที่ช่องทางออก E. การใช้ค่า  $D_T \leq 0.75$  พบว่า  $\eta_{PS} > 88\%$  ในทุกอัตราส่วนจำนวน PS:RBC. กรณีที่ค่า  $D_T = 0.5$ ,  $\eta_{PS}$  มีค่ามากกว่ากรณีค่า  $D_T$  เท่ากับ 0.75 และ 1.0. อย่างไรก็ตาม รูปที่ 5.31 ได้แสดงให้เห็นว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากไม่ตอบสนองต่อแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกหรือเซลล์มีการเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่น้อย. เซลล์เม็ดเลือดแดงดังกล่าว จึงไหลออกที่ช่องทางออก D รวมกับอนุภาคพอลิสไตรีน ซึ่งทำให้ค่าการเพิ่มปริมาณของอนุภาคลดลง.

#### 5.4.5 การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3 และ 10 $\mu\text{m}$ จากเซลล์เลือด

การทดลองนี้ เป็นการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และ 10  $\mu\text{m}$  จากเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยอัตราส่วนจำนวน PS:RBC = 1:2,000. เซลล์เม็ดเลือดแดงมีความหนาแน่นเท่ากับ  $2 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{l}$ . การคัดแยกใช้แรงดันอิเล็กโตรด  $V_0 = 6 V_p$ , ความถี่  $f = 5$  MHz และอัตราการไหล  $Q = 2$   $\mu\text{l}/\text{min}$ . รูปที่ 5.33 แสดง  $\eta_{PS}$  ของอนุภาคขนาด 3 และ 10  $\mu\text{m}$  ณ ช่องทางออก D เมื่อค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  เท่ากับ 0.5, 0.75 และ 1.0. ประสิทธิภาพในการคัดแยกอนุภาคทั้งสอง

คำนวณจำนวนอนุภาคที่ไหลออก ณ ช่องทางออก D และ E. ผลการนับจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และ 10  $\mu\text{m}$  ที่ไหลออก ณ ช่องทางออกทั้งสองสามารถดูได้จากตารางที่ ข.3 และ ข.4 ในภาคผนวก ข.



รูปที่ 5.33 ประสิทธิภาพของการคัดแยก  $\eta_{PS}$  ของอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และ 10  $\mu\text{m}$ .

จากรูปที่ 5.33  $\eta_{PS}$  สำหรับอนุภาคขนาด 3  $\mu\text{m}$  สูงกว่าอนุภาคขนาด 10  $\mu\text{m}$  ที่ทุกค่า  $D_T$ . การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  ไม่พบอนุภาคที่เกิดการเบี่ยงแนวการเคลื่อนที่อันเนื่องมาจากแรงไดโพลอิเล็กโตรโฟเรติก. อนุภาคทั้งหมดไหลออก ณ ช่องทางออก D. สำหรับอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$   $\eta_{PS}$  มีค่าลดลง เมื่อค่า  $D_T$  เพิ่มขึ้น เนื่องจากแรงไดโพลอิเล็กโตรโฟเรติกที่เพิ่มขึ้นตามค่า  $D_T$  ทำให้อนุภาคเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่. อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$  ยังคงมีค่าเฉลี่ยที่สูงถึง 94%. ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กรณีที่วัตถุเป้าหมายมีขนาดแตกต่างจากวัตถุที่ไม่ต้องการอย่างชัดเจน เราสามารถคัดแยกวัตถุเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า.

### 5.5 การแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์ปกติ

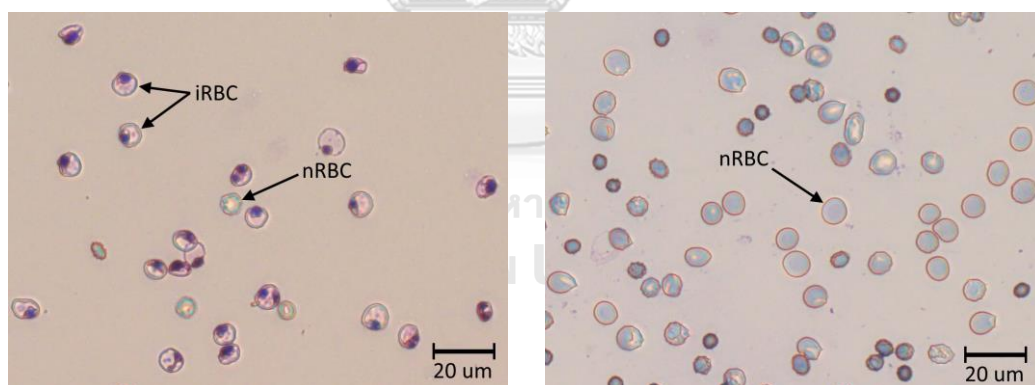
การคัดแยกเซลล์เลือดด้วยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5, 1:50, 1:500 และ 1:5x10<sup>3</sup>. เซลล์เลือดเพาะปกติมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.25x10<sup>5</sup> Cells/ $\mu\text{l}$  เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5. กรณีอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:50, 1:500 และ 1:5x10<sup>3</sup> เซลล์เลือดเพาะปกติมีความเข้มข้นเท่ากับ 2x10<sup>6</sup> Cells/ $\mu\text{l}$ . การทดลองในอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC ดังกล่าว เป็นการยืนยันความสามารถในการแยกเซลล์ติดเชื้อของอุปกรณ์และ

พารามิเตอร์ที่ตั้งไว้ หรืออาจจำลองกรณีที่ผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียเป็นระยะเวลานาน. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.16 (ก). ช่องทางเข้า B ถูกป้อนด้วยตัวอย่างเซลล์เลือดทั้งสองชนิด. การไหลของเซลล์เลือดภายในช่องทางไหลมีลักษณะเป็นแถบที่มีความกว้างประมาณ 200  $\mu\text{m}$  และเซลล์ไหลออกที่ช่องทางออก D เมื่อ  $V_0 = 0 V_p$  ดังแสดงในรูปที่ 4.8.

อิเล็กโตรดถูกจ่ายด้วยแรงดัน  $V_0$ , ความถี่  $f$  และค่าตัวจลกรหน้าที  $D_T$  เป็นไปตามตารางที่ 5.7. อัตราการไหล  $Q = 2 \mu\text{l}/\text{min}$ . ตัวอย่างเซลล์เลือดที่ไหลออกจากอุปกรณ์ ณ ช่องทางออก D และ E ถูกนำมาย้อมสี Giemsa และนับจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิด. การย้อมสีเซลล์เลือดและการนับจำนวนเซลล์เลือดมีขั้นตอนแสดงดังภาคผนวก ง.

ตารางที่ 5.7 แรงดัน  $V_0$ , ความถี่  $f$  และค่า  $D_T$  ที่ใช้ในการทดลอง.

iRBC:nRBC	$V_0$ ( $V_p$ )	$f$ (kHz)	$D_T$
1:5	6	400	0.75
1:50	6	400	0.75
1:500	7.5	400	0.85
$1:5 \times 10^3$	6	600	0.85



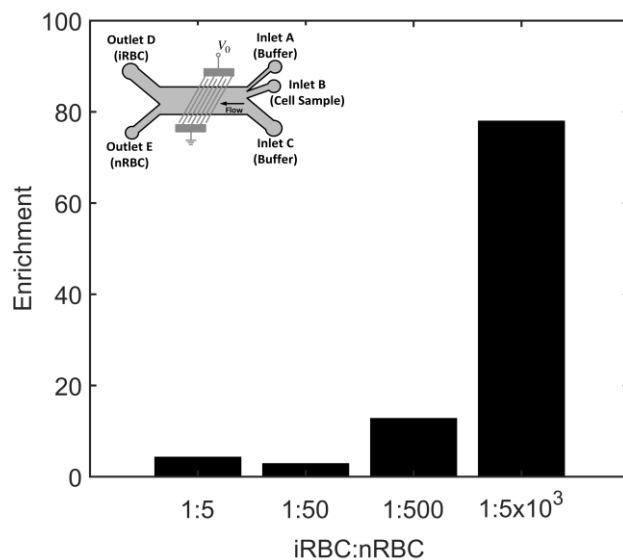
(ก) ช่องทางออก D.

(ข) ช่องทางออก E.

รูปที่ 5.34 เซลล์เลือดที่พบ ณ ช่องทางออกทั้งสอง เมื่อ iRBC:nRBC = 1:5.

รูปที่ 5.34 แสดงลักษณะของเซลล์เลือด ณ ช่องทางออก D และ E ที่ผ่านการย้อมสีและส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 60 เท่า เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC = 1:5. เซลล์ที่พบ ณ ช่องทางออก E เป็นเซลล์เลือดเพาะปกติและคิดเป็นร้อยละ  $99.8 \pm 0.2$  ของจำนวนเซลล์เลือดทั้งหมด. ช่องทางออก D พบเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียเป็นจำนวนมากและคิดเป็นร้อยละ  $40.8 \pm 19.1$  ของ

จำนวนเซลล์เลือดที่พบ. รูปที่ 5.35 แสดงค่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย  $E_{iRBC}$  ณ ช่องทางออก D ที่ได้จากการทดลองด้วยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC ค่าต่างๆ. ผลการนับจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิดที่ได้จากการทดลอง สามารถดูได้จากภาพผนวก ซ.

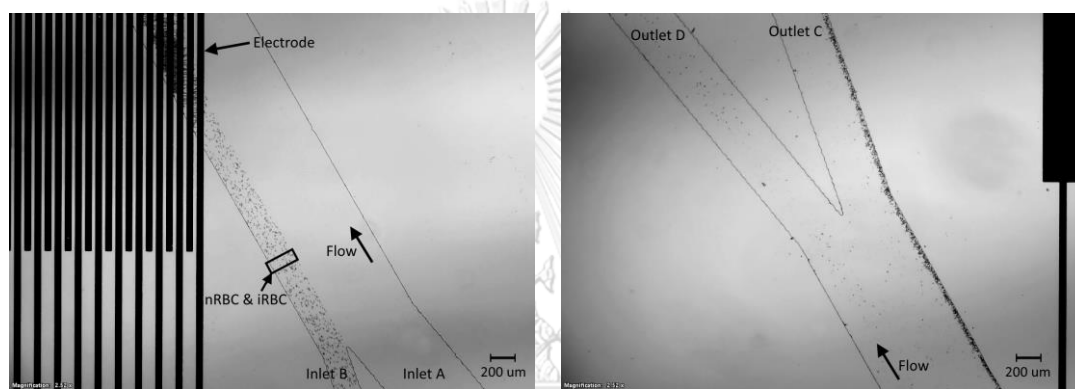


รูปที่ 5.35 ค่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย ณ ช่องทางออก D.

จากกราฟในรูปที่ 5.35 กรณีอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC = 1:5 การเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย  $E_{iRBC}$  ณ ช่องทางออก D มีค่าเท่ากับ  $4.3 \pm 3.8$  เท่า. เมื่อเพิ่มอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC = 1:50, 1:500 และ  $1:5 \times 10^3$ ,  $E_{iRBC}$  มีค่าเท่ากับ  $2.9 \pm 0.4$  เท่า, 12.8 เท่า และ  $78 \pm 18$  เท่า ตามลำดับ (การทดลองด้วยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC = 1:500 กระทำเพียง 1 ครั้ง).  $E_{iRBC}$  มีค่าสูงขึ้นตามอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เนื่องจากตัวอย่างเซลล์เลือดที่ไหลเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาคและผ่านกระบวนการคัดแยกมีปริมาณเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 91 เท่า เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC =  $1:5 \times 10^3$ .

