

การคัดแยกเซลล์ด้วยขนาดโดยใช้ท่อจุลภาครูปร่างขดเกลียว

นายอรรถวุฒิ ถนอมศรีเดชชัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SIZE-BASED CELL SORTING USING SPIRAL MICROCHANNELS

Mr. Attawut Thanormsridetchai



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Mechanical Engineering

Department of Mechanical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดแยกเซลล์ด้วยขนาดโดยใช้ท่อจุลภาครูปร่างขดเกลียว
โดย	นายอรรณวุฒิ ถนนอมศรีเดชชัย
สาขาวิชา	วิศวกรรมเครื่องกล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลงกรณ์ พิมพ์พิณ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กุณขิณี มณีรัตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อลงกรณ์ พิมพ์พิณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วีระยุทธ ศรีธรรมาภิบาล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร. ศักดิ์นันท์ สรุ้งบุญมี)

อรรถวุฒิ ถนอมศรีเดชชัย : การคัดแยกเซลล์ด้วยขนาดโดยใช้ท่อจุลภาครูปร่างขดเกลียว (SIZE-BASED CELL SORTING USING SPIRAL MICROCHANNELS) อ.ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. อลงกรณ์ พิมพ์พิณ, 107 หน้า.

ปัจจุบันเซลล์มะเร็งได้รับความสนใจอย่างมากเพื่อประโยชน์ในการรักษา การศึกษาในรูปแบบหนึ่งคือพยายามทำความเข้าใจการทำงานของเซลล์ในรูปแบบเซลล์เดี่ยว จุดมุ่งหมายของการศึกษาครั้งนี้คือการออกแบบอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวสำหรับการวิจัยมะเร็งในรูปแบบเซลล์เดี่ยว โดยมีเป้าหมายคือการคัดแยกเซลล์หลากหลายขนาดให้เป็นเซลล์เดี่ยว โดยไม่ใช้แรงภายนอกมากระทำเพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเซลล์มะเร็ง การออกแบบใช้ประโยชน์จากแรงยกและแรงของดินกระทำต่ออนุภาคขนาดต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามขนาดของอนุภาค ท่อขนาดจุลภาคประกอบด้วยท่อขดโค้งจำนวน 5 รอบ มีระยะห่างระหว่างท่อโค้งเท่ากับ 500 ไมโครเมตร ความกว้างของช่องทางและความสูงเป็น 500 และ 130 ไมโครเมตรตามลำดับ รัศมีเฉลี่ยของความโค้งของช่องเกลียวทั้งหมดคือ 0.75 ซม. ที่ช่องทางออกท่อขยายออกจนมีความกว้าง 2 มิลลิเมตรและแบ่งเป็นท่อขนาดเล็ก 10 ช่อง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นการแยกขนาดของตัวอย่างออกจากกันได้ การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็งมีสองชุดการทดลองประกอบด้วย การทดลองแรกใช้เซลล์มะเร็งขนาด 10-15 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรไม่เกิดการเรียงตัวภายในท่อ สำหรับเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตร จะเคลื่อนเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2, 3 และ 4 ประมาณ 30, 50 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับเซลล์ขนาด 15 ไมโครเมตร จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 และ 3 ประมาณ 55 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่สองใช้กลุ่มเซลล์มะเร็งขนาด 10-25 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลเดียวกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าของเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรไม่เกิดการเรียงตัวภายในท่อเช่นเดียวกัน สำหรับเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตร จะเคลื่อนเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 และ 3 ประมาณ 40 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับเซลล์มะเร็งขนาด 15-25 ไมโครเมตร การเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์

ภาควิชา วิศวกรรมเครื่องกล

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมเครื่องกล

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2557

5670461021 : MAJOR MECHANICAL ENGINEERING

KEYWORDS: POLYDIMETHYLSILOXANE / SOFT LITHOGRAPHY / POLYSTYRENE BEADS / INERTIAL LIFT FORCES / DEAN DRAG FORCES / SEPARATING / CANCER CELLS

ATTAWUT THANORMSRIDETCHAI: SIZE-BASED CELL SORTING USING SPIRAL MICROCHANNELS. ADVISOR: ASST. PROF. ALONGKORN PIMPIN, 107 pp.

Nowadays, cancer cells have attracted great interest in the field of cell biology. The aim of this study is to design a spiral microfluidic sorting device for cancer single-cell research. The ultimate goal is to continuously separate multiple-size cells to single cells based on their sizes without external applied force to avoid a modification of biology property of cancer cells. The design takes advantage of the inertial lift and dean drag forces acting on particles at different magnitude for different sizes of particle. The fabricated spiral microchannel consisted of five loops with a spacing of 500 μm between the neighboring spiral loops. The channel width and height were 500 and 130 μm , respectively. The average radius of curvature of all spiral channels was 0.75 cm. At the exit, the microchannel was gradually expanded to 2 mm width, and connected to 10 outlet ports. This work has successfully demonstrated a separating of multiple-size samples in the spiral microchannel. There were two experiments for cancer cell sorting. The first experiment with cancer cells with the size of 10-15 μm at flow rate of 1.0 mL/min demonstrated that the 5- μm cells did not focus and dispersed to every outlet. However, the cancer cells with the size of 10 μm focused and went to the outlet number 2, 3 and 4 around 30, 50 and 10 percent, respectively. Besides, the cancer cells with the size of 15 μm went to the outlet number 2 and 3 around 55 and 30 percent successively. The other experiment with cells of various sizes from 10 to 25 μm at the same flow rate suggested that the 5- μm cells did not focus similarly to the previous experiment. However, the 10- μm cells focused and went to the outlet number 2 and 3 around 40 and 25 percent, respectively. Additionally, the cancer cells with the size of 15-25 μm went to the outlet number 2 around 85 percent.

Department: Mechanical Engineering Student's Signature

Field of Study: Mechanical Engineering Advisor's Signature

Academic Year: 2014

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยจากท่านอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ "ผศ.ดร. อลงกรณ์ พิมพ์พิณ" ซึ่งท่านได้เสียสละเวลาส่วนตัวมาให้ความรู้ คำแนะนำ คำสั่งสอน ทั้งด้าน งานวิจัยและการดำเนินชีวิตที่เป็นประโยชน์ อีกทั้งยังช่วยผลักดันให้ผู้วิจัยทำสำเร็จได้ตามที่ คาดหวัง

ขอกราบขอบพระคุณทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และทุนเสนอผลงานทางวิชาการ ระดับนานาชาติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนการเดินทางไปเผยแพร่ผลงานในงาน 27th international microprocesses and nanotechnology conference ในปีพ.ศ. 2557 ที่ประเทศญี่ปุ่น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. วีระยุทธ ศรีธรรมาภิบาล ที่คอยให้คำแนะนำและ ข้อเสนอแนะ ทางการศึกษา และการดำเนินชีวิตที่เป็นประโยชน์ยิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วง ไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.สพญ.ดร.อัจฉริยา ไสละสุต, อ.นสพ.ดร.ประพจน์ดี ปิยะ วิริยะกุล และน.สพ.เดชาชัย เกตุพันธ์ ที่คอยให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะทางการศึกษา และการจะหาวัสดุอุปกรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. วุฒินันท์ เจริญศักดิ์ศิริ, นายวิศรุต ศรีพุ่มไช่, นายจิรวุฒน์ จันตะวงษ์, นายจักรพงษ์ ศุภเดช และนายวิน บรรจงปรุ ที่คอยสนับสนุนการผลิตอุปกรณ์ต่อ ขัดแบบเกลียวและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ณัฐวัฒน์ อ่อนลมุล ในการช่วยเหลือ สนับสนุนการและ รับรองผลการทดลอง

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาโททุกท่านในห้องปฏิบัติการคอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา และคอยผลักดันตลอดมาแก่ผู้ทำวิจัยมาตลอด

เหนือสิ่งอื่นใดผู้วิจัยต้องกราบขอบพระคุณ นายฐานันดร วัฒนศิริเดชชัย, นางอรอนงค์ วัฒนศิริเดชชัย, นายอรรถวิชัย วัฒนศิริเดชชัย และนายศตวรรษ สนิทภิกษาคูกร ครอบครัวยุของ ผู้วิจัยที่คอยอบรม เลี้ยงดูสั่งสอน สนับสนุนในทุกอย่าง ทำให้นักวิจัย ประสบความสำเร็จได้ในวันนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ระเบียบขั้นตอนของงานวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.6 แผนการดำเนินงาน	3
บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม	4
2.1 วิธีและขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเซลล์	4
2.2 การคัดแยกเซลล์ในวิธีต่างๆ.....	4
2.2.1 กลุ่มแรกเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก.....	5
2.2.2 กลุ่มที่สองเป็นเทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก	7
2.3 หลักการทำงานของท่อชุดแบบเกลียว	8
2.4 เทคนิคท่อชุดเกลียวและการใช้งานแบบต่างๆ	11
2.5 สรุปผล.....	18
บทที่ 3 ลักษณะการไหล.....	19

3.1 การตรวจสอบความถูกต้อง	19
3.2 การออกแบบ	20
3.2.1 ขนาดและรูปร่างพื้นที่หน้าตัดของท่อโค้ง	21
3.2.2 ขนาดของช่องทางออก	27
3.2.2.1 มุมบานของช่องทางออก	30
3.2.2.2 ความยาวของช่องทางออก	34
3.2.2.3 ความกว้างของช่องทางออก	35
3.3 สรุปผล.....	35
บทที่ 4 การเรียงตัวของอนุภาค.....	37
4.1 กระบวนการสร้างชีพ	37
4.2 การเปรียบเทียบสีของสารละลาย.....	38
4.3 ขั้นตอนการเตรียมการทดลอง	39
4.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	39
4.3.1.1 ชุดทดลอง	39
4.3.1.2 สารละลายในการทดลอง.....	40
4.4 ขั้นตอนการทดลอง	41
4.5 การทดลองกับเม็ดพลาสติก.....	43
4.5.1 การทดลองเม็ดโพลีเมอร์เดี่ยว.....	43
4.5.2 การทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์แบบผสม	45
4.6 การทดลองกับเซลล์จริง.....	47
4.6.1 การทดลองคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง	47
4.6.2 การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็ง.....	48
4.7 การเปรียบเทียบระหว่างเม็ดพลาสติกกับการศึกษาต่างๆ.....	49

4.8 สรุปผล.....	50
บทที่ 5 การนับจำนวนอนุภาค.....	52
5.1 การคาดคะเนด้วยคอมพิวเตอร์.....	52
5.2 การนับเม็ดพลาสติกที่ช่องทางออก	53
5.3 สรุปผลการทดลอง	60
บทที่ 6 การนับจำนวนเซลล์มะเร็ง.....	62
6.1 การนับเซลล์ที่ช่องทางออก	62
6.1.1 การทดลองนับเซลล์ชุดที่หนึ่ง.....	65
6.1.2 การทดลองนับเซลล์ชุดที่สอง	69
6.2 สรุปผลการทดลอง	73
บทที่ 7 สรุปผลการงานวิจัย.....	74
7.1 สรุปงานวิจัย.....	74
7.2 ความไม่แน่นอนของของการทดลอง.....	76
รายการอ้างอิง	77
ภาคผนวก ก อุปกรณ์นับเซลล์ (Flow cytometer).....	80
ภาคผนวก ข ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 μm ครั้งที่ 1 – 3	81
ภาคผนวก ค ผลการนับเซลล์ขนาด 15 – 25 μm ครั้งที่ 1 – 3	89
ภาคผนวก ง ผลการนับเซลล์ขนาด 10 – 15 μm ครั้งที่ 1 – 3.....	96
ภาคผนวก จ ขั้นตอนการใช้ Software COMSOL.....	103
ภาคผนวก ฉ การวิเคราะห์ Shear stress.....	106
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	107

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1	เปรียบเทียบวิธีการคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว	16
ตารางที่ 3.1	ตารางแสดงความน่าจะเป็นของสัดส่วนของไหลที่ไหลออกในแต่ละช่องทางออก	30
ตารางที่ ข1	การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 1	86
ตารางที่ ข2	การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2	87
ตารางที่ ข3	การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3	88
ตารางที่ ค1	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 1	93
ตารางที่ ค2	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 2	94
ตารางที่ ค3	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 3	95
ตารางที่ ง1	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 1	100
ตารางที่ ง2	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 2	101
ตารางที่ ง3	การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 3	102

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 การตัดแยกอนุภาคด้วยเสาขนาดเล็กของเสาทั้งสามแบบ (ก) ขนาดและรูปร่างของเสาขนาดเล็ก ประกอบด้วย เสาทรงกลม, เสาทรงสี่เหลี่ยมและเสาทรง I – shaped (ข) การเคลื่อนที่ของอนุภาคผ่านเสารูปทรงต่างๆ (ค) กราฟประสิทธิภาพการตัดแยกของเสาทรงต่างๆจากการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่บริเวณช่องทางออก ^[4]	6
รูปที่ 2.2 การตัดแยกอนุภาคด้วยฟิวเตอร์แบบต่างๆ (ก) แบบเชื่อมไมโครฟิวเตอร์ (ข) แบบเสาขนาดเล็ก (ค) แบบการไหลตั้งฉากของไมโครฟิวเตอร์ ^[3]	6
รูปที่ 2.3 เทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการตัดแยก (ก) การตัดแยกด้วยขั้วไฟฟ้า, (ข)การตัดแยกเซลล์เม็ดเลือดด้วยแผ่นทาสเมียร์, (ค) การตัดแยกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าอินเทอร์ดิเจิต, (ง) การตัดแยกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าร่วมกับไดอิเล็กโตรโฟลีสซิส และ(จ) การตัดแยกโดยไดอิเล็กโตรพอเรซิสแบบคลื่นเดินทาง ^[2]	7
รูปที่ 2.4 การตัดแยกอนุภาคด้วยการใช้คลื่นเสียง (ก) การเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในอุปกรณ์และ(ข) แผนภาพการติดตั้งการทดลอง ^[7]	8
รูปที่ 2.5 การเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในท่อ (ก) ส่วนของท่อโค้ง (ข) ภาพขยายของการเกิดการไหลหมุนวนและตำแหน่งสมมูลของอนุภาค	9
รูปที่ 2.6 การเคลื่อนที่ของอนุภาค (ก) ในตำแหน่งที่มีทิศทางของแรงเสริมกันและ(ข) ในตำแหน่งที่มีทิศทางของแรงหักล้างกัน	10
รูปที่ 2.7 อุปกรณ์การตัดแยกด้วยเทคนิคท่อขดรูปเกลียว (ก) ระยะเวลาไหลของอนุภาคขนาดต่างๆภายในท่อ (ข) อุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว (ค) บริเวณทางออกในแต่ละช่อง (ง) ผลการทดลองในแต่ละความสูงต่างๆของท่อซึ่งมีผลทำให้ระยะที่อนุภาคโฟกัสมีตำแหน่งจากผนังท่อแตกต่างกันที่อัตราไหลต่างๆ Kuntaegowdanahalli, S.S., et al. ^[9]	12
รูปที่ 2.8 อุปกรณ์การตัดแยกด้วยเทคนิคท่อขดรูปเกลียว El Hasni, A., et al. ^[10]	13
รูปที่ 2.9 แนวเส้นทางการไหลของอนุภาคขนาด 40 และ 60 ไมโครเมตร (ก) บริเวณท่อตรง (ข) บริเวณท่อทางออก El Hasni, A., et al. ^[10]	13
รูปที่ 2.10 พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมคางหมูของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว Wu, L., et al. ^[14]	14
รูปที่ 2.11 พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าและคางหมูของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว	14

รูปที่ 2.12 การตัดแยกอนุภาคแม่เหล็กไมโครเซพียร์ (ก) อุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวใช้แยกอนุภาค และ (ข) การตัดแยกอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร แยกได้ที่อัตราการไหล 50 ไมโครลิตรต่อนาที Dutz, S., et al. ^[12] 15

รูปที่ 3.1 ขนาดและรูปร่างของท่อในงานวิจัย Park, J.-S., et al. ^[16] 19

รูปที่ 3.2 การไหลภายในท่อที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 16, 47, 78 และ 109 (ก) การจำลอง การไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และ (ข) ภาพถ่ายการทดลองจริงของการไหลภายในท่อ Park, J.-S., et al. ^[16] 19

รูปที่ 3.3 การจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่อัตราการไหล (ก) $Re = 16$ (ข) $Re = 47$ (ค) $Re = 78$ และ (ง) $Re = 109$ 20

รูปที่ 3.4 การจำลองท่อโค้ง (ก) พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500x500 ไมโครเมตร (ข) ขนาดของ element ตั้งแต่ 5-40 ไมโครเมตร (ค) พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร (ง) ขนาดของ element ตั้งแต่ 1-10 ไมโครเมตร (จ) และ (ฉ) ทิศทาง ของการไหลที่บริเวณท่อทางเข้า 22

รูปที่ 3.5 การจำลองการไหลในท่อสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ก) ขนาดของความเร็วรวมทั้งระนาบหน้าตัดท่อ ทางออก โดยมีความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.47 เมตรต่อวินาที ($Re = 33.33$) (ข) ทิศทางของความเร็ว เฉพาะบนหน้าตัดท่อ ($Re = 33.33$) (ค)-(ง) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.87 เมตรต่อวินาที ($Re = 66.67$) และ (จ)-(ฉ) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 2.0 เมตรต่อวินาที ($Re = 133.33$)..... 24

รูปที่ 3.6 การจำลองการไหลในท่อสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ก) ขนาดของความเร็วรวมทั้งระนาบหน้าตัดท่อ ทางออก โดยมีความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.49 เมตรต่อวินาที ($Re = 52.91$) (ข) ทิศทางของความเร็ว เฉพาะบนหน้าตัดท่อ ($Re = 52.91$) (ค)-(ง) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.95 เมตรต่อวินาที ($Re = 105.82$) และ (จ)-(ฉ) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 1.87 เมตรต่อวินาที ($Re = 211.64$) 25

รูปที่ 3.7 ค่าความเค้นเฉือนจากการจำลองการไหลในท่อที่ระนาบหน้าตัดท่อทางออกในทิศทาง ต่างๆ (ก) (ค) และ (จ) ทิศทางแกน X, Y และ Z ของพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ข) (ง) และ (ฉ) ทิศทางแกน X, Y และ Z ของพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้า 26

รูปที่ 3.8 การจำลองท่อด้วยคอมพิวเตอร์ (ก) แสดงบริเวณพื้นที่หน้าตัด A – A และ(ข) แสดง ส่วนของท่อทางออก 27

รูปที่ 3.9 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของมุมบานบริเวณช่องทางออก 6 องศา (ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ 28

รูปที่ 3.10 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา (ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ	29
รูปที่ 3.11 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของมุมบานบริเวณช่องทางออก 12 องศา (ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ	29
รูปที่ 3.12 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 6 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม.....	32
รูปที่ 3.13 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม.....	32
รูปที่ 3.14 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 12 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้น และ (ค) ขนาดของความเร็วรวม.....	32
รูปที่ 3.15 ค่าความเค้นเฉือนของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 6 องศา	33
รูปที่ 3.16 ค่าความเค้นเฉือนของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา	33
รูปที่ 3.17 ค่าความเค้นเฉือนของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 12 องศา.....	33
รูปที่ 3.18 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศาและ ความยาวท่อ 360 ไมโครเมตร (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บน หน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม	34
รูปที่ 3.19 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศาและ ความกว้าง 190 ไมโครเมตร (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บน หน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม	35
รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว (ก) การเตรียมแม่พิมพ์ซิลิกอน (ข) การ เทโพลีเมอร์ลงบนแบบแม่พิมพ์ (ค) ถอดแบบออกจากแม่พิมพ์ (ง) ต่อด้ายท่อทางเข้าและทางออก (จ) เข้าสู่การทำออกซิเจนพลาสมา และ (ฉ) ประกอบชิ้นงานเข้ากับกระจก	37
รูปที่ 4.2 ภาพตัวอย่างสารละลายที่ผสมกับสีผสมอาหารสีต่างๆ (ก) สีแดง (ข) สีชมพู (ค) ไม่ผสม สี (ง) สีเหลืองและ (จ) สีเขียว	38

รูปที่ 4.3 อุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคแบบขดเกลียว (ก) ส่วนท่อตรงบริเวณทางออก (ข) ท่อ บานบริเวณทางออกและ (ค) ส่วนของโค้งบริเวณท่อขดแบบเกลียว.....	39
รูปที่ 4.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	40
รูปที่ 4.5 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ก่อนทำการทดลอง (ก) นำอุปกรณ์ใส่ลงในน้ำปราศจาก ไอออน (ข) นำอุปกรณ์ใส่ในภาชนะปิด (ค) ต่ออุปกรณ์เข้ากับปั๊มสุญญากาศและ (ง) หลังจากนำ ชิ้นงานออกจากภาชนะปิด.....	41
รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ก) ภาพจากกล้อง (ข) ภาพที่ผ่านการตกแต่งภาพและนำมาใช้ ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	42
รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ก) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร (ข) อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่แบบไม่เรียงตัว (ค) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตรา การไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ง) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อ นาที (จ) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ (ฉ) อนุภาค ขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที	44
รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายจากการทดลองอนุภาค 15 ไมโครเมตร (ก) ที่ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ข) ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) ที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ (ง) ที่ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที	44
รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากการทดลองอนุภาค 20 ไมโครเมตร (ก) ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อ นาที (ข) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาทีและ (ง) ที่อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที	45
รูปที่ 4.10 การไหลของอนุภาคแบบผสมที่มีขนาด 10 และ 15 ไมโครเมตร (ก) ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ข) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อ นาที และ(ง) อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที	46
รูปที่ 4.11 การไหลของอนุภาคแบบผสมที่มีขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการ ไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) แสดงการเคลื่อนที่ของอนุภาคเป็นกลุ่มและ (ข) การเคลื่อนที่ของ อนุภาคสู่ช่องทางออกที่ 2 กับ 3.....	47
รูปที่ 4.12 ภาพการไหลของเซลล์เม็ดเลือดขาว (ก) ภาพเซลล์เม็ดเลือดขาวขนาด 7-12 ไมโครเมตร และเซลล์เม็ดเลือดแดงขนาดประมาณ 8 ไมโครเมตร (ข) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และ(ค) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที.....	48

รูปที่ 4.13 ภาพการไหลของเซลล์มะเร็ง(ก) ภาพเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10-12 ไมโครเมตร (ข)อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และ(ค)อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที.....	48
รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะของแนวทางการไหลของอนุภาคที่อัตราการไหลต่างๆของอนุภาคแบบเดี่ยวและผสมขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร	49
รูปที่ 5.1 การจำลองการไหลเส้นสู่ช่องทางออก (ก) จำลองบริเวณที่ตรงไปสู่ช่องทางออก (ข) แสดงบริเวณที่ตรง และ(ค) แสดงบริเวณที่ทางออก.....	53
รูปที่ 5.2 ผลการจำลองการไหลสู่ช่องทางออกต่างๆของอนุภาคขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์.....	53
รูปที่ 5.3 ผลการเปรียบเทียบการนับอนุภาค (ก) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 ไมโครเมตร (ข) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตร (ค) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตรและ (ง) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 20 ไมโครเมตร	55
รูปที่ 5.4 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร.....	56
รูปที่ 5.5 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร.....	56
รูปที่ 5.6 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร.....	57
รูปที่ 5.7 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตร.....	57
รูปที่ 5.8 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร.....	58
รูปที่ 5.9 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร.....	59
รูปที่ 5.10 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร	59
รูปที่ 5.11 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตร	60
รูปที่ 6.1 ภาพถ่ายเซลล์จริงที่ใช้ในการทดลอง (ก) กลุ่มเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัขขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตรและ (ข) กลุ่มเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัขขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร.....	63
รูปที่ 6.2 ผลการนับอนุภาคและเซลล์ที่ใช้อ้างอิง (ก) เซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร (ข) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 ไมโครเมตร (ค) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตร (ง) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตร (จ) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 20 ไมโครเมตรและ (ฉ) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 25 ไมโครเมตร.....	64

รูปที่ 6.3 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตรชุดที่หนึ่ง ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	66
รูปที่ 6.4 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่หนึ่ง.....	67
รูปที่ 6.5 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่หนึ่ง.....	68
รูปที่ 6.6 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 15-25 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่หนึ่ง.....	68
รูปที่ 6.7 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตรชุดที่สอง ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	71
รูปที่ 6.8 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่สอง.....	72
รูปที่ 6.9 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่สอง.....	72
รูปที่ 6.10 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 15 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่สอง.....	73
รูปที่ ก1 เครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) App.....	80
รูปที่ ก2 เครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) เอาไว้ด้านหลัง.....	80
รูปที่ ข1 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	82
รูปที่ ข2 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	84

รูปที่ ข3 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่อง ทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	85
รูปที่ ค1 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออก หมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	90
รูปที่ ค2 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่องทางออก หมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	92
รูปที่ ง1 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออก หมายเลข (ก) ช่องที่ 7 (ข) ช่องที่ 8 (ค) ช่องที่ 9 และ (ง) ช่องที่ 10.....	97
รูปที่ ง2 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่องทางออก หมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10.....	99
รูปที่ จ1 ภาพแสดงการกำหนดหมวดต่างๆของโปรแกรม.....	103
รูปที่ จ2 ภาพแสดงการกำหนดของ element.....	104
รูปที่ จ3 ผลการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (ก), (ข) ความเร็ว (Velocity), (ค) รูปแบบการไหล (Streamline) และ (ง) การจำลองการเคลื่อนที่ของอนุภาค (Particle Tracing).....	105
รูปที่ ฉ1 ภาพประกอบแสดงความสัมพันธ์ของสมการ Shear stress.....	106

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในระยะเวลา 13 ปีที่ผ่านมา ได้มีการจัดอันดับกลุ่มโรคไม่ติดต่อที่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของคนไทย ซึ่งโรคมะเร็งนั้นเป็นอันดับหนึ่งที่ทำให้คนไทยเสียชีวิตมากที่สุดต่อเนื่องตั้งแต่ปี พุทธศักราช 2543 เป็นต้นมา จากข้อมูลล่าสุดของกระทรวงสาธารณสุข (สธ.) พบว่าคนไทยป่วยเป็นมะเร็งรุนแรงมากขึ้น และมีคนไทยเสียชีวิตกว่า 60,000 คนต่อปี ส่วนทั่วโลกมีรายงานการเสียชีวิตปีละ 8 ล้านคน ทำให้สาเหตุการเสียชีวิตของคนไทยประจำปี 2554 อันดับหนึ่งคือโรคมะเร็ง ในทางกลับกันการคิดค้นวิธีการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งนั้นยังไม่ได้พัฒนาเท่าที่ควร เนื่องจากอยู่ในช่วงของการศึกษาค้นคว้าแนวทางการรักษา

ด้วยเหตุนี้คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้เห็นถึงความสำคัญของโรคมะเร็ง เนื่องจากโรคมะเร็งนั้นสามารถเกิดได้ทั้งภายในคนและสัตว์ ในปัจจุบันเรายังไม่ทราบถึงที่มาของเซลล์มะเร็งได้อย่างละเอียด จึงมีความสนใจเริ่มนำเซลล์มะเร็งในสัตว์มาศึกษาโดยที่เซลล์มะเร็งนั้นต้องถูกนำมาคัดแยกออกจากเซลล์อื่นๆให้เป็นเซลล์เดี่ยว (single cell) ก่อน จึงจะนำเซลล์นั้นไปเพาะเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมต่างๆ^[1] จนนำไปสู่การศึกษาหาวิธีการรักษา ซึ่งคณะวิศวกรรมศาสตร์ได้เข้าไปมีส่วนร่วมในงานวิจัยเพื่อคัดแยกเซลล์มะเร็งเบื้องต้นด้วยเครื่องมือการไหลในท่อขนาดเล็ก (Microfluidic device) ซึ่งในปัจจุบันนั้นมีความนิยมในงานวิจัยอื่นๆมากมาย

ในปัจจุบันการคัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคมีด้วยกันมากมายหลายวิธี ซึ่งสามารถจำแนกได้สองกลุ่มหลัก คือ กลุ่มแรกเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก^[2-4] จะอาศัยคุณสมบัติของการไหลภายในท่อขนาดเล็กที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ^[5, 6] เช่น การคัดแยกการไหลแบบเฮลเซอร์ การคัดแยกด้วย Sheath-Flow การคัดแยกด้วยเสาขนาดเล็กและการคัดแยกแบบทิศทางการไหลตั้งฉากกับท่อ เป็นต้น สำหรับกลุ่มที่สองเป็นเทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก โดยใช้แรงทางไฟฟ้าเพื่อใช้ในการคัดแยก^[7]

อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ต้องการคัดแยกเซลล์มะเร็งออกจากกันตามขนาดของเซลล์ ซึ่งเซลล์มะเร็งที่ถูกคัดแยกออกมาตามขนาดจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเซลล์ โดยมีเงื่อนไขในการศึกษาว่าจะต้องไม่มีแรงภายนอกมากระทำต่ออนุภาคตัวอย่างในระหว่างการคัด

แยก ซึ่งในกรณีของเซลล์มะเร็งหากมีแรงมากกระทำต่อเซลล์จะส่งผลทำให้คุณสมบัติทางชีววิทยาของเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ และทำให้การวิเคราะห์ผลทางชีวภาพของเซลล์เกิดความคลาดเคลื่อนได้ ด้วยเหตุผลนี้ผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้เทคนิคท่อรูปร่างขดเกลียว (Spiral Microchannels)^[8-12] ซึ่งมีจุดเด่นคือการคัดแยกเซลล์ด้วยขนาดและไม่มีแรงภายนอกมากกระทำกับเซลล์มะเร็ง ในระหว่างการแยกทำให้สมบัติของเซลล์มะเร็งจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นๆ นอกจากนี้ เทคนิคนี้ยังมีรูปร่างของระบบไม่ซับซ้อน และมีการทำงานที่รวดเร็ว (high throughput)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

การหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการแยกเซลล์มะเร็งโดยขนาดด้วยเทคนิคท่อขดแบบเกลียว พร้อมระบุประสิทธิภาพได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้เราต้องการคัดแยกเซลล์มะเร็งให้เป็นเซลล์เดี่ยวก่อน โดยเริ่มจากการทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร จากนั้นทดสอบกับเซลล์จริงคือเซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็ง โดยวัดสมรรถนะของอุปกรณ์จากการนับจำนวนเซลล์ที่บริเวณช่องทางออกในแต่ละช่อง

1.4 ระเบียบขั้นตอนของงานวิจัย

1. เริ่มต้นศึกษาทฤษฎีกระบวนการคัดแยกของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว จากนั้นออกแบบและสร้างชิ้นงานเพื่อใช้ในการทดลองเบื้องต้นโดยกำหนดขนาดความสูงของท่อให้ครอบคลุมกับขนาดเซลล์ที่ต้องการจะแยก
2. ทำการทดลองอุปกรณ์กับอนุภาคต่างๆ เพื่อหาอัตราการไหลที่ทำให้อนุภาคเกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวกันภายในท่อและบันทึกภาพการเคลื่อนที่ แล้วจะนำภาพการเคลื่อนที่ของอนุภาคไปวัดระยะห่างระหว่างผนังท่อด้านในกับเส้นทางการไหลของอนุภาค
3. นำข้อมูลที่ได้มาทำการจำลองการไหลภายในท่อ เพื่อใช้ในการออกแบบขนาดของมุมบานในท่อทางออกและจำนวนช่องทางออก
4. สุดท้ายจะออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่ได้จากการจำลอง มาทดลองกับคัดแยกเซลล์มะเร็ง พร้อมนับจำนวนเซลล์ที่ช่องทางออก เพื่อวัดประสิทธิภาพของอุปกรณ์

บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม

ในบทนี้จะกล่าวถึงวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ วิธีการคัดแยกอนุภาคที่ใช้ในปัจจุบัน การแบ่งวิธีการคัดแยกและการประยุกต์การใช้งานของอุปกรณ์ที่ขอขดเกลียวในกรณีต่างๆ

2.1 วิธีและขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเซลล์

การเพาะเลี้ยงเซลล์และเซลล์เนื้อเยื่อ เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์จากสิ่งมีชีวิตโดยทำการเพาะเลี้ยงแค่เฉพาะส่วน ซึ่งสามารถทำได้ทั้งเซลล์เนื้อเยื่อ เซลล์ของพืชและเซลล์ของสัตว์ ยกตัวอย่างเช่นมีการวิจัยการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่สามารถผลิตแอนติบอดี หรือสารสร้างภูมิคุ้มกัน เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรคต่างๆ ซึ่งการเพาะเลี้ยงนั้นสามารถแบ่งตามวิธีการเพาะเลี้ยงได้เป็น 3 ชนิด คือ 1. Monolayer cell culture คือเซลล์ที่เรียงตัวเกาะบนผิวภาชนะที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยง 2. Suspension cell คือเซลล์ที่ลอยตัวอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ และ 3. Microcarrier cell คือเซลล์ที่เรียงตัวเกาะติดอยู่บนผิวของเม็ดพลาสติกที่เป็น suspension อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งข้อดีของการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงคือสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมของการทดลองได้ตามที่ต้องการ เซลล์ที่ใช้มีคุณสมบัติเหมือนกัน

ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สามารถแบ่งตามรูปแบบของการเพาะเลี้ยงได้ทั้งหมด 3 รูปแบบคือ 1. การเพาะเลี้ยงจากเซลล์สิ่งมีชีวิตโดยตรง ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้เพื่อศึกษาอวัยวะภายในของเซลล์นั้นๆ 2. การเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ไม่สามารถแบ่งตัวได้ โดยเป็นเซลล์ที่ตัดแปลงจากสิ่งมีชีวิต จากนั้นนำเซลล์ที่ได้มาเพาะเลี้ยงต่ออีก 20-50 ครั้ง เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้หลายกรณี และ 3. การเพาะเลี้ยงเซลล์ที่สามารถแบ่งตัวได้ ซึ่งเซลล์ชนิดนี้สามารถแบ่งตัวได้ด้วยตัวเอง จึงสะดวกต่อการนำไปศึกษาวิจัยต่อในแต่ละรูปแบบกรณีและยังสามารถเลี้ยงเซลล์ต่อไปได้ แต่มีข้อเสียก็คือเซลล์มักจะมีการกลายพันธุ์ไปจากเซลล์ปกติหรือเซลล์ตั้งต้น ยกตัวอย่างเช่น เซลล์มะเร็ง เป็นต้น

2.2 การคัดแยกเซลล์ในวิธีต่างๆ

ปัจจุบันมีการพัฒนาอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคที่สามารถนำไปใช้ในการแยกเซลล์มากมายหลายวิธี ขึ้นอยู่กับทางเลือกไปใช้งานให้เหมาะสมกับงานมากที่สุด โดยจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

2.2.1 กลุ่มแรกเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้แรงภายนอกในการตัดแยก ^[2, 3]

เทคนิคนี้จะอาศัยคุณสมบัติของการไหลภายในท่อขนาดเล็กที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ เช่น การสร้างการเคลื่อนที่ออกด้านข้างด้วยอาเรียรีของเสาด้านเล็ก ^[3] ซึ่งพบว่าเสาด้านทรงกลมมีประสิทธิภาพดีที่สุด การตัดแยกด้วยไมโครฟิลเตอร์ การตัดแยกการไหลแบบเฮเลเซอร์ การตัดแยกด้วยแรงเฉือน และการตัดแยกแบบทิศทางการไหลตั้งฉากกับท่อ เป็นต้น

2.2.1.1 การตัดแยกด้วยวิธีเสาด้านเล็กที่มีรูปร่างต่างๆ ^[4]

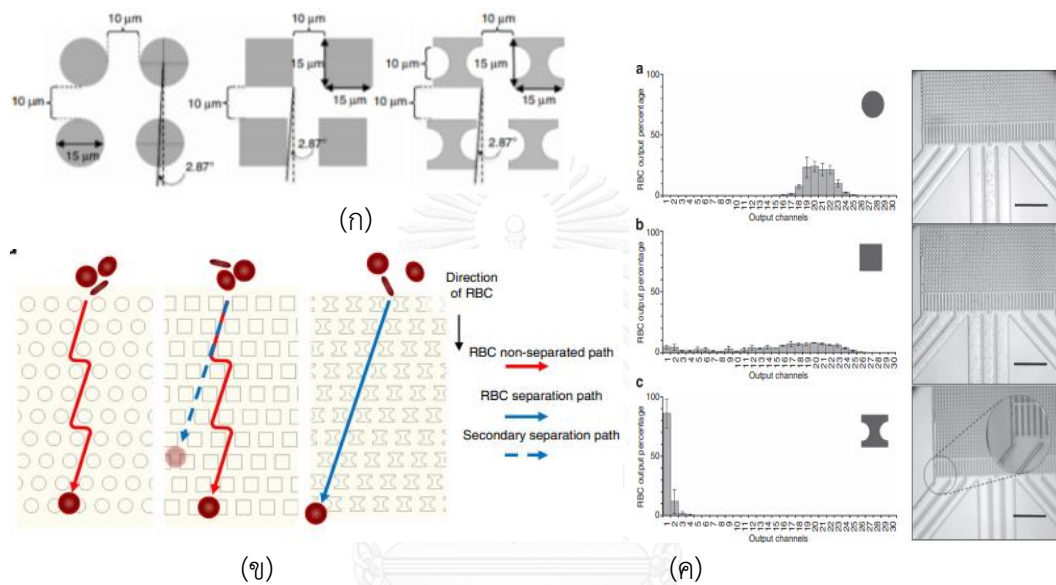
งานวิจัยนี้เป็นการตัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยหาวิธีที่ดีที่สุดของแบบเสารูปทรงทั้งหมด 3 แบบคือเสาด้านทรงกลม เสาด้านรูปสี่เหลี่ยม และเสาด้าน I-shaped การไหลภายในท่อเป็นแบบราบเรียบ ซึ่งได้นำทั้งสามแบบมาตัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 8 ไมโครเมตร หนาขนาด 2 ไมโครเมตร มีการออกแบบเสาด้านในแบบต่างๆ เพื่อให้อนุภาคไหลสู่ช่องทางออกที่ต้องการ ซึ่งขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่างเสาด้านจะทำให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคไปตามการไหลของของเหลว ผลการทดลองพบว่าเสาด้านทรงกลมและสี่เหลี่ยม มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่สามารถคาดการณ์ได้ เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างเป็นทรงกลมแบนเมื่อเคลื่อนที่ชนกับเสาด้านทรงกลมและสี่เหลี่ยมแล้วเกิดการเคลื่อนที่แบบไม่เป็นระเบียบ แต่สำหรับเสาด้าน I - shaped นั้นมีการทิศทางเคลื่อนที่ของอนุภาคได้อย่างแน่นอน เพราะเมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงเคลื่อนที่มาชนเสาด้านแล้วจะเคลื่อนที่ไปตามรูปร่างของเสาด้าน สุดท้ายทำให้การนับเซลล์เม็ดเลือดแดงหลังจากการตัดแยกเซลล์ที่ช่องทางออกของเสาด้าน I - shaped มีประสิทธิภาพสูงสุด ดังรูปที่ 2.1

2.2.1.2 การตัดแยกด้วยวิธีเชื่อมไมโครฟิลเตอร์ ^[3]

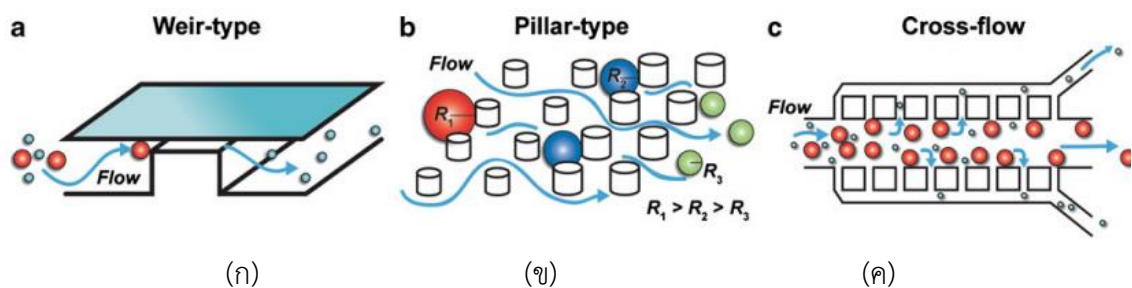
การตัดแยกอนุภาคด้วยขนาดที่แตกต่างกันอีกวิธีหนึ่ง หลักการทำงานอาศัยการไหลของของเหลวภายในท่อร่วมกับการคัดกรอง ซึ่งได้แบ่งเป็นสองประเภทคือ 1. รูปแบบการไหลตามแนวท่อ ใช้แยกขนาดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่ต้องการออก มีความนิยมแพร่หลายในการตัดแยกเซลล์มะเร็งหรือเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงเพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรค ซึ่งวิธีแบบเชื่อมไมโครฟิลเตอร์นั้นมีประสิทธิภาพไม่สูงมากในการตัดแยกและพบปัญหาการอุดตันภายในระบบอีกด้วย และ 2. รูปแบบการไหลตั้งฉากกับแนวการไหล การตัดแยกแบบนี้จะคล้ายกับแบบฟิลเตอร์ทั่วไป ซึ่งจะแตกต่างกันที่การออกแบบพยายามที่จะลดปัญหาการอุดตันของตัวกรอง ทำให้วิธีการตัดแยกแบบตั้งฉากไมโครฟิลเตอร์มีประสิทธิภาพสูงและได้รับความนิยมในการนำไปใช้งานกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ซับซ้อน มักถูกนำมาใช้แยกพลาสมาออกจากเลือด ซึ่งต้องทราบขนาดอนุภาคที่ต้องการจะแยกออกอย่างชัดเจน ซึ่งขนาดช่องว่างในการแยกมีขนาดใหญ่กว่าขนาดช่องวิกฤต เพื่อให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กไหลเข้าสู่ช่องทางด้านข้าง ส่วนขนาดอนุภาคใหญ่จะไหลเข้าสู่ช่องทางออกตรงกลาง แสดงรายละเอียดดังรูป 2.2