การทดลองส่วนที่สอง เป็นการทดลองแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติด้วยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ  $1:5 \times 10^4$ ,  $1:5 \times 10^5$  และ  $1:1 \times 10^6$  และเซลล์เลือดเพาะปกติมีความหนาแน่นเท่ากับ  $1 \times 10^6$  Cells/ $\mu$ l. การทดลองในส่วนนี้ เป็นการจำลองสภาวะการติดเชื้อมาลาเรียในระยะเริ่มต้น ซึ่งจำนวนเซลล์เลือดติดเชื้อมีปริมาณน้อย. อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่ใช้มีลักษณะแสดงดังรูปที่ 4.16 (ข). ช่องทางไหลจุลภาคถูกปรับปรุงลักษณะให้มีช่องทางเข้า 2 ทาง ได้แก่ ช่องทางเข้า A สำหรับป้อนสารละลายบัฟเฟอร์และช่องทางเข้า B สำหรับป้อนตัวอย่างเซลล์เลือด. การทดลองใช้  $V_0 = 7 V_p$ ,  $f = 500$  kHz,  $D_T = 0.85$  และ  $Q = 1$   $\mu$ l/min. กระบวนการคัดแยก

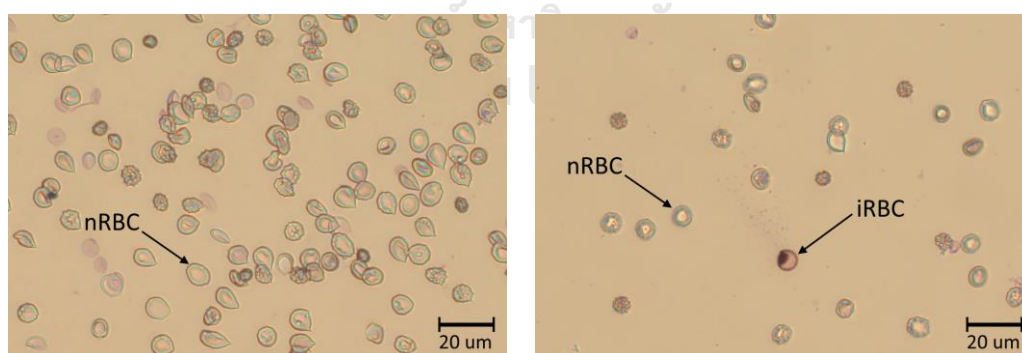
เซลล์ใช้เวลา 40 นาที. ตัวอย่างเซลล์เลือดที่ถูกป้อนเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาคผ่านช่องทางเข้า B ตลอดการคัดแยกเซลล์มีปริมาตรเท่ากับ 10  $\mu\text{L}$ . ตัวอย่างเซลล์เลือด ณ ช่องทางออก C และ D ถูกเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาย้อมสี Giemsa และนับจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิด. รูปที่ 5.36 แสดงลักษณะการไหลของตัวอย่างเซลล์ภายในช่องทางไหลบริเวณช่องทางเข้าและช่องทางออก. ตัวอย่างเซลล์ที่ไหลเข้าช่องทางไหล ณ ช่องทางเข้า B มีลักษณะเป็นแถบกว้างประมาณ 200  $\mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 5.36 (ก). เมื่อเซลล์เลือดทั้งสองเคลื่อนตัวผ่านอิเล็กโตรด เซลล์เลือดเพาะปกติส่วนใหญ่จะถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออกที่ช่องทางออก C ดังแสดงในรูปที่ 5.36 (ข). สำหรับเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีทิศทางการไหลคงเดิมและไหลออกที่ช่องทางออก D.



(ก) ช่องทางเข้า.

(ข) ช่องทางออก.

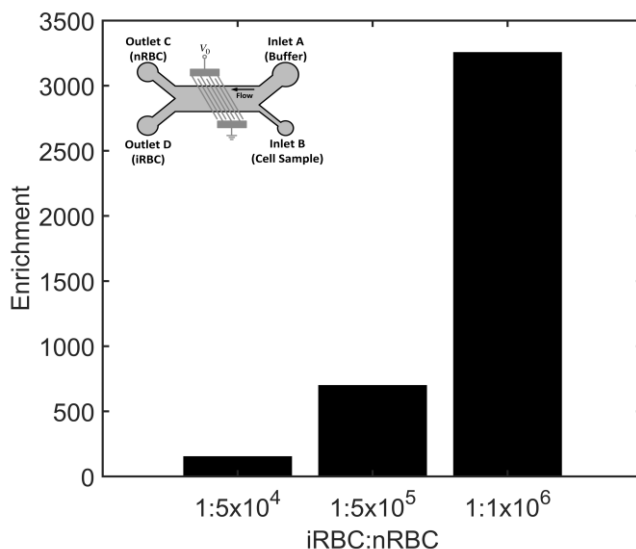
รูปที่ 5.36 การไหลของตัวอย่างเซลล์ภายในช่องทางไหล.



(ก) ช่องทางออก C.

(ข) ช่องทางออก D.

รูปที่ 5.37 ลักษณะของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเซลล์เลือดเพาะปกติ.



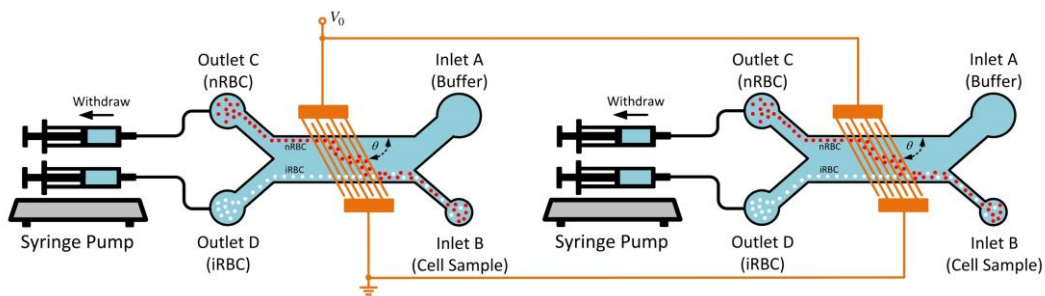
รูปที่ 5.38 ค่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย ณ ช่องทางออก D.

ตัวอย่างเซลล์ ณ ช่องทางออก D ที่ผ่านการย้อมสีถูกนำไปนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเซลล์เลือดเพาะปกติเพื่อนำมาหาค่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย. ผลการนับจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิดที่ช่องทางออกสามารถดูได้ในภาคผนวก ข. รูปที่ 5.37 แสดงลักษณะเซลล์เลือดทั้งสอง ณ ช่องทางออก C และ D ที่ได้จากการทดลองด้วยอัตราส่วน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5x10<sup>5</sup>. รูปที่ 5.38 แสดงค่าการเพิ่มปริมาณของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย  $E_{iRBC}$  ณ ช่องทางออก D ที่ได้จากการทดลองด้วยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC ค่าต่างๆ.

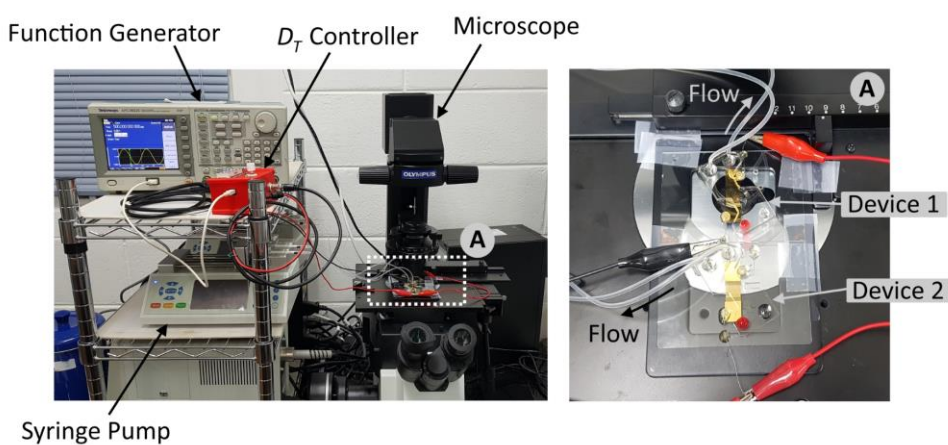
$E_{iRBC}$  มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 153±49 เท่า, 699 เท่า (ทดลองเพียง 1 ครั้ง) และ 3,255±869 เท่า เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5x10<sup>4</sup>, 1:5x10<sup>5</sup> และ 1:1x10<sup>6</sup> ตามลำดับ. ในกรณี iRBC:nRBC เท่ากับ 1:1x10<sup>6</sup>,  $E_{iRBC}$  สูงสุดเท่ากับ 4,739 เท่า และต่ำสุดเท่ากับ 2,134 เท่า .

## 5.6 การเพิ่มปริมาณงานคัดแยกด้วยอุปกรณ์แบบขนาน

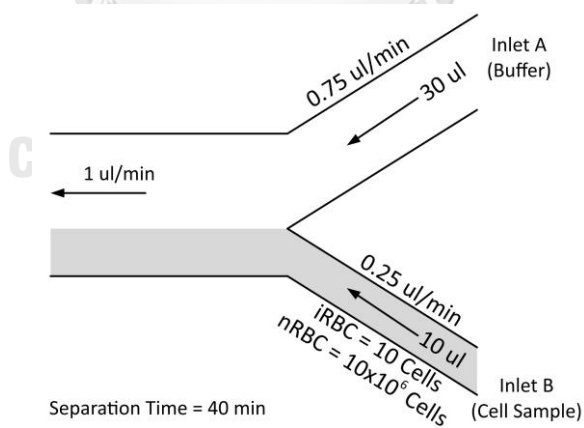
การคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียโดยใช้ตัวอย่างเลือดที่มีปริมาณสูงชันสามารถเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเซลล์เลือดที่ติดเชื้อมาลาเรียได้. การเพิ่มปริมาณผลลัพธ์ทำโดยการคัดแยกด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคแบบขนาน. รูปที่ 5.39 แสดงแผนภาพเค้าร่างของการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 ชั้นที่ต่อขนานกัน. การทดลองใช้อัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:1x10<sup>6</sup> โดยเซลล์เลือดเพาะปกติมีความหนาแน่นเท่ากับ 1x10<sup>6</sup> Cells/ $\mu$ l. แรงดัน  $V_0 = 7 V_p$ , ความถี่  $f = 500$  kHz,  $D_T = 0.85$  และอัตราการไหล  $Q = 1$   $\mu$ l/min. รูปที่ 5.40 แสดงการต่ออุปกรณ์ของไหลจุลภาคขณะทำการทดลอง.



รูปที่ 5.39 แผนภาพเค้าร่างของการทดลองคัดแยกเซลล์ด้วยการขนานอุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 ชั้น.



รูปที่ 5.40 การต่ออุปกรณ์ของไหลจุลภาคขณะทำการทดลอง.



รูปที่ 5.41 อัตราการไหลและปริมาตรของของที่ไหลเข้าอุปกรณ์ 1 ชั้น.

รูปที่ 5.41 แสดงอัตราการไหลและปริมาตรของของที่ไหลเข้าอุปกรณ์บริเวณช่องทางเข้าของอุปกรณ์. ตัวอย่างเซลล์เลือดที่ถูกป้อนเข้าอุปกรณ์มีปริมาตรเท่ากับ 10  $\mu$ l โดยมีปริมาณเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเซลล์เลือดเพาะปกติจำนวน 10 และ  $10 \times 10^6$  Cells ตามลำดับ. การต่อ



อุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 ชั้นขนานกัน สามารถเพิ่มปริมาณตัวอย่างเลือดที่ป้อนเข้าอุปกรณ์ของไหลจุลภาคจาก 10  $\mu\text{l}$  เป็น 20  $\mu\text{l}$ . ผลการทดลองได้ค่าเฉลี่ยของ  $E_{iRBC}$  เท่ากับ  $3,757 \pm 458$  เท่า ซึ่งใกล้เคียงการคัดแยกด้วยตัวอุปกรณ์ของไหลเพียงชั้นเดียว. อย่างไรก็ตาม การใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคแบบขนานทำให้ตรวจพบเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากการส่องฟิล์มเลือดชนิดบางด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ง่ายขึ้น.

อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่นำเสนอสามารถคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติที่อัตราส่วนจำนวน  $iRBC:nRBC$  สูงสุดเท่ากับ  $1:1 \times 10^6$ . หากพิจารณาความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเฉลี่ยของมนุษย์ประมาณ  $5 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{l}$  พบว่า อุปกรณ์ของไหลจุลภาคมีขีดจำกัดการตรวจหา (Limit of Detection, LoD) เซลล์เลือดที่ติดเชื้อมาลาเรียประมาณ 5 Cells/ $\mu\text{l}$ . ด้วยเหตุนี้ อุปกรณ์ของไหลจุลภาคและกระบวนการคัดแยกที่นำเสนอจึงช่วยเพิ่มความไวและความแม่นยำในการตรวจวินิจฉัยโรคมลาเรียได้.



## บทที่ 6

### สรุป

#### 6.1 แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์และอนุภาค

การจำลองศักย์และสนามไฟฟ้าระหว่างอิเล็กโตรดภายในช่องทางไหลทำให้เราสามารถคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกที่กระทำต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและอนุภาคพอลิสไตรีนได้. การคำนวณใช้แบบจำลอง 2 มิติที่อิเล็กโตรดมีระยะแยก  $25 \mu\text{m}$  และความต่างศักย์ไฟฟ้า  $V_0 = 1 V_{\text{RMS}}$ . ภายใต้อิทธิพลของความถี่ของสนามไฟฟ้า 5 MHz เซลล์เม็ดเลือดแดงถูกแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก (แรง DEP,  $\vec{F}_{\text{DEP}}$ ) แบบบวกดึงให้เคลื่อนตัวเข้าหาขั้วลบของอิเล็กโตรด. แรง DEP แนวระดับและแนวตั้งมีขนาดสูงสุดเท่ากับ 43.51 pN และ 196 pN ตามลำดับ. อนุภาคพอลิสไตรีนเคลื่อนที่ออกจากบริเวณขั้วลบของอิเล็กโตรดด้วยแรง DEP แบบลบ. แรง DEP สูงสุดที่กระทำต่ออนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $10 \mu\text{m}$  ในแนวระดับต่ำกว่าแรงบนเซลล์ 54%.

จากการทดลองจับเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยความเร็ว  $1,232 \mu\text{m/s}$  ด้วยแรง DEP. เซลล์หยุดการเคลื่อนที่บริเวณขั้วลบของอิเล็กโตรดด้วย  $V_0 = 1.41 V_{\text{RMS}}$  ซึ่งมากกว่าค่าจากการคำนวณ 16%. การทดลองจับอนุภาคพอลิสไตรีนด้วยความเร็ว  $730 \mu\text{m/s}$  ด้วยแรง DEP. อนุภาคหยุดการเคลื่อนที่บริเวณขั้วลบของอิเล็กโตรดที่  $z = 10 \mu\text{m}$  ด้วย  $V_0 = 5.2 V_{\text{RMS}}$  ซึ่งมากกว่าค่าจากการคำนวณ 50%. ความแตกต่างของแรงดันอาจเป็นผลมาจากออกไซด์โลหะที่ผิวอิเล็กโตรด.

#### 6.2 การเคลื่อนที่ของเซลล์ภายใต้แรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก

ผู้วิจัยทดลองหาแรงดันเบี่ยงเบนเซลล์ ซึ่งเป็นค่า  $V_0$  ที่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเริ่มเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่ภายใต้แรงการไหล  $\vec{F}_{\text{HYD}}$  และ  $\vec{F}_{\text{DEP}}$ . แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์แปรผันตามอัตราการไหล  $Q$  ของเซลล์. กรณีมุมระหว่างอิเล็กโตรดและช่องทางไหล  $\theta = 30^\circ$  แรงดันเบี่ยงเบนเซลล์เท่ากับ  $1.2 V_p$  เมื่อ  $Q = 0.49 \mu\text{l/min}$  และเพิ่มเป็น  $2.4 V_p$  เมื่อ  $Q = 3.04 \mu\text{l/min}$ . แรงดันที่ใช้ในการเบี่ยงเบนเซลล์ เมื่อ  $\theta = 30^\circ$  มีค่าต่ำกว่าที่  $45^\circ$  และ  $60^\circ$  (ซึ่งค่าใกล้เคียงกัน).

ภายใต้  $\vec{F}_{\text{HYD}}$  และ  $\vec{F}_{\text{DEP}}$  เซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนตัวตามแนวอิเล็กโตรดด้วยความเร็วซึ่งขึ้นอยู่กับมุม  $\theta$ ,  $V_0$  และ  $Q$ . กรณีที่  $V_0$  มีค่าคงที่  $v_C$  ลดลงเมื่อ  $\theta$  เพิ่มขึ้น. สำหรับทุกค่ามุม  $\theta$  ที่ทดลอง ( $30^\circ$ ,  $45^\circ$  และ  $60^\circ$ ) ความเร็ว  $v_C$  สูงสุดเกิดที่  $Q = 1.2 \pm 0.4 \mu\text{l/min}$  เมื่อ  $V_0 = 4 V_p$ . อย่างไรก็ตาม ที่  $V_0 = 4 V_p$  การทดลองพบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนเท่านั้นที่ตอบสนองต่อแรง DEP. ผลการศึกษาทำให้ทราบว่า เราจำเป็นต้องใช้  $V_0 \geq 4 V_p$  เพื่อเบี่ยงเบนการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงสำหรับช่องทางไหลและอิเล็กโตรดที่ใช้.

การจ่ายแรงดัน  $V_0$  เป็นแบบช่วงเวลาด้วยวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  สามารถลดการสะสมของเซลล์ที่บริเวณอิเล็กโทรดได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เซลล์เม็ดเลือดแดงมีความหนาแน่นสูง.  $D_T$  ที่ใช้สำหรับเบี่ยงเบนเซลล์หรืออนุภาคแปรผันตามมุม  $\theta$  และจำนวนอิเล็กโทรด  $n$ . การทดลองเบี่ยงเบนเซลล์เม็ดเลือดแดงใช้  $D_T = 0.5$  ภายใต้เงื่อนไข  $V_0 = 8 V_p$ ,  $\theta = 30^\circ$ ,  $n = 32$  คู่ และ  $Q = 2.4 \mu\text{L}/\text{min}$ . เซลล์ที่เคลื่อนตัวด้วยแถบความกว้าง  $W_D = 210 \mu\text{m}$  เข้าหาอิเล็กโทรดถูกเบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออก ณ ช่องทางออกที่ต้องการทั้งหมด โดยมี  $W_D = 240 \mu\text{m}$ . การปรับลดความกว้าง  $W_D$  ที่ช่องทางออกทำได้โดยการปรับ  $V_0$  ลดลงหรือปรับ  $D_T$  เพิ่มขึ้น.

### 6.3 ไดอิเล็กโตรโพรซิสและอิเล็กโตรโรเตชันของเซลล์เลือด

แรงไดอิเล็กโตรโพรติกที่กระทำต่อเซลล์ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์ รวมถึงสารละลายที่เซลล์แขวนลอยอยู่. การทดลองไดอิเล็กโตรโพรซิสและอิเล็กโตรโรเตชันใช้หาความถี่ตัดข้าม  $f_C$ , ความถี่การหมุนสูงสุด  $f_{RM}$  และความถี่วิกฤตการหมุน  $f_{R0}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดง. ความถี่ดังกล่าว นำไปคำนวณสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_C$  และความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$ . เซลล์เลือดเพาะปกติมีค่าเฉลี่ยของ  $f_C = 98 \pm 23 \text{ kHz}$ ,  $f_{RM} = 209.8 \pm 30 \text{ kHz}$  และ  $f_{R0} = 2.1 \pm 0.4 \text{ MHz}$ . เซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีค่าเฉลี่ยของ  $f_C = 217 \pm 144 \text{ kHz}$ ,  $f_{RM} = 239 \pm 80 \text{ kHz}$  และ  $f_{R0} = 5 \pm 3.5 \text{ MHz}$ . ความถี่ทั้งสามสูงกว่าของเซลล์เลือดเพาะปกติ. การหาพารามิเตอร์ของเซลล์พบว่า  $\sigma_C$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมากกว่าของเซลล์เลือดเพาะปกติ 39%.  $C_m$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีค่าน้อยกว่าเซลล์เลือดเพาะปกติ 66%.

### 6.4 การแยกคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนจากเซลล์เลือด

การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน (PS) ออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) ถูกทดลองที่อัตราส่วนจำนวน PS:RBC เท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000 ที่ความหนาแน่น  $N_{RBC}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $4 \times 10^3$ ,  $2 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^6 \text{ Cells}/\mu\text{L}$  ตามลำดับ. การทดลองใช้  $V_0 = 6 V_p$ ,  $f = 5 \text{ MHz}$ ,  $D_T = 0.5$  และ  $Q = 1.8 \mu\text{L}/\text{min}$ . เซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่เบี่ยงเบนแนวการเคลื่อนที่และไหลออก ณ ช่องทางออกที่ต้องการ เมื่อ  $N_{RBC} = 4 \times 10^3 \text{ Cells}/\mu\text{L}$ . การเพิ่ม  $N_{RBC}$  ลดการเบี่ยงเบนของเซลล์ ทำให้เซลล์กระจายตัวและเพิ่มความกว้าง  $W_D$ .  $W_D$  เพิ่มประมาณ 3 เท่าจาก  $180 \mu\text{m}$  ที่  $N_{RBC} = 4 \times 10^3$  เมื่อ  $N_{RBC} = 2 \times 10^6 \text{ Cells}/\mu\text{L}$ . การเพิ่ม  $N_{RBC}$  ทำให้เซลล์เรียงตัวเป็นสายโซ่เชื่อมคู่อิเล็กโทรด ซึ่งมีความเร็ว  $v_C$  ตามแนวอิเล็กโทรดเข้า.

แรงดัน  $V_0$  มีผลต่อการเบี่ยงเบนและการกระจายตัวของเซลล์เช่นเดียวกัน. การเพิ่ม  $V_0$  ทำให้  $v_C$  ลดลง และความกว้าง  $W_D$  เพิ่มขึ้น. กรณีที่  $D_T = 0.5$ , PS:RBC = 1:2,000 และ  $Q = 1.6$

$\mu\text{L}/\text{min}$  ความกว้าง  $W_D$  เพิ่มจาก  $380 \mu\text{m}$  ที่  $V_0 = 5 V_p$  เป็น  $460 \mu\text{m}$  และ  $480 \mu\text{m}$  ที่  $V_0 = 6$  และ  $7 V_p$  ตามลำดับ.

เราสามารถลด  $W_D$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยการเพิ่มค่า  $D_T$ . อย่างไรก็ตาม  $D_T$  ที่สูงเกินไปจะทำให้อนุภาคพอลิสไตรีนบางส่วนถูกเบี่ยงเบนโดยที่เราไม่ต้องการ. นอกจากนี้ เซลล์เม็ดเลือดแดงจะสะสมที่บริเวณอิเล็กโทรดและทำให้ช่องทางไหลอุดตันได้. การใช้ค่า  $D_T$  ที่เหมาะสมจึงสำคัญยิ่ง เมื่อมีความหนาแน่นของเซลล์สูง.

การคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนจากเซลล์เลือดใช้อัตราส่วนจำนวน PS:RBC เท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000 ที่  $N_{RBC}$  เท่ากับ  $4 \times 10^3$ ,  $2 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{L}$  ตามลำดับ ด้วยแรงดัน  $V_0 = 6 V_p$ ,  $f = 5 \text{ MHz}$  และ  $Q = 1.7 \mu\text{L}/\text{min}$ . ผู้วิจัยพิจารณา

(1) การเพิ่มปริมาณของอนุภาคพอลิสไตรีน ( $E_{PS}$ ) ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบอัตราส่วนของ  $N_{PS}:N_{RBC}$  ที่เข้าเข้ากับอัตราส่วนที่ขาออก. เมื่อ  $D_T = 0.75$  การทดลองได้  $E_{PS}$  มากกว่า 150 เท่าในทุกอัตราส่วนจำนวน PS:RBC และได้ค่าสูงสุด 237.62 เท่า เมื่อ PS:RBC = 1:2,000. การลด  $D_T = 0.5$  ทำให้ลดลง.

(2) ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีน ( $\eta_{PS}$ ) ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบจำนวนอนุภาคที่ช่องทางออกเป้าหมายกับจำนวนอนุภาครวมที่ช่องทางออกทั้งสอง. กรณีที่  $D_T = 0.5$  ได้  $\eta_{PS}$  มากกว่า 97 % ในทุกอัตราส่วนจำนวน PS:RBC. เมื่อเพิ่ม  $D_T$  เป็น 0.75 และ 1.0 ทำให้  $\eta_{PS}$  ลดลง แต่ยังคงมากกว่า 89% ในทุกค่า PS:RBC ที่  $D_T = 0.75$ . ทั้งนี้ การเพิ่ม  $D_T$  ลดค่า  $\eta_{PS}$  เนื่องจากอนุภาคได้รับแรง DEP นานขึ้นจึงถูกเบี่ยงเบนไปยังช่องทางออกที่เราไม่ต้องการ.

(3) ความบริสุทธิ์ของอนุภาคพอลิสไตรีน ( $P_{PS}$ ) ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบอัตราส่วน  $N_{PS}:(N_{PS} + N_{RBC})$  ที่ช่องทางออกเป้าหมาย. การเพิ่มอัตราส่วนจำนวน PS:RBC ทำให้  $P_{PS}$  ลดลง โดยเฉพาะกรณีที่  $D_T = 0.5$ ,  $P_{PS}$  ลดลงจาก 86.63% เหลือ 2.71% เมื่อ PS:RBC เพิ่มจาก 1:20 เป็น 1:200.

ผู้วิจัยทดลองคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด  $3 \mu\text{m}$  และ  $10 \mu\text{m}$  จากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีอัตราส่วนจำนวน PS:RBC = 1:2,000 และ  $N_{RBC} = 2 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{L}$  โดยใช้แรงดัน  $V_0 = 6 V_p$ ,  $f = 5 \text{ MHz}$  และ  $Q = 2 \mu\text{L}/\text{min}$ .  $\eta_{PS}$  ของอนุภาคขนาด  $3 \mu\text{m}$  สูงกว่าอนุภาคขนาด  $10 \mu\text{m}$  โดยมีค่าเท่ากับ 100% ในทุกๆ ค่า  $D_T$ .  $\eta_{PS}$  ของอนุภาคขนาด  $10 \mu\text{m}$  มีค่าสูงสุดเท่ากับ 97.78% เมื่อ  $D_T = 0.5$  และลดลงเมื่อเพิ่มค่า  $D_T$  แต่ยังคงสูงกว่า 85% ในทุกๆ ค่า  $D_T$ . ดังนั้น การคัดแยกเซลล์จะทำได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง เมื่อเซลล์เป้าหมายมีขนาดแตกต่างจากอนุภาค/เซลล์ที่ไม่ต้องการอย่างชัดเจน.