2.2.1.3 การคัดแยกด้วย sheath flow [2]

อุปกรณ์นี้ใช้ได้กับงานที่มีอัตราการไหลต่ำ และต้องออกแบบรูปร่างของท่อและการควบคุมทิศทางของไหลที่ทิศทางแตกต่างกัน จึงเกิดการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อทำให้เกิดการคัดแยกเซลล์เป้าหมายได้ การคัดแยกขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคเป็นสำคัญ ซึ่งจะแตกต่างจากวิธีการเรียงตัวแบบทั่วไป จะมีความเค้นกระทำกับอนุภาคโดยมีแรงมากกว่าวิธีแบบฟิวเตอร์ทั่วไป มีการใช้วิธีนี้ในการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงในงานวิจัยต่างๆ อีกด้วย



รูปที่ 2.1 การคัดแยกอนุภาคด้วยเสาขนาดเล็กของเสาทั้งสามแบบ (ก) ขนาดและรูปร่างของเสาขนาดเล็ก ประกอบด้วย เสาทรงกลม, เสาทรงสี่เหลี่ยมและเสาทรง I – shaped (ข) การเคลื่อนที่ของอนุภาคผ่านเสารูปทรงต่างๆ (ค) กราฟประสิทธิภาพการคัดแยกของเสาทรงต่างๆจากการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่บริเวณช่องทางออก^[4]



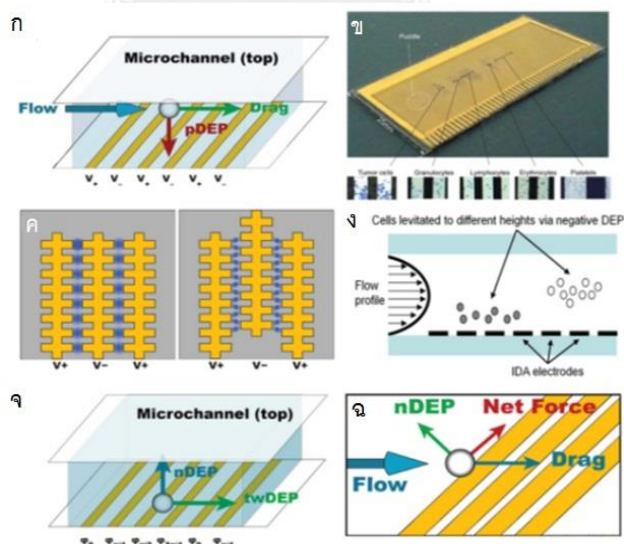
รูปที่ 2.2 การคัดแยกอนุภาคด้วยฟิวเตอร์แบบต่างๆ (ก) แบบเขื่อนไมโครฟิวเตอร์ (ข) แบบเสาขนาดเล็ก (ค) แบบการไหลตั้งฉากของไมโครฟิวเตอร์^[3]

2.2.2 กลุ่มที่สองเป็นเทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก

การคัดแยกสำหรับส่วนนี้ใช้คุณสมบัติทางไฟฟ้าในการกระตุ้นเซลล์ โดยแบ่งออกเป็นหลักการไดอิเล็กโตรโฟรีซิส (Dielectrophoresis) และการคัดแยกโดยใช้หลักการอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis) ซึ่งใช้สนามไฟฟ้าในการเคลื่อนย้ายอนุภาคที่มีขั้วทางไฟฟ้าภายในตัวเอง เทคนิคนี้เคยใช้ในการศึกษาระดับเซลล์แมมเบรน (Pratt et al., 2010) และเส้นเลือดฝอย เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การใช้สนามไฟฟ้าภายในตัวเองนั้นมีไม่มาก จึงทำให้ไม่สามารถแยกเซลล์ได้มากพอเมื่อนำเซลล์มาผสมกันหลายชนิด ทำให้วิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ค่อยได้รับความนิยมในการคัดแยกเซลล์

2.2.2.1 การคัดแยกอนุภาคด้วยไดอิเล็กโตรโฟรีซิส^[2]

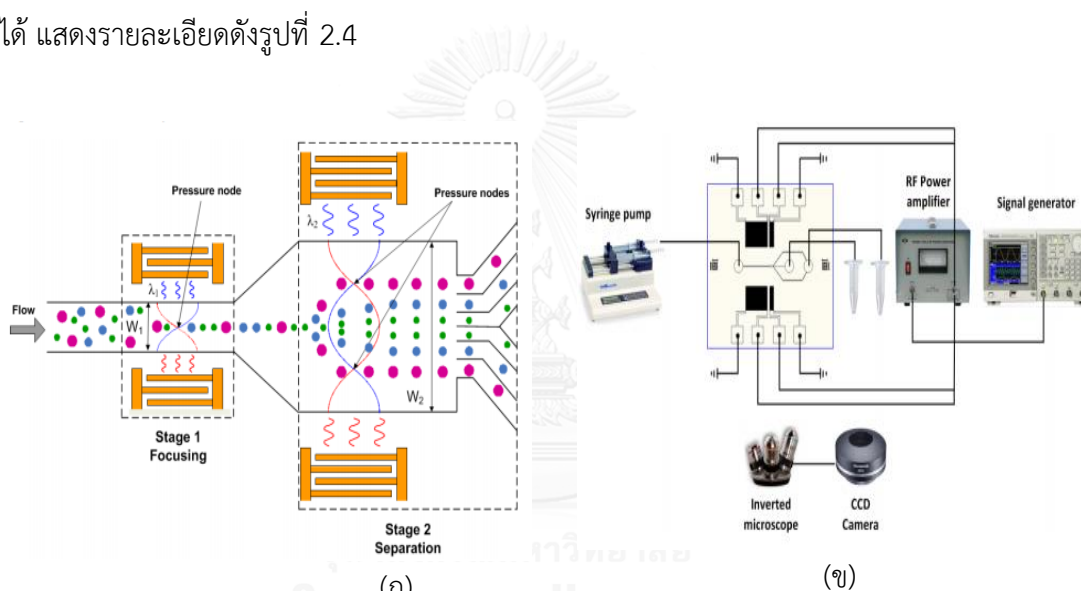
การคัดแยกวิธีนี้เป็นการเคลื่อนย้ายอนุภาคที่มีคุณสมบัติทางไฟฟ้าเป็นกลาง (มีทั้งประจุบวกและประจุลบเท่ากัน) ซึ่งใช้ระดับสนามไฟฟ้าแบบไม่สม่ำเสมอทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูง โดยสามารถใช้ชนิดของสนามไฟฟ้าได้ทั้งกระแสตรงและกระแสสลับ แรงจากไดอิเล็กโตรโฟรีซิสเป็นฟังก์ชันของคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์เช่นเดียวกับขนาดเซลล์ คุณสมบัติทางไฟฟ้าของของเหลว ขนาดของอิเล็กโทรด และความถี่ที่ใช้งาน ตัวแปรเหล่านี้ทำให้ความสามารถในการคัดแยกมีประสิทธิภาพสูงเช่นกัน ซึ่งเราต้องศึกษาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์ที่ใช้ในการคัดแยกและควบคุมความเข้มข้นของสารละลาย เพื่อให้การคัดแยกมีประสิทธิภาพสูงสุด วิธีนี้ได้รับความนิยมในการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์มะเร็งแสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 เทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก (ก) การคัดแยกด้วยขั้วไฟฟ้า, (ข) การคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดด้วยแผ่นทำสเมียร์, (ค) การคัดแยกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าอินเทอร์ดิเจิต, (ง) การคัดแยกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าร่วมกับไดอิเล็กโตรโฟรีซิส และ(จ) การคัดแยกโดยไดอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบคลื่นเดินทาง^[2]

2.2.2.2 การคัดแยกอนุภาคด้วยการใช้คลื่นเสียง ^[7]

การแยกด้วยคลื่นเสียงจะอาศัยหลักการการปล่อยคลื่นเสียงออกมาภายในช่องทางการไหลของอนุภาคทั้งด้านบนและด้านล่าง ซึ่งจะเกิดคลื่นเสียงรบกวนบริเวณภายในทำให้เกิดแรงดันโหนด (Pressure Nodes) คลื่นเสียงส่งผลให้เกิดความแปรปรวนทางความดันภายในบริเวณกลางท่อ จนทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาคขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ได้แบ่งช่วงการใช้คลื่นเสียงออกเป็นสองช่วง ซึ่งบริเวณท่อทางเข้ามีความกว้าง 150 ไมโครเมตร โดยช่วงความยาวคลื่นเพียงครึ่งเดียว เพื่อใช้ในการเรียงตัวของอนุภาคให้เป็นระเบียบ และในส่วนที่สองเป็นการแยกอนุภาคขนาดใหญ่ โดยจะปล่อยคลื่นเสียงภายในท่อจนมีการเปลี่ยนแปลงความดัน อนุภาคขนาดใหญ่เกิดการเคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณความดันโหนด ซึ่งเป็นจุดตัดของคลื่นเสียงทั้งสอง จึงทำให้อนุภาคที่มีขนาดต่างกันเคลื่อนที่แยกออกจากกันได้ แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 การคัดแยกอนุภาคด้วยการใช้คลื่นเสียง (ก) การเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในอุปกรณ์ และ(ข) แผนภาพการติดตั้งการทดลอง ^[7]

2.3 หลักการทำงานของท่อชนิดแบบเกลียว

ในส่วนนี้จะอธิบายถึงหลักการทำงาน ซึ่งอุปกรณ์ระบบท่อชนิดเกลียวนั้นเป็นการไหลแบบราบเรียบและสามารถแยกขนาดของอนุภาคโดยอาศัยสมดุลแรงสองแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคเมื่อของไหลไหลผ่านท่อที่มีความโค้ง โดยแรงดังกล่าวได้แก่ แรงของดิน (Dean drag force) และแรงยก (Lift force) เมื่อของไหลเข้าสู่ท่อโค้งจะมีแรงเหวี่ยงทำให้ของไหลทางด้านผนังท่อด้านนอกของส่วนโค้งมีความเร็วสูงสุด ทำให้ของไหลนั้นมีการเคลื่อนที่หมุนวนบนพื้นที่หน้าตัดท่อและแบ่งเป็นสองส่วนคือการหมุนวนเข็มนาฬิกาในบริเวณด้านบนและการเคลื่อนที่หมุนวนตามเข็มนาฬิกาในบริเวณด้านล่างของท่อ ดังรูปที่ 2.5k ซึ่งการไหลหมุนวนนี้เรียกว่า Dean vortices

แรงของดิน (Dean drag force) คือ แรงพาอนุภาคเคลื่อนที่ไปพร้อมกับ Dean vortices แสดงทิศทางของแรงดังรูปที่ 2.5x สามารถหาขนาดจากสมการที่ 1 สำหรับแรงยก (Lift force) จะเกิดขึ้นภายในท่อกระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่เข้าสู่นิ่ง ซึ่งเกิดจากการที่มีความเร็วของของไหลไม่สม่ำเสมอ แสดงทิศทางของแรงดังรูปที่ 1.1x สามารถหาขนาดของแรงได้ดังสมการที่ 2

$$F_D = 3\pi\mu U_{Dean} a_p \quad (1)$$

โดยที่ F_D คือ แรงดิน (N)

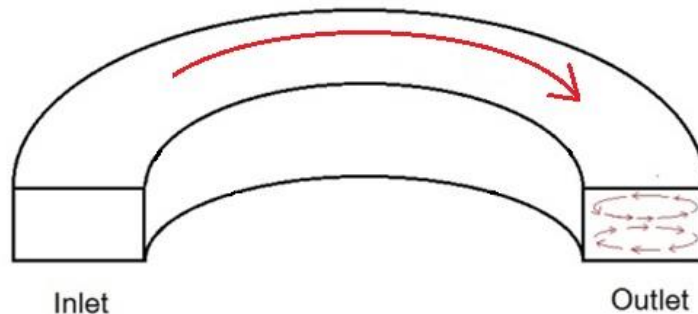
μ คือ ค่าความหนืดของของไหล (Ns/m^2)

U_{Dean} คือ ความเร็วสูงสุดของของไหล (m/s); $U_{Dean} = 1.8 \times 10^{-4} De^{1.63}$

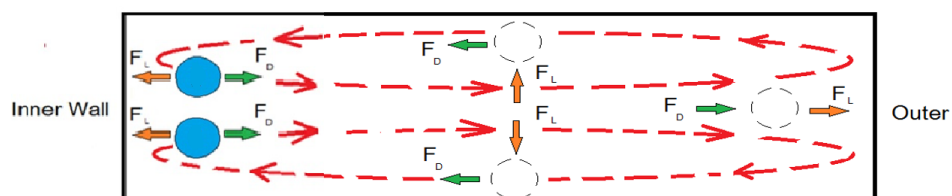
a_p คือ ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง (ไมโครเมตร)

$$F_L = \rho G^2 C_L a_p^4 \quad (2)$$

เมื่อเกิดการไหลหมุนวนภายในท่อ (Dean vortices) แล้ว จะมีแรงดินกระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่ไปพร้อมกับของไหล (ลูกศรสีเขียว) ซึ่งมีทิศทางตามการไหลหมุนวนภายในท่อ และสำหรับแรงยกจะกระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่เข้าสู่ผนังท่อ (ลูกศรสีส้ม)



(ก)



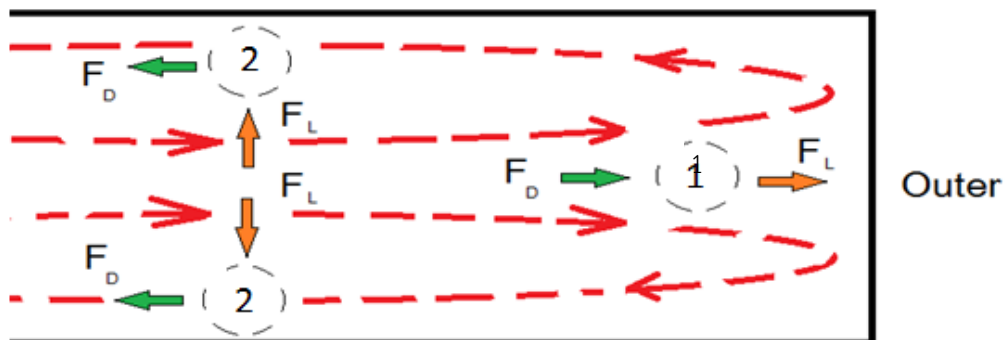
(ข)

รูปที่ 2.5 การเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในท่อ (ก) ส่วนของท่อโค้ง (ข) ภาพขยายของการเกิดการไหลหมุนวนและตำแหน่งสมดุลของอนุภาค

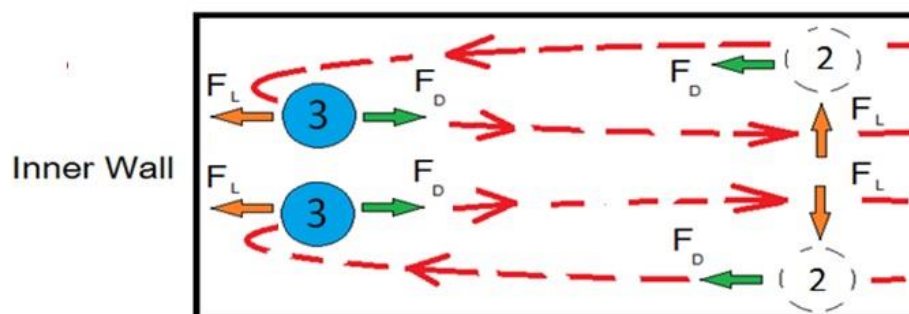
โดยเริ่มพิจารณาจากตำแหน่งที่ 1 จากรูปที่ 2.6ก อนุภาคในตำแหน่งที่ 1 มีแรงดันกับแรงยกกระทำในทิศทางเสริมแรงกัน ส่งผลให้อนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่ผนังท่อด้านนอก จากนั้นอนุภาคเคลื่อนที่แยกออกเป็นสองกลุ่มคือทิศทางทวนเข็มนาฬิกาและทิศทางตามเข็มนาฬิกา ดังตำแหน่งที่ 2 ในรูปที่ 2.6 โดยในตำแหน่งที่สองนี้มีแรงดันกระทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปสู่ผนังท่อด้านในและมีแรงยกผลักให้อนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่ผนังท่อด้านบนและด้านล่าง ซึ่งทิศทางของแรงทั้งสองนั้นทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ต่อไปเข้าสู่ผนังท่อด้านใน จากนั้นเมื่ออนุภาคเข้าสู่ตำแหน่งสมดุลของแรง ซึ่งในกรณีอยู่ที่บริเวณผนังท่อด้านใน เนื่องจากแรงดันและแรงยกมีทิศทางของแรงหักล้างกัน จึงทำให้อนุภาคเกิดการเรียงตัวภายในท่อ ดังตำแหน่งที่ 3 ในรูปที่ 2.6ข.

สำหรับแรงดันจะเป็นฟังก์ชันของค่าดีน (Dean number) ซึ่งสามารถหาขนาดของค่าดีนได้จากสมการที่ 3 โดยในการออกแบบอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว (Spiral Microchannels) ให้มีประสิทธิภาพในการคัดแยกที่ดี จำเป็นต้องมีขนาดของค่าดีนที่สูงโดยสามารถหาค่าได้ดังนี้

$$De = Re_c \sqrt{D_h / 2R} \quad (3)$$



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.6 การเคลื่อนที่ของอนุภาค (ก) ในตำแหน่งที่มีทิศทางของแรงเสริมกันและ(ข) ในตำแหน่งที่มีทิศทางของแรงหักล้างกัน

การเพิ่มขนาดของค่าดินประกอบด้วยหลายตัวแปรเริ่มจากค่า Re_c คือค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของของไหลภายในท่อ ซึ่งมีค่าเท่ากับ $\rho U_{\max} D_h / \mu$ ค่า D_h คือค่า hydraulic diameter หาค่าได้จากความสูง (Height) และความกว้าง (Width) ของท่อ $D_h = (2 \times h \times w) / (h + w)$ และค่า R คือค่าเฉลี่ยของรัศมีความโค้งของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว ซึ่งในตัวแปรทั้งหมดนี้มีความสำคัญให้เกิดการไหลหมุนวนของดิน หากการออกแบบทำให้ค่าขนาดของค่าดินสูงจะทำให้การไหลหมุนวนของดินมีความแข็งแรงด้วยเช่นกัน ซึ่งถ้าหากอุปกรณ์มีค่ารัศมีความโค้งแตกต่างกันก็จะทำให้ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคแตกต่างกันด้วย

นอกจากนั้นอนุภาคขนาดต่างกันจะมีตำแหน่งสมดุลภายในท่อต่างกันด้วย เนื่องจากขนาดสมดุลแรงดันกับแรงยกที่ไม่เท่ากันในแต่ละขนาดของอนุภาค จากการพิจารณาตัวแปรที่สมการที่ 1 และ 2 มีตัวแปรร่วมกันคือเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาค ซึ่งเมื่อนำตัวแปรมาเปรียบเทียบกับจึงอธิบายได้ว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคมีผลต่อขนาดของแรงของดินและแรงยก จึงทำให้จุดสมดุลแรงของขนาดต่างกันมีขนาดของแรงไม่เท่ากันอีกด้วย

จากสมการและความสัมพันธ์ที่ได้กล่าวมานั้นทำให้มีการออกแบบการคัดแยกอนุภาคด้วยท่อรูปร่างขดเกลียวในกรณีต่างๆมากมายซึ่งจะอธิบายรายละเอียดในหัวข้อถัดไป^[5-12] และอัตราส่วนของขนาดอนุภาคต่อความสูงของท่อควรมีค่ามากกว่า 0.07 ($a_p / D_h \geq 0.07$) จึงจะทำให้เกิดความสมดุลของอนุภาคหรือเซลล์ได้

2.4 เทคนิคท่อขดเกลียวและการใช้งานแบบต่างๆ

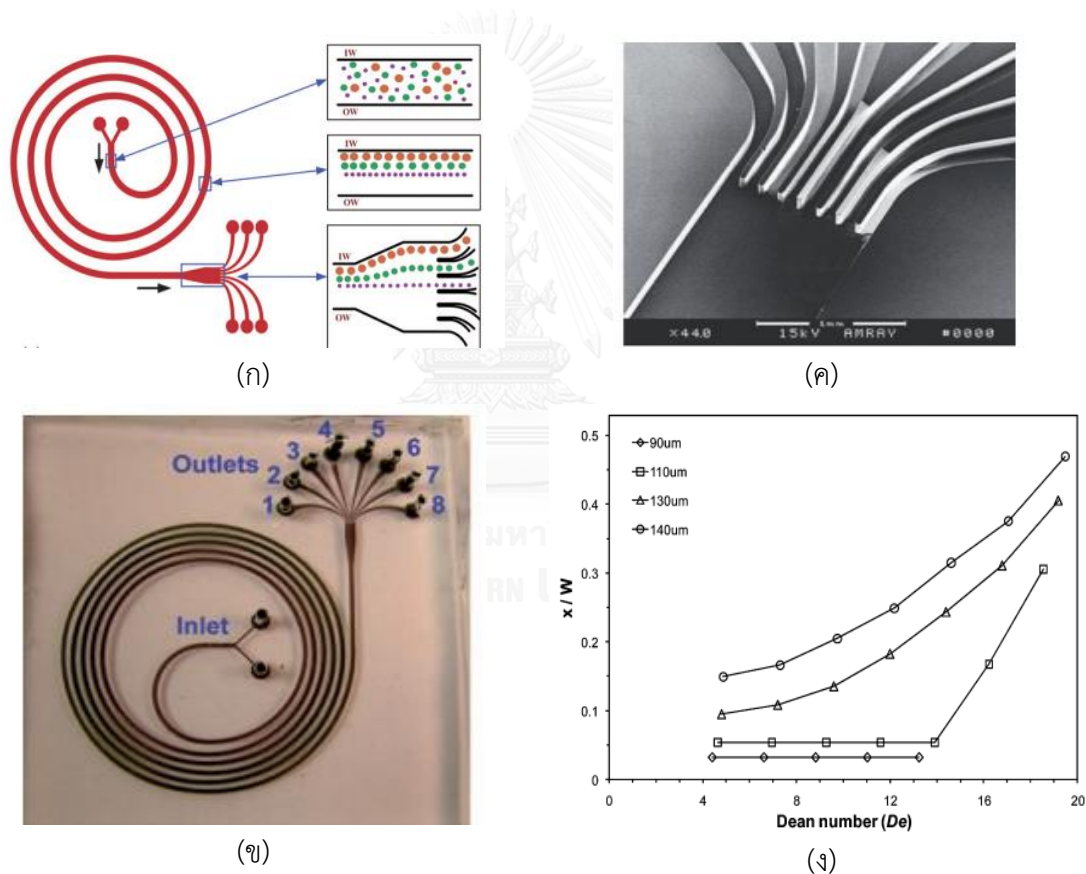
ในบทนี้จะกล่าวถึงงานวิจัยที่สำคัญที่มีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว

2.4.1 การคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ด้วยการกำหนดความสูงของท่อ^[9]

ในงานวิจัยนี้ต้องการจะหาความสัมพันธ์ขนาดอนุภาคกับความสูงของท่อ ซึ่งเป็นงานวิจัยแรกๆที่เริ่มใช้งานการคัดแยกอนุภาคด้วยท่อของเกลียวในงานวิจัยรูปแบบต่างๆ และเพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของอัตราส่วนดังกล่าวลักษณะของท่อขดเกลียวแสดงดังรูปที่ 2.7 เพื่อยืนยันอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคต่อด้วยความสูงของท่อการไหลหรือ (a_p/H) โดยมีการสร้างอุปกรณ์ที่มีความสูงของผนังท่อตั้งแต่ 90 – 140 ไมโครเมตร ของอนุภาคขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลต่างๆ ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนนั้นของควรมากกว่า 0.07 เป็นต้นไปจึงจะทำให้อุปกรณ์คัดแยกอนุภาคได้

2.4.2 การคัดแยกเม็ดพลาสติกขนาด 40 และ 60 ไมโครเมตร ^[10]

ในงานวิจัยนี้ท่อขดรูปเกลียวนั้นมีจำนวน 5 ขด ท่อการไหลมีความกว้าง 500 ไมโครเมตร ความสูง 220 ไมโครเมตร กำหนดท่อทางเข้าจำนวน 1 ท่อ และท่อทางออกจำนวน 8 ท่อ ดังรูปที่ 2.8 ใช้ในการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดโพลีสไตรีนขนาด 40 และ 60 ไมโครเมตร โดยอิงขนาดของอนุภาคที่ใช้การทดลองที่มีขนาดแตกต่างกันมากก็จะพบว่าแนวทางการไหลภายในท่อก็จะยังมีระยะห่างออกจากกันอย่างชัดเจนเช่นกัน ผลการทดลองชี้ว่ามีประสิทธิภาพในการคัดแยกดีที่สุดในอัตราการใช้การไหลที่ 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยเม็ดพลาสติกขนาด 60 ไมโครเมตรจะไหลเข้าช่องทางออกที่ 1 และเม็ดพลาสติกขนาด 40 ไมโครเมตรไหลเข้าช่องทางออกที่ 3 แสดงดังรูปที่ 2.9 ซึ่งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคนั้นต้องมีความสัมพันธ์กับความสูงของช่องทางไหลด้วยเช่นกัน



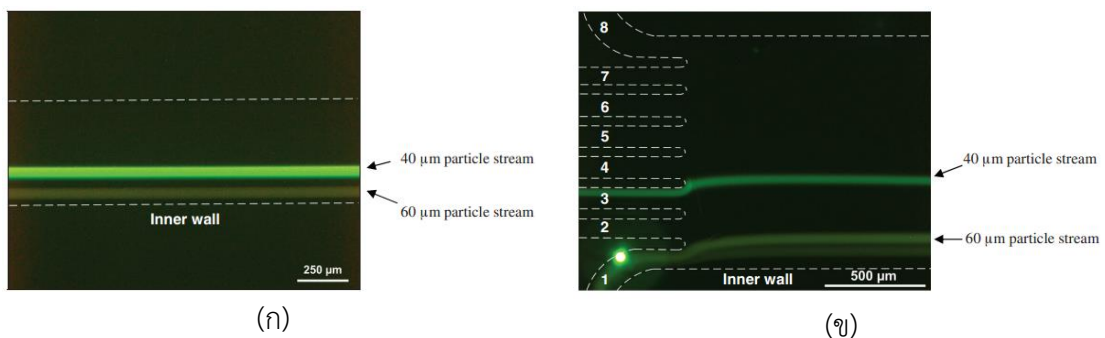
รูปที่ 2.7 อุปกรณ์การคัดแยกด้วยเทคนิคท่อขดรูปเกลียว (ก) ระยะการไหลของอนุภาคขนาดต่างๆภายในท่อ (ข) อุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว (ค) บริเวณทางออกในแต่ละช่อง (ง) ผลการทดลองในแต่ละความสูงต่างๆของท่อซึ่งมีผลทำให้ระยะที่อนุภาคโฟกัสมีตำแหน่งจากผนังท่อแตกต่างกันที่อัตราการไหลต่างๆ Kuntaegowdanahalli, S.S., et al. ^[9]

2.4.3 การคัดแยกด้วยท่อขดเกลียวพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมคางหมู ^[14]

งานวิจัยนี้เป็นการแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง ด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวในการศึกษานี้พบว่า พื้นที่หน้าตัดท่อเป็นสี่เหลี่ยมคางหมู ^[13-15] ส่งผลกระทบต่อขนาดของอนุภาคและอัตราการไหลภายในท่อมากกว่าขนาดสี่เหลี่ยมผืนผ้าแบบปกติ ซึ่งเกิดจากความต่างของความสูงผนังท่อด้านในและด้านนอก และอัตราส่วนระหว่างความสูงผนังท่อด้านนอกกับผนังท่อด้านในควรมีค่าไม่เกิน 1.5 ในงานวิจัยนี้มีความสูงผนังท่อด้านในกับด้านนอกเท่ากับ 70 และ 100 ไมโครเมตร จึงจะทำให้การคัดแยกของอนุภาคมีประสิทธิภาพที่ดี โดยขนาดของท่อขดแบบเกลียวนี้มีความกว้าง 500 ไมโครเมตร ความสูง 70 ไมโครเมตร ประกอบด้วยทางเข้า 2 ช่องทาง และทางออก 2 ช่องทาง แสดงดังรูปที่ 2.10 อนุภาคที่ใช้ในการคัดแยกประกอบด้วย เซลล์เม็ดเลือดแดงขนาด 6 ไมโครเมตรและเซลล์เม็ดเลือดขาวขนาด 10 ไมโครเมตร ซึ่งอัตราส่วนของขนาดของเซลล์กับความสูงของท่อที่เหมาะสมคือ $a_p/D_h > 0.07$ ทำให้การแยกเซลล์ที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนั้นยังมีการเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้ากับพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมคางหมู โดยรูปที่ 2.11กและข แสดงภาพของพื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าและภาพถ่ายมุมสูงของท่อ ซึ่งท่อมี



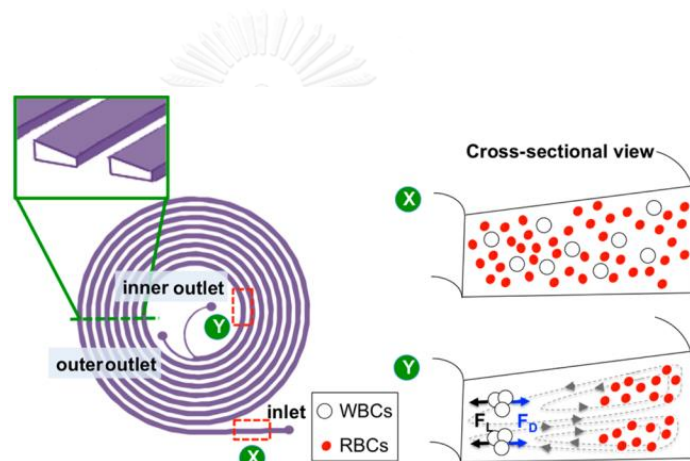
รูปที่ 2.8 อุปกรณ์การคัดแยกด้วยเทคนิคท่อขดรูปเกลียว El Hasni, A., et al. ^[10]



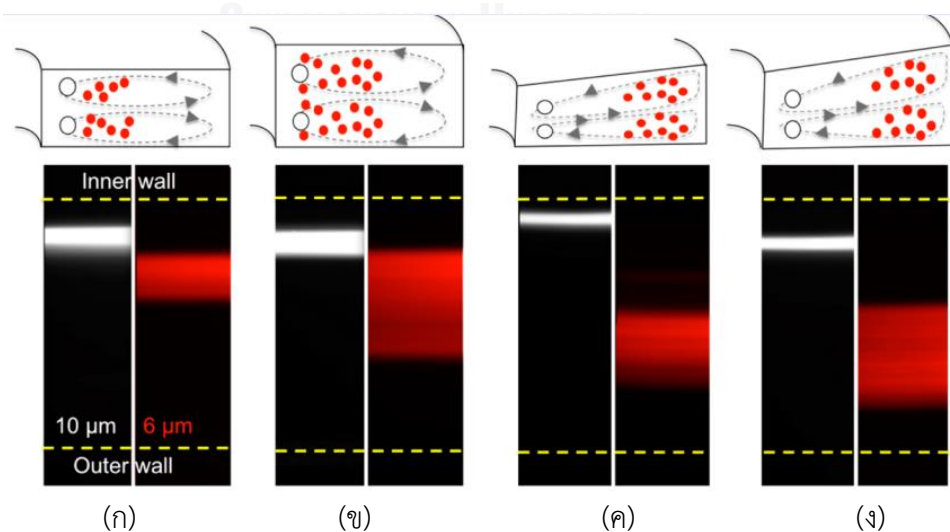
รูปที่ 2.9 แนวเส้นทางการไหลของอนุภาคขนาด 40 และ 60 ไมโครเมตร (ก) บริเวณท่อตรง (ข) บริเวณท่อทางออก El Hasni, A., et al. ^[10]

ความสูง 90 และ 120 ไมโครเมตร (ตามลำดับ) สามารถเห็นการเคลื่อนที่เรียงตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างชัดเจน แต่สำหรับเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้นมีการเคลื่อนที่เป็นกลุ่ม ซึ่งระยะห่างของแนวการเคลื่อนที่ทั้งสองนั้นมีระยะห่างกันไม่มาก

สำหรับพื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมคางหมูแสดงดังรูปที่ 2.11ค และง แสดงภาพพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมคางหมูและภาพถ่ายมุมสูงของท่อ มีความสูงของท่อด้านในเท่ากับ 70 และ 100 ไมโครเมตร มีความสูงของผนังท่อด้านนอกเท่ากับ 100 และ 120 ไมโครเมตร (ตามลำดับ) ซึ่งสามารถเห็นแนวการไหลของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างชัดเจนที่ตำแหน่งสมดุและ การเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาวมีระยะต่างกันอย่างชัดเจน สุดท้ายจึงสรุปได้ว่าอุปกรณ์ท่อขดเกลียวแบบพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมคางหมูมีประสิทธิภาพการคัดแยกของอนุภาคได้ดีกว่าพื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้า^[15]



รูปที่ 2.10 พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมคางหมูของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว Wu, L., et al.^[14]

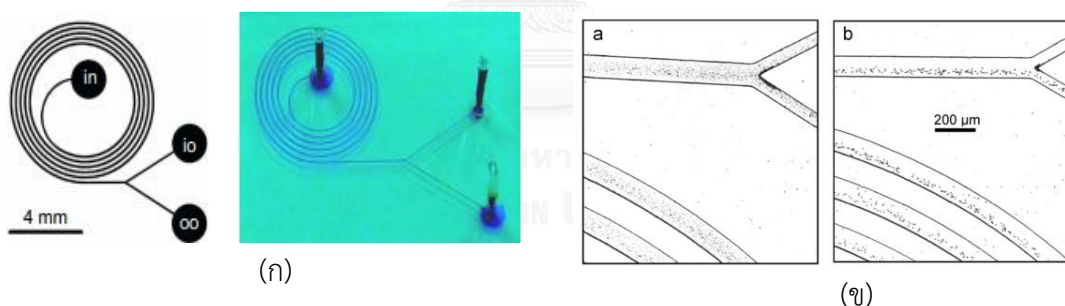


รูปที่ 2.11 พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าและคางหมูของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว

Wu, L., et al.^[14]

2.5.4 การคัดแยกแม่เหล็กไมโครสเฟียร์ด้วยท่อขดเกลียว^[12]

ในงานวิจัยนี้ได้มีการประยุกต์ใช้ท่อขดแบบเกลียวในการคัดแยกอนุภาคแม่เหล็กไมโครสเฟียร์ (Magnetic microsphere) ในการคัดแยกขึ้นอยู่กับความต่อเนื่องในการไหลของอนุภาคเพื่อให้อนุภาคเข้าสู่สมดุลแรงได้มีประสิทธิภาพ ความหนาแน่นของแม่เหล็กอยู่ในช่วง 1.5 - 2.5 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ขนาดที่ใช้ในการทดลองนั้นอยู่ในช่วง 1-15 ไมโครเมตร อุปกรณ์จะประกอบด้วยท่อทางเข้ามีหนึ่งช่องและท่อทางออกมีสองช่องทางออก ความสูงของท่อ 60 ไมโครเมตร ความยาวของท่ออยู่ในช่วง 70 - 180 ไมโครเมตรและความกว้างของท่อ 75 - 100 ไมโครเมตร การทดลองครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบหาอัตราการไหลภายในท่อที่เหมาะสมในแต่ละขนาดอนุภาค ตัวอย่างเช่น การทดลองขนาด 10 ไมโครเมตร พบว่าอัตราการไหลที่สามารถคัดแยกอนุภาคได้คือ 50 ไมโครลิตรต่อนาที แสดงดังรูปที่ 2.12 ข การคัดแยกอนุภาคขนาด 2 กับ 12 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลตั้งแต่ 5 - 60 ไมโครลิตรต่อนาที จะพบว่าสามารถแยกอนุภาคขนาดขนาด 12 ไมโครเมตร ได้ที่อัตราการไหล 5 - 20 ไมโครลิตรต่อนาที สำหรับขนาด 2 ไมโครเมตร นั้นที่อัตราการไหล 60 ไมโครลิตรต่อนาที มีประสิทธิภาพสูงสุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองสำหรับขนาด 5 ไมโครเมตรนั้นที่อัตราการไหลตั้งแต่ 5 - 60 ไมโครลิตรต่อนาที มีประสิทธิภาพประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 2.12 การคัดแยกอนุภาคแม่เหล็กไมโครสเฟียร์ (ก) อุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวใช้แยกอนุภาคและ (ข) การคัดแยกอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร แยกได้ที่อัตราการไหล 50 ไมโครลิตรต่อนาที Dutz, S., et al.^[12]

จากการศึกษาบทความเกี่ยวกับการคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.1 ซึ่งในงานส่วนใหญ่จะใช้ท่อขดแบบเกลียวที่มีหน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้าและใช้อัตราการไหลประมาณ 1 – 3 mL/min ในการคัดแยกอนุภาคขนาด 5 – 20 μm

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบวิธีการคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว

Author	A. El Hasni, K. Göbbels, A. L. Thiebes and P. Bräunig	Lidan Wu, Guofeng Guan, Han Wei Hou, Ali Asgar. S. Bhagat and Jongyoon Han	Silvio Dutz, M.E. Hayden, Allison Schaap, Boris Stoeber and Urs O. H ¨afeli	Sathyakumar S. Kuntaegowdanahalli , Ali Asgar S. Bhagat, Girish Kumarb and lan Papautsky
Years	2011	2012	2012	2009
Number of Outlet Channels	8	2	2	8
Type of particle	polystyrene	RBC, WBC (MNLs & PMNs)	magnetic microspheres	polystyrene
Size (μm)	40, 60 μm	6-8 μm , 7-10 μm , 10-12 μm	2, 12 μm	10 ,15, 20 μm
Flow rate	1-3 mL/min	0.5-4 mL/min	5-60 $\mu\text{L}/\text{min}$	0.5-3 mL/min
Efficiency	-	80%	90%	90%
Name	Focusing and Sorting of Particles in Spiral Microfluidic	Separation of Leukocytes from Blood Using Spiral Channel Trapezoid Cross-Section	A microfluidic spiral for size-dependent fractionation of magnetic microspheres	Inertial microfluidics for continuous particle separation in spiral
Cross section (μm)	500 x 200 μm	-	100 x 60 μm , 180 x 70 μm	500 x 130 μm
Hydraulic diameter ; Dh	306	-	75 – 100	206
Re _c	46.3 – 138.9	-	1 – 16.67	47.26, 94.51, 141.77
radius of curvature ; r (m)	-	-	0.03, 0.06	0.01
Dean number	-	-	0.35 – 9.13	4.8, 9.6, 14.4
a_p/D_h	0.18, 0.27	-	0.03, 0.12	0.04, 0.08, 0.12

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบวิธีการคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียว (ต่อ)