### 6.5 การคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ

ในขั้นต้น ผู้วิจัยทดลองกรณีที่เซลล์ติดเชื้อมีปริมาณมาก โดยใช้อัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5 ในเซลล์เลือดเพาะปกติ  $N_{nRBC} = 1.25 \times 10^5$  Cells/ $\mu$ l และใช้อัตราส่วน 1:50, 1:500 และ  $1:5 \times 10^3$  ใน  $N_{nRBC} = 2 \times 10^6$  Cells/ $\mu$ l. การคัดแยกเซลล์ใช้เวลา 40 นาที ด้วย  $Q = 2$   $\mu$ l/min,  $V_0 = 6 V_p$ ,  $f = 400$  kHz และ  $D_T = 0.75$ . การเพิ่มปริมาณ  $E_{iRBC}$  ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีค่าเฉลี่ย  $4.3 \pm 3.8$  เท่า และ  $2.9 \pm 0.4$  เท่า เมื่อ iRBC:nRBC = 1:5 และ 1:50 ตามลำดับ. เมื่อ iRBC:nRBC เป็น 1:500,  $E_{iRBC}$  เพิ่มขึ้นเป็น 12.8 เท่า เมื่อใช้  $V_0 = 7.5 V_p$  และ  $D_T = 0.85$ . ในทำนองเดียวกัน  $E_{iRBC}$  เพิ่มขึ้นเป็น  $78 \pm 18$  เท่า เมื่อ iRBC:nRBC =  $1:5 \times 10^3$ ,  $V_0 = 6 V_p$  และ  $D_T = 0.85$ .

ในขั้นต่อไป ผู้วิจัยพิจารณากรณีที่เซลล์ติดเชื้อจำนวนน้อยมาก โดยอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ  $1:5 \times 10^4$ ,  $1:5 \times 10^5$  และ  $1:1 \times 10^6$  ใน  $N_{nRBC} = 1 \times 10^6$  Cells/ $\mu$ l. การคัดแยกใช้  $V_0 = 7 V_p$ ,  $f = 500$  kHz และ  $D_T = 0.85$  กับช่องทางไหลกว้าง 800  $\mu$ m ลึก 15  $\mu$ m โดยสามารถคัดแยกตัวอย่างได้ 10  $\mu$ l ภายใน 40 นาที ด้วย  $Q = 1$   $\mu$ l/min. ผลการคัดแยกได้  $E_{iRBC}$  สูงขึ้นตามอัตราส่วน iRBC:nRBC. ที่ iRBC:nRBC =  $1:1 \times 10^6$  เราสามารถได้  $E_{iRBC}$  เฉลี่ยเท่ากับ  $3,255 \pm 869$  เท่า และมี  $E_{iRBC}$  สูงสุดเท่ากับ 4,739 เท่า.

การวินิจฉัยโรคมาลาเรียโดยการส่องฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ทำได้ยาก กรณีที่การติดเชื้อมีปริมาณน้อย. การวินิจฉัยโรคด้วยฟิล์มเลือดชนิดหนา มีขีดจำกัดการตรวจหา (Limit of Detection, LoD) เซลล์ติดเชื้อ 50-100 Cells/ $\mu$ l ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC =  $1:5 \times 10^4$  -  $1:1 \times 10^5$ . อุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่พัฒนาขึ้นในวิทยานิพนธ์นี้ สามารถคัดแยกเซลล์ด้วย iRBC:nRBC =  $1:1 \times 10^6$  หรือคิดเป็นขีดจำกัดการตรวจหาเซลล์ติดเชื้อที่ 5 Cells/ $\mu$ l. ขีดจำกัดการตรวจหาเซลล์ติดเชื่อดังกล่าว ใกล้เคียงกับการวินิจฉัยด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) แต่ใช้เวลาในการคัดแยกเพียง 40 นาทีเท่านั้น. ด้วยเหตุนี้ การคัดแยกเซลล์เลือดด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคที่พัฒนาขึ้น จึงช่วยให้การวินิจฉัยโรคมาลาเรียมีความสะดวกและแม่นยำขึ้น. นอกจากนี้ การขนานอุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 ชั้นสามารถเพิ่มปริมาณตัวอย่างเลือดได้ โดยที่  $E_{iRBC}$  ยังคงใกล้เคียงกับผลจากการคัดแยกด้วยตัวอย่างอุปกรณ์ชิ้นเดียว. ทั้งนี้ การขนานอุปกรณ์จะช่วยให้ตรวจพบเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากการส่องฟิล์มเลือดชนิดบางด้วยกล้องจุลทรรศน์ง่ายขึ้น.









## ภาคผนวก ก

## ฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดัน

ฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันที่จ่ายให้กับอิเล็กทรอนิกส์โทรดสำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเตชัน แสดงดังตารางที่ ก.1.

ตารางที่ ก.1 รายละเอียดฟังก์ชันการทำงานของโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดัน.

ฟังก์ชัน	รายละเอียด
	ปุ่มจัดการเชื่อมต่อคอมพิวเตอร์กับเครื่องกำเนิดสัญญาณ.
	ปุ่มสั่งงานเครื่องกำเนิดสัญญาณให้สร้างสัญญาณแรงดันความถี่ $f_{BASE}$ และเปิดสัญญาณเอาต์พุตที่ Channel 1 และ Channel 2 โดยสัญญาณเอาต์พุตที่ Channel 2 จะล่าหลัง Channel 1 เป็นมุม $90^\circ$ .
Frequency Base (kHz)	กำหนดความถี่ $f_{BASE}$ ในหน่วย kHz.
Base Amplitude ( $V_p$ )	กำหนดระดับแรงดันของสัญญาณแรงดันความถี่ $f_{BASE}$ ในหน่วย $V_p$ .
Start (kHz)	ความถี่ $f_{ROT}$ เริ่มต้น ในหน่วย kHz.
Stop (kHz)	ความถี่ $f_{ROT}$ สิ้นสุด ในหน่วย kHz.
Step (kHz)	จำนวนความถี่ $f_{ROT}$ ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละครั้ง ในหน่วย kHz.
ROT Time (sec.)	เวลาที่สร้างสัญญาณ $f_{ROT}$ ที่ Channel 1 และ Channel 2 ในหน่วย second.
ROT Ampl. ( $V_p$ )	ระดับแรงดันของสัญญาณ $f_{ROT}$ ที่ Channel 1 และ Channel 2 ในหน่วย $V_p$ .
Current ROT Freq.	ความถี่ของสัญญาณแรงดันเอาต์พุตที่ Channel 1 และ Channel 2 เมื่อกดปุ่ม <b>ROT RUN</b> ในหน่วย kHz.
	ปุ่มเปลี่ยน Current ROT Freq. แบบ Manual.
	ปุ่มเปลี่ยน Current ROT Freq. แบบ Manual.
	ปุ่มรีเซ็ต Current ROT Freq. ไปยังค่าเริ่มต้น.
	ปุ่มเปลี่ยนความถี่ของสัญญาณแรงดันเอาต์พุตที่ Channel 1 และ Channel 2 จาก $f_{BASE}$ เป็น $f_{ROT}$ .

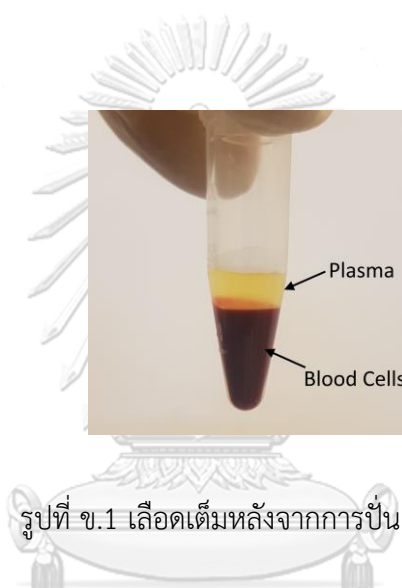
## ภาคผนวก ข

### การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคสำหรับการทดลอง

#### ข.1 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงความหนาแน่นประมาณ 20,000 Cells/ $\mu$ l จากเลือดเต็ม.

การเตรียมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองหาความเร็วในการเคลื่อนที่ของเซลล์เลือด มีขั้นตอนดังนี้

1. นำเลือดเต็มปริมาตร 500  $\mu$ l ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1,500  $\mu$ l และปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการแยกชั้น ดังแสดงในรูปที่ ข.1.



รูปที่ ข.1 เลือดเต็มหลังจากการปั่นเหวี่ยง.

2. ใช้ปิเปตดูดเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดแดงด้านล่างที่ตกตะกอนปริมาตร 2  $\mu$ l ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu$ l. จากนั้นใช้ปิเปตกวนสารละลายและเซลล์เบาๆ ให้เข้ากันจึงนำตัวอย่างเซลล์ไปใช้ทดลอง. ขณะทำการทดลองตัวอย่างเซลล์จะถูกแช่ในน้ำแข็งและจำกัดเวลาการใช้ตัวอย่างเซลล์ที่ 120 นาที.

#### ข.2 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย Hemocytometer

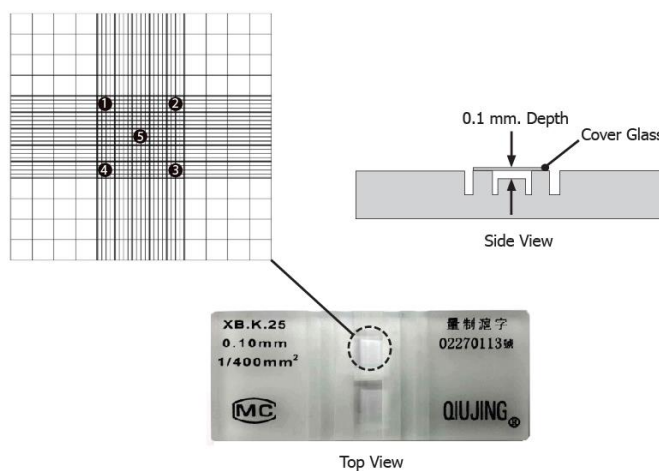
การนับจำนวนเซลล์เพื่อหาความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดงในตัวอย่างเซลล์ใช้ Hemocytometer. ขอบเขตและตำแหน่งของการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง แสดงดังรูปที่ ข.2. ในการนับจำนวนเซลล์ 1 ครั้งประกอบด้วยขอบเขตการนับทั้งหมด 5 ขอบเขต. ตัวอย่างการนับจำนวนเซลล์ในขอบเขตการนับ แสดงดังรูปที่ ข.3. ความหนาแน่นของเซลล์คำนวณจากสมการ



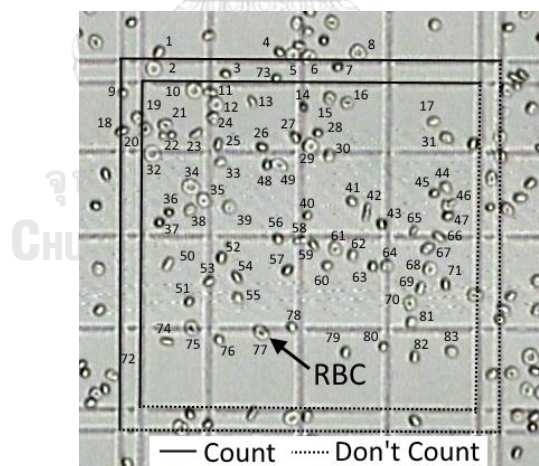
$$D_N = \frac{(N_{RBC} \times 5)}{0.1} \quad (\text{ข.1})$$

เมื่อ  $D_N$  คือความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Cells/ $\mu\text{l}$ ).

$N_{RBC}$  คือผลรวมของจำนวนเซลล์ที่นับได้จากขอบเขตการนับทั้ง 5 (Cells).



รูปที่ ข.2 ตำแหน่งการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย Hemocytometer.



รูปที่ ข.3 ตัวอย่างการนับเซลล์ในขอบเขตการนับผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า.

การผสม RBC ปริมาตร 2  $\mu\text{l}$  กับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$  ดังรายละเอียดตามข้อ ข.1 เมื่อนำตัวอย่างเซลล์ไปนับจำนวน RBC ผลการนับแสดงดังตารางที่ ข.1. จากการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด 10 ครั้ง ตัวอย่างเซลล์ดังกล่าว มีความหนาแน่นของ RBC ประมาณ  $19,045 \pm 1,992$  Cells/ $\mu\text{l}$  หรือประมาณ  $2.0 \times 10^4$  Cells/ $\mu\text{l}$ .

ตารางที่ ข.1 ผลการนับจำนวน RBC ในตัวอย่างเซลล์.

No.	Counting Zone (Cells)					Sum. Of Cell (Cells)	Density (Cells/ $\mu$ l)	Avg. Density (Cells/ $\mu$ l)
	1	2	3	4	5			
1	98	84	68	98	83	431	21,550	19,045 $\pm$ 1,992
2	83	78	79	57	91	388	19,400	
3	66	69	72	63	78	348	17,400	
4	78	66	68	77	84	373	18,650	
5	92	53	98	108	90	441	22,050	
6	70	172	51	55	74	422	21,100	
7	59	75	66	63	72	335	16,750	
8	77	79	75	76	78	385	19,250	
9	95	34	17	85	124	355	17,750	
10	54	73	68	62	74	331	16,550	

### ข.3 การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่าง PS:RBC = 1:20

การผสมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

- นำตัวอย่างเลือดเต็มปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เกิดการแยกชั้น.
- นำ RBC จากข้อ 1 ปริมาตร 2  $\mu$ l ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu$ l. ขั้นตอนนี้ ได้สารละลายที่มี RBC ความหนาแน่นประมาณ 20,000 Cells/ $\mu$ l.
- นำสารละลายในข้อ 2 ปริมาตร 100  $\mu$ l ผสมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 400  $\mu$ l. สารละลายที่ได้จะมี RBC ความหนาแน่นประมาณ 4,000 Cells/ $\mu$ l.
- ผสมอนุภาค PS ปริมาตร 2.2  $\mu$ l กับสารละลายในข้อ 3. จากข้อมูลทางเทคนิคอนุภาค PS มีความเข้มข้น 45,500 Particles/ $\mu$ l. สารละลายจะมีอนุภาค PS ความหนาแน่นประมาณ 200 Particles/ $\mu$ l. ดังนั้นจะได้ตัวอย่างเซลล์ที่มีอัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 200:4,000 หรือ 1:20.
- จากสารละลายในข้อ 4 ทำการล้างเซลล์และอนุภาคด้วยการใช้ปิเปตทวนสารละลายเบาๆ เพื่อให้เซลล์กับอนุภาคผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์จนทั่ว. นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที และดูดสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu$ l ออก. จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu$ l ลงไปใหม่. การล้างเซลล์และอนุภาคจะทำซ้ำกระบวนการประมาณ 1 – 2 ครั้ง. เมื่อล้างเซลล์และอนุภาคเรียบร้อยแล้ว จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น. การใช้ตัวอย่างเซลล์ในการทดลองจะจำกัดเวลาการใช้ตัวอย่างเซลล์ที่ 120 นาที.

#### ข.4 การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่าง PS:RBC = 1:200

การผสมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างเลือดปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เกิดการแยกชั้น.

2. นำ RBC จากข้อ 1 ปริมาตร 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 100  $\mu\text{l}$ . ขั้นตอนนี้ได้สารละลายที่มี RBC ความหนาแน่นประมาณ 200,000 Cells/ $\mu\text{l}$ .

3. ผสมอนุภาค PS ปริมาตร 2.2  $\mu\text{l}$  กับสารละลายในข้อ 2 จะได้สารละลายที่มีอนุภาค PS ความหนาแน่นประมาณ 1,000 Particles/ $\mu\text{l}$ .

4. จากข้อ 3 จะได้สารละลายที่มี RBC ความหนาแน่นประมาณ 200,000 Cells/ $\mu\text{l}$  และอนุภาค PS ความหนาแน่นประมาณ 1,000 Particles/ $\mu\text{l}$ . อัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1,000:200,000 หรือ 1:200.

5. จากสารละลายในข้อ 4 ที่มีปริมาตรประมาณ 100  $\mu\text{l}$  ทำการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$ . จากนั้นทำการล้างเซลล์และอนุภาคด้วยการใช้ปิเปตทวนสารละลายเบาๆ เพื่อให้เซลล์กับอนุภาคผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์จนทั่ว. นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จึงดูดสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$  ออก. การล้างเซลล์และอนุภาคจะทำซ้ำกระบวนการประมาณ 1 – 2 ครั้ง. เมื่อล้างเซลล์และอนุภาคเรียบร้อยแล้ว จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น. การใช้ตัวอย่างเซลล์ในการทดลองจะจำกัดเวลาการใช้ตัวอย่างเซลล์ที่ 120 นาที.

#### ข.5 การเตรียมตัวอย่างเซลล์และอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่าง PS:RBC = 1:2,000

การผสมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างเลือดปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เกิดการแยกชั้น.

2. นำ RBC จากข้อ 1 ปริมาตร 40  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 160  $\mu\text{l}$ . ขั้นตอนนี้ได้สารละลายที่มีเซลล์เม็ดเลือดแดงความหนาแน่นประมาณ 2,000,000 Cells/ $\mu\text{l}$ .

3. ผสมอนุภาค PS ปริมาตร 4.4  $\mu\text{l}$  กับสารละลายในข้อ 2 จะได้สารละลายที่มีอนุภาค PS ความหนาแน่นประมาณ 1,000 Particles/ $\mu\text{l}$ .

4. จากข้อ 3 จะได้สารละลายที่มี RBC ความหนาแน่นประมาณ 2,000,000 Cells/ $\mu\text{l}$  และอนุภาค PS ความหนาแน่นประมาณ 1,000 Particles/ $\mu\text{l}$ . อัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1,000:2,000,000 หรือ 1:2,000.

5. จากสารละลายในข้อ 4 ทำการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$ . จากนั้นทำการล้างเซลล์และอนุภาคด้วยการใช้ปิเปตทวนสารละลายเบาๆ เพื่อให้เซลล์กับอนุภาคผสมกับสารละลาย

บัพเฟอร์จนทั่ว. นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จึงดูดสารละลายบัพเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$  ออก. การล้างเซลล์และอนุภาคจะทำซ้ำกระบวนการประมาณ 1 – 2 ครั้ง. เมื่อล้างเซลล์และอนุภาคเรียบร้อยแล้ว จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น. การใช้ตัวอย่างเซลล์ในการทดลองจะจำกัดเวลาการใช้ตัวอย่างเซลล์ที่ 120 นาที.

#### ข.6 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เลือดความหนาแน่นประมาณ 1,200 Cells/ $\mu\text{l}$ .

การเตรียมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองไดอิเล็กโตรโฟรีซิสและอิเล็กโตรโรเตชัน มีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างเลือดเพาะปกติและเลือดเพาะเชื้อมาลาเรียปริมาตร 500  $\mu\text{l}$  ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1,500  $\mu\text{l}$  และปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์เกิดการแยกชั้น.

2. ใช้ปิเปตดูดเฉพาะ nRBC และ iRBC ด้านล่างที่ตกตะกอนปริมาตร 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัพเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$ . จากนั้นใช้ปิเปตกวนสารละลายและเซลล์เบาๆ ให้เข้ากัน. สารละลายที่ได้มีความหนาแน่นของ nRBC และ iRBC เท่ากับ 20,000 Cells/ $\mu\text{l}$ .

3. นำสารละลายในข้อ 2 ปริมาตร 30  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัพเฟอร์ปริมาตร 490  $\mu\text{l}$ . ตัวอย่างเซลล์ที่ได้มีปริมาตร 500  $\mu\text{l}$  และมีความหนาแน่นของ nRBC และ iRBC เท่ากับ 1,200 Cells/ $\mu\text{l}$ .

4. ในการล้างเซลล์ จากสารละลายในข้อ 3 ทำการเติมสารละลายบัพเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu\text{l}$ . จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยการใช้ปิเปตกวนสารละลายเบาๆ เพื่อให้เซลล์ผสมกับสารละลายบัพเฟอร์จนทั่ว. นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จึงดูดสารละลายบัพเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu\text{l}$  ออก. การล้างเซลล์จะทำซ้ำกระบวนการประมาณ 3 – 5 ครั้ง. จากนั้น จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น. การใช้ตัวอย่างเซลล์ในการทดลองจะจำกัดเวลาการใช้ตัวอย่างเซลล์ที่ 120 นาที.

#### ข.7 การเตรียมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติ

ตัวอย่างเลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเลือดเพาะปกติจัดเตรียมโดยหน่วยวิจัยมหิตลไวยเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล. ตัวอย่างเลือดอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 โดยมีอัตราส่วนระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลล์เลือด ดังนี้

- ตัวอย่างเลือดเพาะเชื้อมาลาเรียประกอบด้วยเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียปริมาตร 50  $\mu\text{l}$  และอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1,000  $\mu\text{l}$ . เซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมีความหนาแน่นประมาณ  $1.1 \times 10^5$  Cells/ $\mu\text{l}$ .

- ตัวอย่างเลือดเพาะปกติประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงปริมาตร 500  $\mu\text{l}$  และอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1,500  $\mu\text{l}$ . เซลล์เลือดเพาะปกติมีความหนาแน่นประมาณ  $1.9 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{l}$ .

ความหนาแน่นของเซลล์เลือดทั้งสอง ได้จากการนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเซลล์เลือดเพาะปกติที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ผสมเซลล์เลือดและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยเขย่าหลอดเลือดเบาๆ และไม่ทำให้เกิดฟองอากาศ.

2. ตัวอย่างเซลล์เลือดสำหรับใช้นับจำนวนเซลล์ถูกผสมใน 2 ลักษณะ ได้แก่ ตัวอย่างแรกประกอบด้วยเซลล์เลือดเพาะปกติพร้อมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu\text{l}$ . ตัวอย่างที่สองประกอบด้วยเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียพร้อมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 500  $\mu\text{l}$ .

3. จากนั้นนำตัวอย่างเซลล์เลือดในข้อ 3 ไปนับจำนวนเซลล์ด้วย Hemocytometer ทั้งหมด 10 ครั้ง. ตารางที่ ข.2 แสดงผลการนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะปกติ.

ตารางที่ ข.2 ผลการนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะปกติ.

No.	Counting Zone (Cells)					Sum. Of Cell (Cells)	Density (Cells/ $\mu\text{l}$ )	Avg. Density (Cells/ $\mu\text{l}$ )
	1	2	3	4	5			
1	39	36	37	31	32	175	8,750	7,450 $\pm$ 651
2	26	32	28	39	27	152	7,600	
3	33	22	25	25	21	126	6,300	
4	30	33	28	21	36	148	7,400	
5	25	27	27	27	30	136	6,800	
6	32	33	29	34	30	158	7,900	
7	36	29	34	28	27	154	7,700	
8	36	26	29	30	27	148	7,400	
9	31	26	23	32	31	143	7,150	
10	38	28	28	34	22	150	7,500	

จากตารางที่ ข.2 สามารถนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณเซลล์ต่อปริมาตรของเซลล์เลือดเพาะปกติรวมอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น  $7,452 \times 250 = 1.9 \times 10^6$  Cells/ $\mu\text{l}$ .

สำหรับเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย ผลการนับจำนวนเซลล์แสดงดังตารางที่ ข.3.

ตารางที่ ข.3 ผลการนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรีย.

No.	Counting Zone (Cells)					Sum. Of Cell (Cells)	Density (Cells/ $\mu$ l)	Avg. Density (Cells/ $\mu$ l)
	1	2	3	4	5			
1	18	24	16	23	20	101	5,050	4,435 $\pm$ 428
2	18	23	11	24	21	97	4,850	
3	13	18	14	17	15	77	3,850	
4	14	13	18	22	13	80	4,000	
5	17	20	20	22	16	95	4,750	
6	12	20	19	27	9	87	4,350	
7	20	21	15	13	14	83	4,150	
8	18	20	15	21	25	99	4,950	
9	10	19	17	17	21	84	4,200	
10	17	22	22	13	10	84	4,200	

ตารางที่ ข.4 ปริมาตรของเซลล์เลือดและสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ผสมตัวอย่างเซลล์

iRBC:nRBC	iRBC ( $\mu$ l)	nRBC ( $\mu$ l)	Buffer ( $\mu$ l)
1:5	24.4	2.6	73.0
1:50	39.0	41.8	19.2
1:500	3.9	41.8	54.3
1:5 $\times$ 10 <sup>3</sup>	0.4	41.8	57.8

จากตารางที่ ข.3 นำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณเซลล์ต่อปริมาตรของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียรวมอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้เป็น  $4,435 \times 25 = 1.1 \times 10^5$  Cells/ $\mu$ l.

การเตรียมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียออกจากเซลล์เลือดเพาะปกติด้วยอัตราส่วน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5, 1:50, 1:500 และ 1:5 $\times$ 10<sup>3</sup> มีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 ไปปั่นเหวี่ยง 1,500 RPM เป็นเวลา 5 นาที. จากนั้นแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกปริมาตรเท่ากับ 800  $\mu$ l เพื่อเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์เลือดที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ.

2. ผสมเซลล์เลือดทั้งสองชนิดและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยเขย่าหลอดเลือดเบาๆ และไม่ทำให้เกิดฟองอากาศ.

3. การผสมตัวอย่างเซลล์เลือดสำหรับการทดลองปริมาตร 100  $\mu$ l ที่อัตราส่วน iRBC:nRBC ค่าต่างๆ ใช้เซลล์เลือดและสารละลายบัฟเฟอร์ด้วยปริมาตรที่แสดงในตารางที่ ข.4. อัตราการติดเชื้อ

ของเลือดเพาะเชื้อมาลาเรียเท่ากับ 43%. ทั้งนี้ ปริมาตรของเซลล์เลือดและสารละลายบัฟเฟอร์ จะเปลี่ยนแปลงจากในตารางเมื่ออัตราการติดเชื้อมีค่าแตกต่างกันไป.