Author	Han Wei Hou, Majid Ebrahimi Warkiani, Bee Luan Khoo, Zi Rui Li, Ross A. Soo	Ali Asgar S. Bhagat, Sathyakumar S. Kuntaegowdana hal	Joseph M. Martel & Mehmet Toner	Guofeng Guan, Lidan Wu, Ali Asgar S. Bhagat and Zirui Li	Jian Zhou and Ian Papautsky
Years	2012	2008	2013	2012	2013
Number of Outlet Channels	2	2	1	1	1
Type of particle	CTCs, RBC, leukocytes	polystyrene	polystyrene	polystyrene	polystyrene
Size (μm)	10–20 μm , 8 μm , 7-12 μm	7.32, 1.9	4.4, 9.9, 15	5.78, 9.77, 15.5, 26.25	7.32, 10, 15.5, 20
Flow rate	1 mL/min	5 $\mu\text{L}/\text{min}$, 10 $\mu\text{L}/\text{min}$, 20 $\mu\text{L}/\text{min}$	25 -1200 $\mu\text{L}/\text{min}$	0.5-3 mL/min	-
Efficiency	85%	-	-	-	-
Name	Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces	Continuous particle separation in spiral microchannels using dean flows and differential migration	Particle Focusing in Curved Microfluidic Channels	Spiral microchannel with rectangular and trapezoidal cross-sections for size based particle separation	Fundamentals of inertial focusing in microchannels
Cross section (μm)	-	100 x 50 μm	100 x 50 μm	600 x 80 μm , 600 x 120 μm	100 x 27 μm
Hydraulic diameter ; D_h	-	67	140, 314, 227	141 - 200	43
Re_c	-	2.18, 4.45, 8.90	-	-	15, 30, 50, 70
radius of curvature ; r (m)	-	0.03	-	-	-
Dean number	-	0.23, 0.47, 0.94	-	-	-
a_p/D_h	-	0.11, 0.03	0.066, 0.149, 0.225	0.04, 0.05, 0.08, 0.13	0.172, 0.235, 0.365, 0.470

2.5 สรุปผล

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเซลล์มะเร็งเรียงออกมาเป็นกลุ่มจากขนาดที่แตกต่างกัน เพื่อนำเซลล์มะเร็งมาเพาะเลี้ยงและศึกษาในงานวิจัยอื่นต่อไปในอนาคต ซึ่งอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคที่สามารถนำไปใช้ในการแยกเซลล์มากมายหลายวิธี ขึ้นอยู่กับการเลือกไปใช้งานให้เหมาะสมกับงานมากที่สุด โดยจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเทคนิคที่ไม่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก คือ การอาศัยคุณสมบัติการไหลภายในท่อเพื่อใช้ในการคัดแยก

อีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มเทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก คือการใช้คุณสมบัติทางไฟฟ้าหรือการใช้คลื่นเสียงในการคัดแยก โดยในการคัดแยกเซลล์สำหรับงานวิจัยนี้จำเป็นต้องเลือกอุปกรณ์ที่ใช้ในการคัดแยกที่มีผลกระทบต่อคุณสมบัติของเซลล์น้อยที่สุดจึงเลือกใช้อุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียว เนื่องจากใช้เพียงแรงการไหลภายในท่อเท่านั้น หลักการคือการอาศัยสมดุลแรงระหว่างแรงดันและแรงยกภายในท่อ เพื่อให้อนุภาคหรือเซลล์เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวแยกกันในแต่ละขนาดของอนุภาค

จากการศึกษาวิจัยในอดีตระหว่างปี 2008 ถึง 2013 ของอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียวนั้นได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย พบว่ามีการใช้งานเพื่อคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์มะเร็ง แต่ในงานวิจัยที่ผ่านมาใช้นั้นเม็ดโพลีเมอร์หรือเซลล์ที่ใช้ในการคัดแยกมีขนาดแตกต่างกันค่อนข้างสูง ซึ่งในแต่ละงานวิจัยนั้นได้ออกแบบขนาดพื้นที่หน้าตัดของท่อเป็นแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าและใช้อัตราการไหลในการคัดแยกส่วนใหญ่อยู่ที่ 0.5 – 3 มิลลิลิตรต่อนาที อย่างไรก็ตามการออกแบบลักษณะของท่อการไหลและบริเวณท่อช่องทางออกของอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียวนั้นยังมีรายงานไม่มากนักซึ่งจะส่งผลต่อการคัดแยกที่มีประสิทธิภาพได้

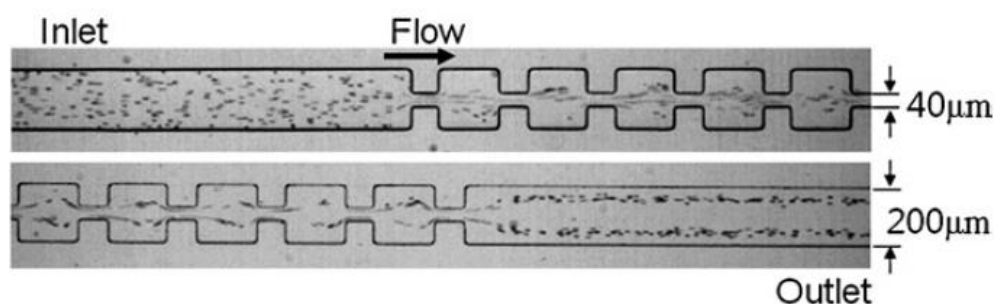
บทที่ 3

ลักษณะการไหล

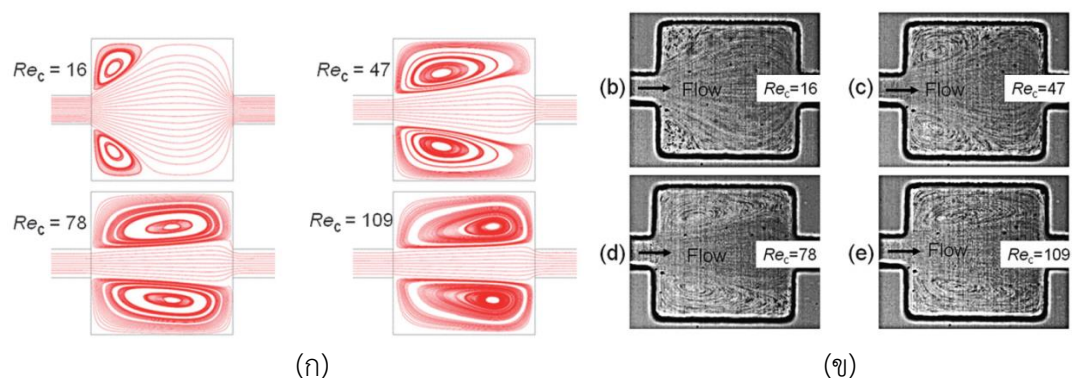
ในงานวิจัยนี้ได้ใช้โปรแกรมทางคอมพิวเตอร์เป็นส่วนหนึ่งในวิธีการหาคำตอบ โดยในการจำลองจำเป็นต้องมีการเปรียบเทียบกับผลการทดลองหรืองานวิจัยอื่นๆ เพื่อให้คำตอบที่ได้มีความแม่นยำและน่าเชื่อถือมากที่สุด

3.1 การตรวจสอบความถูกต้อง

การตรวจสอบความถูกต้องได้เลือกงานวิจัยของ Park et al., (2008)^[16] ซึ่งเป็นการไหลภายในท่อขนาดพื้นที่หน้าตัดของท่อ 200x50 ไมโครเมตรและช่องทางไหล 40x50 ไมโครเมตรดังรูปที่ 3.1 เป็นรูปแบบการไหลแบบราบเรียบ การทดลองที่อัตราการไหลของค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 16, 47, 78 และ 109 ในงานวิจัยนี้ได้มีการจำลองการไหลในคอมพิวเตอร์กับการทดลองจริงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1 ขนาดและรูปร่างของท่อในงานวิจัย Park, J.-S., et al.^[16]

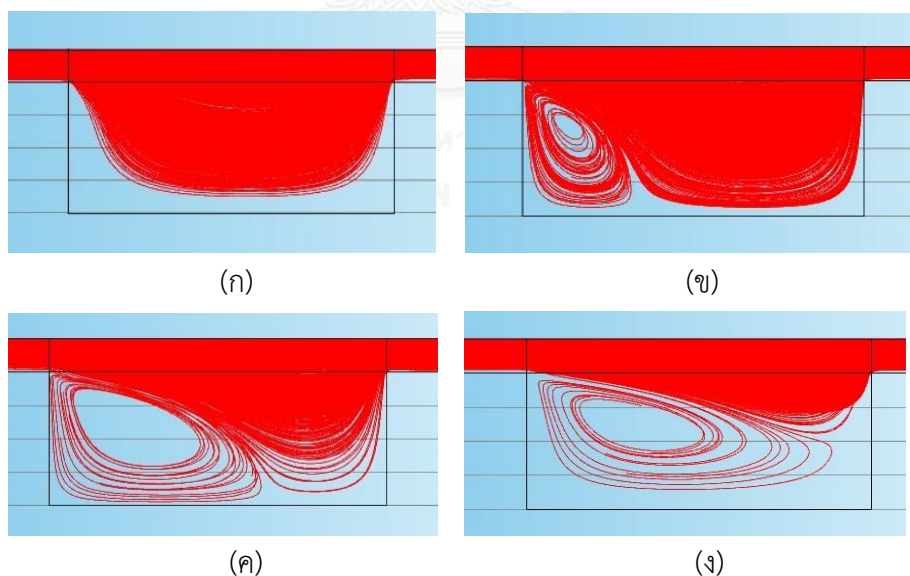


รูปที่ 3.2 การไหลภายในท่อที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 16, 47, 78 และ 109 (ก) การจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และ (ข) ภาพถ่ายการทดลองจริงของการไหลภายในท่อ Park, J.-S., et al.^[16]

หลังจากนั้นได้จำลองการไหลภายในท่อตามแบบงานวิจัยนี้ที่ขนาดของท่อและอัตราการไหลของค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เดียวกันคือ 16, 47, 78 และ 109 แต่เป็นการจำลองชิ้นงานเพียงครั้งเดียวเพื่อลดภาระของคอมพิวเตอร์ผลการคำนวณแสดงดังรูปที่ 3.3 โดยมีขนาดของ element อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.3 – 4 ไมโครเมตร การจำลองนี้ได้กำหนดขอบเขต (boundary condition) การไหลเป็นแบบราบเรียบ กำหนดการไหลในท่อทางเข้าเป็นความเร็วเฉลี่ยและมีทิศทางการตามแกนของท่อ กำหนดเงื่อนไขไม่ลื่นไถล (no slip condition) จะทำให้ความเร็วบริเวณที่ผนังของท่อเท่ากับศูนย์ ซึ่งพบว่ามีการไหลหมุนวนขนาดใหญ่เมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้นและรูปแบบการไหลคล้ายกับการจำลองในงานวิจัย Park et al., (2008) อีกด้วย หลังจากการเปรียบเทียบการจำลองการไหล ผู้วิจัยคิดว่าการใช้สภาวะในการคำนวณตามรูปแบบนี้มีความเหมาะสมในการคำนวณ

3.2 การออกแบบ

ปัจจัยสำหรับการออกแบบระบบคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างกัน ด้วยอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียวให้มีประสิทธิภาพสูงนั้นประกอบด้วยหลายปัจจัย ซึ่งวิธีนี้เป็นการใช้แรงจากของไหลภายในท่อกระทำกับอนุภาคหรือเซลล์ให้เกิดการเรียงตัวกันแยกออกมาในแต่ละขนาด โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

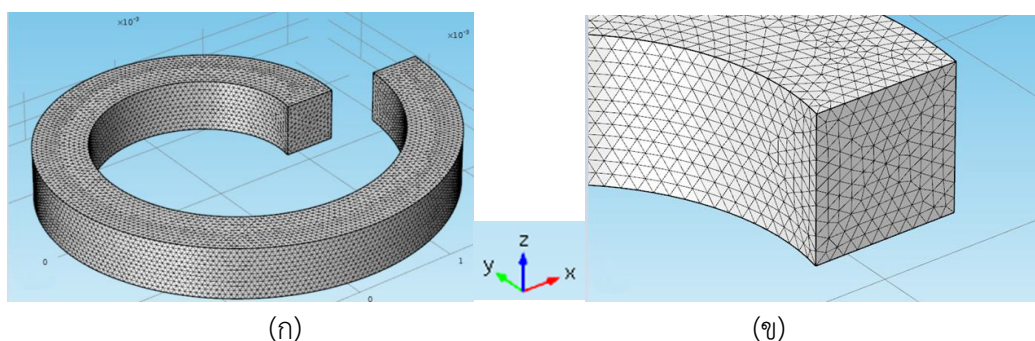


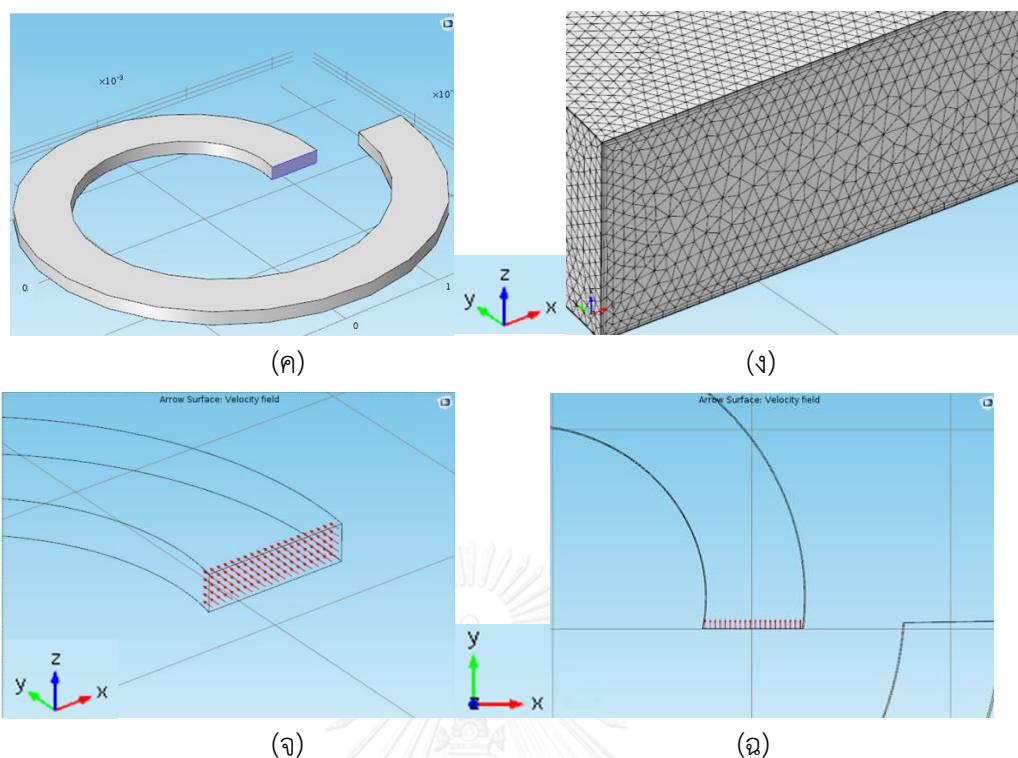
รูปที่ 3.3 การจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่อัตราการไหล (ก) $Re = 16$ (ข) $Re = 47$ (ค) $Re = 78$ และ (ง) $Re = 109$

3.2.1 ขนาดและรูปร่างพื้นที่หน้าตัดของท่อโค้ง

หลังจากการศึกษาทฤษฎีการไหลวนของดิน (Dean Vortices) ในเบื้องต้นแล้วพบว่าค่ารัศมี ความโค้งเป็นตัวแปรที่สำคัญในการเกิดการไหลหมุนวนของดิน โดยในการออกแบบอุปกรณ์ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดค่ารัศมีความโค้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.75 เซนติเมตร จากนั้นได้นำแบบของชิ้นงานมาจำลองการไหลในคอมพิวเตอร์ เพื่อจำลองการเกิดไหลหมุนวนภายในท่อที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของไหลต่างๆ ซึ่งในการจำลองนั้นได้จำลองรูปแบบท่อทั้งหมดสองแบบ แบบแรกคือพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500x500 ไมโครเมตร และแบบที่สองคือพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร

โดยกำหนดระยะทางของท่อโค้งเพียงหนึ่งรอบเท่านั้นแสดงดังรูปที่ 3.4 จากนั้นกำหนดให้มีของไหลในท่อคือน้ำที่มีความหนาแน่นเท่ากับ $1,000 \text{ kg/m}^3$ และค่าความหนืด (dynamic viscosity) เท่ากับ $1.002 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ ซึ่งได้กำหนดอัตราการไหลเท่ากับ 1, 2 และ 4 mL/min ตามลำดับ โดยทิศทางการไหลในท่อทางเข้าในโปรแกรมคอมพิวเตอร์คือทิศทางแกน X หรือตามแนวลูกศรสีแดง ดังรูปที่ 3.4จ และข ซึ่งในการจำลองนี้ได้กำหนดขนาดของ element มีขนาดเท่ากับ 5 – 40 ไมโครเมตรสำหรับพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส ส่วนสำหรับพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีขนาด element มีขนาดเท่ากับ 1 – 10 ไมโครเมตร โดยการไหลภายในท่อนี้ได้กำหนดขอบเขตการไหลเป็นแบบราบเรียบ เลือกรูปการไหลในท่อทางเข้าเป็นความเร็วเฉลี่ยและได้กำหนดเงื่อนไขไม่ลื่นไถลจะทำให้ความเร็วบริเวณที่ผนังของท่อเท่ากับศูนย์ กำหนดท่อจุลภาคขนาดเล็กสองแบบคือ แบบท่อขดโค้งพื้นที่หน้าตัด 500x130 ไมโครเมตรและ 500x500 ไมโครเมตร ท่อบริเวณช่องทางตรงถึงช่องทางออกได้ใช้ mesh size ตั้งแต่ขนาด 0.3 ถึง 10 ไมโครเมตรและ mesh type เป็นรูปแบบสามเหลี่ยมแสดงดังรูปที่ 3.4





รูปที่ 3.4 การจำลองท่อโค้ง (ก) พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500x500 ไมโครเมตร (ข) ขนาดของ element ตั้งแต่ 5-40 ไมโครเมตร (ค) พื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร (ง) ขนาดของ element ตั้งแต่ 1-10 ไมโครเมตร (จ) และ (ฉ) ทิศทางของการไหลที่บริเวณท่อทางเข้า

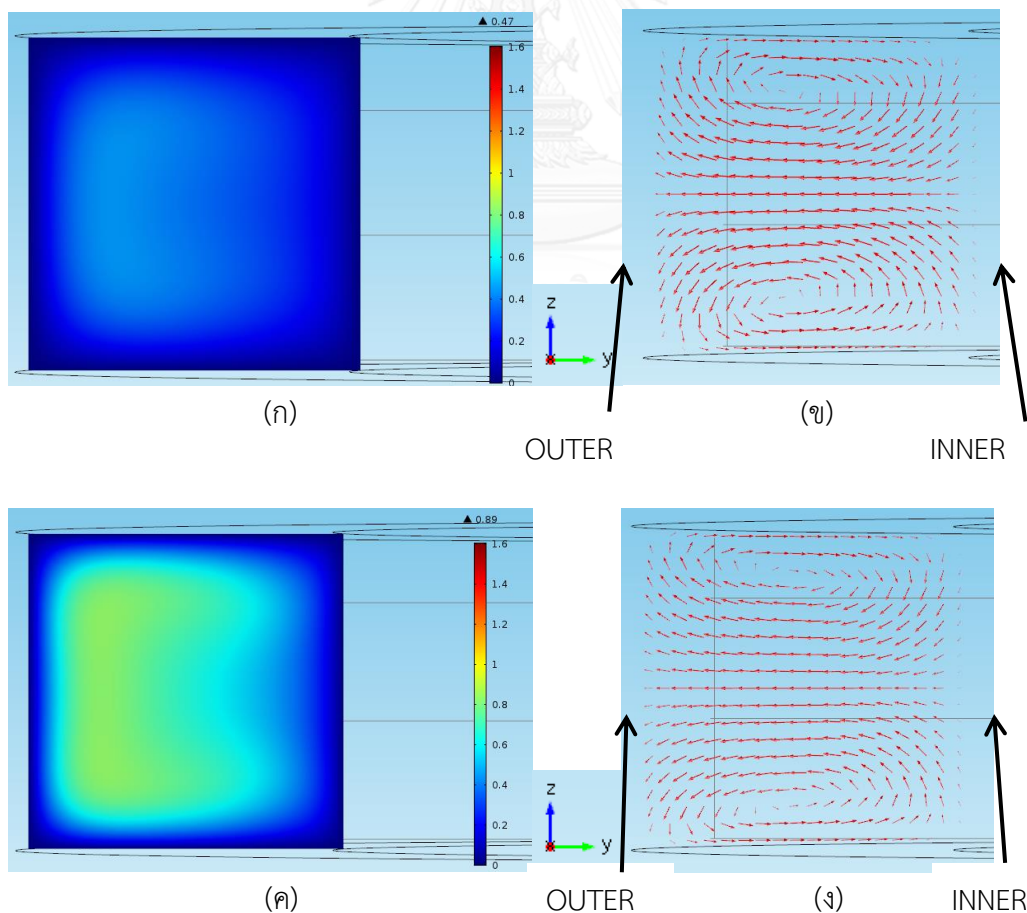
ต่อมาได้คำนวณการไหลของท่อขดเกลียวทั้งแบบพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัสและสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที (เรียงตามลำดับในรูปที่ 3.5 และ 3.6) ซึ่งได้แบ่งการแสดงผลเป็น 3 แบบ คือ

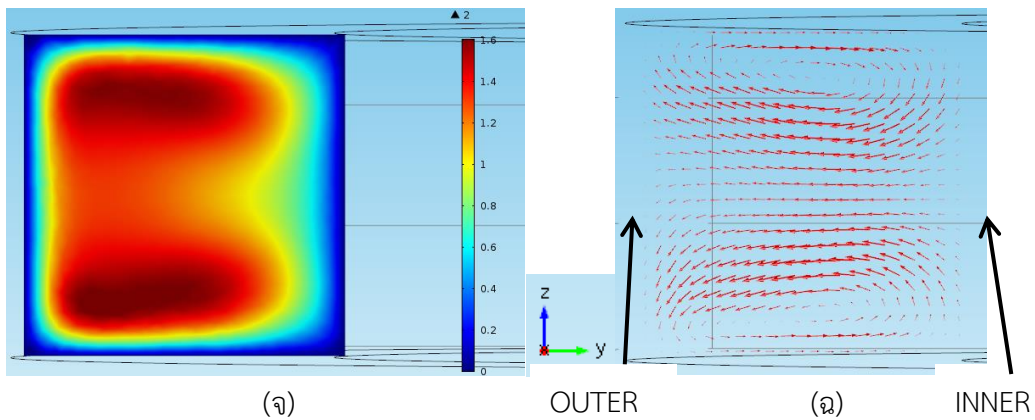
1. ขนาดของความเร็วรวมภายในท่อ ซึ่งได้แสดงผลออกมาเป็นสีน้ำเงินเข้มจนถึงสีแดง เพื่อบ่งบอกถึงขนาดของความเร็วตั้งแต่ 0 – 1.6 เมตรต่อวินาที แสดงดังรูปที่ 3.5 – 3.6ก, ค และจ
2. ทิศทางของความเร็วภายในท่อ คือการแสดงทิศทางของความเร็วบนหน้าตัดตั้งฉากกับทิศทางการไหลหลัก มีวัตถุประสงค์เพื่อสามารถเห็นการไหลหมุนวนภายในท่อได้อย่างชัดเจน ดังรูปครีสีแดงในรูปที่ 3.5 – 3.6ข, ง และฉ

จากการจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ของท่อที่มีรัศมีความโค้ง 0.75 เซนติเมตร บนพื้นที่หน้าตัดท่อแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัสและสี่เหลี่ยมผืนผ้า พบว่าบริเวณผนังท่อด้านนอกมีความเร็วสูงขึ้นโดยเกิดจากแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลางของของเหลว ส่งผลให้เกิดการหมุนวนภายในท่อ และถ้าหากเพิ่มอัตราการไหลหรือค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์จะทำให้เกิดการไหลหมุนวนที่ชัดเจนมากกว่ารวมทั้งส่งผล

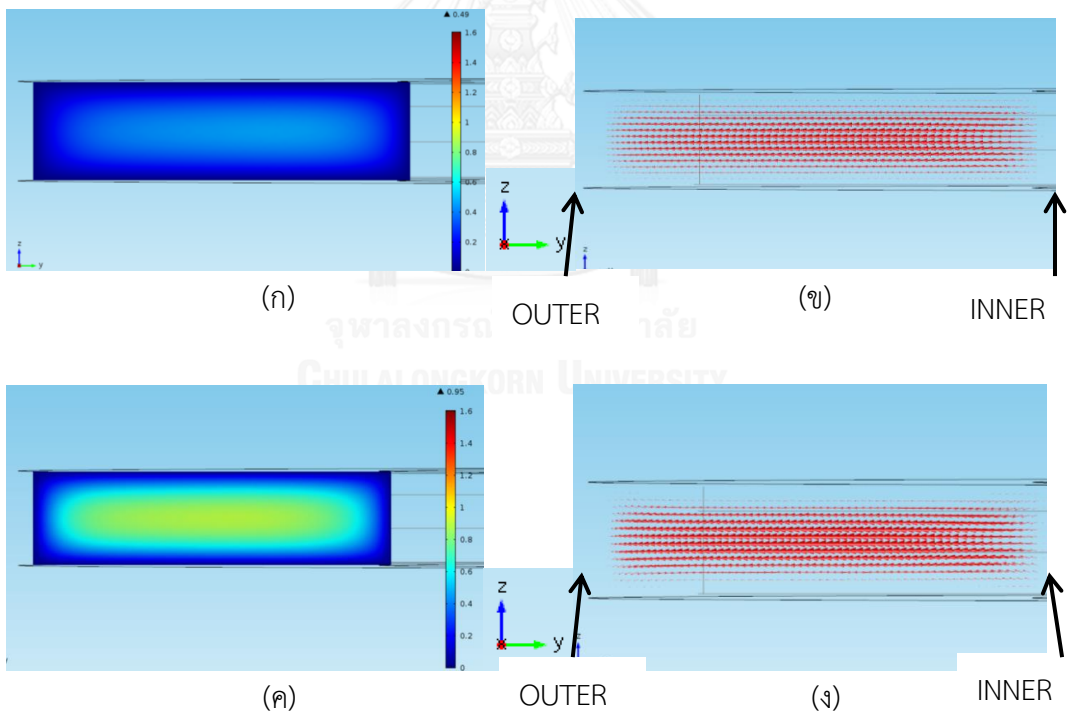
ให้แรงยกเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน สำหรับในการคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันต่อแบบพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้าเหมาะสมมากกว่าต่อแบบพื้นที่สี่เหลี่ยมจัตุรัส เนื่องจากพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้ามีทิศทางของแรงที่ขนานบนพื้นที่หน้าตัดมีขนาดและทิศทางสม่ำเสมอแสดงดังลูกศรสีแดงในรูปที่ 3.5ก และ 3.6ก จึงทำให้พื้นที่หน้าตัดต่อแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้าเหมาะสมกับการคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดที่หลากหลายได้ดีกว่า

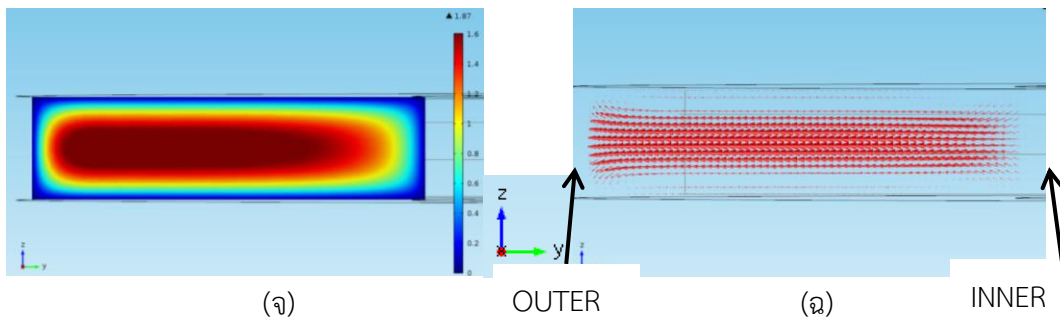
สำหรับค่าอัตราส่วนของ Dean velocity และ Streamwise velocity ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ค่า Streamwise velocity ได้เลือกมาจากความเร็วเฉลี่ยในช่องทางการไหลและสำหรับค่า Dean velocity คือความเร็วเฉลี่ยทิศทางตั้งฉากกับแนวการไหลภายในท่อ บริเวณปลายท่อขดเกลียวรอบที่หนึ่ง พบว่าแบบพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดเท่ากับ 500x130 ไมโครเมตร ค่าอัตราส่วนนั้นมีค่าเท่ากับ $0.1557/0.5251 = 0.296$ และแบบพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดเท่ากับ 500x500 ไมโครเมตร ซึ่งค่าอัตราส่วนนั้นมีค่าเท่ากับ $0.2632/0.5135 = 0.5125$ ซึ่งพบว่า Dean velocity ที่เกิดขึ้นที่อัตราการไหลดังกล่าวค่อนข้างแข็งแรง





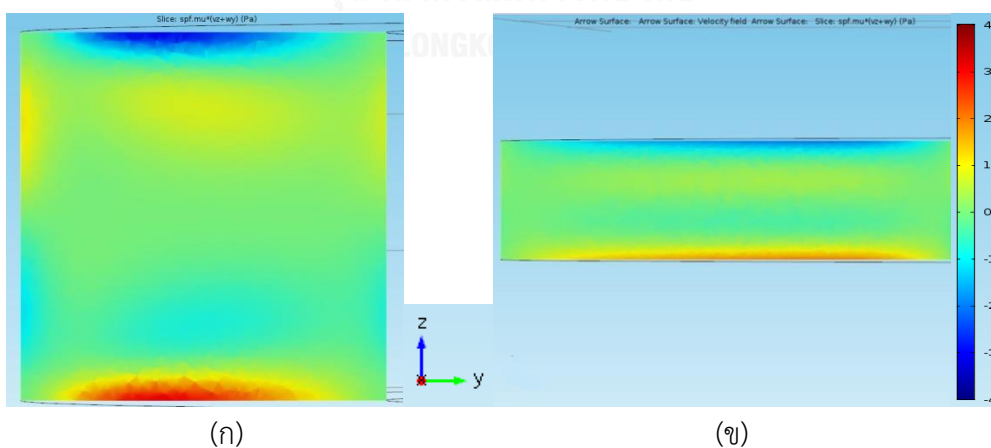
รูปที่ 3.5 การจำลองการไหลในท่อสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ก) ขนาดของความเร็วรวมที่ระนาบหน้าตัดท่อทางออก โดยมีความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.47 เมตรต่อวินาที ($Re = 33.33$) (ข) ทิศทางของความเร็วเฉพาะบนหน้าตัดท่อ ($Re = 33.33$) (ค)-(ง) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.87 เมตรต่อวินาที ($Re = 66.67$) และ (จ)-(ฉ) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 2.0 เมตรต่อวินาที ($Re = 133.33$)

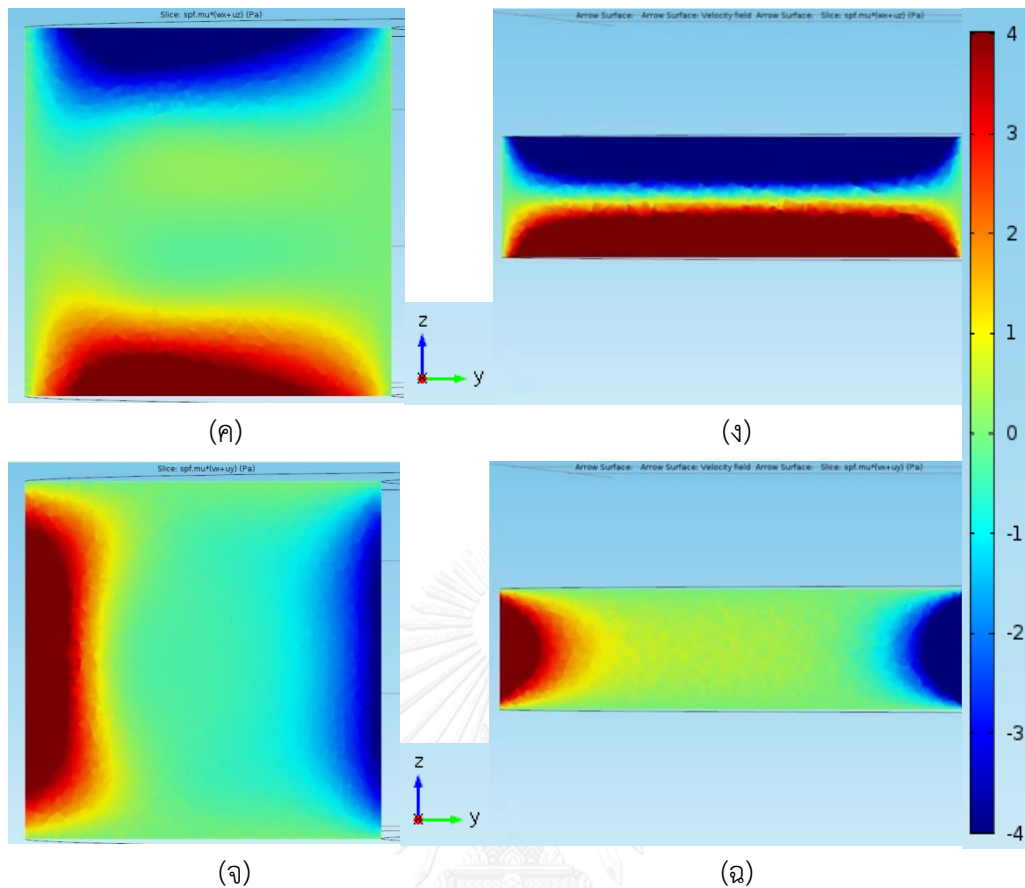




รูปที่ 3.6 การจำลองการไหลในท่อสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ก) ขนาดของความเร็วรวมที่ระนาบหน้าตัดท่อทางออก โดยมีความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.49 เมตรต่อวินาที ($Re = 52.91$) (ข) ทิศทางของความเร็วเฉพาะบนหน้าตัดท่อ ($Re = 52.91$) (ค)-(ง) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 0.95 เมตรต่อวินาที ($Re = 105.82$) และ (จ)-(ฉ) ความเร็วเฉลี่ยเท่ากับ 1.87 เมตรต่อวินาที ($Re = 211.64$)

ผลของค่าความเค้นเฉือน (Shear stress) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ได้แยกการแสดงผลออกเป็นทั้งหมด 3 ทิศทางคือ ทิศทางแกน X, Y และ Z จากการแสดงผลการจำลองสีต่างๆ แสดงถึงค่า Shear stress ของการไหลภายในท่อ เรียงตามลำดับความแตกต่างของสีเริ่มจากสีน้ำเงินจนถึงสีแดง ซึ่งหมายถึงค่า shear stress ตั้งแต่ -4 ถึง 4 Pa แสดงดังรูปที่ 3.7 ซึ่งการที่มี Shear stress สูงอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเซลล์หรือทำให้เซลล์ตายได้ นอกจากนี้ Shear stress ในทิศทาง Y และ Z ครอบคลุมพื้นที่หน้าตัดการไหลของท่อค่อนข้างกว้างทั้งสองลักษณะของท่อขดเกลียว





รูปที่ 3.7 ค่าความเค้นเฉือนจากการจำลองการไหลในท่อที่ระนาบหน้าตัดต่อทางออกในทิศทางต่างๆ (ก) (ค) และ (จ) ทิศทางแกน X, Y และ Z ของพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ข) (ง) และ (ฉ) ทิศทางแกน X, Y และ Z ของพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้า

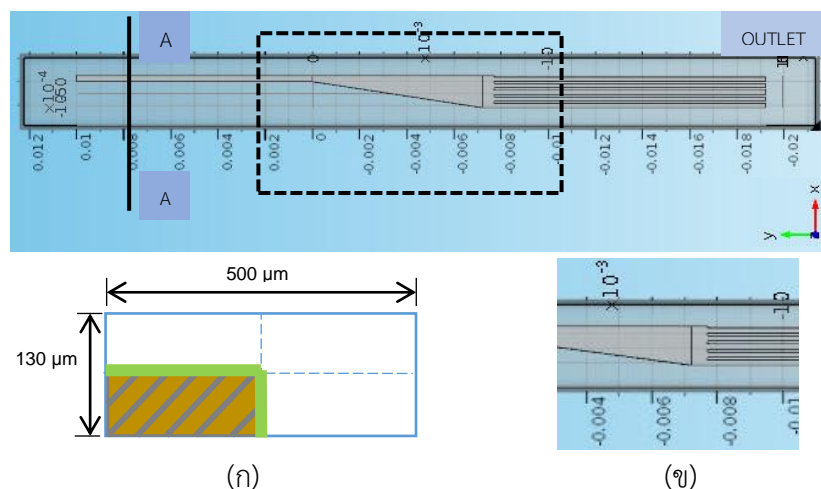
ขั้นตอนต่อไปในการออกแบบอุปกรณ์นั้นจำเป็นต้องทราบขอบเขตของอนุภาคหรือเซลล์ที่ต้องการคัดแยกที่แน่นอนโดยงานวิจัยนี้ต้องการคัดแยกอนุภาคและเซลล์ที่มีขนาดประมาณตั้งแต่ 5 จนถึงขนาดประมาณ 20 ไมครอน ซึ่งจากการศึกษาบทความจาก S. Kuntaegowdanahalli et al., (2013)^[9] บทความที่ผ่านมานำเสนอให้ค่านึงถึงค่า a_p / D_h ควรมีค่ามากกว่า 0.07 จึงทำให้เราได้กำหนดให้ท่อเป็นแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีความสูงของช่องการไหลเท่ากับ 130 ไมโครเมตรและความกว้างของช่องการไหล 500 ไมโครเมตร เพื่อให้สามารถทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดตั้งแต่ 10 ไมโครเมตร เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวภายในท่อได้อย่างชัดเจน

3.2.2 ขนาดของช่องทางออก

หลังจากที่อนุภาคหรือเซลล์เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวกันในท่อตรงแล้ว จากนั้นอนุภาคจะเคลื่อนที่ไปยังช่องทางออก ในการออกแบบช่องทางออกนั้นต้องมีความสัมพันธ์กับตำแหน่งสมมูลที่อนุภาคแต่ละขนาดอีกด้วย งานวิจัยนี้จึงใช้โปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ช่วยในการคำนวณทิศทางและขนาดของการไหลภายในท่อ ซึ่งเมื่อนำข้อมูลตำแหน่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาดต่างๆบริเวณท่อตรงมาแทนตำแหน่งของไหลภายในท่อจะสามารถคาดคะเนได้ว่าอนุภาคจะเคลื่อนที่ออกสู่ช่องทางออกได้อย่างไร

ในการจำลองทางคอมพิวเตอร์ได้วางชิ้นงานเพียงบางส่วนของหนึ่งส่วนสี่ของท่อแสดงดังรูปที่ 3.8x เพื่อให้การจำลองมีความละเอียดและใกล้เคียงกับการทดลองจริง เนื่องจากในการจำลองสามารถกำหนดองค์ประกอบ (elements) ของชิ้นงานได้มากขึ้น ซึ่งจากการจำลองชิ้นงานนี้ได้เลือกใช้ element ขนาด 1-10 ไมโครเมตรและจำนวนองค์ประกอบของชิ้นงานประมาณ 3 ล้านชิ้น โดยการไหลภายในท่อนี้ได้กำหนดขอบเขตการไหลเป็นแบบราบเรียบ เลือกการไหลในท่อทางเข้าเป็นความเร็วเฉลี่ยและได้กำหนดเงื่อนไขไม่ลื่นไถลจะทำให้ความเร็วบริเวณที่ผนังของท่อเท่ากับศูนย์และมีความเร็วสูงสุดที่บริเวณกลางท่อ ในการคำนวณแต่ละครั้งใช้เวลาในการประมวลผลประมาณ 6 ชั่วโมง

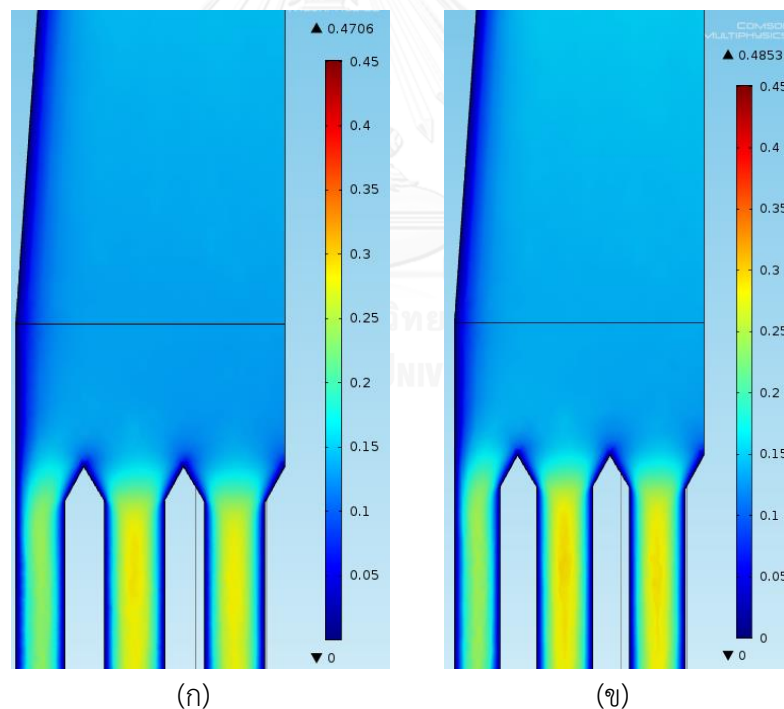
การพิจารณา continuum mechanics เป็นสาขาหนึ่งของกลไกการไหลที่วิเคราะห์การเคลื่อนไหวและพฤติกรรมทางกลบนวัสดุที่มีความต่อเนื่องไม่ขาดช่วง โดยที่สเกลของช่องทางไหลภายในท่อมักว่าขนาดของอนุภาคมากกว่าหลายเท่า ซึ่งขนาดโมเลกุลของของเหลวเท่ากับ 95.8 พิโกเมตร หรือเท่ากับ 9.58×10^{-5} ไมโครเมตร ทำให้การศึกษานี้ยังใช้หลักการ continuum mechanics ได้



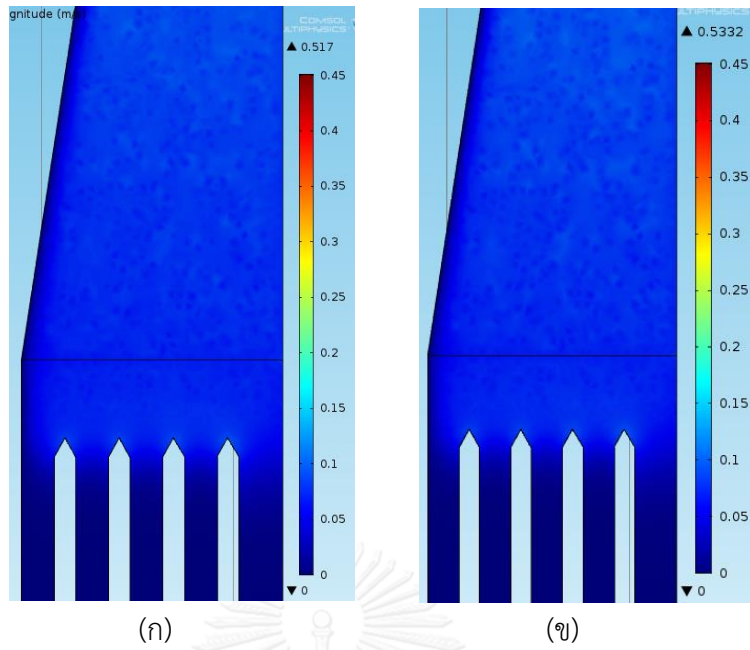
รูปที่ 3.8 การจำลองท่อด้วยคอมพิวเตอร์ (ก) แสดงบริเวณพื้นที่หน้าตัด A – A และ(ข)

แสดงส่วนของช่องทางออก

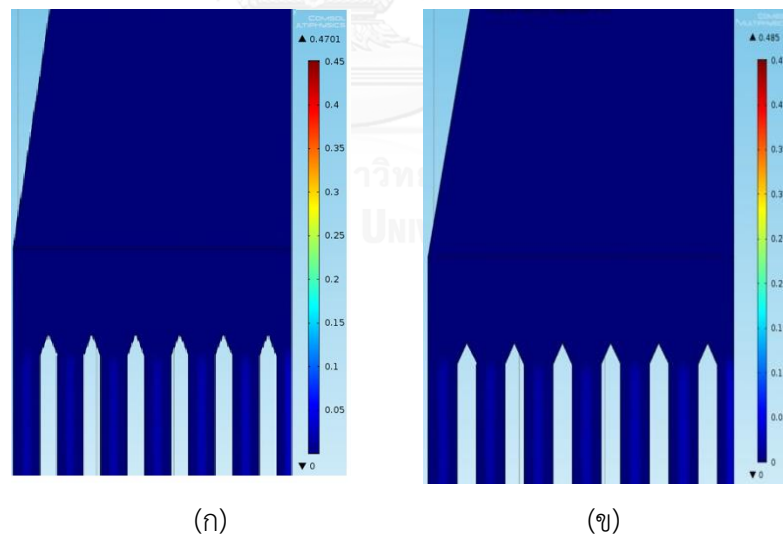
ในส่วนต้นจะนำผลการจำลองการไหลของท่อทางออกของสองมิติ (2D) และสามมิติ (3D) มาเปรียบเทียบกัน โดยได้ใช้ mesh size ตั้งแต่ขนาด 0.3 ถึง 10 ไมโครเมตรและ mesh type เป็นรูปแบบสามเหลี่ยมเช่นเดียวกัน พบว่าที่มุมบาน 6, 9 และ 12 องศา ซึ่งทั้งสองแบบมีขนาดของความเร็วใกล้เคียงกัน ดังรูปที่ 3.9, 3.10 และ 3.11 โดยที่ Contour สีต่างๆแสดงถึงขนาดของความเร็วรวมของการไหลภายในท่อ เรียงตามลำดับความแตกต่างของสีเริ่มจากสีน้ำเงินจนถึงสีแดง ซึ่งหมายถึงค่าความเร็วตั้งแต่ 0 ถึง 0.45 เมตรต่อวินาที สำหรับสามมิติเป็นความเร็วรวมบน plane ที่ห่างจากผนังล่าง 65 ไมโครเมตรหรือ plane ตรงกลางท่อ หลังจากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์แบบสามมิติ (3D) และแบบสามมิติ (2D) มีความใกล้เคียงแต่เมื่อมีการพิจารณาความสูงของช่องทางการไหลมาเกี่ยวข้องด้วย ส่งผลให้การจำลองแบบสามมิตินั้นมีความละเอียดและแม่นยำกว่าการจำลองแบบสองมิติ ในการศึกษาจึงเลือกใช้การวิเคราะห์แบบสามมิติ



รูปที่ 3.9 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของมุมบานบริเวณช่องทางออก 6 องศา
(ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ



รูปที่ 3.10 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของหมุ่บานบริเวณช่องทางออก 9 องศา
(ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ



รูปที่ 3.11 ขนาดความเร็วรวมของการไหลในท่อของหมุ่บานบริเวณช่องทางออก 12 องศา
(ก) แบบสองมิติและ(ข) แบบสามมิติ

ในการออกแบบลักษณะท่อทางออกได้แบ่งตามหัวข้อดังนี้

3.2.2.1 มุมบานของช่องทางออก

ในการออกแบบท่อทางออกเริ่มต้นวิเคราะห์จากมุมบานเท่ากับ 6 องศา 9 องศา และ 12 องศา โดยกำหนดความยาวเป็น 720 ไมโครเมตร ความกว้างช่องทางออก 170 ไมโครเมตร ซึ่งก่อนที่จะสร้างชิ้นงาน เราสามารถใช้โปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ออกแบบมุมบานที่เหมาะสมได้ ซึ่งมุมบานของช่องทางออกในแต่ละมุมนั้นจะส่งผลถึงจำนวนช่องทางออก ดังนั้นมุมบานขนาด 6 องศา 9 องศา และ 12 องศา มีจำนวนช่องทางออกคือ 6, 10 และ 14 ทางออกตามลำดับ โดยได้ทำเปรียบเทียบการไหลด้วยกันทั้งหมด 3 หัวข้อ คือ

- เส้นทางการไหล (Streamline)

การกระจายตัวของของไหลสามารถนับได้จำนวนเส้นที่ผ่านเข้าสู่พื้นที่หน้าตัดในแต่ละช่องทางออก โดยในการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์นั้นแสดงดังตารางด้านล่าง ซึ่งวิธีการคำนวณออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์นั้นคือ เริ่มจากการจำลองการไหล (Streamline) ด้วยคอมพิวเตอร์ที่จำนวนเส้นการไหลที่เท่ากันในแต่ละกรณี จากนั้นทำการนับว่าในแต่ละช่องทางออกกว่ามีเส้น Streamline แต่ละช่องเท่าไรบ้างซึ่งสามารถนำมาคิดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ในที่สุด ยกตัวอย่างเช่น ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min มุมบานที่ช่องทางออก 6 องศา ใช้จำนวน Streamline ในการไหลทั้งหมด 89 เส้น นับจำนวนใน Streamline ในแต่ละช่องทางออกที่ 1 ได้ 19 เส้น นำมาคำนวณ Percent of Streamline ของช่องที่ 1 คือ $\frac{19}{89} \times 100\% = 21\%$ เป็นต้น ลักษณะการกระจายของ Streamline แสดงในรูปที่ 3.12ก, 3.13ก และ 3.14ก สำหรับมุม 6, 9 และ 12 องศา

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงความน่าจะเป็นของสัดส่วนของไหลที่ไหลออกในแต่ละช่องทางออก

Percent of Streamline	ช่องที่ 1	ช่องที่ 2	ช่องที่ 3	ช่องที่ 4	ช่องที่ 5	ช่องที่ 6	ช่องที่ 7
มุมบานที่ 6 องศา	21 %	38 %	41 %	-	-	-	-
มุมบานที่ 9 องศา	16 %	19 %	23 %	17 %	25 %	-	-
มุมบานที่ 12 องศา	10 %	8 %	14 %	16 %	29 %	14 %	6 %

จากตารางดังกล่าวพบว่ามุมบานที่ 9 องศา มีการเคลื่อนที่กระจายตัวเข้าสู่ช่องทางออกได้ดี เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การกระจายตัวที่เข้าสู่ช่องทางออกในแต่ละช่องมีค่าใกล้เคียงกัน แต่สำหรับมุมบานที่ 6 และ 12 นั้นเปอร์เซ็นต์การกระจายตัวในแต่ละช่องนั้นมีค่าแตกต่างกันพอสมควร สามารถเปรียบเทียบได้จากค่าเปอร์เซ็นต์ต่ำสุดและสูงสุดในแต่ละช่อง

- ความเร็ว (Velocity)

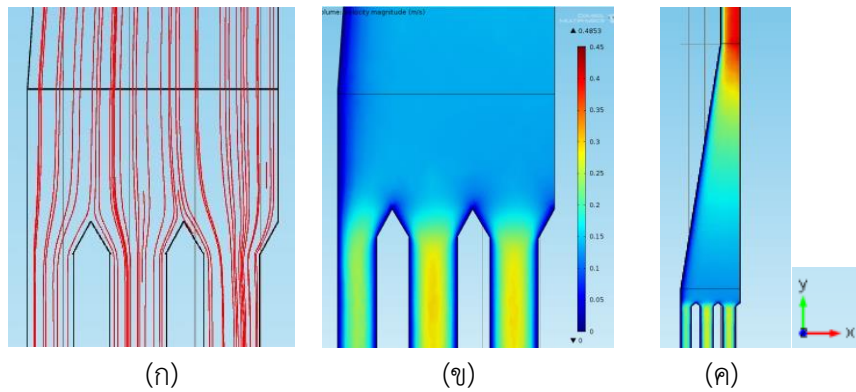
ในทิศทางของการไหลหลักการจำลองการไหลที่มุมบานที่ 6, 9 และ 12 องศาได้แสดงขนาดของความเร็วในทิศทางการไหลหลักภายในท่อที่บริเวณท่อทางออกบนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นมีวัตถุประสงค์เพื่อสามารถเห็นขนาดของความเร็วขณะการไหลภายในท่อได้อย่างชัดเจนจากการจำลองการไหลแบบสามมิติพบว่าช่องทางออกมุมบานที่ 6 มีความเร็วสูงถึง 0.3 m/s ซึ่งด้วยความเร็วสูงในท่อทางออกจะส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติของเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ แต่สำหรับท่อทางออกมุมบานที่ 9 และ 12 องศามีความเร็วประมาณ 0.1 m/s ซึ่งถือว่าน้อยกว่ามุมบานที่ 6 องศาถึงสามเท่าในรูปที่ 3.12ข, 3.13ข และ 3.14ข

- ความเค้นเฉือน

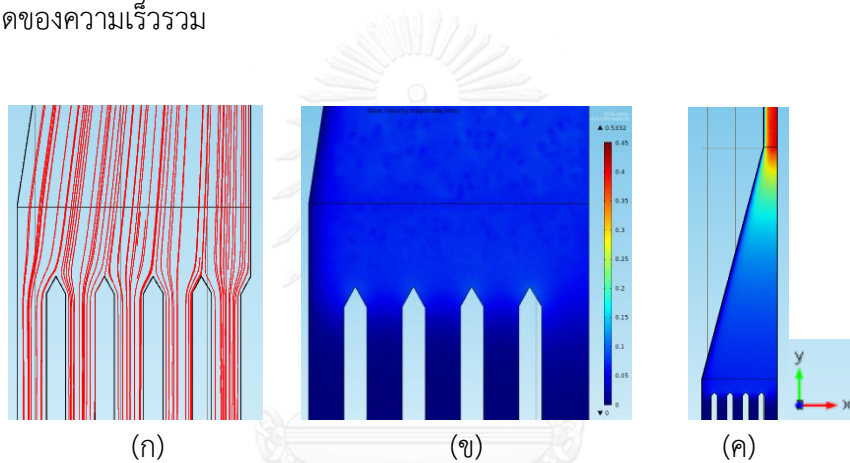
จากการจำลองการไหลที่ท่อทางออกมุมบานที่ 6, 9 และ 12 องศา เพื่อหาขนาดของความเค้นเฉือนในทิศทางตามแกน X, Y และ Z โดยพบว่าความเค้นเฉือน (Shear stress) จากการแสดงผลการจำลอง สี Contour สีต่างๆแสดงถึงค่า Shear stress ของการไหลภายในท่อ เรียงตามลำดับความแตกต่างของสีเริ่มจากสีน้ำเงินจนถึงสีแดง ซึ่งหมายถึงค่า shear stress ตั้งแต่ -4 ถึง 4 Pa แสดงดังรูปที่ 3.15, 3.16 และ 3.17

ค่าความเค้นเฉือนเกิดจากการความสัมพันธ์ของขนาดของท่อในแกน X และ Y แสดงดังรูปที่ 3.15-3.17 เมื่อขนาดของท่อในแนวแกน Y มีความแตกต่างกับแกน X มากจะส่งผลให้ค่าความเค้นเฉือนภายในท่อมียุคสูง และจะส่งผลกระทบต่อเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติได้ ซึ่งจากการศึกษาผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Manbachi et al. 2008) พบว่าเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากของมนุษย์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณสมบัติที่ค่าความเค้นเฉือนมากกว่า 0.2 Pa และถ้าค่าความเค้นเฉือนมีค่าเท่ากับ 0.5 Pa จะส่งผลกระทบต่อเซลล์เสียชีวิตจนไม่สามารถนำไปศึกษาต่อได้

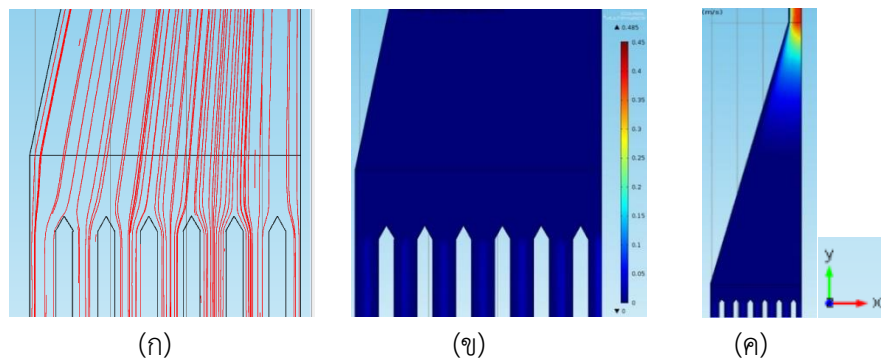
หลังจากจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ท่อทางออกมุมบานขนาด 6, 9 และ 12 องศา ที่ตำแหน่งสูงจากผิวท่อ 30 ไมโครเมตร สามารถหาค่าความเค้นเฉือนในทิศทางตามแนวแกน X, Y และ Z ได้จากการศึกษาพบว่าอุปกรณ์ที่ใช้ทดลองครั้งนี้มีค่าความเค้นเฉือนที่สูงกว่า 0.5 Pa จึงอาจส่งผลให้เซลล์ที่นำมาศึกษาบางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติและบางส่วนเกิดการเสียชีวิตได้ ซึ่งในการศึกษานี้จะยังไม่นำผลกระทบนี้มาพิจารณาในการออกแบบ



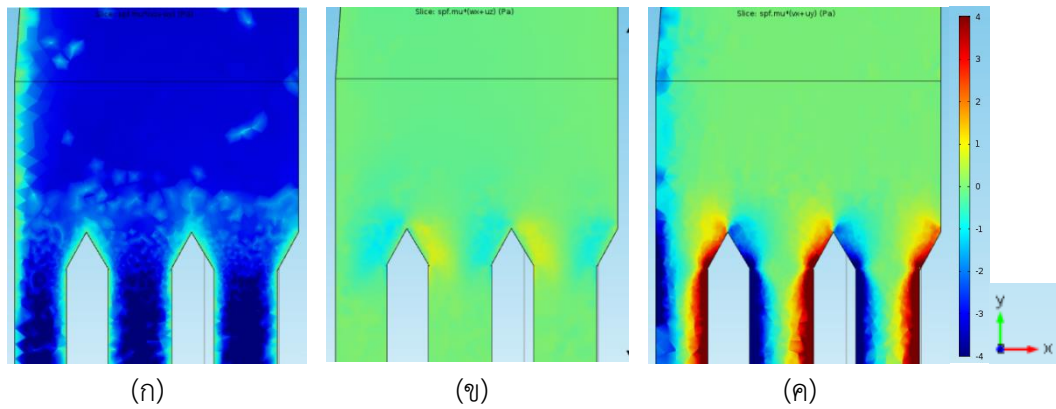
รูปที่ 3.12 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 6 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม



รูปที่ 3.13 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม

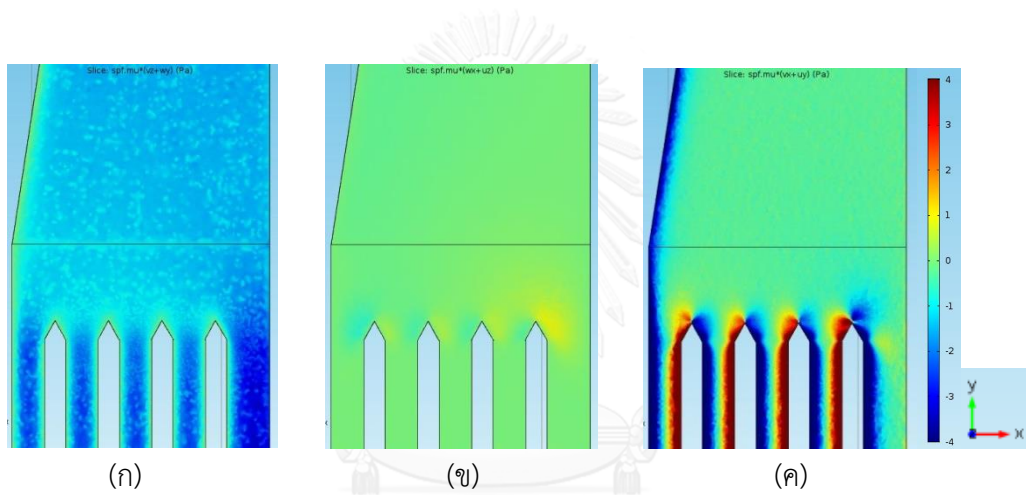


รูปที่ 3.14 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 12 องศา (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม



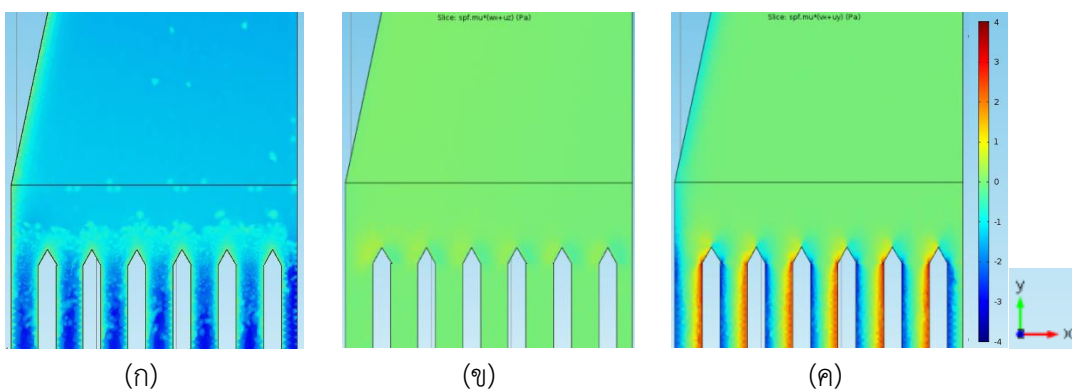
รูปที่ 3.15 ค่าความเค้นเฉือนของท่อลมบานบริเวณช่องทางออก 6 ingsca

(ก) ทิศทางตามแกน X (ข) ทิศทางตามแกน Y และ(ค) ทิศทางตามแกน Z



รูปที่ 3.16 ค่าความเค้นเฉือนของท่อลมบานบริเวณช่องทางออก 9 ingsca

(ก) ทิศทางตามแกน X (ข) ทิศทางตามแกน Y และ(ค) ทิศทางตามแกน Z



รูปที่ 3.17 ค่าความเค้นเฉือนของท่อลมบานบริเวณช่องทางออก 12 ingsca

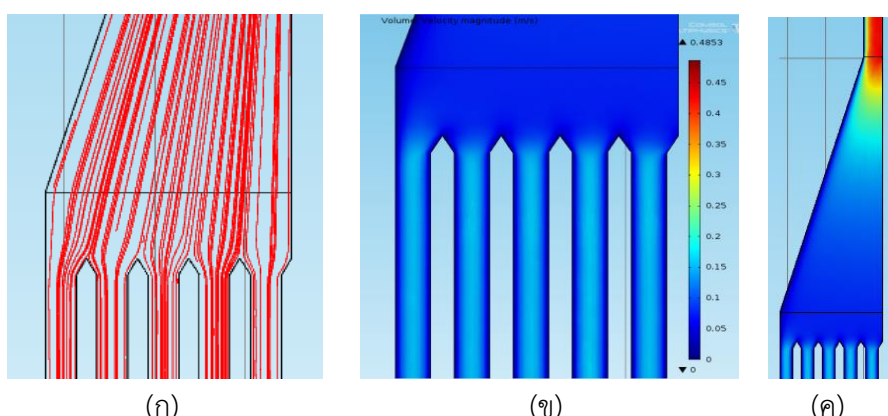
(ก) ทิศทางตามแกน X (ข) ทิศทางตามแกน Y และ(ค) ทิศทางตามแกน Z

จากการจำลองการไหลภายในท่อของมุมบาน 6 องศา พบว่าบริเวณท่อทางออกมีความเร็วสูงมากกว่ามุมบานอื่นๆแสดงไปดังรูปที่ 3.12 ในส่วนของมุมบานที่ 9 และ 12 องศาที่มีความเร็วที่ช่องทางออกปานกลางแสดงดังรูปที่ 3.13 และ 3.14 ตามลำดับ แต่สำหรับในงานวิจัยนี้ต้องการจะตัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาด 5 - 20 ไมโครเมตรจึงเลือกใช้มุมบานเพียง 9 องศาเนื่องจากมีความเร็วที่ช่องทางออกไม่สูงมากและมีจำนวนช่องที่เหมาะสมกับการนำไปใช้ตัดแยกกลุ่มอนุภาคหรือเซลล์ เนื่องจากมีการไหลกระจายตัวสู่ช่องทางออกในแต่ละช่องเท่าๆกันแสดงดังรูปที่ 3.13ก

จากการแสดงผลการจำลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่ามุมบานที่ 9 เหมาะสมในการนำไปใช้ออกแบบอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว เนื่องจากการมีเส้นทางการไหล น่าจะมีความกระจายตัวของของไหลเข้าสู่ช่องทางออกในแต่ละช่องใกล้เคียงกัน รวมถึงความเร็วในช่องทางออกนั้นมีค่าไม่สูงมาก และมีค่าความเค้นเฉือนไม่สูงเช่นเดียวกัน ซึ่งด้วยการเลือกมุมบานที่ 9 องศาจะทำให้ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติของเซลล์น้อยเหมาะสำหรับการใช้ในการคัดแยกอนุภาคและเซลล์

3.2.2.2 ความยาวของช่องทางออก

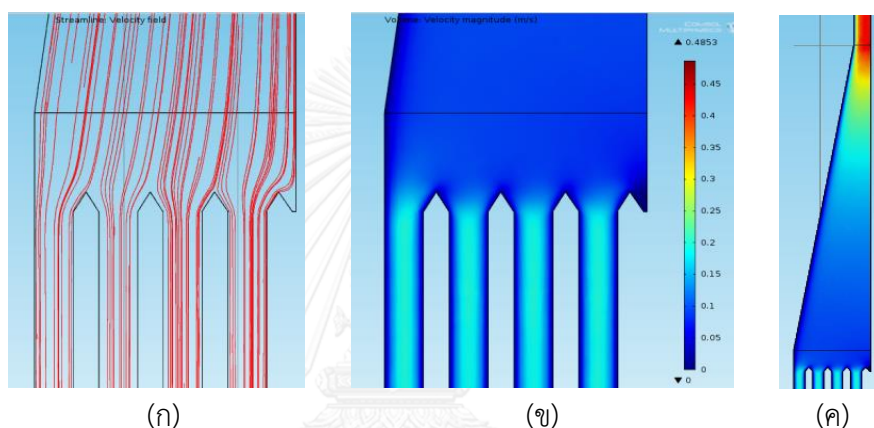
หลังจากการเลือกมุมบานของท่อทางออกแล้วในส่วนนี้จะลองปรับความยาวของช่องทางออก จาก 720 ไมโครเมตรลดลงเหลือ 360 ไมโครเมตร ที่มุมบาน 9 องศา ความกว้าง 170 ไมโครเมตร หลังจากจำลองการไหลในโปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่าขนาดของความเร็วไม่สูงมากดังรูปที่ 3.18 แต่เมื่อจำลองเส้นทางการไหลภายในท่อแล้ว พบว่าการไหลเข้าสู่ช่องทางออกมีการกระจายตัวไม่เท่ากันในแต่ละช่อง จากรูปที่ 3.18ก แสดงการไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 1 และ 3 ใกล้เคียงกัน แต่สำหรับช่องทางออกที่ 2 นั้นมีการไหลเข้าช่องน้อยกว่าช่องอื่น ซึ่งเกิดจากความยาวของช่องทางออกสั้นเกินไปจึงเป็นสาเหตุทำให้การกระจายตัวของของไหลในแต่ละช่องมีค่าน้อยไม่เท่ากัน ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าความยาวช่องทางออก 360 ไมโครเมตร สั้นเกินไปไม่เหมาะสมสำหรับการคัดแยกของงานวิจัยนี้



รูปที่ 3.18 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา และความยาวท่อ 360 ไมโครเมตร (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม

3.2.2.3 ความกว้างของช่องทางออก

ในส่วนนี้เป็นส่วนสุดท้ายของการปรับขนาดท่อทางออก ซึ่งส่วนนี้จะลองปรับความกว้างของช่องทางออกจาก 170 ไมโครเมตรเพิ่มขนาดเป็น 190 ไมโครเมตร ที่มุมบาน 9 องศา ความยาว 720 ไมโครเมตร หลังจากจำลองการไหลในโปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่าขนาดของความเร็วสูงเพิ่มมากขึ้น ดังรูปที่ 3.19 และของไหลเกิดการกระจายตัวช่องทางออกไม่เท่ากันในแต่ละช่อง อาจส่งผลให้ออนุภาคหรือเซลล์ไหลรวมเข้าไปช่องเดียวกันเป็นจำนวนมากและเมื่อความกว้างของช่องการไหลกว้างก็จะทำให้พื้นที่ผนังแคบลง อาจส่งผลต่อความแข็งแรงของชิป จึงทำให้สรุปได้ว่าความกว้างของช่องทางออกควรมีขนาด 170 ไมโครเมตร



รูปที่ 3.19 การจำลองของไหลในทิศทางการไหลของท่อมุมบานบริเวณช่องทางออก 9 องศา และความกว้าง 190 ไมโครเมตร (ก) เส้นทางการไหล, (ข) ขนาดความเร็วตามทิศทางการไหลที่บนหน้าตัด 30 ไมโครเมตรจากพื้นและ (ค) ขนาดของความเร็วรวม

เมื่อเปรียบเทียบผลจำลองในคอมพิวเตอร์ทำให้ได้พารามิเตอร์ตั้งแต่บริเวณท่อตรงเป็นต้นไปจนถึงช่องทางออกในแต่ละช่อง ซึ่งท่อทั้งหมดนี้มีความสูง 500 ไมโครเมตร ความกว้าง 130 ไมโครเมตร ความยาวของช่องทางออก 720 ไมโครเมตร ที่มุมบาน 9 องศา และความกว้างช่องทางออกช่องละ 170 ไมโครเมตร

3.3 สรุปผล

ในบทนี้ได้ใช้การคำนวณทางคอมพิวเตอร์ในการออกแบบอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียว ซึ่งก่อนการออกแบบได้ทดลองจำลองการไหลภายในท่อกับงานวิจัยของ Jae-Sung Park et al., (2008)^[16] เพื่อใช้ยืนยันความถูกต้องของการคำนวณทางคอมพิวเตอร์นี้ ก่อนนำไปใช้ออกแบบอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียว ซึ่งเป็นการไหลภายในท่อขนาดพื้นที่หน้าตัดของท่อ 200x50 ไมโครเมตรและช่องทางไหล

40x50 ไมโครเมตร โดยเป็นรูปแบบการไหลแบบราบเรียบ การทดลองที่อัตราการไหลของค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 16, 47, 78 และ 109 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าผลการจำลองทางคอมพิวเตอร์ของงานวิจัยนี้มีรูปร่างการไหลภายในท่อคล้ายคลึงกับงานวิจัยในอดีต ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าการกำหนดตัวแปรที่เกี่ยวข้องในการจำลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์นั้นถูกต้องและเหมาะสม

จากการที่ได้ศึกษาหลักการการทำงานและขอบเขตขนาดของอนุภาคและเซลล์ที่ต้องการจะคัดแยกแล้ว เราสามารถสรุปการออกแบบอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียวได้ดังนี้คือท่อแบบพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร เหมาะสำหรับการนำไปใช้คัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ที่มีขนาดหลากหลายได้ จากนั้นกำหนดจำนวนท่อโค้งจำนวน 5 รอบโดยมีรัศมีความโค้งเท่ากับ 0.75 เซนติเมตร ซึ่งจากการจำลองการไหลภายในท่อด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่าบริเวณท่อมุมบานขนาด 9 องศา ความยาวช่องทางออก 720 ไมโครเมตร มีช่องทางออกทั้งหมด 10 ช่องทางและความกว้างช่องละ 170 ไมโครเมตร น่าจะมีความเหมาะสมในสำหรับการคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ได้ดี เนื่องจากของไหลภายในท่อมีการกระจายตัวในแต่ละช่องทางได้ดีและมีความเร็วไม่สูงมากในแต่ละช่องทางออก อย่างไรก็ตามความเค้นเฉือนยังคงค่อนข้างมีขนาดสูงอยู่ ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อสมบัติของเซลล์ได้

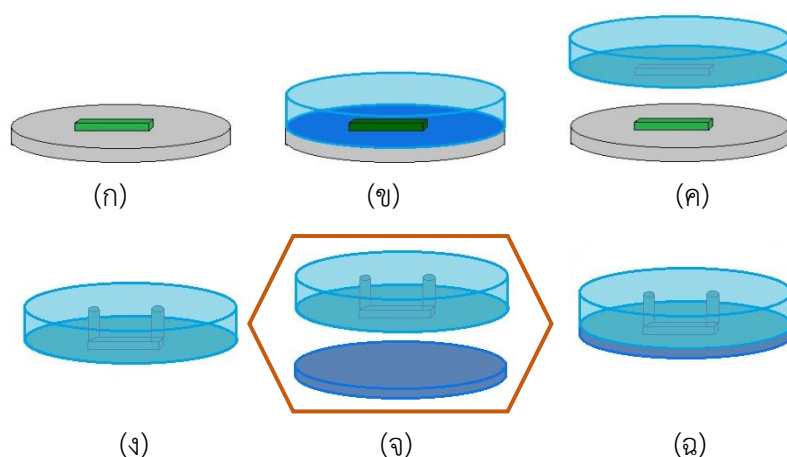
บทที่ 4 การเรียงตัวของอนุภาค

หลังจากการออกแบบอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวด้วยคอมพิวเตอร์แล้ว ในบทนี้จะอธิบายถึงกระบวนการสร้าง ขั้นตอนการทดลองและบันทึกภาพการจัดเรียงตัวของอนุภาคหรือเซลล์ ประกอบด้วยคือ 1. เม็ดโพลีเมอร์ 2. เซลล์เม็ดเลือด และ 3. เซลล์มะเร็ง ซึ่งจะอธิบายอย่างละเอียดเพื่อให้ทราบถึงลำดับการทดลอง จนถึงรวบรวมผลการทดลองและนำผลมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆอีกด้วย โดยเริ่มจากหัวข้อดังต่อไปนี้

4.1 กระบวนการสร้างชิพ

หลังจากขั้นตอนการออกแบบรูปร่างและขนาดของอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวแล้วถึงขั้นตอนต่อไปคือการสร้างอุปกรณ์ ซึ่งกระบวนการในการสร้างชิพอาศัยเทคโนโลยี Soft lithograph แสดงดังรูปที่ 4.1 โดยเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างสูงในปัจจุบัน เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ โดยอุปกรณ์ทำมาจากวัสดุพอลิเมอร์กับกระจก ซึ่งมีความทนทานต่อสารเคมีสูง

โดยการสร้างแบบแม่พิมพ์ตามขนาดและรูปร่างที่ต้องการ ส่วนใหญ่แล้วจะทำจากซิลิกอน จากนั้นนำโพลีเมอร์ Polydimethylsiloxane หรือเรียกว่า PDMS เทลงบนแบบแม่พิมพ์ จากนั้นนำชิ้นงานเข้าเตาอบด้วยอุณหภูมิ 60 – 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกมาตั้งทิ้งไว้รอจน PDMS เย็นตัวแล้วจึงแกะออกจากแบบแม่พิมพ์ นำฐานกระจกมาประกบกับชิ้นงาน PDMS ด้วย

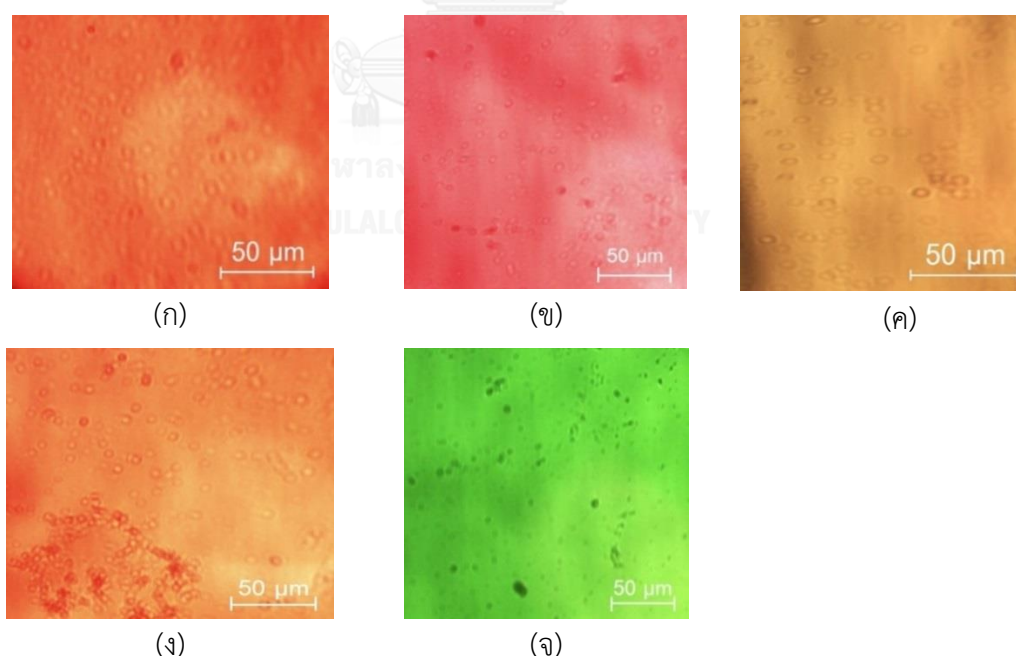


รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียว (ก) การเตรียมแม่พิมพ์ซิลิกอน (ข) การเทโพลีเมอร์ลงบนแบบแม่พิมพ์ (ค) ถอดแบบออกจากแม่พิมพ์ (ง) ต่อดำยท่อทางเข้าและทางออก (จ) เข้าสู่การทำออกซิเจนพลาสมา และ (ฉ) ประกบชิ้นงานเข้ากับกระจก

เทคนิคออกซิเจนพลาสมา ต่อมานำชิ้นงานต่อเข้ากับท่อสายยางเพื่อเป็นช่องทางเข้าและทางออก
ชั้นตอนสุดท้ายนำชิ้นงานไปอบอีกครั้งเป็นเวลา 1.20 ชั่วโมงเพื่อให้ชิ้นงานหลอมบริเวณข้อต่อของท่อ
สายยาง

4.2 การเปรียบเทียบสีของสารละลาย

ในการทดลองการคัดแยกอนุภาคนั้นต้องถ่ายภาพการจัดเรียงของอนุภาคภายในท่อจาก
มุมมองด้านบน ตัวแปรที่ทำให้ภาพเห็นได้ชัดคือสีของของเหลวที่ใช้ในการทดลองกับอนุภาค ผู้วิจัยจึง
นำน้ำปราศจากไอออนที่มีความบริสุทธิ์สูง (Deionized water) ผสมกับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10
ไมโครเมตร เพื่อเป็นตัวอย่างสารละลาย จากนั้นนำสารละลายมาผสมกับสีผสมอาหารสีต่างๆคือ สี
เหลือง สีส้ม สีแดงและสีชมพู ด้วยอัตราส่วนน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1 ลิตรต่อด้วยสีผสมอาหาร
2 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างสามารถละลายสีต่างๆ มาหยดใส่กระดาษ แล้วจึงนำมาส่งกล้องจุลทรรศน์
เพื่อเปรียบเทียบหาสีที่สามารถมองเห็นที่ชัดเจนที่สุด แสดงดังรูปที่ 4.2 จากการสังเกตพบว่าสีเขียว
เป็นสีที่ทำให้เห็นเม็ดโพลีเมอร์ได้ชัดเจนที่สุด เมื่อแสงที่ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แล้วสารละลายสีเขียว
ไม่กลืนไปกับแสง ทำให้อนุภาคนั้นเห็นเป็นสีทึบ จึงสามารถมองเห็นอนุภาคในสารละลายสีเขียวได้
ชัดเจนมากกว่าสีผสมอาหารสีอื่น

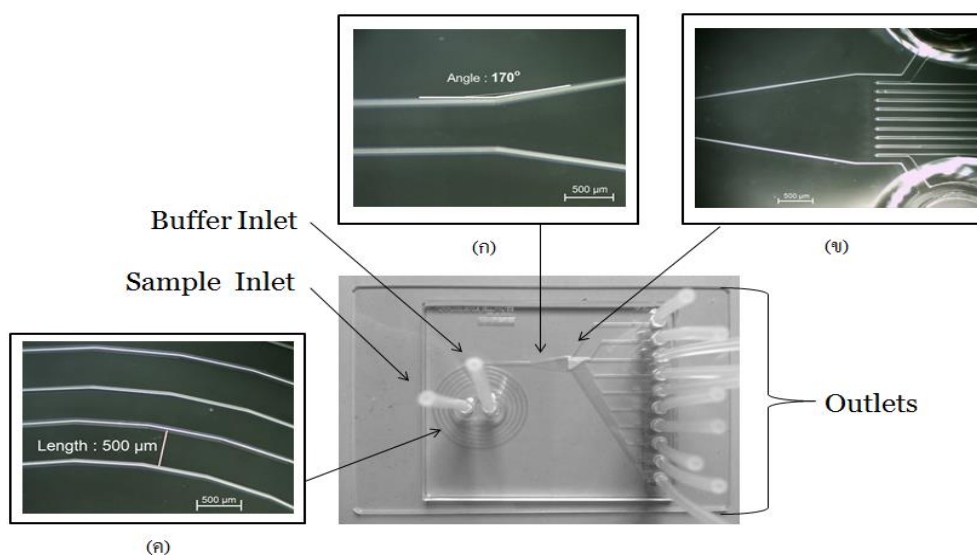


รูปที่ 4.2 ภาพตัวอย่างสารละลายที่ผสมกับสีผสมอาหารสีต่างๆ (ก) สีแดง (ข) สีชมพู (ค) ไม่
ผสมสี (ง) สีเหลืองและ (จ) สีเขียว