4. เนื่องจากเซลล์เลือดเพาะปกติและเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสภาพนำไฟฟ้าประมาณ 10 mS/cm. ดังนั้น ตัวอย่างเซลล์ต้องถูกล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพนำไฟฟ้า. การล้างเซลล์ทำโดยการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu$ l ลงในสารละลายในข้อ 3 และใช้ปิเปตควอนเซลล์ให้เข้ากับสารละลาย. จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที และดูดสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000  $\mu$ l ออก. ทำซ้ำกระบวนการล้างดังกล่าวประมาณ 3 – 5 ครั้ง. วัดสภาพนำไฟฟ้าของตัวอย่างเซลล์ให้ได้เท่ากับสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์ จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น เพื่อรอทำการทดลอง.

การเตรียมตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียออกจากเซลล์เลือดเพาะปกติด้วยอัตราส่วน iRBC:nRBC เท่ากับ  $1.5 \times 10^4$ ,  $1.5 \times 10^5$  และ  $1.1 \times 10^6$  มีขั้นตอนดังนี้

1. ผสมเซลล์เลือดทั้งสองชนิดและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยเขย่าหลอดเลือดเบาๆ และไม่ทำให้เกิดฟองอากาศ.
2. นำเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียมาเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตราส่วนเซลล์เลือดเพาะมาลาเรียต่อสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 1:50.
3. การผสมตัวอย่างเซลล์เลือดสำหรับการทดลองปริมาตร 100  $\mu$ l ใช้เซลล์เลือดเพาะปกติ, เซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียในข้อ 2 และสารละลายบัฟเฟอร์ด้วยปริมาตรที่แสดงในตารางที่ ข.5. อัตราการติดเชื้อของเลือดเพาะเชื้อมาลาเรียเท่ากับ 43%.

ตารางที่ ข.5 ปริมาตรของเซลล์เลือดและสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ผสมตัวอย่างเซลล์

iRBC:nRBC	iRBC ( $\mu$ l)	nRBC ( $\mu$ l)	Buffer ( $\mu$ l)
$1.5 \times 10^4$	4.78	52.9	42.3
$1.5 \times 10^5$	0.48	52.9	46.6
$1.1 \times 10^6$	0.24	52.9	46.8

4. ตัวอย่างเซลล์ถูกล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพนำไฟฟ้า. การล้างเซลล์มีขั้นตอนเช่นเดียวกับการผสมตัวอย่างเซลล์ดังที่กล่าวมาข้างต้น. เมื่อสภาพนำไฟฟ้าของตัวอย่างเซลล์เท่ากับสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายบัฟเฟอร์ จึงนำตัวอย่างเซลล์ไปแช่เย็น เพื่อรอทำการทดลอง.

## ภาคผนวก ค

## การเตรียมระบบของไหลจุลภาคเพื่อทำการทดลอง

การเตรียมช่องทางไหลก่อนเริ่มการทดลอง มีขั้นตอนในการดำเนินงานดังนี้

1. ติดตั้งกระบอกฉีดยาขนาด 1 ml และปลายเข็มฉีดยาขนาด 18G เข้ากับปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกเดี่ยว (NE-1000, New Era Pump Systems Inc.) โดยภายในกระบอกฉีดยาบรรจุน้ำ DI จนเต็มและไล่ฟองอากาศจนหมด.

2. นำสายยางซิลิโคนขนาด 1 x 2 mm (I.D. x O.D.) ต่อกับปั๊มกระบอกฉีดยาและไล่ฟองอากาศภายในสายยางซิลิโคนจนหมด. จากนั้นนำอุปกรณ์ของไหลจุลภาคต่อกับสายยางซิลิโคน.

3. ตั้งค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของกระบอกฉีดยาที่ปั๊มกระบอกฉีดยา โดยกระบอกฉีดยาขนาด 1 ml มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4.71 mm. ปรับทิศทางของปั๊มกระบอกฉีดยาเป็นแบบดึงกลับ (Withdraw) ด้วยอัตราการไหล 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

4. ป้อนสารละลาย 2% BSA เข้าที่ช่องทางเข้าของอุปกรณ์ของไหลจุลภาค โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศภายในช่องทางไหล. ใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจสอบการไหลของสารละลายภายในช่องทางไหล ทั้งนี้ หากพบฟองอากาศภายในช่องทางไหลให้ทำการไล่ฟองอากาศด้วยโถแก้วดูดความชื้น (Desiccator) ร่วมกับปั๊มสุญญากาศเป็นเวลา 5 นาที.

5. เมื่อป้อนสารละลาย 2% BSA เต็มช่องทางไหล จากนั้นทิ้งอุปกรณ์ของไหลจุลภาคไว้ประมาณ 60 นาที เพื่อให้ BSA เคลือบติดกับช่องทางไหล.

6. ทำซ้ำกระบวนการเดิมในข้อ 1 ถึง 4 แต่เปลี่ยนเป็นการป้อนสารละลายบัฟเฟอร์แทน. ป้อนสารละลายบัฟเฟอร์จนเต็มช่องทางไหล โดยไม่ให้มีฟองอากาศภายในช่องทางไหล, สายยางซิลิโคนและกระบอกฉีดยา.

7. ปรับอัตราการไหลที่ปั๊มกระบอกฉีดยาเป็นอัตราการไหลที่ใช้ในการทดลองและทิ้งให้สารละลายไหลภายในช่องทางไหลจนมีความเร็วคงที่ โดยใช้เวลาประมาณ 20 นาที จึงเริ่มทำการทดลองได้.

สำหรับการเตรียมช่องทางไหลก่อนเริ่มทำการทดลองสำหรับอุปกรณ์ของไหลที่ใช้ปั๊มกระบอกฉีดยาแบบกระบอกคู่ (Fusion 200, Chemyx Inc.) มีขั้นตอนแบบเดียวกัน เพียงแต่เพิ่มการติดตั้งกระบอกฉีดยาขนาด 1 ml, ปลายเข็มฉีดยาขนาด 18G และสายยางซิลิโคนขนาด 1 x 2 mm อีก 1 ชุด.



## ภาคผนวก ง

## การย้อมเซลล์ด้วยสี Giemsa และการนับจำนวนเซลล์

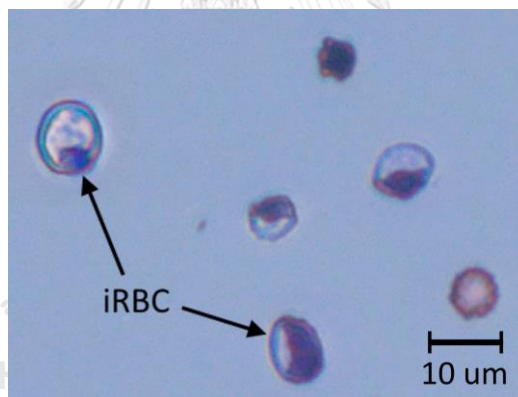
## ง.1 การย้อมเซลล์ด้วยสี Giemsa

การย้อมเซลล์ด้วยสี Giemsa มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำตัวอย่างเลือด 5  $\mu\text{l}$  หยดลงบนกระจกสไลด์ขนาด 25.4x76.2 mm.
2. ใช้กระจกสไลด์อีกแผ่นปาดหยดเลือดให้เป็นฟิล์มบางและทิ้งให้ฟิล์มเลือดแห้ง.
3. แช่กระจกสไลด์ที่มีฟิล์มเลือดลงในเมทานอล 2 นาที จากนั้นเอากระจกขึ้นและทิ้งให้แห้ง.
4. หยดสี Giemsa ลงบนกระจกสไลด์จนทั่วบริเวณที่มีฟิล์มเลือดและทิ้งไว้ 20 นาที
5. ใช้น้ำปราศจากไอออนชนิดล้างสี Giemsa บนแผ่นกระจกสไลด์ จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง. รูปที่

ง.1 แสดงตัวอย่าง iRBC ที่ผ่านการย้อมสี.

หมายเหตุ การเตรียมสี Giemsa อัตราการผสมระหว่างสี Giemsa กับ Buffer เท่ากับ 1:9.



รูปที่ ง.1 ตัวอย่างเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียที่ถูกย้อมสี.

## ง.2 การนับจำนวนเซลล์เลือดด้วยวิธีฟิล์มบาง

การนับจำนวน iRBC และ nRBC จากฟิล์มเลือดที่ผ่านการย้อมสี Giemsa อ้างอิงขั้นตอนการนับจำนวนเซลล์จากเอกสารขององค์การอนามัยโลก (WHO, Malaria Microscopy Standard Operating Procedure - Malaria Parasite Counting (MM-SOP-09), pp.4, 2016.). การนับจำนวนเซลล์เลือดมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ทำการย้อมเซลล์เลือดด้วยสี Giemsa ตามขั้นตอนในหัวข้อที่ ง.1.

2. นับจำนวน nRBC และ iRBC ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 60 เท่า. การนับจำนวน iRBC จะไม่นับเซลล์ที่ติดเชื้อในระยะ Gametocyte. พื้นที่การนับที่เริ่มนับควรอยู่ด้านบนและควรเริ่มนับ ณ พื้นที่การนับที่พบทั้ง iRBC และ nRBC.

3. เลื่อนไปยังพื้นที่การนับถัดไป โดยทิศทางการเลื่อนแสดงดังรูปที่ ง.2. การเลือกพื้นที่การนับระวังอย่าให้พื้นที่การนับในแต่ละส่วนทับกัน. พื้นที่การนับควรอยู่บริเวณที่ฟิล์มเลือดมีความหนาสม่ำเสมอ หรือบริเวณส่วนปลายของฟิล์มเลือด. การนับจำนวน nRBC และ iRBC ทำทั้งหมด 20 พื้นที่การนับต่อฟิล์มเลือด.



รูปที่ ง.2 ทิศทางการเลื่อนพื้นที่การนับเซลล์เลือด.

4. จากจำนวนเซลล์เลือดทั้งหมดที่นับได้ นำมาคำนวณการเพิ่มปริมาณ (Enrichment) ของเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียได้ตามสมการ

$$E_{D,iRBC} = \frac{(N_{D,iRBC} / N_{D,nRBC})}{(N_{B,iRBC} / N_{B,nRBC})} \quad (\text{ง.1})$$

เมื่อ  $E_{D,iRBC}$  คือการเพิ่มปริมาณของ iRBC ณ ช่องทางออก D (เท่า).

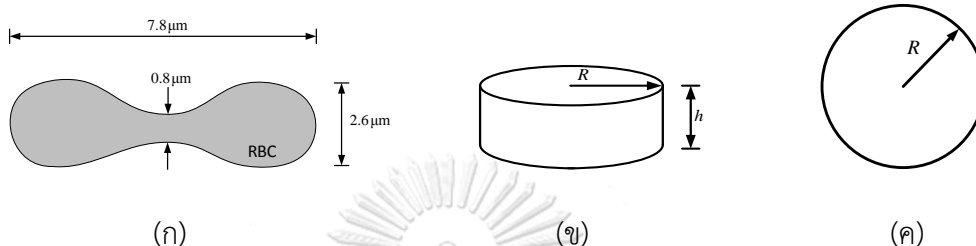
$N_{D,iRBC}$  และ  $N_{D,nRBC}$  คือจำนวน iRBC และ nRBC ณ ช่องทางออก D (เซลล์).

$N_{B,iRBC}$  และ  $N_{B,nRBC}$  คือจำนวน iRBC และ nRBC ณ ช่องทางเข้า B (เซลล์).

## ภาคผนวก จ

## การหารัศมีของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยการประมาณค่า

การหารัศมีของเซลล์เม็ดเลือดแดงเพื่อใช้ในการคำนวณแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกใช้การประมาณค่ารัศมีจากรูปร่างเซลล์ที่เป็นทรงกลมรัศมีเท่ากับ  $R$  โดยมีรายละเอียดดังนี้



รูปที่ จ.1 มิติและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดง

รูปที่ จ.1 (ก) แสดงขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะเป็นทรงกลมแบนตรงกลางไว้ [58]. เซลล์มีความสูง  $h$  เฉลี่ยเท่ากับ

$$h = \frac{0.8\mu\text{m} + 2.6\mu\text{m}}{2} = 1.7\mu\text{m} \quad (\text{จ.1})$$

เมื่อประมาณรูปร่างของเซลล์เป็นทรงกระบอกที่มีรัศมี  $R$  และความสูง  $h$  ดังแสดงในรูปที่ จ.1 (ข). ปริมาตรของเซลล์  $v_{RBC}$  มีค่าเป็น

$$v_{RBC} = \pi R^2 h = 81.232 \times 10^{-18} \text{ m}^3 \quad (\text{จ.2})$$

จากปริมาตรของเซลล์ที่คำนวณได้ในสมการที่ (จ.2) นำไปเปรียบเทียบกับปริมาตรของทรงกลมรัศมี  $R$  ดังแสดงในรูปที่ จ.1 (ค) จะได้

$$v_{RBC} = \frac{4}{3} \pi R^3 = 81.232 \times 10^{-18} \text{ m}^3 \quad (\text{จ.3})$$

ดังนั้น จะได้รัศมี  $R$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ

$$R = \sqrt[3]{\left(\frac{3 \times 81.232 \times 10^{-18}}{4\pi}\right)} = 2.7\mu\text{m}$$

## ภาคผนวก ฉ

### การปรับกล้องจุลทรรศน์เพื่อบันทึกภาพอนุภาคพอลิสไตรีนย้อมฟลูออเรสเซนซ์

การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (IX73, Olympus) และโปรแกรม cellSense (Standard Version 2.2, Olympus) เพื่อบันทึกภาพและวิดีโอสำหรับอนุภาคฟลูออเรสเซนซ์ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เปิดแหล่งกำเนิดแสง (U-HGLGPS, Olympus) และปรับความสว่างของแสงเท่ากับ 25% หรือความสว่างตามที่ต้องการ.