4.3 ขั้นตอนการเตรียมการทดลอง

4.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

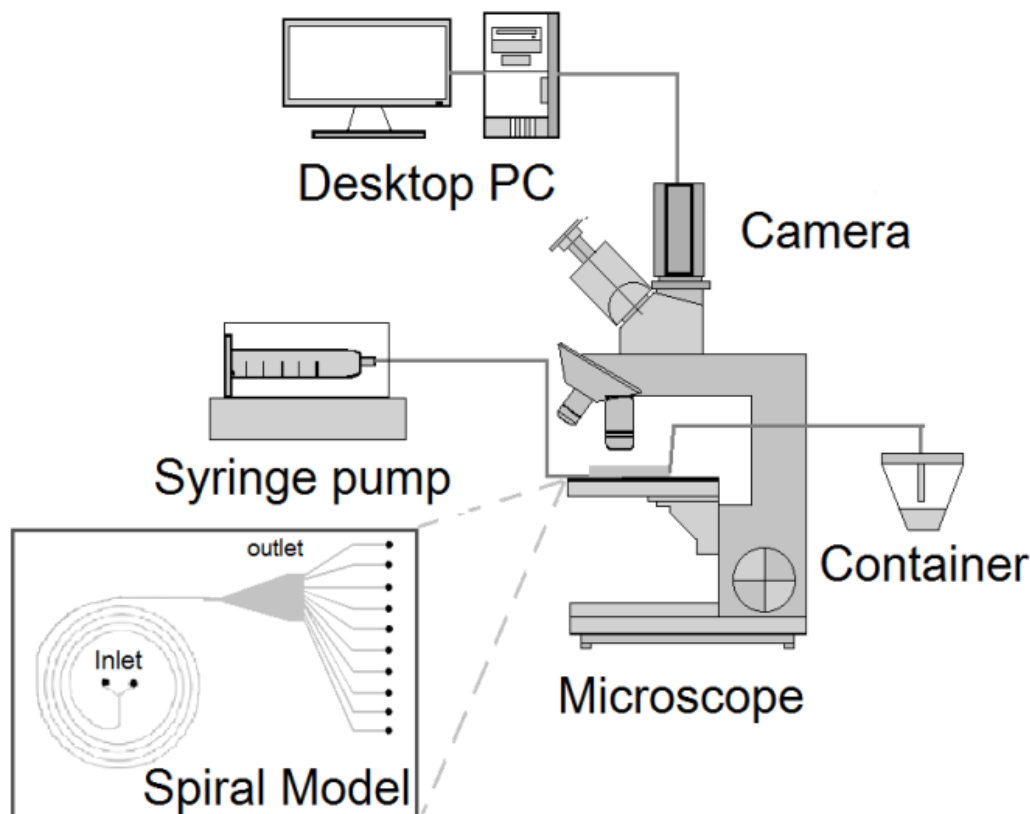
ชิ้นงานประกอบไปด้วยท่อที่มีความกว้าง 500 ไมโครเมตร ความสูง 130 ไมโครเมตร มีช่องทางเข้าสองทางสำหรับสารละลายพสมเม็ดโพลีเมอร์และสารละลายบัฟเฟอร์ และมีการขดเป็นวงกลมซ้อนกันในลักษณะรูปก้นหอยจำนวน 5 รอบโดยมีรัศมีความโค้งเฉลี่ยประมาณ 0.75 เซนติเมตร ก่อนส่วนช่องทางออกจะมีการขยายพื้นที่หน้าตัดการไหลให้ใหญ่ขึ้นก่อนจะนำเข้าสู่ช่องทางออกจำนวน 10 ช่อง รูปที่ 4.3ก-ค แสดงภาพถ่ายของระบบท่อขดเกลียวและภาพขยายในส่วนท่อโค้งและท่อตรงบริเวณใกล้กับทางออก



รูปที่ 4.3 อุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคแบบขดเกลียว (ก) ส่วนท่อตรงบริเวณทางออก (ข) ท่อบานบริเวณทางออกและ (ค) ส่วนของโค้งบริเวณท่อขดแบบเกลียว

4.3.1.1 ชุดทดลอง

ขั้นตอนการติดตั้งชุดทดลองจากภาพที่ 4.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย คอมพิวเตอร์และกล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพและบันทึกภาพ อุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคแบบขดเกลียวพร้อมสายยางต่อช่องทางเข้าและช่องทางออก อุปกรณ์หลอดฉีดยาและเข็มฉีดยา ภาชนะสำหรับผสมสารละลายทั้งสามชนิด ในการทดลองนี้จะใช้เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร สำหรับจำลองเป็นเซลล์ และใช้น้ำกรองปราศจากไอออนและสีผสมอาหารเป็นสารละลายบัฟเฟอร์



รูปที่ 4.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

4.3.1.2 สารละลายในการทดลอง

- สารละลายทำความสะอาด

สารละลายจะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออนที่มีความบริสุทธิ์สูง (Deionized water) มาผสมกับสารลดแรงตึงผิวในอัตราส่วนเชิงปริมาตร 1 : 10 ส่วน เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยลดการยึดติดเป็นกลุ่มของเม็ดโพลีเมอร์และการเกิดฟองอากาศลงได้

- สารละลายผสมเม็ดโพลีเมอร์

สารละลายนี้จะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออน กับเม็ดโพลีเมอร์ ซึ่งเม็ดโพลีเมอร์ที่ใช้ในการทดลองนั้นมีความเข้มข้นต่างกัน เมื่อนำสารละลายมาหยดลงบนกระจกและใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู จะพบว่าเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 และ 10 ไมโครเมตร มีความหนาแน่นต่อพื้นที่ 3.6×10^3 อนุภาคต่อตารางมิลลิเมตร แต่สำหรับโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตร มีความหนาแน่น 1.0×10^4 อนุภาคต่อตารางมิลลิเมตร ก่อนการทดลองจึงต้องผสมสารละลายที่ใช้กับสารละลายสัผสมอาหารด้วยอัตราส่วนต่างกันเพื่อปรับความเข้มข้นให้ใกล้เคียงกันสัผสมอาหารที่เลือกใช้มีสีเขียวนเนื่องจากถ่ายภาพจากการทดลองแล้วเห็นอนุภาคชัดเจนที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสีอื่น

- สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายนี้จะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออนอย่างเดียว ซึ่งจะใช้ทดลองคู่กับสารละลายผสมเม็ดโพลีเมอร์ที่อัตราการไหลเท่ากัน

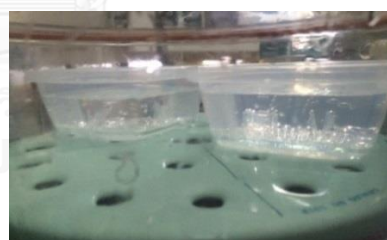
4.4 ขั้นตอนการทดลอง

ก่อนเริ่มทำการทดลองมีขั้นตอนที่สำคัญคือการเตรียมชิพ โดยการนำอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวมาใส่ในภาชนะพร้อมกับเติมน้ำปราศจากไอออนและต่อเข้ากับปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งวัตถุประสงค์ของการเตรียมชิพเพื่อให้น้ำไหลเข้าสู่ชิพสามารถป้องกันการเกิดฟองอากาศระหว่างการทดลองได้แสดงขั้นตอนดังรูปที่ 4.5

ขั้นตอนต่อไปคือการประกอบชุดทดลองเข้าด้วยกัน โดยนำชิ้นงานท่อชุดเกลียวมาต่อท่อสายยางสำหรับช่องทางเข้าช่องและทางออก อีกปลายหนึ่งของท่อสายยางต่อทางเข้านั้นต่อเข้ากับกระบอกฉีดยาที่บรรจุสารทั้งสองหลอดคือ สารละลายผสมเม็ดโพลีเมอร์และสารละลายบัฟเฟอร์ และสำหรับปลายท่อสายยางด้านทางออกต่อเข้ากับภาชนะเก็บสารละลาย ในการควบคุมอัตราการไหลในการทดลองจะนำกระบอกเข็มฉีดยาต่อเข้ากับ syringe pump แล้วจับ syringe pump ตั้งเอียงให้ด้านปลายเข็มฉีดยาคว่าหน้าลง เพื่อให้เม็ดโพลีเมอร์ไหลออกจากกระบอกฉีดยาอย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากในการทดลองเม็ดโพลีเมอร์จะตกตะกอนค่อนข้างเร็ว



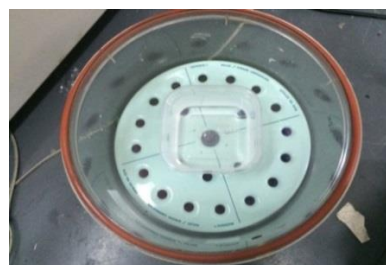
(ก)



(ข)



(ค)



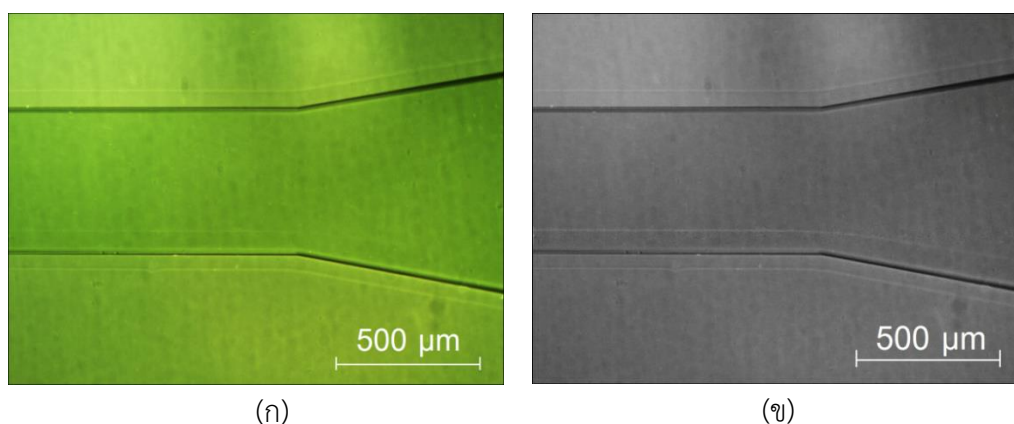
(ง)

รูปที่ 4.5 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ก่อนทำการทดลอง (ก) นำอุปกรณ์ใส่ลงในน้ำปราศจากไอออน (ข) นำอุปกรณ์ใส่ในภาชนะปิด (ค) ต่ออุปกรณ์เข้ากับปั๊มสุญญากาศและ (ง) หลังจากนำชิ้นงานออกจากภาชนะปิด

ระหว่างทำการทดลองสามารถบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ซึ่งได้ติดตั้งกล้องบันทึกภาพร่วมกับคอมพิวเตอร์ ในการทดลองใช้กล้องที่มีความละเอียด 3 ล้านพิกเซลและความไว 8 เฟรมต่อวินาที จากนั้นปรับระยะโฟกัสของภาพและกำลังขยายให้เหมาะสม เพื่อให้ให้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในชิ้นงานได้อย่างชัดเจน ตามปกติภายในชิ้นงานจะมีอากาศอยู่จึงจำเป็นต้องไล่อากาศโดยการฉีดสารละลายทำความสะอาดเข้าไปภายในระบบเสียก่อน จากนั้นจึงเริ่มการทดลองและบันทึกภาพ

ในการทดลองใช้เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร และใช้อัตราการไหลรวมระหว่างสารละลายผสมเม็ดโพลีเมอร์และสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลในแต่ละครั้งจำเป็นต้องรอให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่สภาวะสมดุลเสียก่อนจึงจะสามารถบันทึกภาพ โดยในแต่ละการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลต้องรออย่างน้อย 15 วินาที จึงจะได้ผลการทดลองที่มีคลาดเคลื่อนน้อย จากนั้นบันทึกภาพที่บริเวณท่อทางตรงก่อนถึงส่วนขยายของท่อทางออก หลังจากการทดลองจึงนำภาพจากการทดลองมาตกแต่งในคอมพิวเตอร์ปรับให้เป็นภาพสีขาวดำ ลดสีเหลืองภายในภาพและเพิ่มความสว่างของสีบริเวณเส้นการไหลของเม็ดโพลีเมอร์เพื่อให้ภาพจากการทดลองนั้นเห็นชัดยิ่งขึ้น ซึ่งการเปรียบเทียบระหว่างรูปถ่าย และรูปที่ปรับสีแสดงไว้ในรูปที่ 4.6-ข

ในการหาตำแหน่งสมดุล จะเลือกภาพการทดลองที่อัตราการไหลเดียวกันและขนาดเม็ดโพลีเมอร์เท่ากันมาวัดระยะห่างของเส้นแนวทางการไหลของเม็ดโพลีเมอร์กับผนังท่อด้านในเป็นจำนวน 5 ภาพ แล้วจึงนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของข้อมูล เพื่อนำไปสร้างกราฟแสดงในผลการทดลองต่อไป



รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ก) ภาพจากกล้อง (ข) ภาพที่ผ่านการตกแต่งภาพและนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง

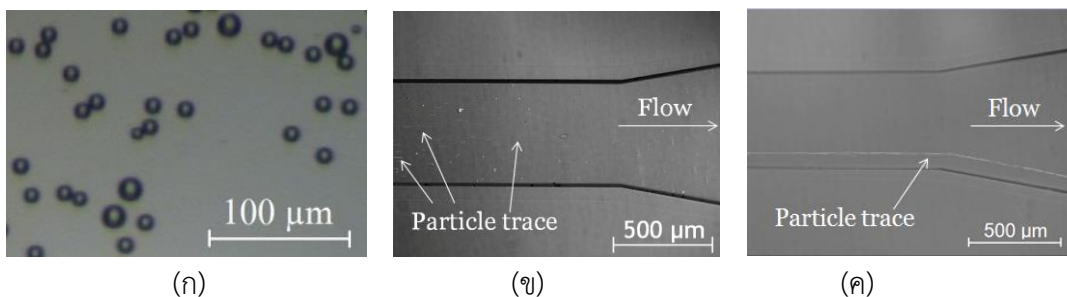
4.5 การทดลองกับเม็ดพลาสติก

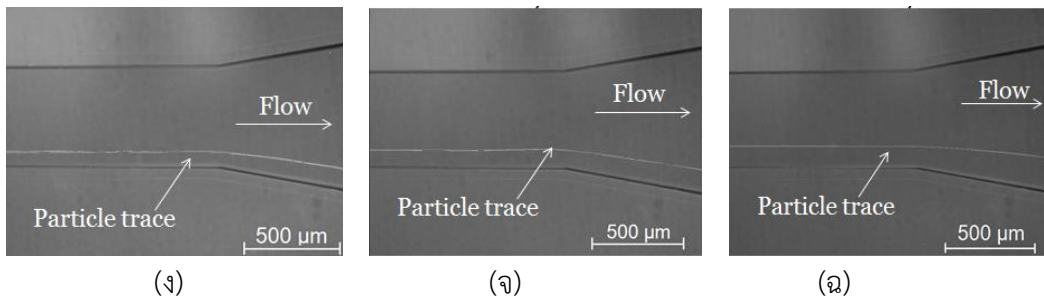
4.5.1 การทดลองเม็ดโพลีเมอร์เดี่ยว

การทดลองนี้ได้ใช้เม็ดโพลีเมอร์เดี่ยวขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร โดยอนุภาคขนาดต่างๆแสดงดังรูปที่ 4.7ก หลังจากการทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์ทุกขนาดพบว่า การเคลื่อนที่ของอนุภาคนั้นจะเรียงตัวไม่เป็นระเบียบหากอัตราการไหลต่ำกว่า 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งอนุภาคจะมีการเคลื่อนที่สลับไปมาโดยสังเกตได้จากแนวทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีหลายเส้น ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่าที่อัตราการไหลต่ำกว่า 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ไม่เหมาะในการคัดแยกอนุภาค

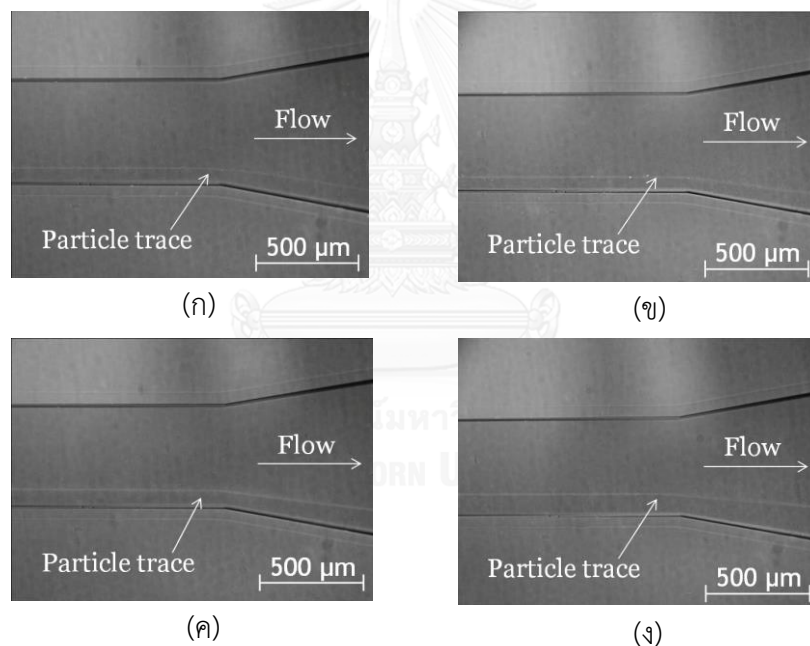
เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่อัตราการไหลตั้งแต่ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาทีขึ้นไป พบว่าสำหรับอนุภาคเดี่ยวขนาด 5 ไมโครเมตร มีลักษณะการไหลเป็นการกระจายตัวไม่เป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหลแสดงดังรูปที่ 4.7ข เนื่องจากค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคกับความสูงของท่อขดเกลียวมีค่าเพียง 0.038 ซึ่งต่ำกว่าเงื่อนไขที่จะเกิดการเรียงตัวของอนุภาค ตามที่มีรายงานในงานวิจัยในอดีต

สำหรับการทดลองกับอนุภาคเดี่ยวขนาด 10 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้นของอนุภาค 4×10^3 beads/mL พบว่าลักษณะการไหลมีการเคลื่อนที่เป็นแนวเส้นตรงเรียงเป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหล ซึ่งระยะห่างระหว่างผนังเกลียวและค่าความแปรปรวนของระยะห่างคือ 76 ± 2 ไมโครเมตร, 78 ± 3 ไมโครเมตร, 91 ± 2 ไมโครเมตร และ 108 ± 3 ไมโครเมตร สำหรับอัตราการไหล 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับแสดงในรูปที่ 4.7ค-ง และสำหรับการทดลองอนุภาคเดี่ยวขนาด 15 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 2×10^3 beads/mL ก็พบการเรียงตัวเช่นกันดังแสดงในรูปที่ 4.8ก-ง โดยมีระยะห่างระหว่างผนังเกลียวและค่าความแปรปรวนของระยะห่างคือ 48 ± 2 ไมโครเมตร, 55 ± 3 ไมโครเมตร, 74 ± 2 ไมโครเมตร และ 77 ± 2 ไมโครเมตร ตามลำดับอัตราการไหลตั้งแต่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที



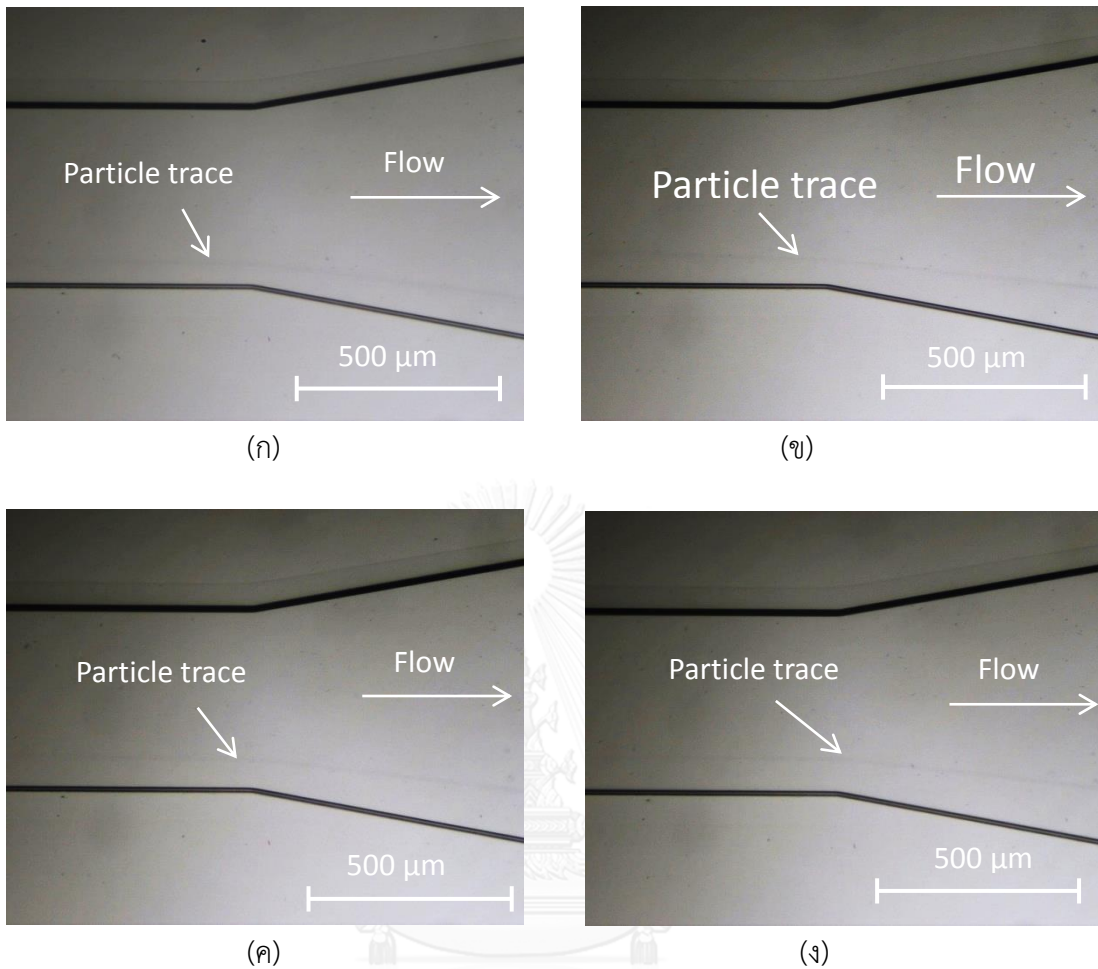


รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ง) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร (ข) อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่แบบไม่เรียงตัว (ค) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ง) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (จ) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ (ฉ) อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที



รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายจากการทดลองอนุภาค 15 ไมโครเมตร (ก) ที่ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ข) ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) ที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ (ง) ที่ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

จากนั้นได้ลองทดลองกับอนุภาคเดี่ยวขนาด 20 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 45×10^3 beads/mL พบว่าลักษณะการไหลมีการเคลื่อนที่เป็นแนวเส้นตรงเรียงเป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหล ซึ่งระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของระยะห่างคือ 52 ± 2 ไมโครเมตร, 58 ± 3 ไมโครเมตร, 68 ± 3 ไมโครเมตร และ 72 ± 2 ไมโครเมตร สำหรับอัตราการไหล 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ดังรูปที่ 4.9 ตามลำดับ

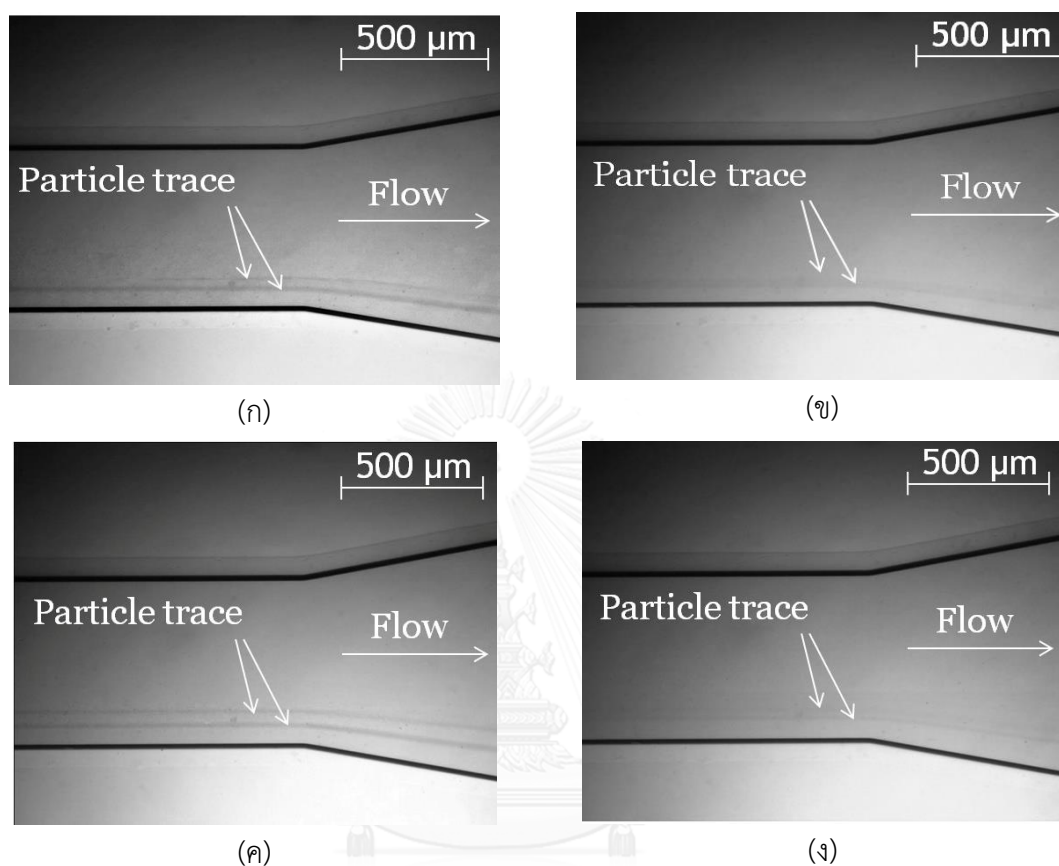


รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากการทดลองอนุภาค 20 ไมโครเมตร (ก) ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตร ต่อนาที (ข) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) ที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาทีและ (ง) ที่อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

4.5.2 การทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์แบบผสม

ในการทดลองนี้ใช้เม็ดโพลีเมอร์แค่สองขนาดคือ 10 และ 15 ไมโครเมตร มาผสมกันและทำการทดลองที่อัตราการไหลคือ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที เช่นเดิม จากการทดลองพบว่าอนุภาคขนาด 10 และ 15 ไมโครเมตร จะมีการเรียงตัวของเม็ดโพลีเมอร์ โดยมีระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของระยะห่างคือ 75 ± 4 ไมโครเมตร, 77 ± 1 ไมโครเมตร, 93 ± 8 ไมโครเมตร และ 107 ± 3 ไมโครเมตร ตามลำดับอัตราการไหลสำหรับอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร และระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของระยะห่างคือ 51 ± 4 ไมโครเมตร, 55 ± 1 ไมโครเมตร, 72 ± 2 ไมโครเมตร และ 74 ± 1 ไมโครเมตร ตามลำดับอัตราการ

ไหลสำหรับอนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร รูปที่ 4.10 แสดงตัวอย่างของการจัดเรียงตัวของอนุภาคที่อัตราการไหล 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

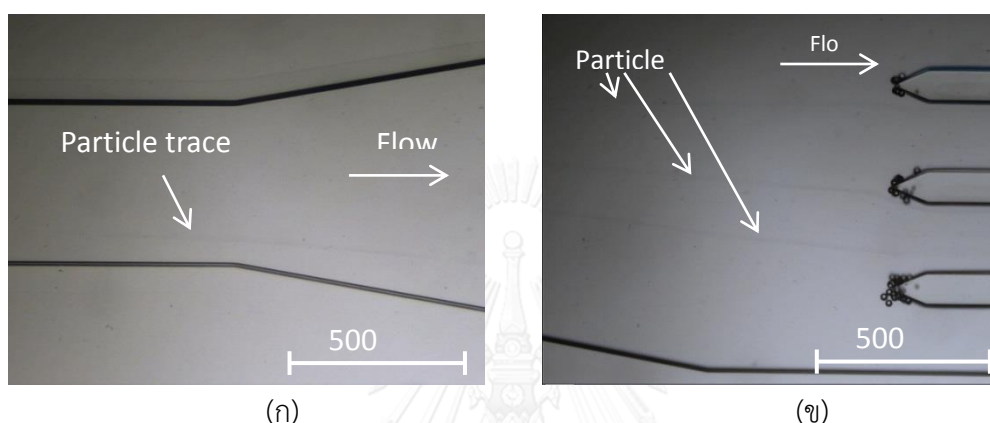


รูปที่ 4.10 การไหลของอนุภาคแบบผสมที่มีขนาด 10 และ 15 ไมโครเมตร (ก) ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ข) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ (ง) อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

เมื่อเปรียบเทียบระยะห่างจากผนังที่วัดได้จากผลการทดลองของเม็ดโพลีเมอร์แบบเดี่ยวและแบบผสมจะพบว่าเม็ดอนุภาคขนาดใหญ่จะมีระยะห่างระหว่างผนังที่ต่อต้านในกับการไหลของอนุภาคน้อยกว่าเม็ดอนุภาคขนาดเล็ก โดยเมื่อเพิ่มอัตราการไหลมากขึ้น ระยะห่างจากผนังจะเพิ่มขึ้นสำหรับทั้งสองขนาดอนุภาค และระยะดังกล่าวก็มีขนาดใกล้เคียงกันมากสำหรับทั้งสองการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลของแรงกระทำระหว่างสองอนุภาคน้อยมาก สำหรับระยะห่างระหว่างสองอนุภาคมีระยะประมาณ 20-30 ไมโครเมตร ที่ทุกอัตราการไหล

สำหรับในการทดลองสุดท้ายนี้ได้ทำการทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์ผสมกันของขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้นขนาดละ 45,250 beads/mL ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1.0

mL/min พบว่าในบริเวณท่อทางตรงนั้นได้เห็นกลุ่มของเม็ดโพลีเมอร์เคลื่อนที่เป็นกลุ่มดังรูปที่ 4.11ก และได้แยกออกเป็นการเรียงตัวทั้งหมด 3 เส้น ซึ่งได้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาดต่างกันสองเส้นเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 และอีกการเคลื่อนที่ของอนุภาคได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 แสดงดังรูปที่ 4.11ข ในเบื้องต้นได้สันนิษฐานว่าจะเป็นการเคลื่อนที่ของขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรตามลำดับ แต่จะสามารถยืนยันผลการทดลองได้จากการนับอนุภาคที่ช่องทางออกในบทต่อไปอีกครั้งหนึ่ง



รูปที่ 4.11 การไหลของอนุภาคแบบผสมที่มีขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) แสดงการเคลื่อนที่ของอนุภาคเป็นกลุ่มและ (ข) การเคลื่อนที่ของอนุภาคสู่ช่องทางออกที่ 2 กับ 3

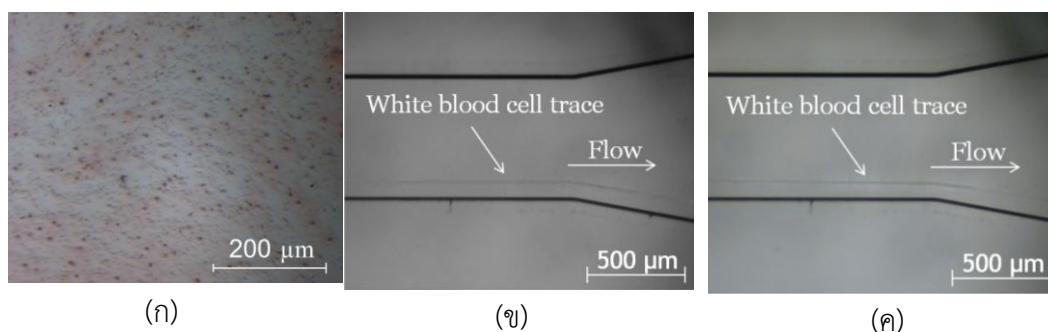
4.6 การทดลองกับเซลล์จริง

หลังจากการทดลองหาความสัมพันธ์ทางอัตราของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคกับความสูงของท่อด้วยเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร จนพบสามารถเห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีขนาดต่างๆเป็นแนวการเคลื่อนที่บริเวณท่อตรง มีระยะห่างจากผนังท่อด้านในแยกออกมาอย่างชัดเจนแล้ว ในส่วนนี้เราจึงเริ่มการทดลองกับเซลล์ของจริงที่มีขนาดใกล้เคียงกับเม็ดโพลีเมอร์ในการทดลองเบื้องต้น

4.6.1 การทดลองคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง

ในการทดลองนี้สารละลายที่ใช้ในการทดลองคือเซลล์เม็ดเลือดแดงขนาดประมาณ 8 ไมโครเมตร และเซลล์เม็ดเลือดขาวขนาด 7-12 ไมโครเมตร ด้วยความสัมพันธ์ทางอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์กับความสูงของท่อขดเกลียว ของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีค่าเพียง 0.062 ซึ่งต่ำกว่าเงื่อนไขที่จะเกิดการเรียงตัวของเซลล์ แล้วจะสามารถแยกได้เพียงเซลล์เม็ดเลือดขาวซึ่งมีค่าอัตราส่วนมากกว่า 0.07 ที่ความเข้มข้นของเซลล์ 2.5×10^7 และ 3.5×10^4 cells/mL แสดงดังภาพที่

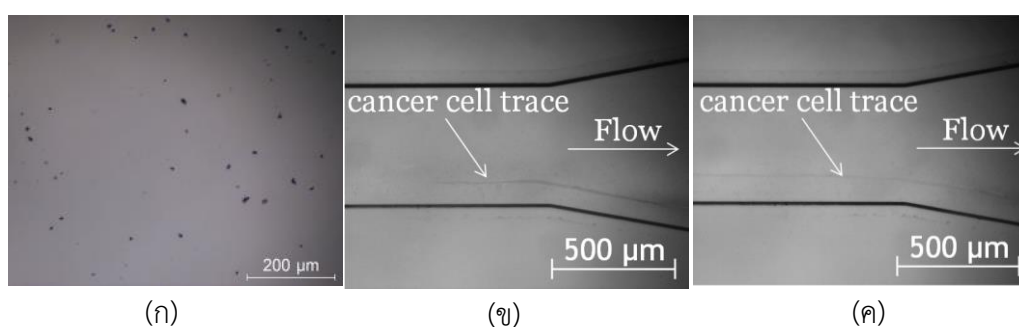
4.12ก แต่ในกรณีที่อัตราการไหลที่ 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที เท่านั้นจึงจะพบการเรียงตัวของเซลล์ได้อย่างชัดเจน แสดงดังรูปที่ 4.12ข-ค



รูปที่ 4.12 ภาพการไหลของเซลล์เม็ดเลือดขาว (ก) ภาพเซลล์เม็ดเลือดขาวขนาด 7-12 ไมโครเมตร และเซลล์เม็ดเลือดแดงขนาดประมาณ 8 ไมโครเมตร (ข) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และ(ค) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

4.6.2 การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็ง

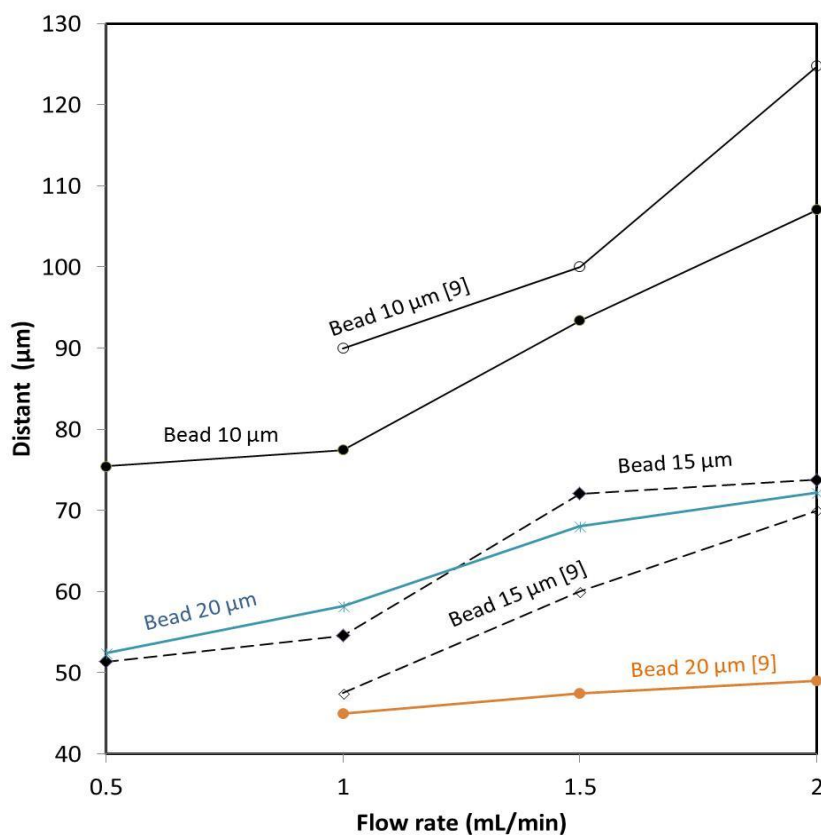
ในการทดลองนี้สารละลายที่ใช้ในการทดลองคือเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของแมวขนาด 10-12 ไมโครเมตร ด้วยความสัมพันธ์ทางอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์กับความสูงของท่อขดเกลียวมีค่า 0.077 ซึ่งผ่านเงื่อนไขที่จะเกิดการเรียงตัวของเซลล์จะสามารถแยกได้ ที่ความเข้มข้นของเซลล์ 4×10^4 cells/mL แสดงดังภาพที่ 4.13ก แต่ในกรณีที่อัตราการไหลที่ 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที เท่านั้นจึงจะพบการเรียงตัวของเซลล์ได้อย่างชัดเจนเช่นเดียวกับการทดลองคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวแสดงดังรูปที่ 4.13ข-ค



รูปที่ 4.13 ภาพการไหลของเซลล์มะเร็ง(ก) ภาพเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10-12 ไมโครเมตร (ข)อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และ(ค)อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

4.7 การเปรียบเทียบระหว่างเม็ดพลาสติกกับจากการศึกษาต่างๆ

เมื่อนำผลการทดลองการเรียงตัวของอนุภาคเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Kuntaegowdanahalli et al. [9] ดังแสดงในรูปที่ 4.14 ซึ่งใช้อุปกรณ์คัดแยกรูปร่างขดเกลียว ความกว้างท่อ 500 ไมโครเมตร ความสูงท่อ 130 ไมโครเมตรเช่นเดียวกัน ซึ่งความแตกต่างของงานวิจัยปัจจุบันกับงานวิจัยในอดีตคือรัศมีความโค้งของอุปกรณ์ไม่เท่ากัน ทดลองที่อัตราการไหล 1.0 ถึง 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นความเร็วที่เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแต่ละขนาดได้แยกกันอย่างชัดเจน ถ้าหากใช้อัตราการไหลมากกว่านี้จะทำให้อนุภาคในแต่ละขนาดเคลื่อนที่เรียงตัวรวมในบริเวณกลางช่องทางการไหล ซึ่งไม่เหมาะสำหรับการคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกัน อนุภาคที่ใช้ในการเปรียบเทียบคือขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร จากการทดลองได้เห็นการเคลื่อนที่เรียงตัวของแต่ละขนาดแยกกันอย่างชัดเจน โดยอนุภาคขนาดใหญ่ที่สุดจะเคลื่อนที่ใกล้กับผนังท่อด้านในมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกันพบว่าผลการทดลองในงานนี้มีความใกล้เคียงกันผลการทดลองของงานวิจัยดังกล่าว แต่งานวิจัยในปัจจุบันยังไม่สามารถคัดแยกอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรออกจากกันได้



รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะของแนวทางการไหลของอนุภาคที่อัตราการไหลต่างๆ ของอนุภาคแบบเดี่ยวและผสมขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร

4.8 สรุปผล

หลังจากขั้นตอนการออกแบบรูปร่างและขนาดของอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์แล้วถึงขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ด้วยเทคโนโลยี Soft lithograph โดยวัสดุทำมาจากพอลิเมอร์กับกระจก ซึ่งมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำและชิ้นงานมีความทนทานต่อสารเคมีสูงอีกด้วย

การทดลองอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาการเคลื่อนที่เรียงตัวของอนุภาคหรือเซลล์ขนาดต่างๆ ภายในท่อโดยทดลองกับเม็ดพลาสติก เซลล์เม็ดเลือดและเซลล์มะเร็ง ซึ่งก่อนการทดลองนั้นมีขั้นตอนการเตรียมชิพ โดยการนำอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวมาใส่ในภาชนะพร้อมกับเติมน้ำปราศจากไอออนและต่อเข้ากับปั๊มสุญญากาศ เพื่อให้น้ำไหลเข้าสู่ชิพสามารถป้องกันการเกิดฟองอากาศระหว่างการทดลอง ในระหว่างการทดลองนี้ได้ใช้สียผสมอาหารกับน้ำปราศจากไอออน เพื่อให้เห็นการจัดเรียงตัวของอนุภาคหรือเซลล์ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น ซึ่งพบว่าเมื่อสียผสมอาหารสีเขียวนั้นทำให้เห็นการจัดเรียงตัวของอนุภาคได้ชัดเจนที่สุด

ขั้นตอนของการทดลองเริ่มจากการนำอนุภาคหรือเซลล์มาผสมกับน้ำปราศจากไอออน จากนั้นใช้ปั๊มเป็นอุปกรณ์ควบคุมอัตราการไหลของอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียว ในระหว่างการทดลองนั้นเราสามารถถ่ายภาพการเคลื่อนที่การเรียงตัวจากด้านบนด้วยกล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพการทดลองร่วมกับคอมพิวเตอร์ได้ด้วย ซึ่งได้แบ่งการทดลองเป็นทั้งหมด 3 ส่วน คือ

การทดลองการจัดเรียงตัวของเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร โดยใช้ความเข้มข้นในแต่ละขนาดเท่ากับ 2,000 beads/mL ที่อัตราการไหลเท่ากับ 0.5 – 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร มีลักษณะการกระจายตัวไม่เป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหล เนื่องจากค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคกับความสูงของท่อชุดแบบเกลียวมีค่าเพียง 0.038 แต่สำหรับอนุภาคขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร สามารถเห็นการจัดเรียงตัวภายในท่อได้อย่างชัดเจนที่อัตราการไหล 0.5 – 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

การทดลองการจัดเรียงตัวของเซลล์เม็ดเลือดขนาดประมาณ 8 ไมโครเมตร และเซลล์เม็ดเลือดขาวขนาด 7 – 12 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 2.5×10^7 และ 3.5×10^4 cells/mL ที่อัตราการไหล 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเห็นเพียงการเรียงตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว เนื่องจากมีค่าอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์กับความสูงของท่อมีค่ามากกว่า 0.07 จึงพบการเรียงตัวของเซลล์ได้อย่างชัดเจน

สุดท้ายการทดลองการจัดเรียงตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของแมวขนาด 10 – 12 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 4×10^4 cells/mL ซึ่งเห็นการจัดเรียงตัวที่อัตราการไหล 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์กับความสูงท่อมีค่าเท่ากับ 0.077

จากการทดลองเพื่อหาการจัดเรียงตัวของอนุภาคและเซลล์ทั้ง 3 การทดลองแล้วพบว่าสามารถเห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในท่อทางออกแบบท่อตรงที่อัตราการไหลตั้งแต่ 1.0 – 1.5 มิลลิเมตรต่อวินาทีได้อย่างชัดเจน จึงทำให้นำข้อมูลระยะห่างจากผนังที่ได้มาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นพบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก ในส่วนต่อไปจะนำข้อมูลไปประกอบกับการจำลองการไหลภายในท่อที่อัตราการไหลเท่ากัน เพื่อหาประสิทธิภาพการคัดแยกของอุปกรณ์โดยการนับจำนวนเซลล์ที่ช่องทางออกแต่ละช่อง



บทที่ 5

การนับจำนวนอนุภาค

หลังจากพบการเคลื่อนที่เรียงตัวของอนุภาคและเซลล์อย่างชัดเจนในการทดลองในส่วนแรกแล้ว ในบทนี้กล่าวถึงการคาดคะเนของอนุภาคไหลไปสู่ช่องทางออกด้วยคอมพิวเตอร์และเปรียบเทียบผลการคาดคะเนด้วยคอมพิวเตอร์กับผลการทดลองจริง

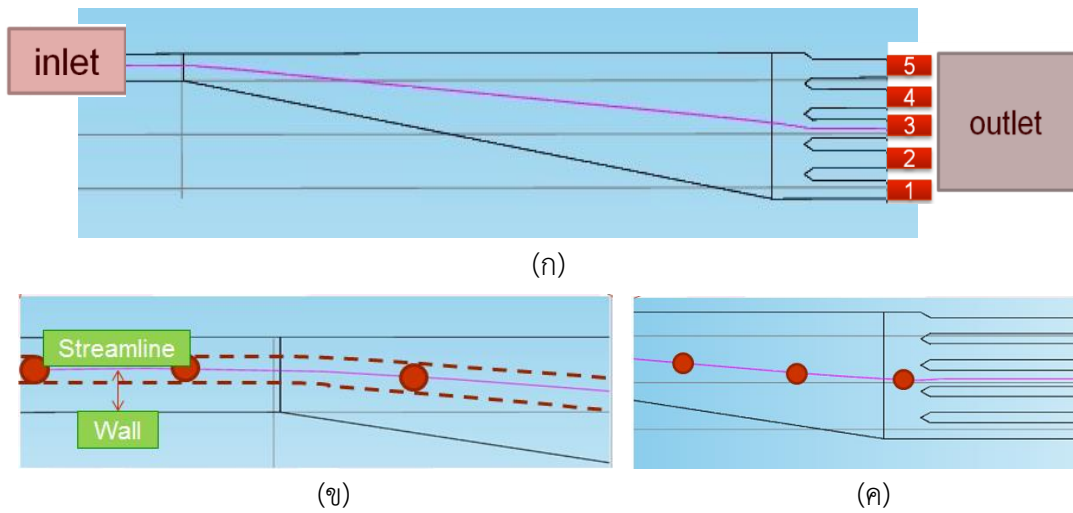
5.1 การคาดคะเนด้วยคอมพิวเตอร์

หลังจากได้พบการเรียงตัวของอนุภาคและเซลล์ที่บริเวณท่อทางตรงแล้ว จากนั้นทำการวัดระยะห่างของการเรียงตัวของอนุภาคกับผนังท่อของทุกขนาด ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ซึ่งนำข้อมูลทั้งหมดนั้นมาจำลองการไหลภายในท่อ โดยข้อมูลที่ใช้ในการคาดคะเนด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ได้เพิ่มระยะของเส้นศูนย์กลางของอนุภาคด้วย เนื่องจากภาพที่เราเห็นการเคลื่อนที่ภายในท่อนั้นเป็นการเคลื่อนที่เป็นกลุ่มของอนุภาคหรือเซลล์จึงจำเป็นต้องมีค่าวกกลับสำหรับความแม่นยำในการคาดคะเน โดยผลการคำนวณมีดังต่อไปนี้

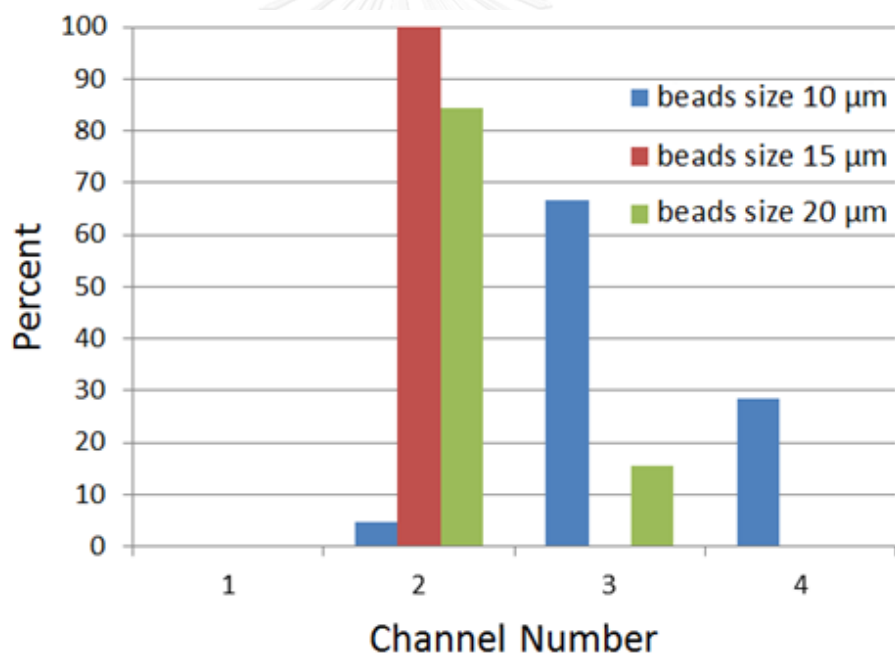
ในการทดลองที่ผ่านมาเราสามารถเก็บรวบรวมข้อมูลตำแหน่งสมดุภายในท่อของอนุภาคและเซลล์ขนาดต่างๆในบริเวณท่อตรงแล้ว ซึ่งจึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเส้นทางการไหลออกสู่ช่องทางออกหมายเลขต่างๆแสดงดังตัวอย่างรูปที่ 5.1 ขนาดของอนุภาคที่ได้จำลองคือ 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min แสดงดังรูปที่ 5.2

ตัวอย่างการคำนวณเช่น อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ได้มีระยะการเรียงตัวห่างจากผนังท่อด้านในตั้งแต่ 74 ถึง 84 ไมโครเมตร (± 5 ไมโครเมตรจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง) ซึ่งจะได้จำนวนการคำนวณทั้งหมด 21 ชุดคือระยะตั้งแต่ 69 – 89 ไมโครเมตร โดยหลังจากทำการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์แล้วจะทราบว่าในแต่ละการคำนวณอนุภาคจะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกใด สุดท้ายจึงนำข้อมูลที่อนุภาคเคลื่อนที่ออกในแต่ละช่องทางออกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

ผลการจำลองทั้งหมดพบว่าอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกหมายเลข 3 อยู่ถึง 68 เปอร์เซ็นต์ของอนุภาคทั้งหมด สำหรับอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกหมายเลข 2 อยู่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์และ 85 เปอร์เซ็นต์ของอนุภาคทั้งหมด(ตามลำดับ)



รูปที่ 5.1 การจำลองการไหลเส้นสู่ช่องทางออก (ก) จำลองบริเวณที่ตรงไปสู่ช่องทางออก (ข) แสดงบริเวณที่ตรง และ(ค) แสดงบริเวณที่ทางออก



รูปที่ 5.2 ผลการจำลองการไหลสู่ช่องทางออกต่างๆของอนุภาคขนาด 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

5.2 การนับเม็ดพลาสติกที่ช่องทางออก

หลังจากการจำลองการเคลื่อนที่ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในเบื้องต้นแล้ว ในขั้นตอนต่อไปคือการทดสอบการคัดแยกอนุภาคที่ขนาดต่างๆด้วยอุปกรณ์ที่ออกแบบเกลียว เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพของอุปกรณ์ ซึ่งอนุภาคที่ใช้คือเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรผสม

รวมเข้าด้วยกัน ความเข้มข้นแต่ละขนาดประมาณ 45,250 beads/mL ซึ่งทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min โดยอุปกรณ์ประกอบด้วยท่อทางเข้า 2 ช่องทางและช่องทางออกรวม 10 ช่องทางตามที่ได้ ออกแบบไว้ในเบื้องต้น

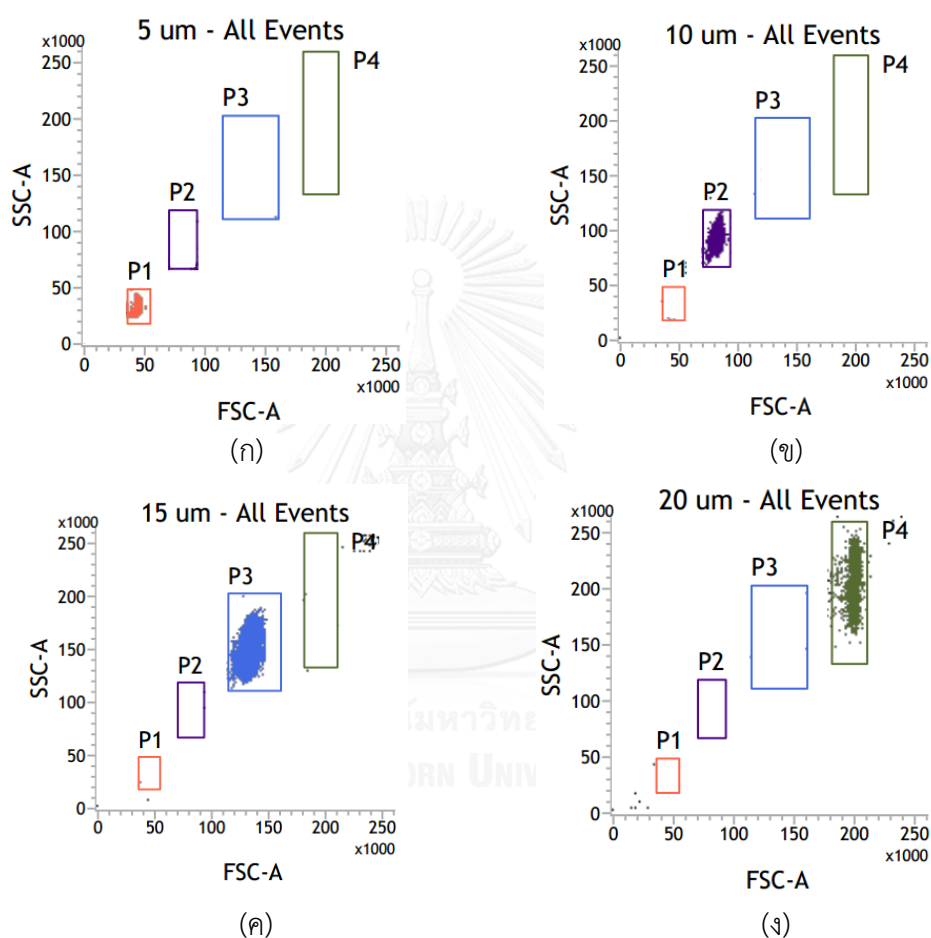
ขณะที่ทำการทดลองได้เตรียมภาชนะสำหรับบรรจุอนุภาคหรือเซลล์ตามช่องทางออกทั้งหมด 10 หลอด(ตามจำนวนช่องทางออก)ในแต่ละหนึ่งการทดลอง ซึ่งได้ทำการทดลองทั้งหมดมี 3 ชุดการทดลอง จากนั้นนำภาชนะที่เก็บอนุภาคได้ที่ช่องทางออกทั้งหมดมาตรวจนับจำนวนอนุภาคในแต่ละหลอด ด้วยเครื่องการวัดคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) แสดงดังรูป ก1 โดยเครื่องตรวจวัดคุณสมบัติของเซลล์มีหลักการทำงานโดยการวัดการเรืองแสงและการเปล่งแสงของเซลล์จากความยาวคลื่นต่างๆ จากการใช้ฟิลเตอร์กรองแสงจากแหล่งกำเนิดแสง ผ่านอนุภาคหรือเซลล์ลงสู่ฉากรับแสง (Detector) ซึ่งสามารถแบ่งการวัดได้เป็นสองแบบคือ 1. แสงส่วนที่กระจายผ่านเซลล์ (Forward scatter signal: FSC) ในส่วนนี้สามารถวัดขนาดและจำนวนของอนุภาคและเซลล์ได้ โดยให้อนุภาคของเซลล์เกิดการเคลื่อนที่ผ่านแหล่งกำเนิดของแสงและฉากรับแสง ซึ่งสามารถนับได้จากฉากรับแรงที่ ถูกอนุภาคเคลื่อนที่ผ่านไปและ 2.สัญญาณแสงที่กระจายออกด้านข้าง (Side scatter signal: SSC) จะบอกถึงข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะของเซลล์โดยเฉพาะ โดยจะวัดได้จากการกระเจิงของแสงจากฉากรับแสงด้านข้างทำให้เห็นรูปร่างของเซลล์ที่มีลักษณะแตกต่างกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากขนาดและรูปร่างของเซลล์นั้นมีความไม่แน่นอนจึงเหมาะสำหรับใช้กับเซลล์โดยเฉพาะ ได้ทดลองนับจำนวนและลักษณะของเซลล์ที่คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดลเพื่ออำนวยความสะดวกและยืนยันผลการทดลองการนับอนุภาคและเซลล์

การวิเคราะห์ผลการนับเซลล์ที่ช่องทางออกด้วยเครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) จำเป็นต้องทราบตัวแปรที่ใช้อ้างอิงก่อน ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้คือ P1 คือ อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร, P2 คือ อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร, P3 คือ อนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร และ P4 คือ อนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรแสดงดังรูปที่ 5.3

การนับอนุภาคที่ผสมรวมกันระหว่างเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ทำการทดลองจำนวน 3 ครั้ง โดยข้อมูลที่ได้จากเครื่องการวัดคุณสมบัติของเซลล์นั้นเราจะเลือกนำความเข้มข้นของอนุภาคต่างๆที่ 10 ช่องทางออกมาคำนวณแยกเป็นเปอร์เซ็นต์ว่าแต่ในละช่องทางออกนั้นมีจำนวนอนุภาคเท่าไรบ้างจากจำนวนอนุภาคทั้งหมด

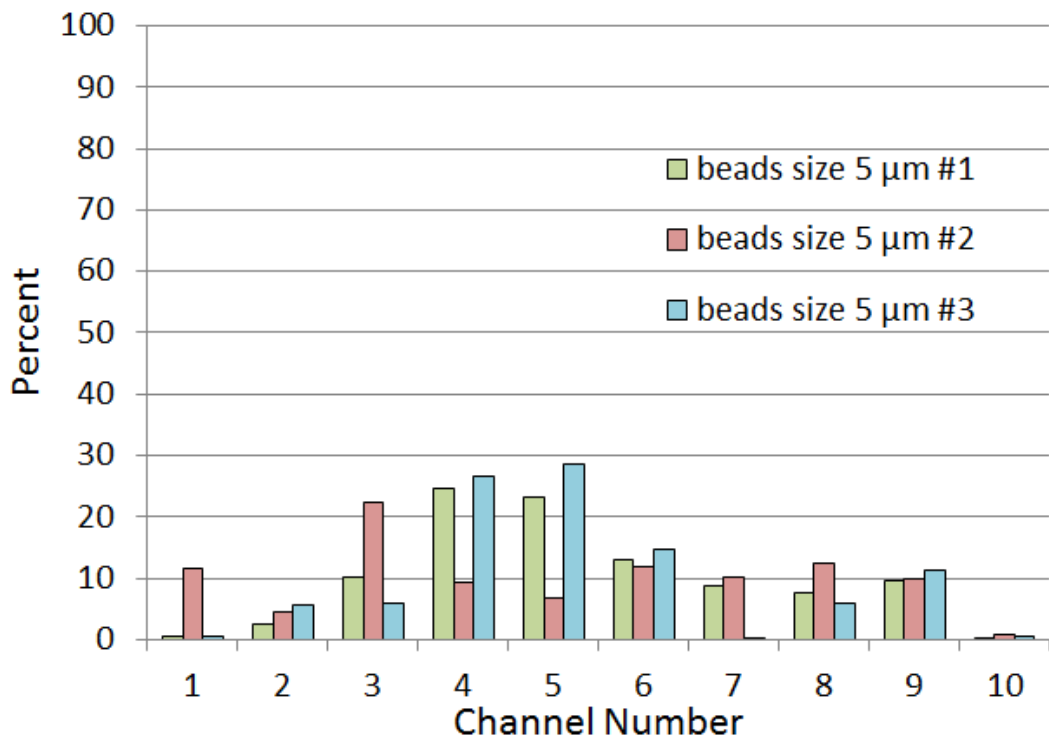
จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาสรุปเป็นกราฟได้ว่าเม็ดโพลีเมอร์ที่ขนาด 5 ไมโครเมตร ไหลกระจายไปสู่ช่องทางออกทุกช่องตั้งแต่ช่อง 1-10 แสดงดังรูปที่ 5.4 โดยช่องทางออกตรงกลางแนวโน้มนับอนุภาคเคลื่อนที่ออกมามากกว่าทั้ง 7 การทดลอง สำหรับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตรไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่โดยคิดเป็นสัดส่วนสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 5.5 โดยช่องทางออกตรงกลางแนวโน้มนับอนุภาคเคลื่อนที่ออกมามากกว่าทั้ง 7 การทดลอง

สำหรับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 คิดเป็นสัดส่วนสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 5.6 และสำหรับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 20 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 คิดเป็นสัดส่วนสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวแสดงดังรูปที่ 5.7 ซึ่งด้วยอัตราการไหลที่ 1.0 mL/min ไม่สามารถคัดแยกอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตร ให้เคลื่อนที่สู่ช่องทางออกที่แตกต่างกันได้

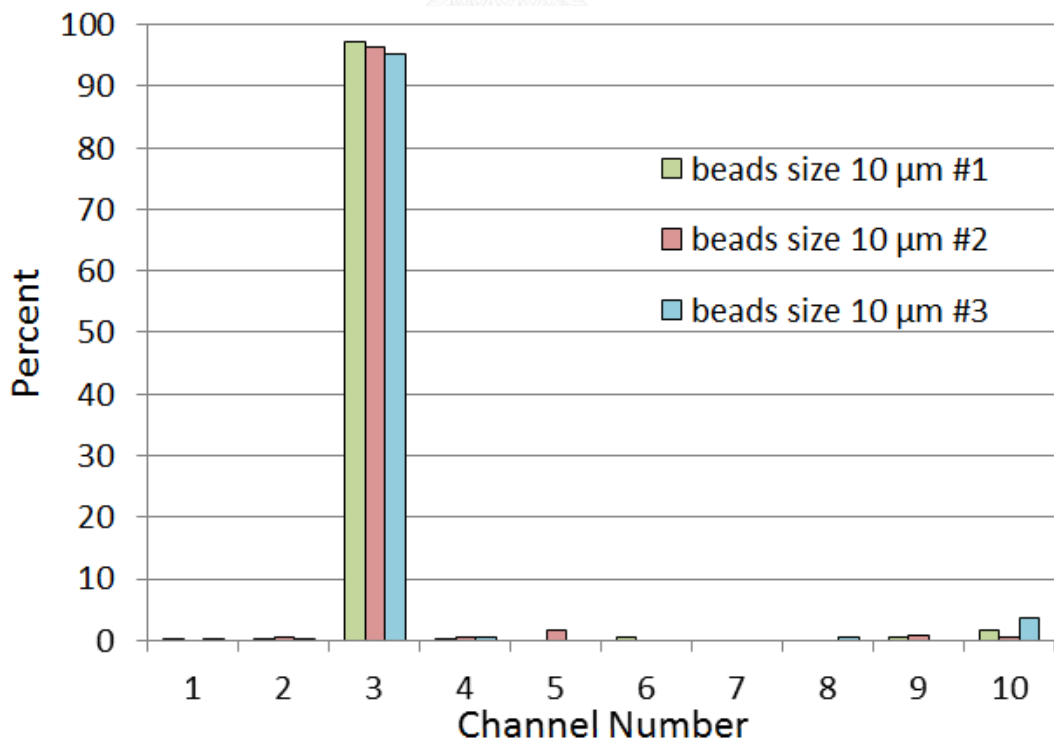


รูปที่ 5.3 ผลการเปรียบเทียบการนับอนุภาค (ก) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 ไมโครเมตร (ข) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตร (ค) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตร และ (ง) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 20 ไมโครเมตร

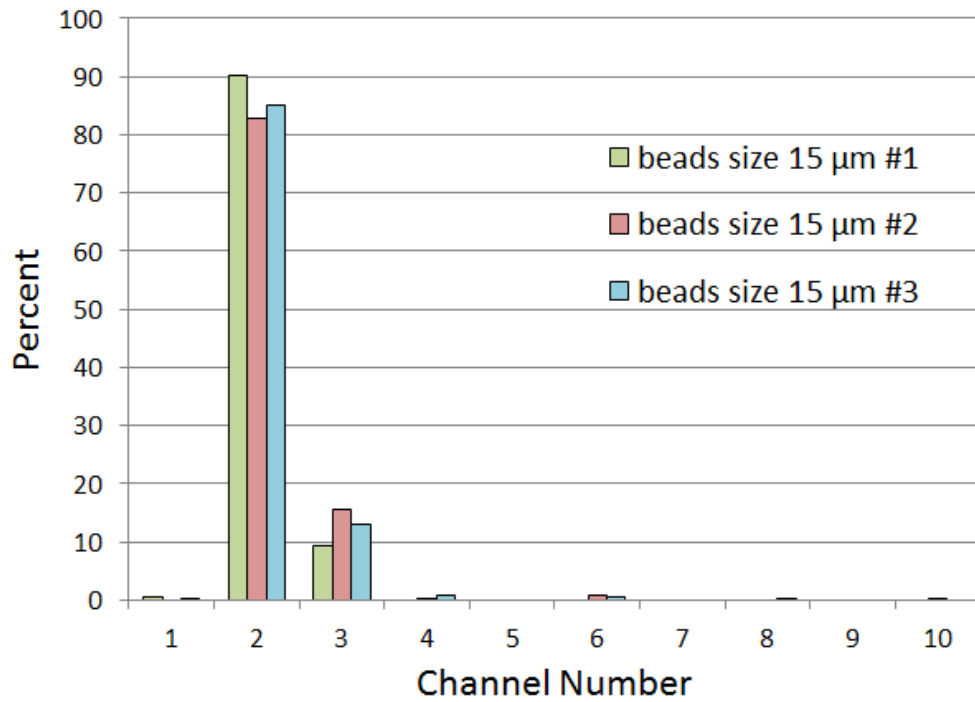
หลังจากนำผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ที่ผสมรวมกันระหว่างขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรจากรูปที่ ข1, ข2 และ ข3 มาคำนวณร่วมกับตารางความเข้มข้นที่ ข1-3 โดยสรุปในรูปแบบกราฟของอนุภาคขนาดต่างๆ ได้ดังต่อไปนี้



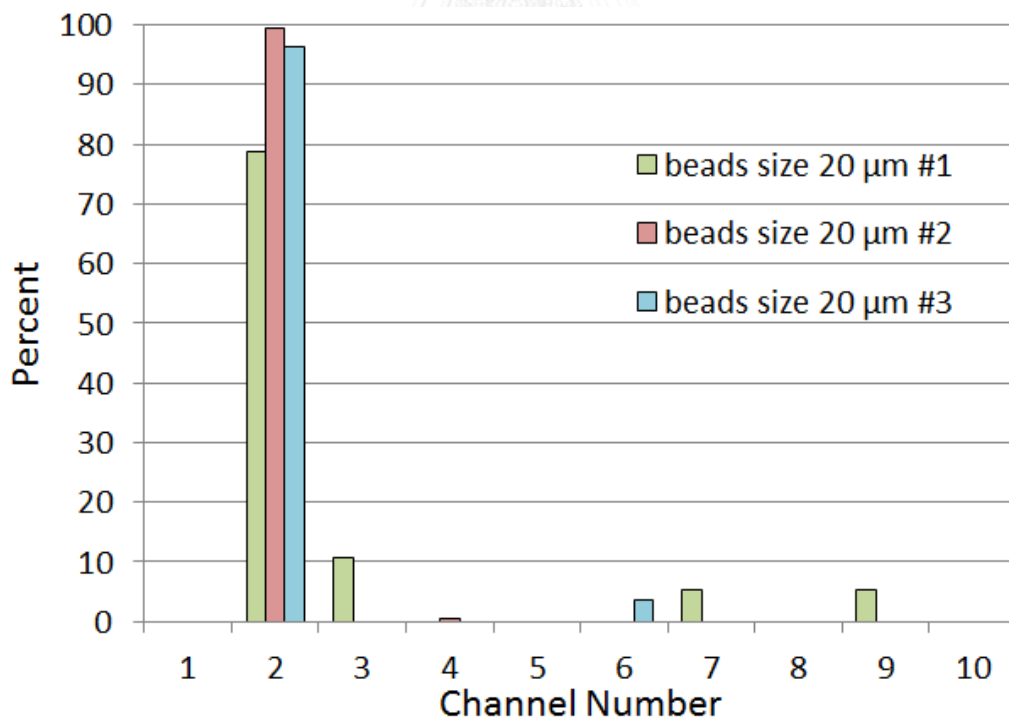
รูปที่ 5.4 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร



รูปที่ 5.5 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร



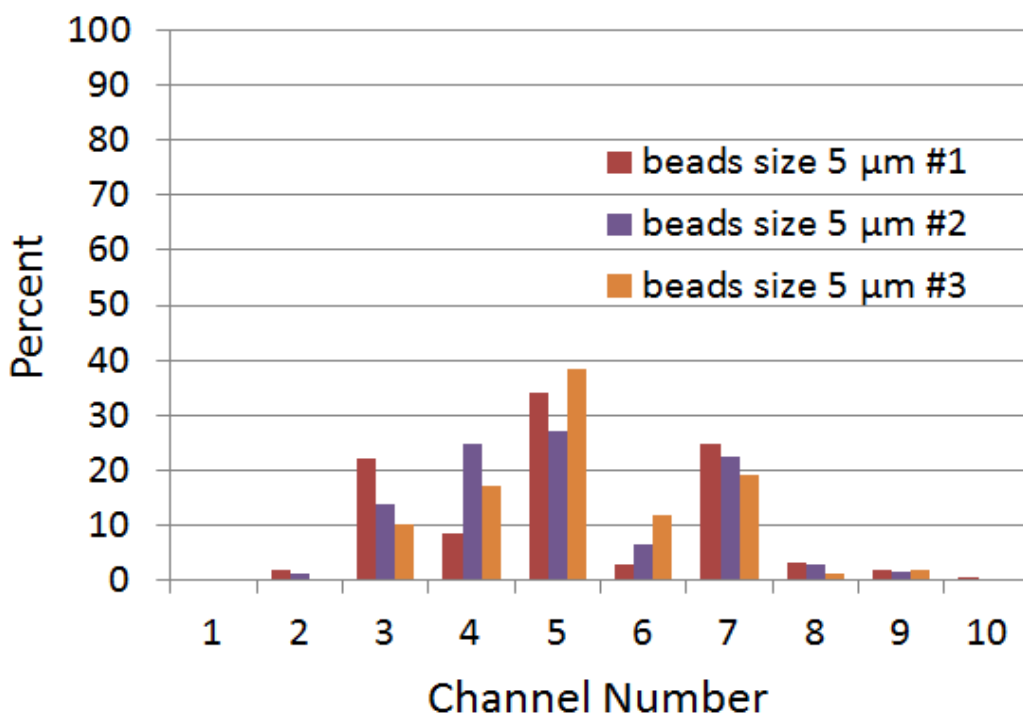
รูปที่ 5.6 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร



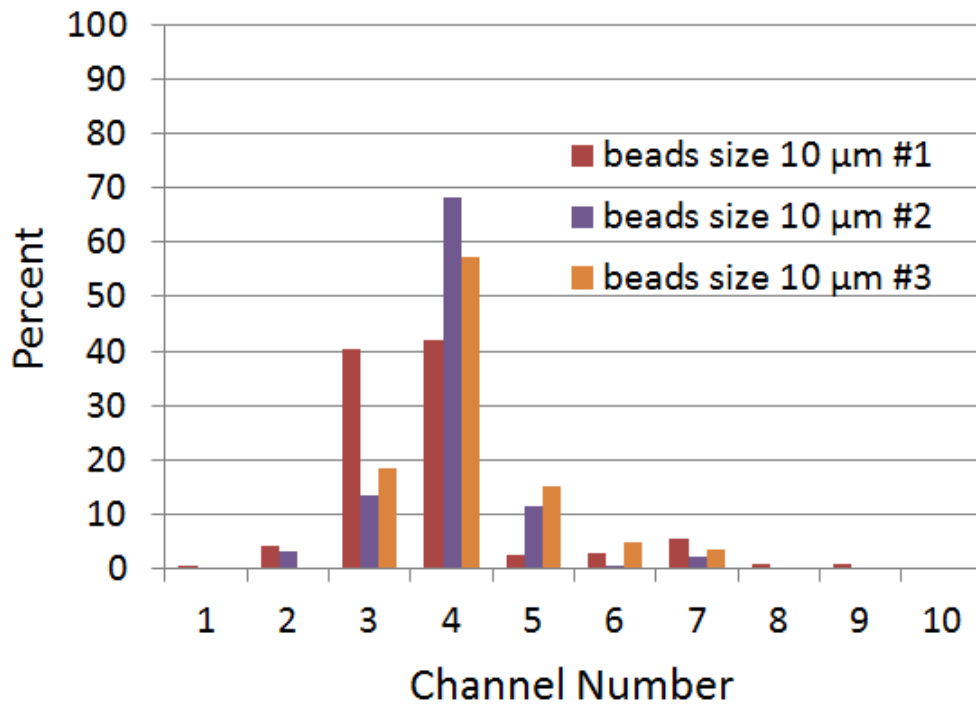
รูปที่ 5.7 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตร

จากการทดลองการคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min สามารถคัดแยกขนาด 10 และ 15 ไมโครเมตรออกสู่ช่องทางออกที่ 3 และ 2 ตามลำดับ แต่ยังไม่สามารถคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรออกจากกันได้ จึงได้ทำการทดลองคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ขนาดต่างๆอีกครั้งโดยปรับอัตราการไหลให้เท่ากับ 2.0 mL/min เนื่องจากจะลองเพิ่มความแข็งแรงของการไหลหมุนวนภายในท่อ (Dean vortices) จากการศึกษาทฤษฎีในบทที่ 2 ในกรณีที่มีกำหนดขนาดพื้นที่หน้าตัดท่อและรัศมีความโค้งแล้วสามารถเพิ่มขนาดของค่าคืนได้โดยการเพิ่มอัตราการไหล เพื่อให้การไหลหมุนวนของคืนมีความแข็งแรงส่งผลให้ตำแหน่งการเรียงตัวของอนุภาคตำแหน่งใหม่ภายในท่อได้

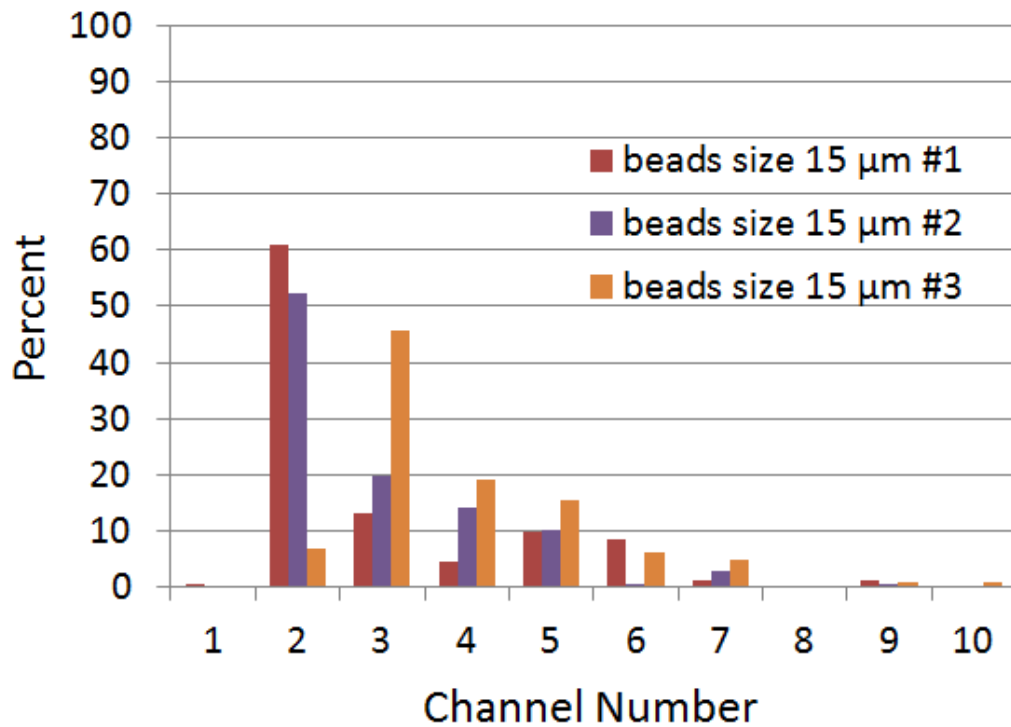
ผลการนับอนุภาคขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 2.0 mL/min จากช่องทางออกต่างในแต่ละช่องพบว่า เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 ไมโครเมตรได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 – 7 เป็นส่วนใหญ่โดยคิดเป็นสัดส่วนช่องในแต่ละช่องประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 5.8, สำหรับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตรได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 – 4 ซึ่งเข้าสู่ช่องที่ 4 คิดเป็นสัดส่วนถึง 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 5.9 และสำหรับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 กับ 20 ไมโครเมตรได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 – 4 คิดเป็นสัดส่วนช่องละประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 5.10 และ 5.11 ตามลำดับ



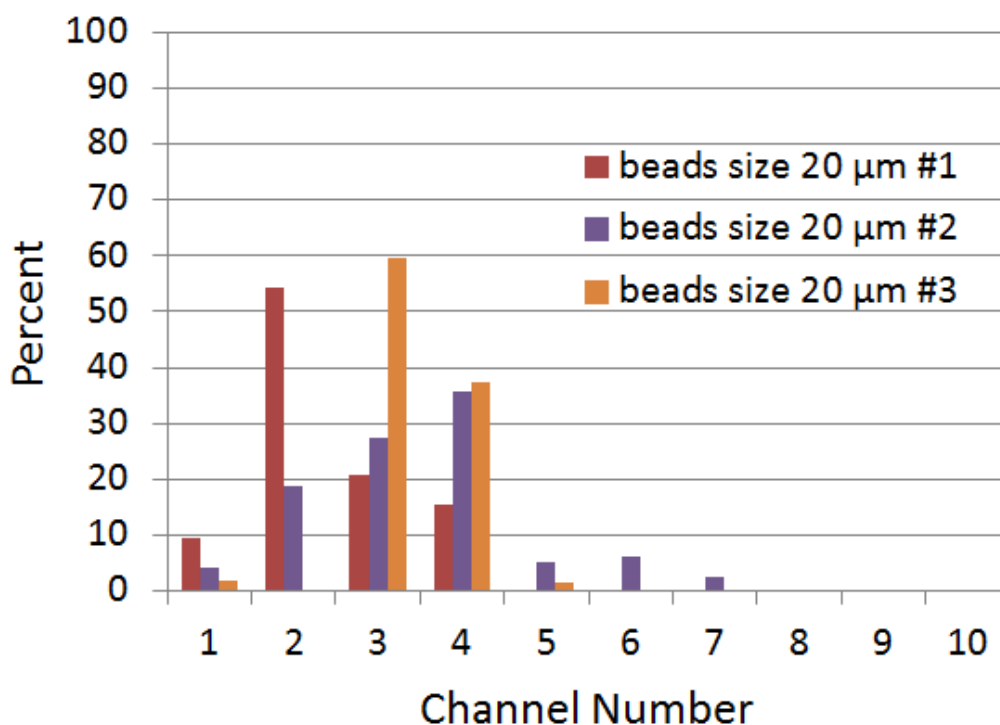
รูปที่ 5.8 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร



รูปที่ 5.9 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร



รูปที่ 5.10 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 15 ไมโครเมตร



รูปที่ 5.11 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 2.0 mL/min ของอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตร

การทดลองคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร สามารถคัดแยกด้วยขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ได้ดีมากกว่าที่อัตราการไหล 2.0 mL/min โดยที่อัตราการไหล 1.0 mL/min นี้ อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตรจะไหลออกที่ช่องทางออก 3 ในขณะที่อนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตร จะไหลออกที่ช่องทางออก 2 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายในตอนแรก

5.3 สรุปผลการทดลอง

หลังจากได้รวบรวมข้อมูลระยะห่างของการเรียงตัวกับผนังท่อด้านใน เพื่อใช้ในการจำลองการไหลด้วยคอมพิวเตอร์โดยอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกหมายเลข 3 อยู่ถึง 68 เปอร์เซ็นต์ของอนุภาคทั้งหมด สำหรับอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกหมายเลข 2 อยู่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์และ 85 เปอร์เซ็นต์ของอนุภาคทั้งหมด(ตามลำดับ)

จากนั้นได้เปรียบเทียบคาตคะเนการไหลของอนุภาคด้วยคอมพิวเตอร์กับการทดลองคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวแบบพื้นที่หน้าตัดท่อสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร กับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min พบว่าวิธีการทั้งสองวิธีนี้มีผลการทดลองใกล้เคียงกันคือ อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตรไม่เกิดการจัดเรียงตัวภายในท่อ

จึงไหลเข้าสู่ช่องทางออกในท่อๆช่อง สำหรับอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัว และไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ และสำหรับอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรได้เกิดการเรียงตัวและเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2