2. ปรับรูรับแสงด้านท้ายของกล้องจุลทรรศน์ในตำแหน่งดังแสดงในรูปที่ ฉ.1.

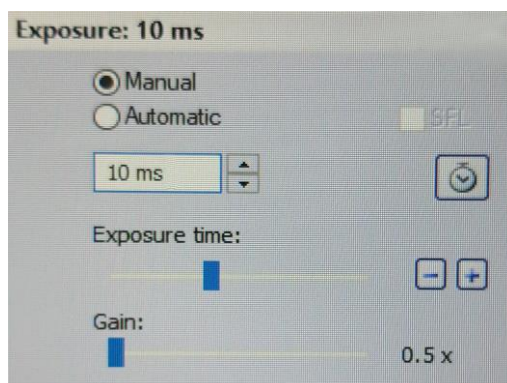
3. ตั้งค่า Exposure Time ของโปรแกรม cellSense เท่ากับ 10 ms และเป็นแบบ Manual ดังแสดงในรูปที่ ฉ.2

4. เปิด Shutter ที่กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในรูปที่ ฉ.3. จากนั้น เลือกฟิลเตอร์แสงตามชนิดของอนุภาคที่ต้องการบันทึกภาพและวิดีโอ ดังนี้

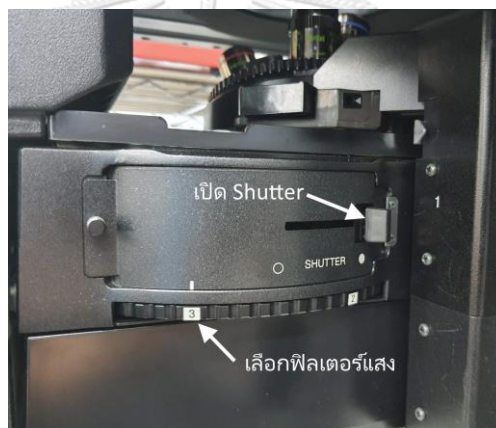
- ฟิลเตอร์หมายเลข 1 (UW) สำหรับอนุภาคย้อมฟลูออเรสเซนซ์สีเหลืองและเขียว (Fluoresbrite® 17156-2, Polysciences).
- ฟิลเตอร์หมายเลข 2 (BW) สำหรับอนุภาคย้อมฟลูออเรสเซนซ์สีแดง (Fluoresbrite® 19508-2, Polysciences) สีเหลืองและเขียว.
- ฟิลเตอร์หมายเลข 3 (GW) สำหรับอนุภาคย้อมฟลูออเรสเซนซ์สีแดง.
- ฟิลเตอร์หมายเลข 4 (BF) สำหรับโหมด Bright Field.



รูปที่ ฉ.1 การปรับฟิลเตอร์แสงด้านท้ายของกล้องจุลทรรศน์.



รูปที่ ๑.2 การตั้ง Exposure Time ของโปรแกรม cellSense.



รูปที่ ๑.3 ตำแหน่งการเปิด Shutter และเลือกฟิลเตอร์แสงของกล้องจุลทรรศน์.

**ภาคผนวก ข**  
**ผลการนับจำนวนอนุภาคและเซลล์เลือด**

**ข.1 ผลการนับจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนและเซลล์เม็ดเลือดแดง**

การทดลองคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$  จากเซลล์เม็ดเลือดแดง อนุภาคและเซลล์ ณ ช่องทางออก D และ E ถูกนับจากโฟลว์ไซโตเมตริกการทดลองเป็นเวลา 30 วินาที. ตารางที่ ข.1 ถึง ข.3 แสดงจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีน ขนาด 10  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:20, 1:200 และ 1:2,000 ตามลำดับ.

ตารางที่ ข.1 จำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:20.

Duty Cycle	Laps	Outlet D		Outlet E	
		PS	RBC	PS	RBC
100%	1	19	3	8	401
	2	11	1	24	491
	3	8	2	12	507
75%	1	25	4	0	508
	2	27	10	4	642
	3	28	2	3	511
50%	1	32	3	0	654
	2	23	3	0	499
	3	20	5	0	615

ตารางที่ ข.2 จำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:200.

Duty Cycle	Laps	Outlet D		Outlet E	
		PS	RBC	PS	RBC
100%	1	22	52	19	N/A
	2	47	49	20	
	3	41	198	8	
75%	1	42	35	9	
	2	53	78	3	
	3	42	70	4	
50%	1	37	2,061	1	
	2	78	2,448	5	
	3	48	1,421	0	

ตารางที่ ข.3 จำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 10  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:2,000.

Duty Cycle	Laps	Outlet D		Outlet E	
		PS	RBC	PS	RBC
100%	1	93	794	10	N/A
	2	87	575	7	
	3	79	344	20	
75%	1	52	479	1	
	2	74	513	2	
	3	63	608	3	
50%	1	28	N/A	2	
	2	14		0	
	3	8		0	

ตารางที่ ข.2 และ ข.3 ไม่ได้นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ช่องทางออก E และตารางที่ ข.3 การทดลองด้วยค่าวัฏจักรหน้าที่  $D_T$  เท่ากับ 0.5 ไม่ได้นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ช่องทางออก D เนื่องจากมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากไหลออกปะปนกับอนุภาคพอลิสไตรีน. การทดลองคัดแยกอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  จากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่นำเสนอในหัวข้อที่ 5.4.5 ของบทที่ 5 มีผลการนับจำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:2,000 แสดงดังตารางที่ ข.4.

ตารางที่ ข.4 จำนวนอนุภาคพอลิสไตรีนขนาด 3  $\mu\text{m}$  และเซลล์เม็ดเลือดแดง ณ ช่องทางออก D และ E เมื่ออัตราส่วน PS:RBC เท่ากับ 1:2,000.

Duty Cycle	Laps	Outlet D		Outlet E	
		PS	RBC	PS	RBC
100%	1	83	150	0	N/A
	2	61	530	0	
	3	94	290	0	
75%	1	89	429	0	
	2	76	256	0	
	3	76	193	0	
50%	1	85	1,546	0	
	2	58	849	0	
	3	79	302	0	

## ข.2 ผลการนับจำนวนเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียและเซลล์เลือดเพาะปกติ

การทดลองคัดแยกเซลล์เลือดเพาะเชื้อมาลาเรียจากเซลล์เลือดเพาะปกติในหัวข้อที่ 5.5 ของบทที่ 5 เซลล์เลือด ณ ช่องทางออก C และ D ถูกนับจากฟิล์มเลือดที่ผ่านการย้อมสี Giemsa. ตารางที่ ข.5 ถึง ข.11 แสดงจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิด ณ ช่องทางออก C และ D เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ 1:5, 1:50, 1:500,  $1:5 \times 10^3$ ,  $1:5 \times 10^4$ ,  $1:5 \times 10^5$  และ  $1:1 \times 10^6$  ตามลำดับ. ตารางที่ ข.12 แสดงจำนวนเซลล์เลือดทั้งสองชนิด ณ ช่องทางออก C และ D เมื่ออัตราส่วนจำนวน iRBC:nRBC เท่ากับ  $1:1 \times 10^6$  และการใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาค 2 ชั้นแบบต่อขนาน.

ตารางที่ ข.5 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ iRBC:nRBC = 1:5.

Laps	Cells	Outlet D		Outlet E	
		Count	Ratio	Count	Ratio
1	iRBC	406	1:0.5	6	1:225
	nRBC	205		1,351	
2	iRBC	287	1:1.3	1	1:668
	nRBC	377		668	
3	iRBC	456	1:2.3	1	1:1,807
	nRBC	1,030		1,807	
4	iRBC	514	1:3.4	6	1:329
	nRBC	1,750		1,972	

ตารางที่ ข.6 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ iRBC:nRBC = 1:50.

Laps	Cells	Outlet D		Outlet E	
		Count	Ratio	Count	Ratio
1	iRBC	161	1:15	1	1:2,977
	nRBC	2,396		2,977	
2	iRBC	124	1:17	3	1:709
	nRBC	2,163		2,126	
3	iRBC	128	1:20	3	1:497
	nRBC	2,542		1,492	



ตารางที่ ข.7 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:500$ .

Laps	Cells	Outlet D		Outlet E	
		Count	Ratio	Count	Ratio
1	iRBC	15	1:39	1	1:1,365
	nRBC	589		1,365	

หมายเหตุ การทดลองกระทำเพียง 1 ครั้ง.

ตารางที่ ข.8 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:5 \times 10^3$ .

Laps	Cells	Outlet D		Outlet E	
		Count	Ratio	Count	Ratio
1	iRBC	12	1:77	2	1:1,281
	nRBC	927		2,561	
2	iRBC	11	1:55	4	1:1,138
	nRBC	606		4,551	

ตารางที่ ข.9 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:5 \times 10^4$ .

Laps	Cells	Outlet D	
		Count	Ratio
1	iRBC	3	1:598
	nRBC	1,795	
2	iRBC	2	1:236
	nRBC	472	
3	iRBC	2	1:321
	nRBC	641	
4	iRBC	3	1:276
	nRBC	827	
5	iRBC	4	1:385
	nRBC	1,538	

หมายเหตุ การทดลองไม่ได้นับจำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก C.

ตารางที่ ข.10 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:5 \times 10^5$ .

Laps	Cells	Outlet D	
		Count	Ratio
1	iRBC	2	1:715
	nRBC	1,430	

หมายเหตุ การทดลองกระทำเพียง 1 ครั้งและไม่ได้นับจำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก C.

ตารางที่ ข.11 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:1 \times 10^6$ .

Laps	Cells	Outlet D	
		Count	Ratio
1	iRBC	3	1:363
	nRBC	1,090	
2	iRBC	2	1:487
	nRBC	937	
3	iRBC	2	1:302
	nRBC	604	
4	iRBC	1	1:321
	nRBC	321	
5	iRBC	2	1:211
	nRBC	422	
6	iRBC	3	1:289
	nRBC	867	

หมายเหตุ การทดลองไม่ได้นับจำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก C.

ตารางที่ ข.12 จำนวน iRBC และ nRBC ที่ช่องทางออก เมื่อ  $iRBC:nRBC = 1:1 \times 10^6$  และใช้อุปกรณ์ของไหลจุลภาคแบบขนาน

Laps	Cells	Outlet D	
		Count	Ratio
1	iRBC	4	1:294
	nRBC	1,175	
2	iRBC	7	1:278
	nRBC	1,949	
3	iRBC	5	1:234
	nRBC	1,171	

### บรรณานุกรม

- [1] A. M. Foudeh, T. F. Didar, T. Veres, and M. Tabrizian, "Microfluidic designs and techniques using lab-on-a-chip devices for pathogen detection for point-of-care diagnostics," *Lab on a Chip*, vol. 12, no. 18, pp. 3249-3266, 2012.
- [2] S. K. Srivastava, J. L. Baylon-Cardiel, B. H. Lapizco-Encinas, and A. R. Minerick, "A continuous DC-insulator dielectrophoretic sorter of microparticles," *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, no. 13, pp. 1780-1789, 2011.
- [3] H. Shafiee, J. L. Caldwell, M. B. Sano, and R. V. Davalos, "Contactless dielectrophoresis: a new technique for cell manipulation," *Biomedical microdevices*, vol. 11, no. 5, pp. 997-1006, 2009.
- [4] C. Derec, C. Wilhelm, J. Servais, and J.-C. Bacri, "Local control of magnetic objects in microfluidic channels," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 8, no. 1, p. 123, 2010.
- [5] J. Nam, H. Huang, H. Lim, C. Lim, and S. Shin, "Magnetic separation of malaria-infected red blood cells in various developmental stages," *Analytical chemistry*, vol. 85, no. 15, pp. 7316-7323, 2013.
- [6] Z. Wu, Y. Chen, M. Wang, and A. J. Chung, "Continuous inertial microparticle and blood cell separation in straight channels with local microstructures," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 3, pp. 532-542, 2016.
- [7] P. R. Gascoyne, J. Noshari, T. J. Anderson, and F. F. Becker, "Isolation of rare cells from cell mixtures by dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 30, no. 8, pp. 1388-1398, 2009.
- [8] Q. Guo *et al.*, "Deformability based sorting of red blood cells improves diagnostic sensitivity for malaria caused by *Plasmodium falciparum*," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 4, pp. 645-654, 2016.
- [9] C. Liu, L. Lagae, R. Wirix-Speetjens, and G. Borghs, "On-chip separation of magnetic particles with different magnetophoretic mobilities," *Journal of applied physics*, vol. 101, no. 2, p. 024913, 2007.
- [10] F. Becker, X.-B. Wang, Y. Huang, R. Pethig, J. Vykoukal, and P. Gascoyne, "The