จากนั้นได้ทำการทดลองเพิ่มอัตราการไหลเท่ากับ 2.0 mL/min เพื่อลองปรับให้ขนาดของแรงดัน (Dean Number) สูงขึ้นจากการเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ โดยจะส่งผลให้การไหลหมุนวนภายในท่อเกิดการเปลี่ยนแปลงให้ เพื่อให้ขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรไหลแยกสู่ช่องทางออกที่แตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองพบว่า ถ้าหากต้องการจะแยกอนุภาคที่มีขนาดมากกว่า 15 ไมโครเมตรเป็นต้นไป ควรจะปรับรัศมีความโค้งให้มีค่าน้อยลง เพื่อให้เกิดการไหลหมุนวนภายในท่อที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลต่ออนุภาคขนาดมากกว่า 15 ไมโครเมตร เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งสมดุลภายในท่อได้



บทที่ 6

การนับจำนวนเซลล์มะเร็ง

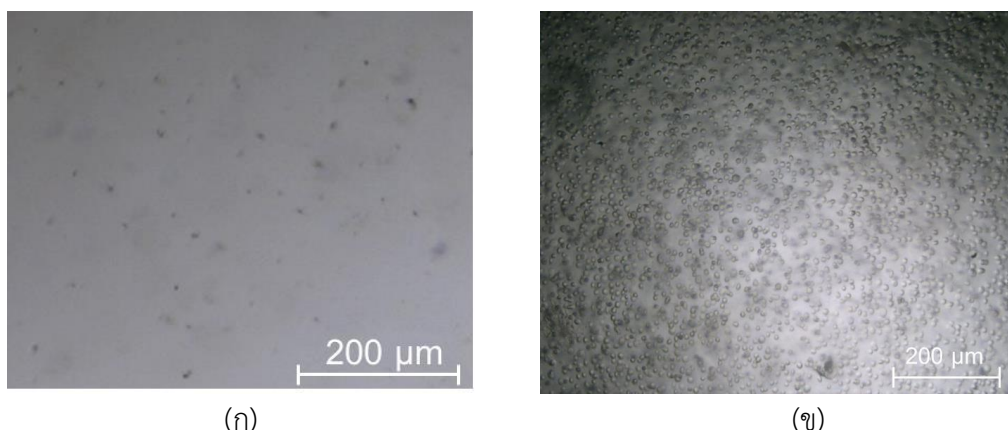
ในบทนี้จะกล่าวถึงการทดลองคัดแยกเซลล์จริงด้วยอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียว เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ด้วยขนาด โดยเซลล์ที่จะนำมาทดสอบนั้นได้รับความอนุเคราะห์จาก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นเซลล์ที่เหลือจากการศึกษาในวิชาเรียนเกี่ยวกับโรคมะเร็งในสัตว์มีรายละเอียดการทดลองดังต่อไปนี้

6.1 การนับเซลล์ที่ช่องทางออก

ในส่วนนี้จะเป็นการทดลองนำเซลล์มะเร็งจากสัตว์จริงมาทดลองคัดแยกด้วยขนาด ซึ่งจะมีความแตกต่างกับเม็ดโพลิเมอร์ที่ได้ทดลองมาเบื้องต้นคือ การเก็บรักษาในอุณหภูมิที่เหมาะสม ความคงทนแข็งแรงต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง รูปร่างและขนาดของเซลล์ที่มีความไม่แน่นอนมีการกระจายขนาดในช่วง 10 – 20 หรือ 15 - 20 ไมโครเมตร เป็นต้น ในการทดลองกับเซลล์จริงนั้น จำเป็นต้องใช้การวางแผนการทดลองอย่างระมัดระวัง เพื่อไม่ให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดความเสียหายได้ รวมถึงหลังจากการคัดแยกเซลล์มะเร็งด้วยอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวนั้นควรมีขั้นตอนพิสูจน์ว่าเซลล์ยังคงมีชีวิต เพื่อนำไปสู่ขั้นตอนการศึกษาเซลล์มะเร็งต่อไป

ขั้นตอนการเตรียมเซลล์เพื่อพิสูจน์ว่าเซลล์เกิดความเสียหายระหว่างการทดลองโดยการแบ่งเซลล์เป็นทั้งหมด 3 ชุด คือ ชุดที่หนึ่งนำเซลล์มะเร็งเก็บไว้ในตู้ทำความเย็น ในอุณหภูมิที่เหมาะสมตลอดเวลา ชุดที่สองนำเซลล์มาทดลองกับอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียว (เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงในการทดลอง) จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้ทำความเย็นดังเดิม และชุดที่สาม นำเซลล์มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาเท่ากับชุดที่สอง ก่อนจะนำเซลล์เข้าไปเก็บไว้ในตู้ทำความเย็น เพื่อรักษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ด้วยหลักการเตรียมเซลล์แบ่งเซลล์เช่นนี้หากมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ระหว่างการทดลองเราจะสามารถวิเคราะห์และรวบรวมตัวแปรที่เกี่ยวข้องได้

ในส่วนนี้จะทดลองคัดแยกกับเซลล์ของจริง โดยเซลล์นำมาจากก้อนเนื้อมะเร็งผิวหนังของสุนัขที่เหลือจากกรณีศึกษาของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยนำก้อนเนื้อมะเร็งที่ผิวหนังมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำหลายๆครั้งก่อนนำมาทำการทดลอง ซึ่งเซลล์นั้นประกอบด้วยเซลล์หลายประเภทคือ 1. เซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัข (Mast Cell Tumor) ขนาด 10 – 15 ไมโครเมตรและขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร 2. เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cells) ขนาดประมาณ 8 ไมโครเมตร 3. เกล็ดเลือด(Platelet)ขนาด 2-3 ไมโครเมตร และ4. เซลล์เม็ดเลือดขาว (White Blood Cell) ขนาดประมาณ 6 - 10 ไมโครเมตร แสดงดังรูปที่ 6.1



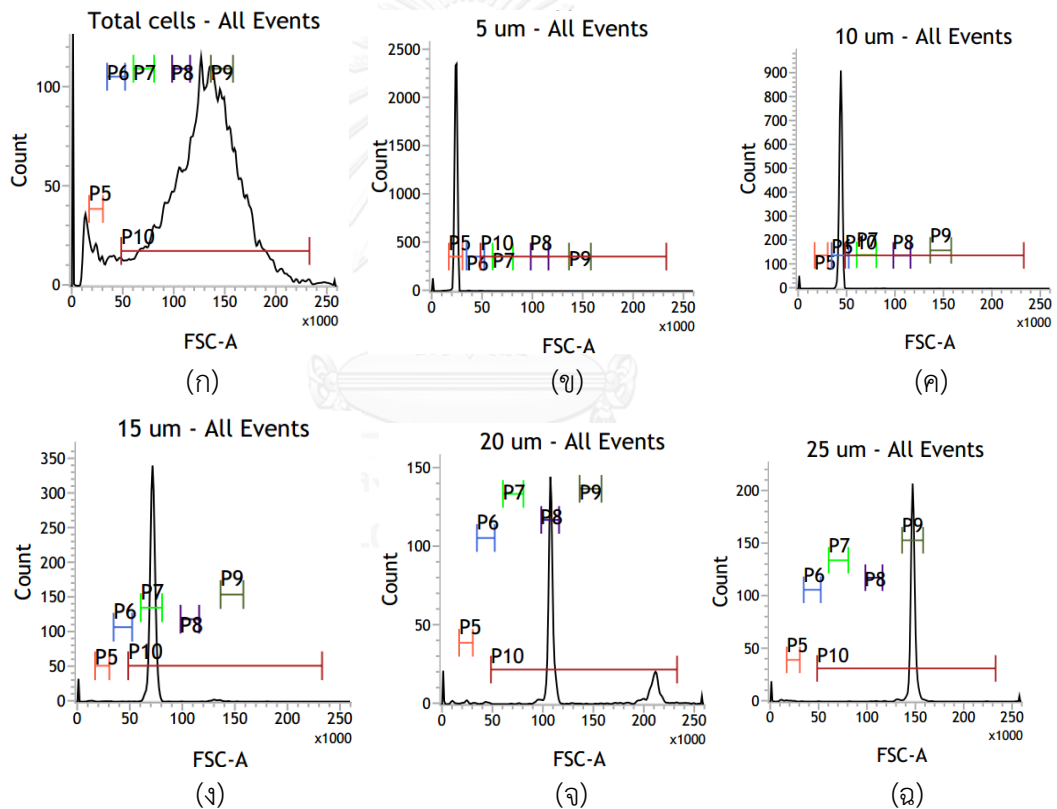
รูปที่ 6.1 ภาพถ่ายเซลล์จริงที่ใช้ในการทดลอง (ก) กลุ่มเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัขขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตรและ (ข) กลุ่มเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัขขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร

การทดลองคัดแยกเซลล์มะเร็งได้แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลองคือ ชุดที่หนึ่งคือเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 3.3×10^6 cells/mL สำหรับชุดที่สองคือเซลล์มะเร็งที่มีขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้นประมาณ 6.6×10^5 cells/mL โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 การทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min และเซลล์อื่นๆตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น โดยทั่วไปแล้วเซลล์มะเร็งนั้นมีขนาดไม่แน่นอนอนจึงทำให้ไม่สามารถคาดการณ์ขนาดของเซลล์ได้ล่วงหน้า

ในการทดลองคัดแยกเซลล์ขนาด 10 -15 ไมโครเมตรได้ลดความเข้มข้นลงที่อัตราส่วน 1 : 20 ใช้ความเข้มข้นในการทดลองประมาณ 33,000 cells/mL และสำหรับเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตรได้ลดความเข้มข้นลงที่อัตราส่วน 1 : 100 ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ประมาณ 33,300 cells/mL จากนั้นนำเซลล์มะเร็งมาผสมกับน้ำปราศจากไอออนในกระบอกฉีดยาปริมาณ 10 mL ซึ่งใช้ ต่อมานำชิ้นงานท่อขดเกลียวมาต่อท่อสายสำหรับช่องทางเข้าช่องและทางออก อีกปลายหนึ่งของท่อสายยางต่อทางเข้านั้นต่อเข้ากับกระบอกฉีดยาที่บรรจุสารทั้งสองหลอดคือ สารละลายผสมเซลล์มะเร็งและสารละลายบัฟเฟอร์ และสำหรับปลายท่อสายยางด้านทางออกต่อเข้ากับภาชนะเก็บสารละลายทั้งหมด 10 ช่องทางออก ในการควบคุมอัตราการไหลในการทดลองจะนำกระบอกเข็มฉีดยาต่อเข้ากับ syringe pump ในการทดลองแต่ละครั้งจะเก็บของเหลวที่ช่องทางออกใส่หลอดปริมาณละ 1.0 – 1.5 mL เพื่อนำหลอดไปนับจำนวนเซลล์ต่อไป

การวิเคราะห์ผลการนับเซลล์ที่ช่องทางออกด้วยเครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) จำเป็นต้องทราบตัวแปรที่ใช้อ้างอิงก่อน ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้คือ แกน X คือ

(Forward scatter signal: FSC) ในส่วนนี้สามารถวัดขนาดและจำนวนของอนุภาคและเซลล์ได้ และสำหรับแกน Y คือ จำนวนของอนุภาคและเซลล์ แสดงดังรูป 6.2 ยกตัวอย่างเช่น เมื่อเครื่องพบอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร กราฟจะมีลักษณะเป็นแท่งแหลมที่ค่า FSC อยู่ในบริเวณของขอบเขต P5 และมีขนาดของแกน Y ตามจำนวนของอนุภาค เป็นต้น โดยรายละเอียดตัวแปรที่ระบุถึงขนาดมีดังต่อไปนี้ P5 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตร, P6 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตร, P7 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 15 ไมโครเมตร, P8 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 20 ไมโครเมตร, P9 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 25 ไมโครเมตรและ P10 คือ อนุภาคหรือเซลล์ขนาด 15 - 25 ไมโครเมตร

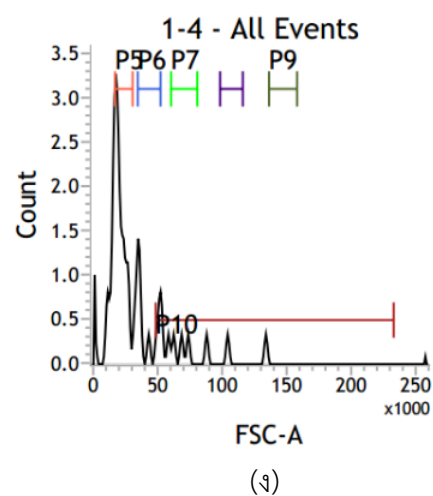
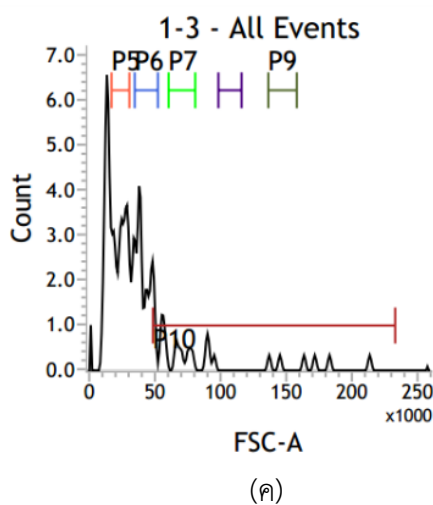
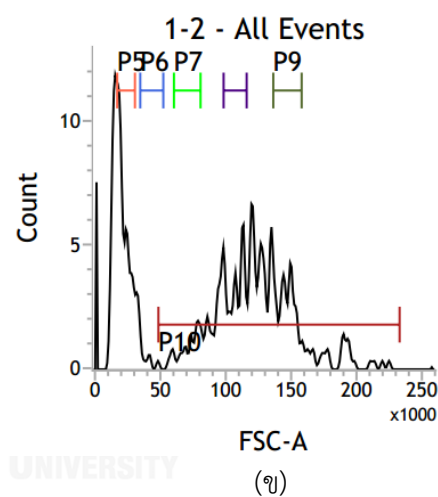
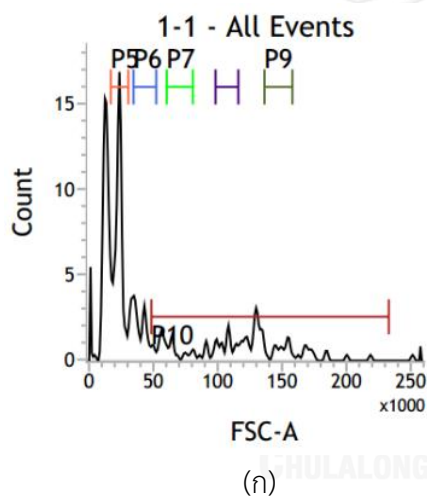


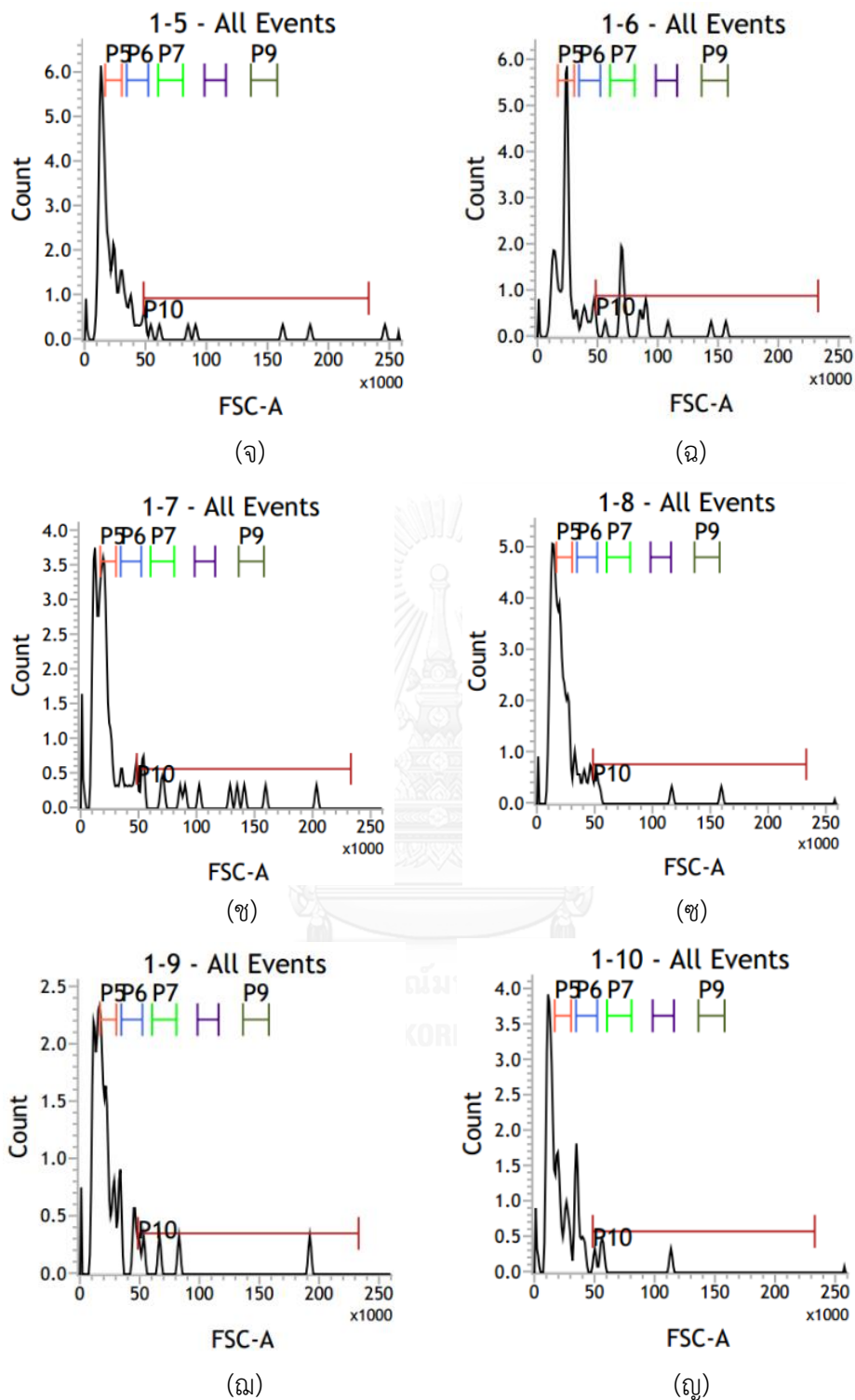
รูปที่ 6.2 ผลการนับอนุภาคและเซลล์ที่ใช้อ้างอิง (ก) เซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร (ข) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5 ไมโครเมตร (ค) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 10 ไมโครเมตร (ง) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 15 ไมโครเมตร (จ) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 20 ไมโครเมตรและ (ฉ) เม็ดโพลีเมอร์ขนาด 25 ไมโครเมตร

6.1.1 การทดลองนับเซลล์ชุดที่หนึ่ง

ผลการนับเซลล์ชุดที่หนึ่งคือ เซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตรจากการนับเซลล์ที่ช่องทางออกทั้งหมด 3 ชุดการทดลองพบว่าพบว่ามีเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์เกล็ดเลือดที่มีขนาดต่ำกว่า 10 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัว จึงทำให้เซลล์ไหลกระจายสู่ช่องทางออกทุกช่องและสำหรับเซลล์มะเร็งที่มีขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 เป็นส่วนใหญ่แสดงดังรูปที่ 6.3 ซึ่งเป็นตัวอย่างหนึ่งจากการทดลอง 3 ชุด

ในรูปที่ 6.3ก-ง แสดงการนับเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นการทดลองครั้งที่ 1 ของช่องทางออกที่ 1, 2, 3 และ 4 ผลการนับพบว่าเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรกระจายตัวอยู่ทุกช่องทางออก แต่ในสำหรับช่องทางออกที่ 2 มีเซลล์ขนาดตั้งแต่ 15 – 25 ไมโครเมตรอยู่เป็นจำนวนมากที่สุด

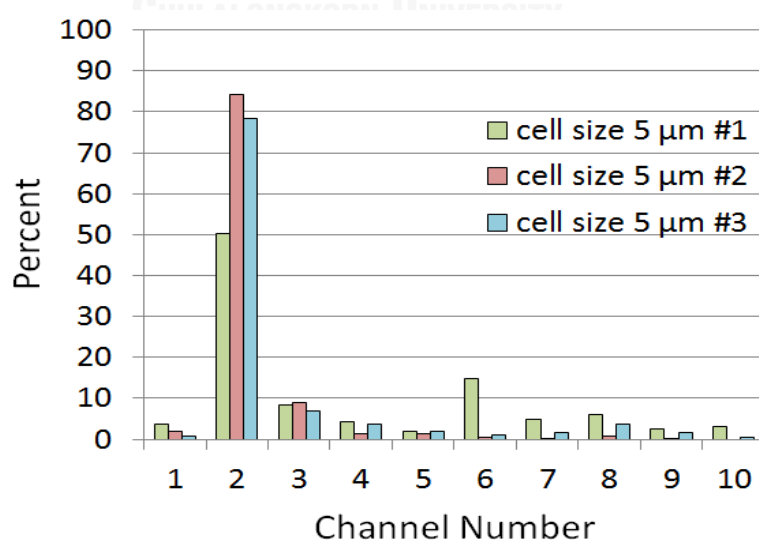




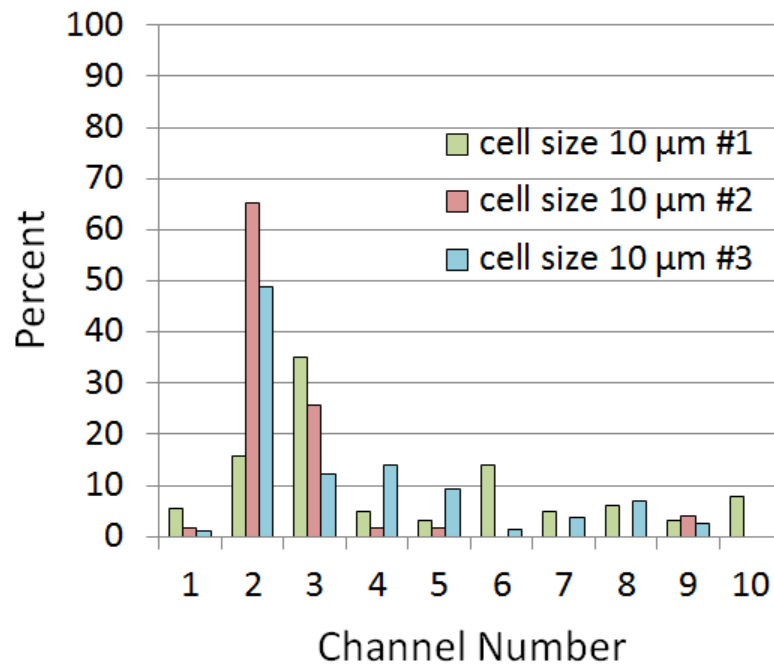
รูปที่ 6.3 ผลการนับเซลล์มีะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตรชุดที่หนึ่ง ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ฌ) ช่องที่ 8 (ฉ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10

ในรูปที่ 6.3 จ-ญ แสดงการนับเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นการทดลองครั้งที่ 1 ของช่องทางออกที่ 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ผลการนับพบว่าเซลล์ขนาด 5 ถึง 10 ไมโครเมตรกระจายตัวอยู่ทุกช่องทางออก และพบเซลล์ขนาดใหญ่กว่า 5 ไมโครเมตรที่ช่องทางออกเล็กน้อยในทุกช่องทางออก

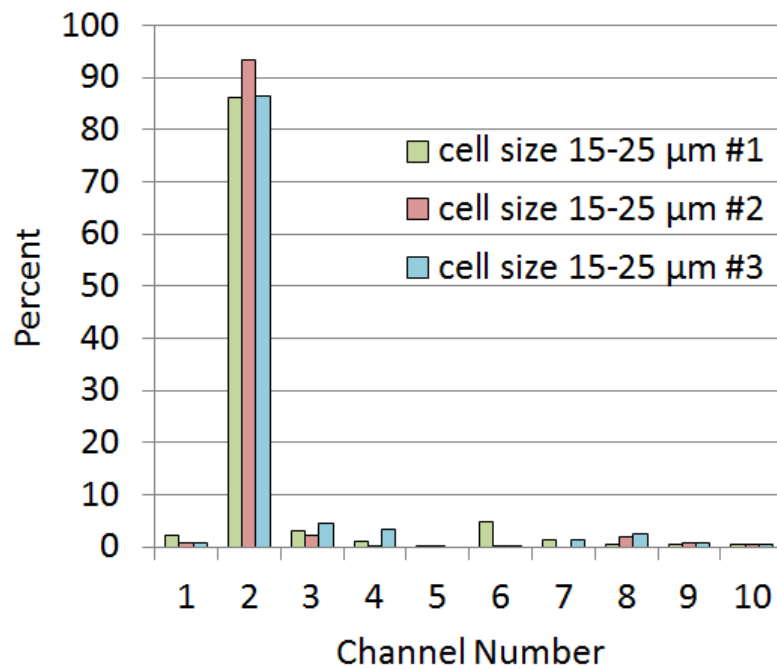
หลังจากมีผลการทดลองการนับเซลล์ที่ช่องทางออกทั้งหมดแล้ว จึงนำความเข้มข้นที่จากตารางที่ ค1, ค2 และค3 ได้มาสรุปเป็นกราฟในแต่ละเซลล์ขนาด 5, 10 และ 15-25 ไมโครเมตรในทั้งหมด 10 ช่องทางออก ที่การทดลองอัตราการไหล 1.0 mL/min ซึ่งเซลล์ที่มีขนาด 5 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตรวจสอบภายหลังพบว่าเป็นเซลล์ (dead cells) โดยเกิดจากเซลล์ที่มีขนาดใหญ่เกิดการฉีกขาด เนื่องจากการคำนวณเบื้องต้นอนุกรมท่อขัดแบบเกลียวในงานวิจัยนี้นั้นมีค่าความเค้นเฉือนมากกว่า 0.5 Pa จึงส่งผลให้เซลล์ที่นำมาใช้ศึกษาบางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติและบางส่วนเกิดการฉีกขาดได้ ซึ่งในส่วนของทฤษฎีนั้นเซลล์ที่มีขนาด 5 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวภายในท่อ สันนิษฐานว่าอาจจะเกิดจากการเคลื่อนที่ตามกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร จึงทำให้เซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรเกิดการเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางที่ 2 เป็นส่วนใหญ่แสดงดังรูปที่ 6.4 สำหรับเซลล์ที่มีขนาด 10 ไมโครเมตร จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์และช่องทางที่ 3 ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งภายหลังตรวจสอบพบว่าเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดง แสดงดังรูปที่ 6.5 และสุดท้ายสำหรับเซลล์ที่มีขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และได้มีการเคลื่อนที่ไปสู่ช่องทางออกอื่นๆเล็กน้อย ซึ่งเซลล์ที่พบนั้นคือเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัข ดังรูปที่ 6.6



รูปที่ 6.4 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่หนึ่ง



รูปที่ 6.5 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตรของ การทดลองชุดที่หนึ่ง



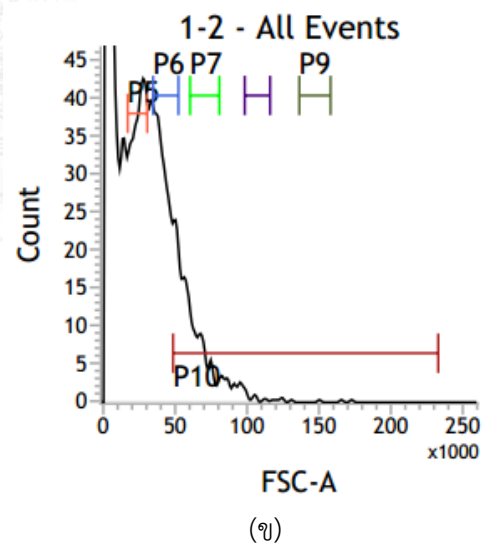
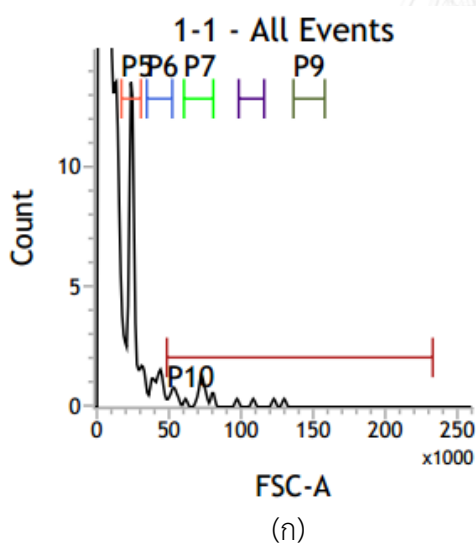
รูปที่ 6.6 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 15-25 ไมโครเมตร ของการทดลองชุดที่หนึ่ง

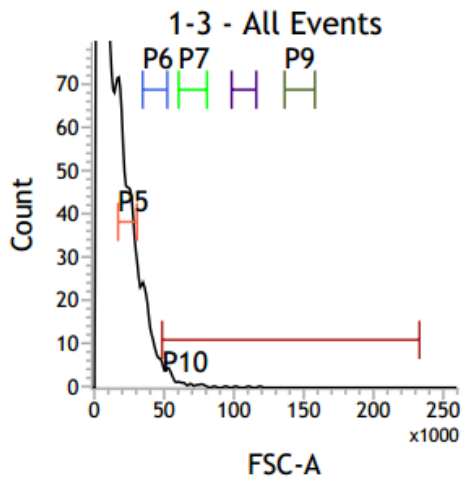
6.1.2 การทดลองนับเซลล์ชุดที่สอง

ผลการนับเซลล์ชุดที่สองคือเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร จากการนับเซลล์ที่ช่องทางออกทั้งหมด 3 ชุดการทดลองพบว่าพบว่ามีเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์เกล็ดเลือดที่มีขนาดต่ำกว่า 10 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัว จึงทำให้เซลล์ไหลกระจายสู่ช่องทางออกทุกช่อง

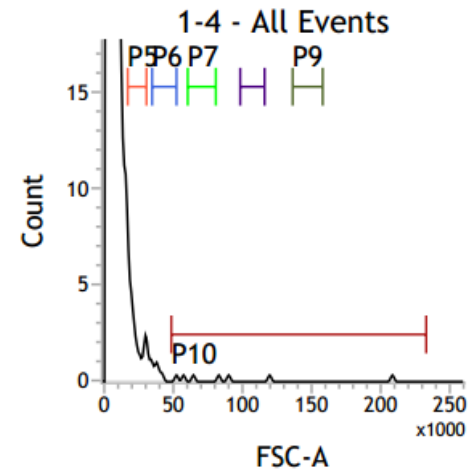
ในรูปที่ 6.7ก-ง แสดงการนับเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นการทดลองครั้งที่ 1 ของช่องทางออกที่ 1, 2, 3 และ 4 ผลการนับพบว่ามีเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรกระจายตัวอยู่ทุกช่องทางออก ซึ่งมีเซลล์ขนาดตั้งแต่ 10 ไมโครเมตรอยู่ในช่องทางออกที่ 2 และ 3 และเซลล์ขนาดประมาณ 15 ไมโครเมตรได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 มากที่สุดจากช่องทางออกทั้งหมด

ในรูปที่ 6.7จ-ญ แสดงการนับเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นการทดลองครั้งที่ 1 ของช่องทางออกที่ 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ผลการนับพบว่ามีเซลล์ขนาด 5 ถึง 10 ไมโครเมตรกระจายตัวอยู่ทุกช่องทางออก

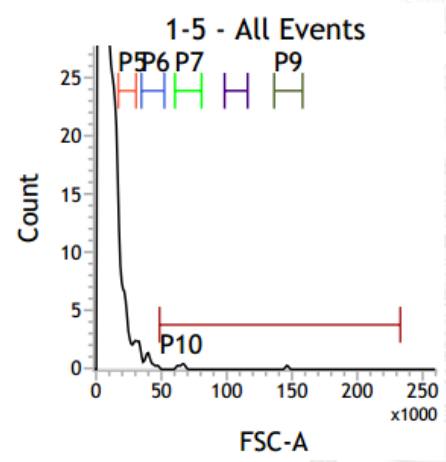




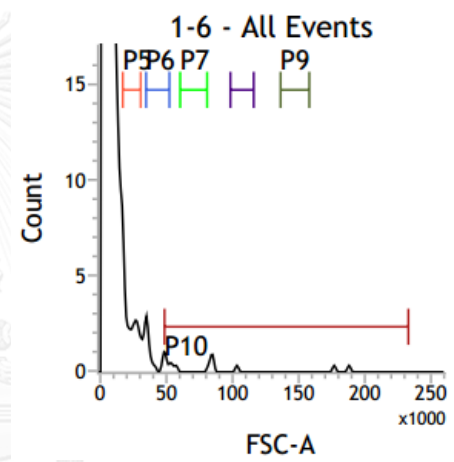
(ค)



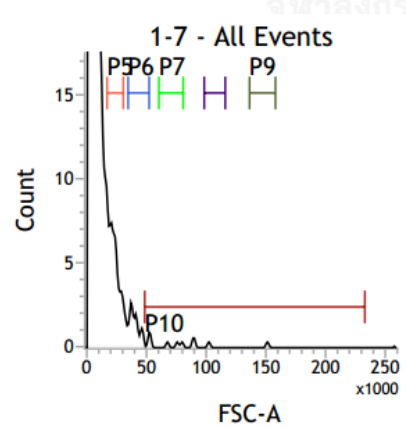
(ง)



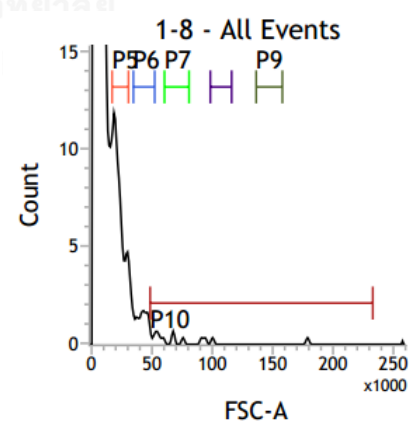
(จ)



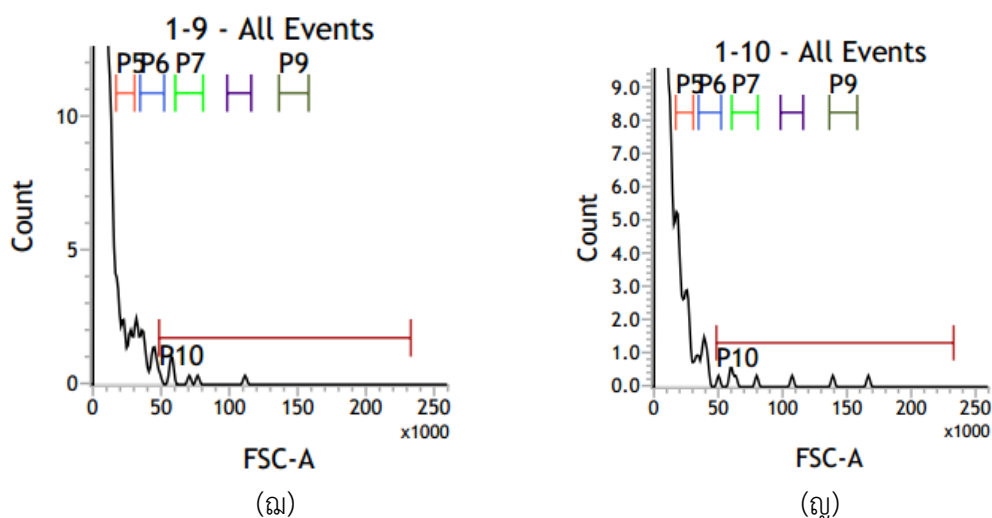
(ฉ)



(ช)

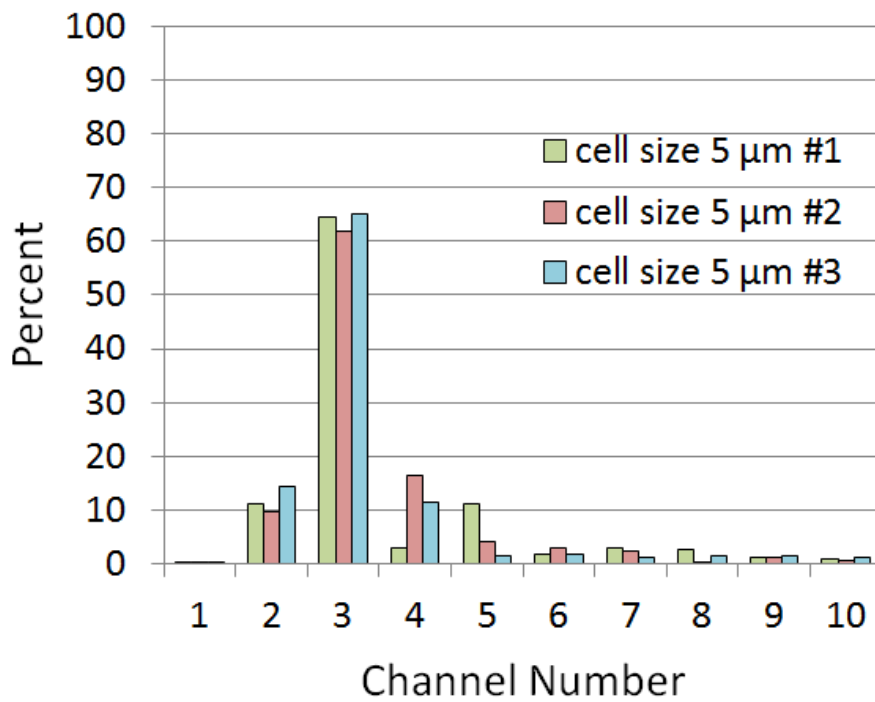


(ฅ)

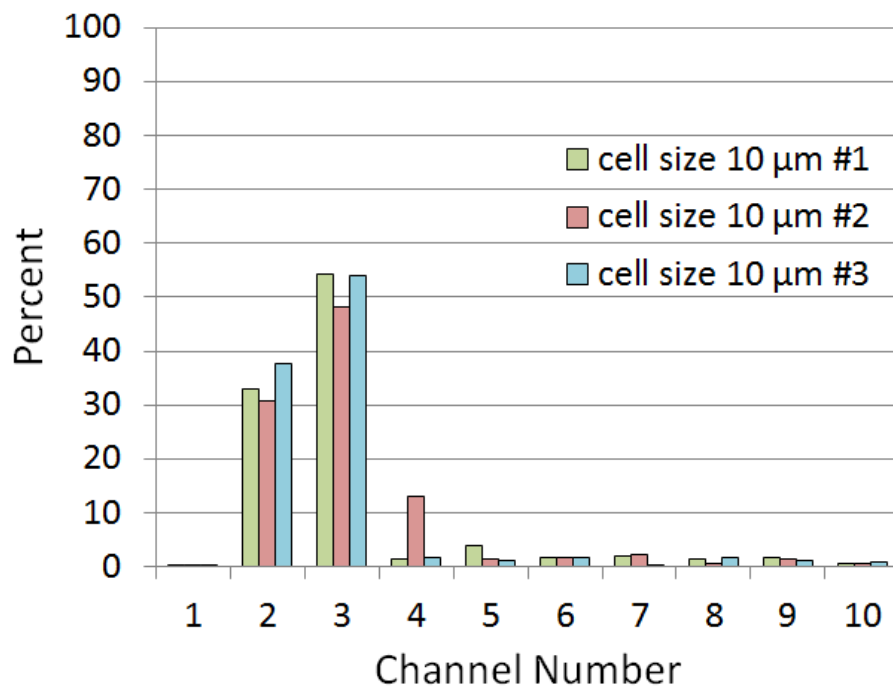


รูปที่ 6.7 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตรชุดที่สอง ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ณ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10