- removal of human leukaemia cells from blood using interdigitated microelectrodes," *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 27, no. 12, p. 2659, 1994.
- [11] F. F. Becker, et al., "Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 92, no. 3, pp. 860-864, 1995.
- [12] X.-B. Wang, et al., "Cell separation by dielectrophoretic field-flow-fractionation," *Analytical chemistry*, vol. 72, no. 4, pp. 832-839, 2000.
- [13] H. Li and R. Bashir, "Dielectrophoretic separation and manipulation of live and heat-treated cells of *Listeria* on microfabricated devices with interdigitated electrodes," *Sensors and actuators B: chemical*, vol. 86, no. 2-3, pp. 215-221, 2002.
- [14] S. Choi and J.-K. Park, "Microfluidic system for dielectrophoretic separation based on a trapezoidal electrode array," *Lab on a Chip*, vol. 5, no. 10, pp. 1161-1167, 2005.
- [15] J. G. Kralj, M. T. Lis, M. A. Schmidt, and K. F. Jensen, "Continuous dielectrophoretic size-based particle sorting," *Analytical chemistry*, vol. 78, no. 14, pp. 5019-5025, 2006.
- [16] S. Golan, D. Elata, and U. Dinnar, "Hybrid dielectrophoresis devices that employ electrically floating electrodes," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 142, no. 1, pp. 138-146, 2008.
- [17] J. Jung and K.-H. Han, "Lateral-driven continuous magnetophoretic separation of blood cells," *Applied Physics Letters*, vol. 93, no. 22, p. 223902, 2008.
- [18] M. S. Pommer *et al.*, "Dielectrophoretic separation of platelets from diluted whole blood in microfluidic channels," *Electrophoresis*, vol. 29, no. 6, pp. 1213-1218, 2008.
- [19] B. Çetin, Y. Kang, Z. Wu, and D. Li, "Continuous particle separation by size via AC-dielectrophoresis using a lab-on-a-chip device with 3-D electrodes," *Electrophoresis*, vol. 30, no. 5, pp. 766-772, 2009.
- [20] H.-H. Cui, J. Voldman, X.-F. He, and K.-M. Lim, "Separation of particles by pulsed

- dielectrophoresis," *Lab on a Chip*, vol. 9, no. 16, pp. 2306-2312, 2009.
- [21] L. Wang, J. Lu, S. A. Marchenko, E. S. Monuki, L. A. Flanagan, and A. P. Lee, "Dual frequency dielectrophoresis with interdigitated sidewall electrodes for microfluidic flow-through separation of beads and cells," *Electrophoresis*, vol. 30, no. 5, pp. 782-791, 2009.
- [22] T. Nishimura, J. Miwa, Y. Suzuki, and N. Kasagi, "Label-free continuous cell sorter with specifically adhesive oblique micro-grooves," *Journal of micromechanics and microengineering*, vol. 19, no. 12, p. 125002, 2009.
- [23] Y. Kang, B. Cetin, Z. Wu, and D. Li, "Continuous particle separation with localized AC-dielectrophoresis using embedded electrodes and an insulating hurdle," *Electrochimica Acta*, vol. 54, no. 6, pp. 1715-1720, 2009.
- [24] N. Lewpiriyawong, C. Yang, and Y. C. Lam, "Continuous sorting and separation of microparticles by size using AC dielectrophoresis in a PDMS microfluidic device with 3-D conducting PDMS composite electrodes," *Electrophoresis*, vol. 31, no. 15, pp. 2622-2631, 2010.
- [25] H. Shafiee, M. B. Sano, E. A. Henslee, J. L. Caldwell, and R. V. Davalos, "Selective isolation of live/dead cells using contactless dielectrophoresis (cDEP)," *Lab on a Chip*, vol. 10, no. 4, pp. 438-445, 2010.
- [26] H.-S. Moon *et al.*, "Continuous separation of breast cancer cells from blood samples using multi-orifice flow fractionation (MOFF) and dielectrophoresis (DEP)," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 6, pp. 1118-1125, 2011.
- [27] R. C. Gallo-Villanueva, *et al.*, "Separation of mixtures of particles in a multipart microdevice employing insulator-based dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 32, no. 18, pp. 2456-2465, 2011.
- [28] M. Viefhues, R. Eichhorn, E. Fredrich, J. Regtmeier, and D. Anselmetti, "Continuous and reversible mixing or demixing of nanoparticles by dielectrophoresis," *Lab on a Chip*, vol. 12, no. 3, pp. 485-494, 2012.
- [29] S. Patel, D. Showers, P. Vedantam, T.-R. Tzeng, S. Qian, and X. Xuan, "Microfluidic separation of live and dead yeast cells using reservoir-based dielectrophoresis," *Biomicrofluidics*, vol. 6, no. 3, p. 034102, 2012.

- [30] A. Sonnenberg, J. Y. Marciniak, R. Krishnan, and M. J. Heller, "Dielectrophoretic isolation of DNA and nanoparticles from blood," *Electrophoresis*, vol. 33, no. 16, pp. 2482-2490, 2012.
- [31] P. Zellner and M. Agah, "Silicon insulator-based dielectrophoresis devices for minimized heating effects," *Electrophoresis*, vol. 33, no. 16, pp. 2498-2507, 2012.
- [32] M. Li, S. Li, W. Li, W. Wen, and G. Alici, "Continuous manipulation and separation of particles using combined obstacle-and curvature-induced direct current dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 34, no. 7, pp. 952-960, 2013.
- [33] N. A. M. Yunus, H. Nili, and N. G. Green, "Continuous separation of colloidal particles using dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 34, no. 7, pp. 969-978, 2013.
- [34] A. Gencoglu, D. Olney, A. LaLonde, K. S. Koppula, and B. H. Lapizco-Encinas, "Dynamic microparticle manipulation with an electroosmotic flow gradient in low-frequency alternating current dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 35, no. 2-3, pp. 362-373, 2014.
- [35] L. Schmid, D. A. Weitz, and T. Franke, "Sorting drops and cells with acoustics: acoustic microfluidic fluorescence-activated cell sorter," *Lab on a Chip*, vol. 14, no. 19, pp. 3710-3718, 2014.
- [36] Y. Jia, Y. Ren, and H. Jiang, "Continuous dielectrophoretic particle separation using a microfluidic device with 3D electrodes and vaulted obstacles," *Electrophoresis*, vol. 36, no. 15, pp. 1744-1753, 2015.
- [37] J. Marchalot, J.-F. Chateaux, M. Faivre, H. C. Mertani, R. Ferrigno, and A.-L. Deman, "Dielectrophoretic capture of low abundance cell population using thick electrodes," *Biomicrofluidics*, vol. 9, no. 5, p. 054104, 2015.
- [38] H. Zhu, X. Lin, Y. Su, H. Dong, and J. Wu, "Screen-printed microfluidic dielectrophoresis chip for cell separation," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 63, pp. 371-378, 2015.
- [39] Y. Chen *et al.*, "High-throughput acoustic separation of platelets from whole blood," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 18, pp. 3466-3472, 2016.
- [40] Y. Cheng, Y. Wang, Z. Ma, W. Wang, and X. Ye, "A bubble-and clogging-free

- microfluidic particle separation platform with multi-filtration," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 23, pp. 4517-4526, 2016.
- [41] B. Mathew, A. Alazzam, G. Destgeer, and H. J. Sung, "Dielectrophoresis based cell switching in continuous flow microfluidic devices," *Journal of Electrostatics*, vol. 84, pp. 63-72, 2016.
- [42] Y. Wang, F. Du, G. R. Pesch, J. Koeser, M. Baune, and J. Thoeming, "Microparticle trajectories in a high-throughput channel for contact-free fractionation by dielectrophoresis," *Chemical Engineering Science*, vol. 153, pp. 34-44, 2016.
- [43] K. Zhao, R. Peng, and D. Li, "Separation of nanoparticles by a nano-orifice based DC-dielectrophoresis method in a pressure-driven flow," *Nanoscale*, vol. 8, no. 45, pp. 18945-18955, 2016.
- [44] L. Zhu *et al.*, "Enhanced throughput for electrokinetic manipulation of particles and cells in a stacked microfluidic device," *Micromachines*, vol. 7, no. 9, p. 156, 2016.
- [45] Y. Yoon *et al.*, "Clogging-free microfluidics for continuous size-based separation of microparticles," *Scientific reports*, vol. 6, no. 1, pp. 1-8, 2016.
- [46] A. Alazzam, B. Mathew, and F. Alhammadi, "Novel microfluidic device for the continuous separation of cancer cells using dielectrophoresis," *Journal of separation science*, vol. 40, no. 5, pp. 1193-1200, 2017.
- [47] X. Fu, N. Mavrogiannis, M. Ibo, F. Crivellari, and Z. R. Gagnon, "Microfluidic free-flow zone electrophoresis and isotachopheresis using carbon black nano-composite PDMS sidewall membranes," *Electrophoresis*, vol. 38, no. 2, pp. 327-334, 2017.
- [48] C. Thomas *et al.*, "Charge-based separation of particles and cells with similar sizes via the wall-induced electrical lift," *Electrophoresis*, vol. 38, no. 2, pp. 320-326, 2017.
- [49] L. D'Amico, N. Ajami, J. Adachi, P. Gascoyne, and J. Petrosino, "Isolation and concentration of bacteria from blood using microfluidic membraneless dialysis and dielectrophoresis," *Lab on a Chip*, vol. 17, no. 7, pp. 1340-1348, 2017.
- [50] A. Kale, S. Patel, and X. Xuan, "Three-dimensional reservoir-based

- dielectrophoresis (rDEP) for enhanced particle enrichment," *Micromachines*, vol. 9, no. 3, p. 123, 2018.
- [51] A. Rahmani, A. Mohammadi, and H. R. Kalhor, "A continuous flow microfluidic device based on contactless dielectrophoresis for bioparticles enrichment," *Electrophoresis*, vol. 39, no. 3, pp. 445-455, 2018.
- [52] W. Waheed, A. Alazzam, B. Mathew, N. Christoforou, and E. Abu-Nada, "Lateral fluid flow fractionation using dielectrophoresis (LFFF-DEP) for size-independent, label-free isolation of circulating tumor cells," *Journal of Chromatography B*, vol. 1087, pp. 133-137, 2018.
- [53] P. Tajik, M. S. Saidi, N. Kashaninejad, and N.-T. Nguyen, "Simple, cost-effective, and continuous 3D dielectrophoretic microchip for concentration and separation of bioparticles," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 59, no. 9, pp. 3772-3783, 2019.
- [54] T. B. Jones and T. B. Jones, *Electromechanics of particles*. Cambridge university press, 2005.
- [55] T. B. Jones, "Basic theory of dielectrophoresis and electrorotation," *IEEE Engineering in medicine and Biology Magazine*, vol. 22, no. 6, pp. 33-42, 2003.
- [56] S. Park, Y. Zhang, T.-H. Wang, and S. Yang, "Continuous dielectrophoretic bacterial separation and concentration from physiological media of high conductivity," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 17, pp. 2893-2900, 2011.
- [57] W. M. Haynes, *CRC handbook of chemistry and physics*. CRC press, 2014.
- [58] E. Evans and Y.-C. Fung, "Improved measurements of the erythrocyte geometry," *Microvascular research*, vol. 4, no. 4, pp. 335-347, 1972.
- [59] P. Gascoyne, J. Satayavivad, and M. Ruchirawat, "Microfluidic approaches to malaria detection," *Acta tropica*, vol. 89, no. 3, pp. 357-369, 2004.
- [60] P. Gascoyne, et al., "Microsample preparation by dielectrophoresis: isolation of malaria," *Lab on a Chip*, vol. 2, no. 2, pp. 70-75, 2002.



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายนิติพงศ์ ปานกลาง
วัน เดือน ปี เกิด	25 มีนาคม 2519
สถานที่เกิด	จังหวัดชัยนาท
วุฒิการศึกษา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2547
ที่อยู่ปัจจุบัน	1338/400 ถ.พระราม 3 แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กรุงเทพมหานคร
ผลงานตีพิมพ์	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. B. Techaumnat, N. Panklang, A. Wisitsoraat, and Y. Suzuki, "Study on the discrete dielectrophoresis for particle-cell separation," <i>Electrophoresis</i>, vol. 41, no. 10-11, pp. 991-1001, 2020.</li> <li>2. N. Panklang, B. Techaumnat, and A. Wisitsoraat, "Analysis of the equivalent dipole moment of red blood cell by using the boundary element method," <i>Engineering Analysis with Boundary Elements</i>, vol. 112, pp. 68-76, 2020.</li> <li>3. B. Techaumnat and N. Panklang, "Electromechanical Analysis of Red Blood Cell Under AC Electric Field," <i>IEEE Transactions on Magnetics</i>, vol. 57, no. 6, pp. 1-4, 2021.</li> </ol>