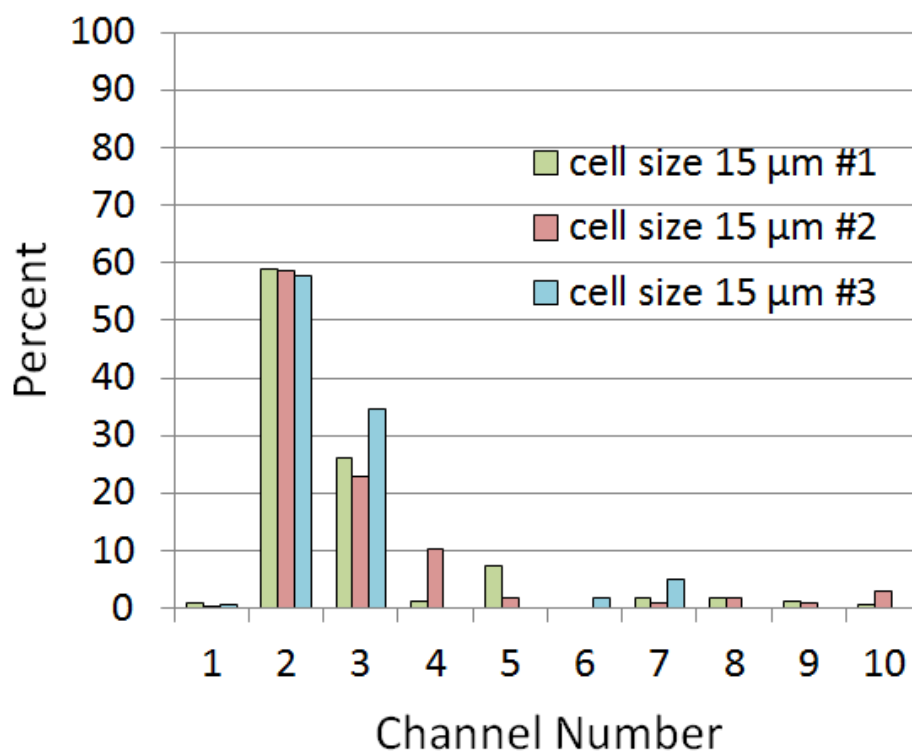
หลังจากมีผลการทดลองการนับเซลล์ที่ช่องทางออกทั้งหมดแล้ว จึงนำความเข้มข้นที่จากรายการที่ ค1, ค2 และ ค3 ได้มาสรุปเป็นกราฟในแต่ละเซลล์ขนาด 5, 10 และ 10-15 ไมโครเมตรในทั้งหมด 10 ช่องทางออก ที่การทดลองอัตราการไหล 1.0 mL/min ซึ่งเซลล์ที่มีขนาด 5 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตรวจสอบภายหลังพบว่าเป็นเซลล์ (dead cells) ในส่วนของทฤษฎีนั้นเซลล์ที่มีขนาด 5 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวภายในท่อ สันนิษฐานว่าอาจจะเกิดจากการเคลื่อนที่ตามกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 10 ไมโครเมตร จึงทำให้เซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรเกิดการเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางที่ 3 เป็นส่วนใหญ่แสดงดังรูปที่ 6.8 สำหรับเซลล์ที่มีขนาด 10 ไมโครเมตร จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์และช่องทางที่ 3 ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งภายหลังตรวจสอบพบว่าเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงแสดงดังรูปที่ 6.9 และสุดท้ายสำหรับเซลล์ที่มีขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 ถึง 55 เปอร์เซ็นต์ และได้มีการเคลื่อนที่ไปสู่ช่องทางออกอื่นๆเล็กน้อย ซึ่งเซลล์ที่พบนั้นคือเซลล์มะเร็งผิวหนังของสุนัข ดังรูปที่ 6.10



รูปที่ 6.8 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรของ การทดลองชุดที่สอง



รูปที่ 6.9 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 10 ไมโครเมตรของ การทดลองชุดที่สอง



รูปที่ 6.10 ผลการทดลองที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ของเซลล์ขนาด 15 ไมโครเมตรของการทดลองชุดที่สอง

6.2 สรุปผลการทดลอง

หลังจากนับเซลล์มะเร็งทั้งสองการทดลองที่ช่องทางออกคือ 1.เซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร และเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร นอกจากนั้นคือเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์เกล็ดเลือดที่มีขนาดต่ำกว่า 10 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัว จึงทำให้เซลล์ไหลกระจายสู่ช่องทางออกทุกช่อง เซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวภายในท่อ สันนิษฐานว่าอาจจะเกิดจากการเคลื่อนที่ตามกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 10 - 15 ไมโครเมตร จึงทำให้เซลล์ขนาด 5 ไมโครเมตรเกิดการเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องที่ 2 และ 3

สำหรับเซลล์มะเร็งที่มีขนาดประมาณ 10 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 กับ 3 และสำหรับเซลล์มะเร็งที่มีขนาดตั้งแต่ 15 จนถึง 25 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 เป็นส่วนใหญ่ โดยผลการทดลองเช่นเดียวกับการคาดคะเนด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และการทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์

บทที่ 7

สรุปผลการงานวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงประเด็นสำคัญต่างๆของงานวิจัยนี้ เรียงลำดับตามขั้นตอนตั้งแต่การศึกษาอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวในเบื้องต้น การออกแบบอุปกรณ์ กระบวนการสร้าง การทดลองของอนุภาคและเซลล์ รวมไปถึงความคลาดเคลื่อนที่มีโอกาสเกิดขึ้นได้ในระหว่างการทดลอง

7.1 สรุปงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว (Spiral Microchannels) ใช้ในการคัดแยกอนุภาคและเซลล์ที่มีขนาด 5 - 20 ไมโครเมตร ให้ออกสู่ช่องทางออกที่แตกต่างกัน

เริ่มต้นจากการศึกษาอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวในงานวิจัยอื่นพบว่าในการคัดแยกอนุภาคขนาดต่างๆนั้นต้องมีค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคกับความสูงภายในท่อมากกว่าหรือเท่ากับ 0.07 จึงจะสามารถทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแต่ละขนาดภายในท่อเรียงตัวกันอย่างชัดเจน ซึ่งโดยส่วนการคัดแยกจากงานอื่นๆนั้นมักจะคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์เป็นส่วนใหญ่และเซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่ยังไม่มีการคัดแยกเซลล์มะเร็งที่มีขนาดใกล้เคียงกัน

ต่อมาที่ได้ศึกษาทฤษฎีของหลักการทำงานและขอบเขตขนาดของอนุภาคและเซลล์ที่ต้องการจะคัดแยกแล้ว เราสามารถสรุปการออกแบบอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ได้ดังนี้คือขนาดพื้นที่หน้าของท่อ 500x130 ไมโครเมตร ประกอบด้วยท่อโค้งจำนวน 5 รวบโดยมีรัศมีความโค้ง 0.75 เซนติเมตร ซึ่งบริเวณท่อมุมบาน 9 องศา ความยาวช่องทางออก 720 ไมโครเมตร มีช่องทางออกทั้งหมด 10 ช่องทางและความกว้างช่องละ 170 ไมโครเมตร อุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวถูกสร้างด้วยเทคโนโลยี Soft lithography

หลังจากผ่านกระบวนการสร้างอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวแล้ว ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากการนำอนุภาคหรือเซลล์มาผสมกับน้ำปราศจากไอออน จากนั้นใช้ปั๊มเป็นอุปกรณ์ควบคุมอัตราการไหลของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียว ในระหว่างการทดลองนั้นเราสามารถถ่ายภาพการเคลื่อนที่การเรียงตัวจากด้านบนด้วยกล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพการทดลองร่วมกับคอมพิวเตอร์ได้ด้วย

การทดลองในเบื้องต้นของอุปกรณ์ท่อขดแบบเกลียวกับเม็ดพลาสติกกับเซลล์เม็ดเลือดและเซลล์มะเร็งพบว่าสามารถเห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในท่อทางออกแบบท่อตรงที่อัตราการไหลตั้งแต่ 1.0 - 1.5 มิลลิลิตรต่อนาทีได้อย่างชัดเจน เม็ดพลาสติกใช้ความเข้มข้นที่ 2×10^3 beads/mL เซลล์เม็ดเลือดแดงและขาวใช้ความเข้มข้น 2.5×10^7 และ 3.5×10^4 cells/mL ตามลำดับ และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของแมวใช้ความเข้มข้น 4×10^4 cells/mL ในระหว่างการทดลองเราสามารถ

ถ่ายภาพการเรียงตัวของอนุภาคได้จากกล้องจุลทรรศน์ แต่ภาพถ่ายที่มานั้นเป็นการเคลื่อนที่เป็นกลุ่มของอนุภาค ซึ่งในการวัดระยะห่างจากผนังอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้จึงจำเป็นต้องวัดจากภาพจำนวน 5 ภาพและนำข้อมูลมาคำนวณค่าความแปรปรวนด้วย หลังจากนั้นนำข้อมูลระยะห่างจากผนังที่ได้มารวบรวมและเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นพบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก ในส่วนต่อไปจะนำข้อมูลไปประกอบกับการจำลองการไหลภายในท่อที่อัตราการไหลเท่ากัน เพื่อกำหนดตัวแปรจำนวนช่องทางออกและขนาดของมุมบานก่อนถึงช่องทางออก

จากนั้นนำข้อมูลตำแหน่งการเรียงตัวของอนุภาคและเซลล์มาจำลองการไหลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และได้ทำการทดลองคัดแยกเม็ดโพลีเมอร์ด้วยอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียว จากการเปรียบเทียบคาดคะเนการไหลของอนุภาคด้วยคอมพิวเตอร์กับการทดลองคัดแยกด้วยอุปกรณ์ท่อชนิดแบบเกลียวแบบพื้นที่หน้าตัดท่อสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 500x130 ไมโครเมตร กับเม็ดโพลีเมอร์ขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ใช้ความเข้มข้นเท่ากับ 45,250 beads/mL ในแต่ละขนาด ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min พบว่าวิธีการทั้งสองวิธีนี้มีผลการทดลองใกล้เคียงกันคือ อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตรไม่เกิดการจับเรียงตัวภายในท่อ จึงไหลเข้าสู่ช่องทางออกในท่อๆช่อง สำหรับอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวและไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ และสำหรับอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรได้เกิดการเรียงตัวและเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกที่ 2

จากนั้นได้ทำการทดลองเพิ่มอัตราการไหลเท่ากับ 2.0 mL/min เพื่อลองปรับให้ขนาดของแรงดัน (Dean Number) สูงขึ้นจากการเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ โดยจะส่งผลให้การไหลหมุนวนภายในท่อเกิดการเปลี่ยนแปลงให้ เพื่อให้ขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรไหลแยกสู่ช่องทางออกที่แตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองพบว่า ถ้าหากต้องการจะแยกอนุภาคที่มีขนาดมากกว่า 15 ไมโครเมตรเป็นต้นไป ควรจะปรับรัศมีความโค้งให้มีค่าน้อยลง เพื่อให้เกิดการไหลหมุนวนภายในท่อที่มีความแข็งแรงมากขึ้น อาจส่งผลตำแหน่งสมดุของอนุภาคขนาดมากกว่า 15 ไมโครเมตรเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งสมดุภายในท่อได้

หลังจากการเพิ่มอัตราการไหลแล้วยังส่งผลกระทบต่ออนุภาคขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตรเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องทางออกหมายเลข 3 - 7 เพิ่มขึ้นด้วย สำหรับอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตรได้เคลื่อนที่กระจายสู่ช่องทางออกหมายเลข 3, 4 และ 5 มากขึ้นและสำหรับอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรได้เคลื่อนที่สู่ช่องทางหมายเลข 2, 3 และ 4 มากขึ้นเช่นเดียวกัน โดยสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลที่ 2.0 mL/min แล้วส่งผลให้อนุภาคเคลื่อนที่กระจายตัวในบริเวณช่องทางออกมากขึ้นอีกด้วย

จากนั้นได้ทดลองคัดแยกกับเซลล์จริงซึ่งมีสองการทดลองคือ เซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 - 25 ไมโครเมตร และเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 - 15 ไมโครเมตร ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 33,000 cells/mL ที่อัตราการไหล 1.0 mL/min พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือด

ขาวและเซลล์เกล็ดเลือดที่มีขนาดต่ำกว่า 10 ไมโครเมตร ไม่เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัว จึงทำให้เซลล์ไหลกระจายสู่ช่องทางออกทุกช่อง

สำหรับเซลล์มะเร็งที่มีขนาดประมาณ 10 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ และสำหรับเซลล์มะเร็งที่มีขนาดตั้งแต่ 15 จนถึง 25 ไมโครเมตร ได้ไหลเข้าสู่ช่องทางออกที่ 2 เป็นส่วนใหญ่ โดยผลการทดลองเช่นเดียวกับการคาดคะเนด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และการทดลองกับเม็ดโพลีเมอร์

7.2 ความไม่แน่นอนของของการทดลอง

ในหัวข้อนี้ได้รวบรวมปัญหาที่เกิดขึ้นหรือประเด็นที่น่าสนใจสำหรับการออกแบบและการทดลองคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ด้วยอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียว ไว้ดังนี้

1. ในระหว่างทำการทดลองนั้นได้นำภาชนะมารองรับของเหลวที่ช่องทางออกทั้งหมด 10 ช่องทางออก แต่พบว่าปริมาณของเหลวในแต่ละช่องทางออกมีปริมาณไม่เท่ากัน เนื่องจากความยาวของท่อทางออกมีขนาดไม่เท่ากันทั้งหมด จึงส่งผลให้ท่อทางออกที่สั้นกว่าท่ออื่นๆ มีโอกาสที่ของเหลวจะไหลมาช่องทางดังกล่าวมากกว่าช่องอื่น และอาจจะส่งผลให้การคัดแยกอนุภาคเกิดความคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากอนุภาคมีโอกาสจะไหลออกสู่ช่องทางออกที่สั้นกว่าได้

เพราะฉะนั้นในการออกแบบความยาวช่องทางออกควรให้ความยาวที่ช่องทางออกมีขนาดใกล้เคียงกันมากที่สุด เพื่อลดปัญหาความเคลื่อนคล่องของการทดลองคัดแยกอนุภาคหรือเซลล์

2. การทดลองที่อัตราการไหลที่สูงอาจจะส่งผลให้อุปกรณ์เกิดความเสียหายได้ เช่น มี PDMS หลุดเข้ามาในช่องทางการไหล หรืออุปกรณ์เกิดการรั่วได้ เป็นต้น เนื่องจากในท่อการไหลมีความดันสูงมากจนเกินไป ผู้ใช้อุปกรณ์ในงานวิจัยนี้ควรมีหลีกเลี่ยงการใช้อัตราการไหลสูงเกิน 2.0 mL/min

3. ปัญหาการตกตะกอนของเม็ดโพลีเมอร์ในระหว่างการทดลอง ซึ่งถ้าหากเกิดการตกตะกอนภายในหลอดเข็มฉีดยา จะส่งผลให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาคหรือเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอได้ โดยสามารถหลีกเลี่ยงได้จากการตั้งกระบอกเข็มฉีดยาให้ตั้งฉากกับแนวระนาบ เพื่อลดการเกิดตะกอนภายในสารละลาย

4. ปัญหาการเก็บรักษาเซลล์ในระหว่างการทดลอง เนื่องจากงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกเซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกันออกมา ซึ่งเซลล์ต้องเหล่านี้ยังคงมีชีวิตและต้องเก็บรักษาในอุณหภูมิประมาณ 5- 10 องศา ซึ่งมีอายุอยู่ได้ประมาณ 72 ชั่วโมงก่อนที่จะเซลล์จะเปลี่ยนสภาพหรือโครงสร้าง ผู้ทำการทดลองควรวางแผนและเตรียมการทดลอง เพื่อให้เซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ โดยหลังจากทดลองกับอุปกรณ์ท่อชุดแบบเกลียวให้เก็บเซลล์ไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะสมทันที

รายการอ้างอิง

1. R.M. Johann, "Cell trapping in microfluidic chip," Analytical and bioanalytical chemistry, **385**(3), p. 408-412, 2006.
2. E.D. Pratt, C. Huang, B.G. Hawkins, J.P. Gleghorn, B.J. Kirby, "Rare cell capture in microfluidic devices," Chemical engineering science, **66**(7), p. 1508-1522, 2011.
3. D.R. Gossett, W.M. Weaver, A.J. Mach, S.C. Hur, H.T. Kwong Tse, W. Lee, H. Amini, and D.D. Carlo, "Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems," Analytical and bioanalytical chemistry, **397**(8), p. 3249-3267, 2010.
4. K.K. Zeming, S. Ranjan, and Y. Zhang, "Rotational separation of non-spherical bioparticles using I-shaped pillar arrays in a microfluidic device," Nature communications, **4**, p. 1625, 2013.
5. J. Zhang, S. Yan, R. Sluyter, W. Li, G. Alici, and N.T. Nguyenb, "Inertial particle separation by differential equilibrium positions in a symmetrical serpentine micro-channel," Scientific reports, **4**, 2014.
6. J. Zhou, and I. Papautsky, "Fundamentals of inertial focusing in microchannels. Lab on a chip," **13**(6), p. 1121-1132, 2013.
7. R. Guldiken, M.C. Jo, N.D. Gallant, U. Demirci, and J. Zhe, "Sheathless size-based acoustic particle separation," Sensors, **12**(1), p. 905-922, 2012.
8. A.A.S. Bhagat, S.S. Kuntaegowdanahalli, and I. Papautsky, "Continuous particle separation in spiral microchannels using dean flows and differential migration," Lab on a chip, **8**(11), p. 1906-1914, 2008.
9. S.S. Kuntaegowdanahalli, A.S. Bhagat, G. Kumarb and I. Papautsky, "Inertial microfluidics for continuous particle separation in spiral microchannels," Lab on a chip, **9**(20), p. 2973-2980, 2009.
10. A.E. Hasnia, K. Göbbelsb, A.L. Thiebesb, P. Bräunigb, W. Mokwaa, U. Schnakenberga, "Focusing and sorting of particles in spiral microfluidic channels," Procedia engineering, **25**, p. 1197-1200, 2011.
11. J.M. Martel and M. Toner, "Particle focusing in curved microfluidic channels," Scientific reports, **3**, 2013.

12. S. Dutza, M.E. Haydenc, A. Schaapd, B. Stoeberd, U. O. Hafeli, "A microfluidic spiral for size-dependent fractionation of magnetic microspheres," *Journal of magnetism and magnetic materials*, **324**(22), p. 3791-3798, 2012.
13. M.E. Warkiani, G. Guan, K.B. Luan, W.C. Lee, A.A. Bhagat, "Slanted spiral microfluidics for the ultra-fast label-free isolation of circulating tumor cells," *Lab on a chip*, **14**(1), p. 128-137, 2014.
14. L. Wu, G. Guan, H.W. Hou, A. Asgar, S. Bhagat, and J.H. Tan, "Separation of leukocytes from blood using spiral channel with trapezoid cross-section," *Analytical chemistry*, **84**(21), p. 9324-9331, 2012.
15. G. Guan, L. Wu, A.A. Bhagat, Z. Li, P.Y. Chen, S. Chao, C.J. Ong, and J. Han, "Spiral microchannel with rectangular and trapezoidal cross-sections for size based particle separation," *Scientific reports*, **3**, 2013.
16. J.S. Park, S.H. Song, and H.I. Jung, "Continuous focusing of microparticles using inertial lift force and vorticity via multi-orifice microfluidic channels," *Lab on a chip*, **9**(7), p. 939-948, 2009.



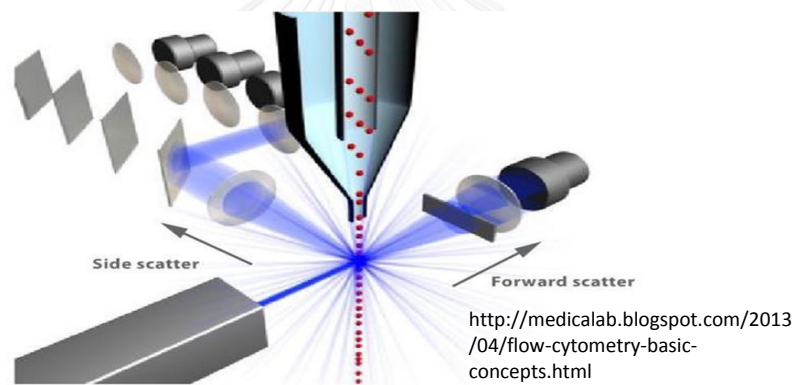
ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก
อุปกรณ์นับเซลล์ (Flow cytometer)

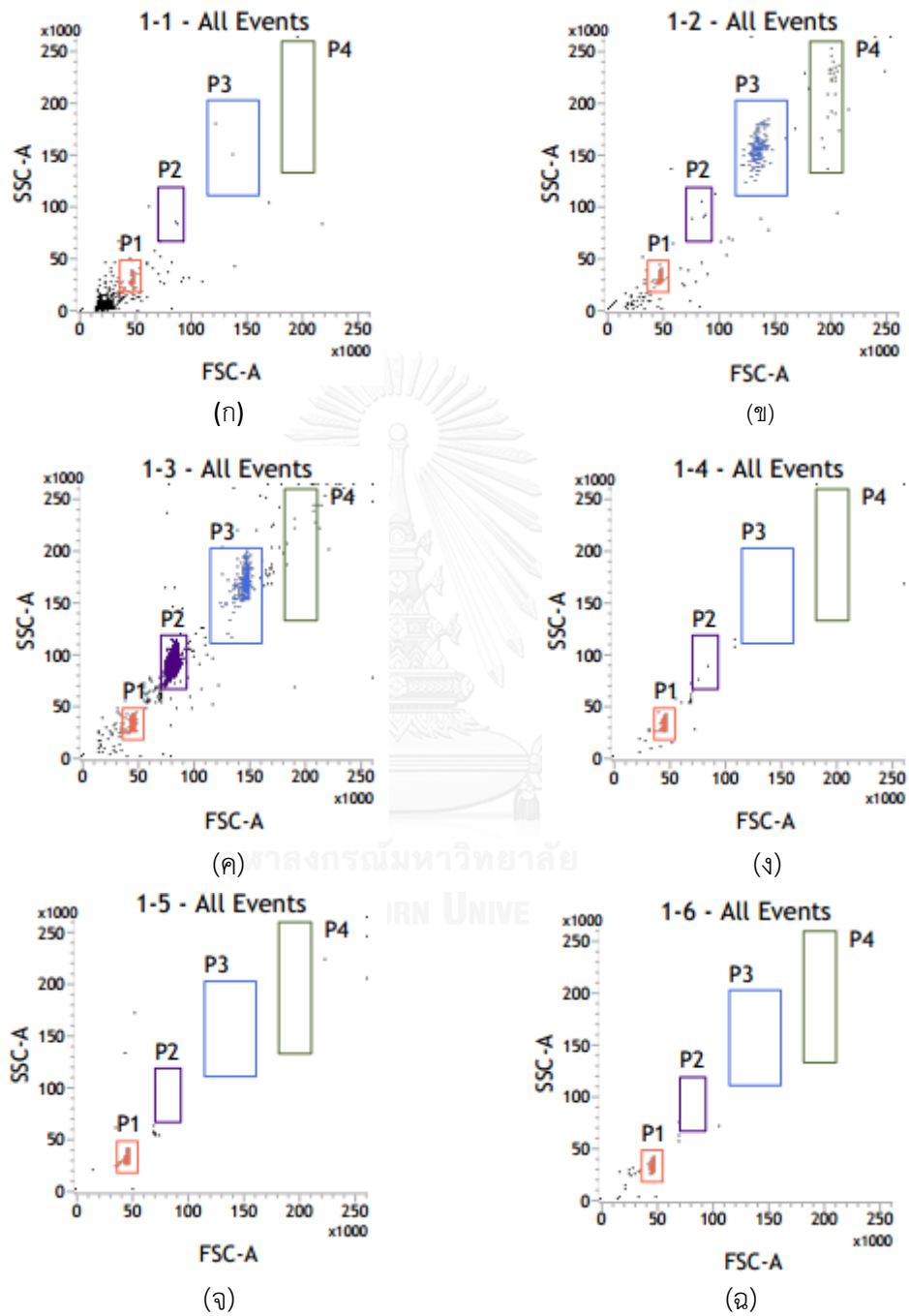


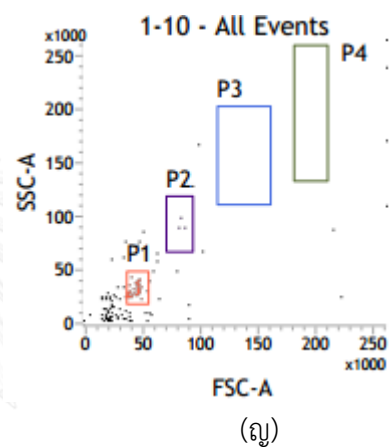
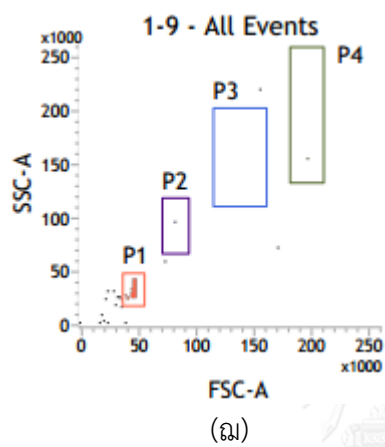
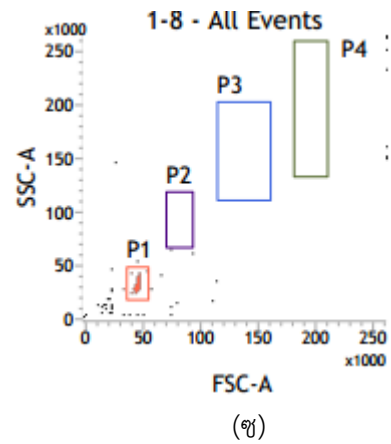
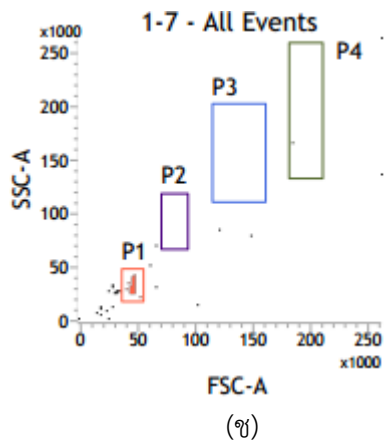
รูปที่ ก1 เครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) App



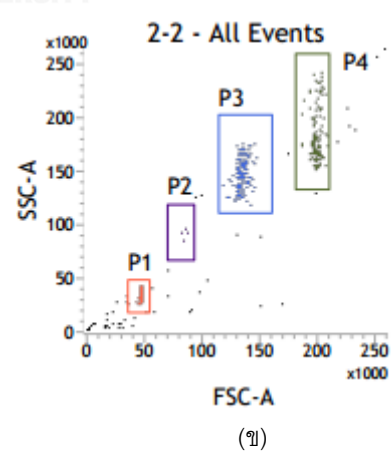
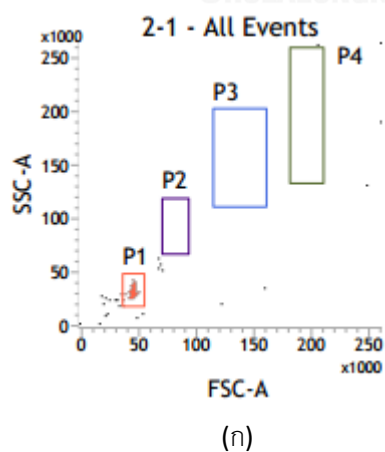
รูปที่ ก2 เครื่องตรวจนับคุณสมบัติของเซลล์ (Flow Cytometry) เอาไว้ด้านหลัง

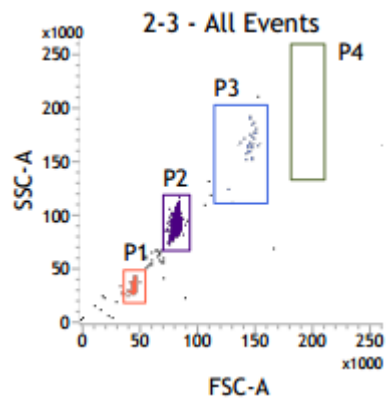
ภาคผนวก ข

ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 μm ครั้งที่ 1 - 3

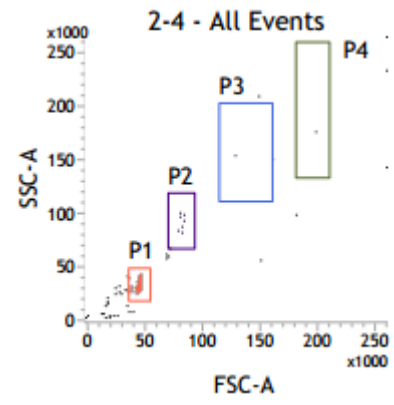


รูปที่ ข1 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 1 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ช) ช่องที่ 8 (ฉ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10

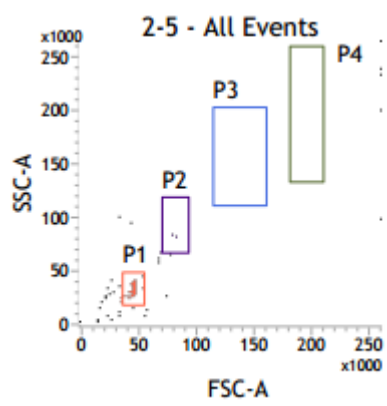




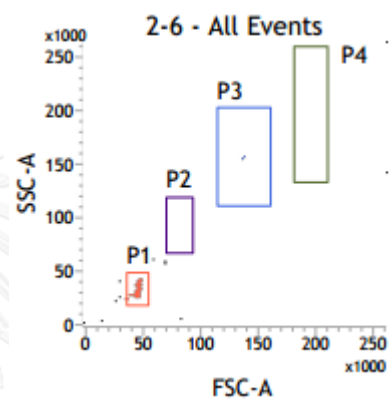
(ค)



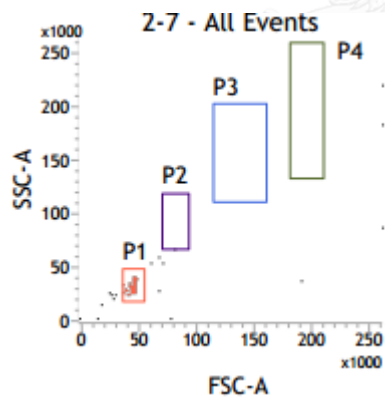
(ง)



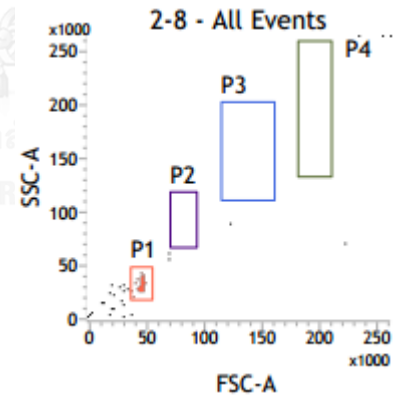
(จ)



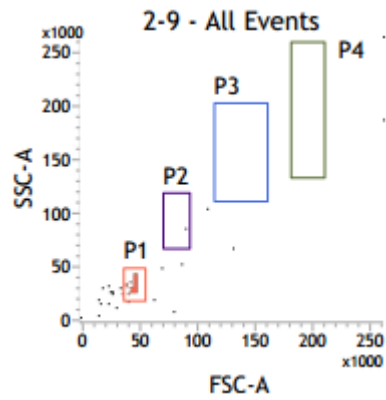
(ฉ)



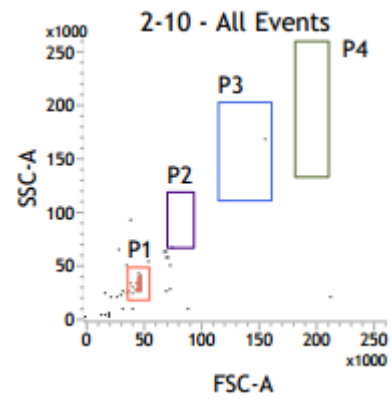
(ช)



(ซ)

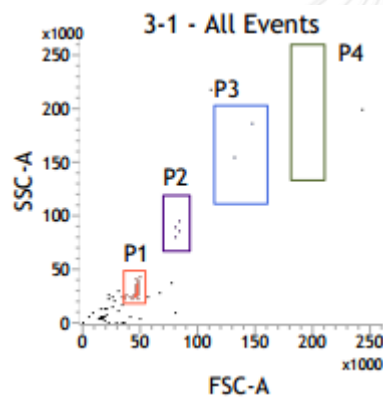


(ฉ)

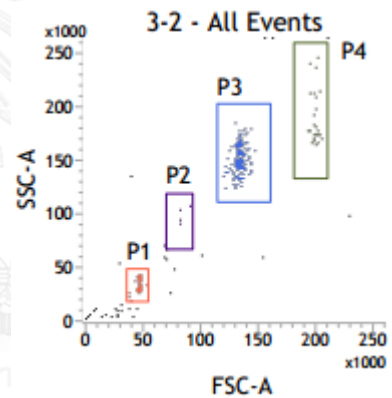


(ญ)

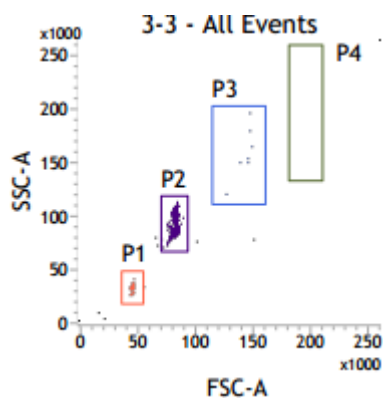
รูปที่ ข2 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ฉ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10



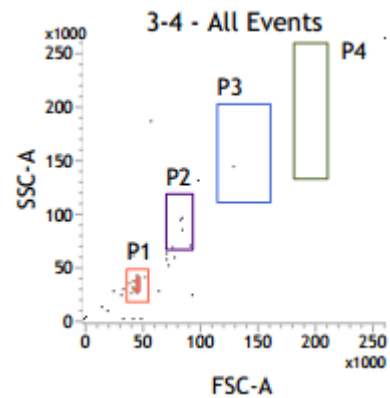
(ก)



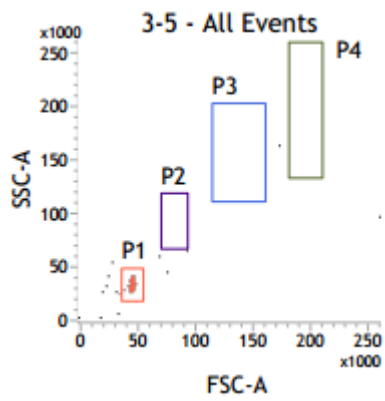
(ข)



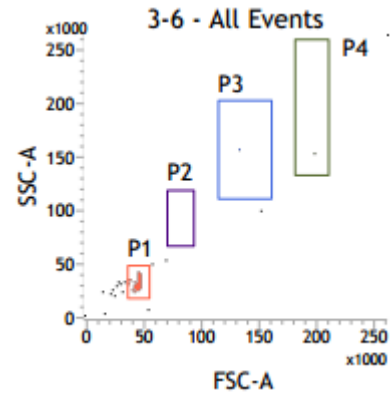
(ค)



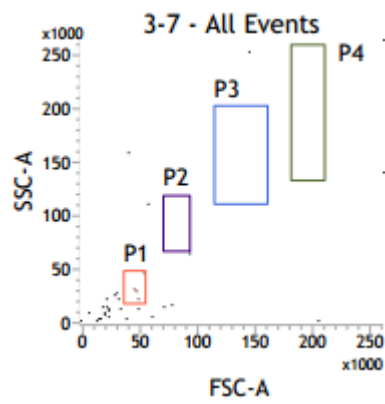
(ง)



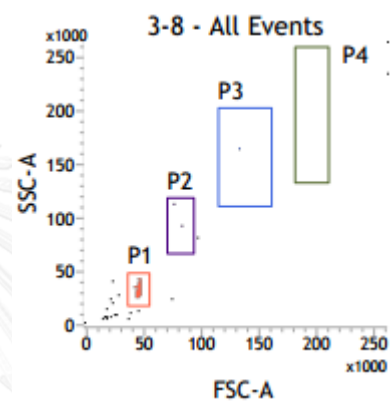
(จ)



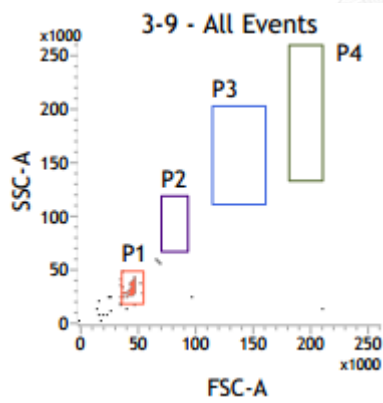
(ฉ)



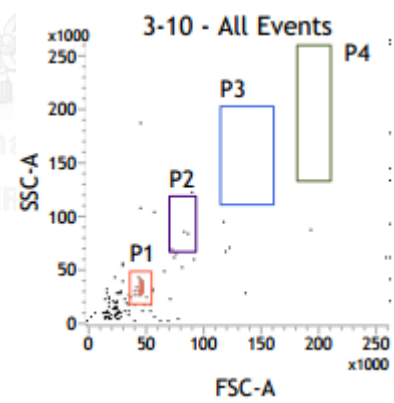
(ช)



(ซ)



(ฅ)



(ณ)

รูปที่ ข3 ผลการนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ฅ) ช่องที่ 9 และ (ณ) ช่องที่ 10

ตารางที่ ข1 การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 1

Statistics					
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	Events/uL
1-1:All Events	855	***	***	100.00	32.88
1-1:P1	70	8.19	***	8.19	2.69
1-1:P2	3	0.35	***	0.35	0.12
1-1:P3	2	0.23	***	0.23	0.08
1-1:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
1-2:All Events	656	***	***	100.00	50.46
1-2:P1	204	31.10	***	31.10	15.69
1-2:P2	4	0.61	***	0.61	0.31
1-2:P3	149	22.71	***	22.71	11.46
1-2:P4	23	3.51	***	3.51	1.77
1-3:All Events	10,000	***	***	100.00	400.00
1-3:P1	1,514	15.14	***	15.14	60.56
1-3:P2	6,442	64.42	***	64.42	257.68
1-3:P3	295	2.95	***	2.95	11.80
1-3:P4	6	0.06	***	0.06	0.24
1-4:All Events	719	***	***	100.00	179.75
1-4:P1	590	82.06	***	82.06	147.50
1-4:P2	3	0.42	***	0.42	0.75
1-4:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-4:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
1-5:All Events	848	***	***	100.00	169.60
1-5:P1	697	82.19	***	82.19	139.40
1-5:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
1-5:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-5:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
1-6:All Events	663	***	***	100.00	94.71
1-6:P1	539	81.30	***	81.30	77.00
1-6:P2	1	0.15	***	0.15	0.14
1-6:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-6:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
1-7:All Events	523	***	***	100.00	65.38
1-7:P1	412	78.78	***	78.78	51.50
1-7:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
1-7:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-7:P4	1	0.19	***	0.19	0.12
1-8:All Events	542	***	***	100.00	60.22
1-8:P1	413	76.20	***	76.20	45.89
1-8:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
1-8:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-8:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
1-9:All Events	564	***	***	100.00	70.50
1-9:P1	458	81.21	***	81.21	57.25
1-9:P2	1	0.18	***	0.18	0.12
1-9:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-9:P4	1	0.18	***	0.18	0.12
1-10:All Events	216	***	***	100.00	2.63
1-10:P1	76	35.19	***	35.19	0.93
1-10:P2	3	1.39	***	1.39	0.04
1-10:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
1-10:P4	0	0.00	***	0.00	0.00

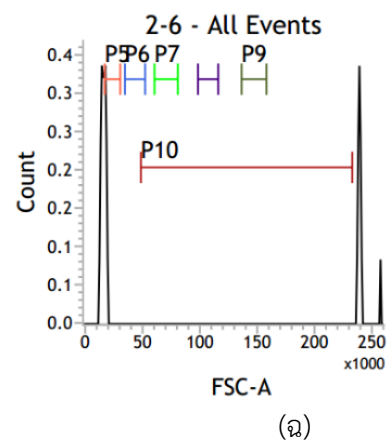
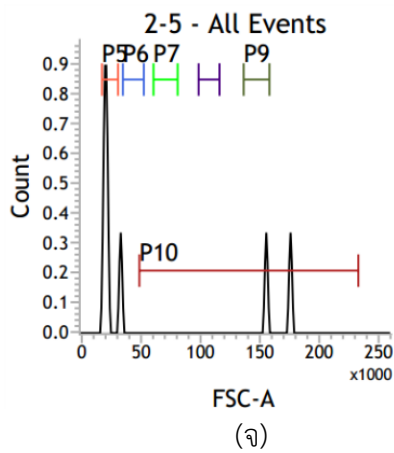
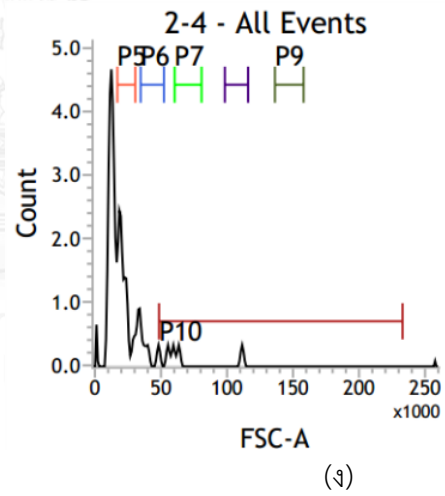
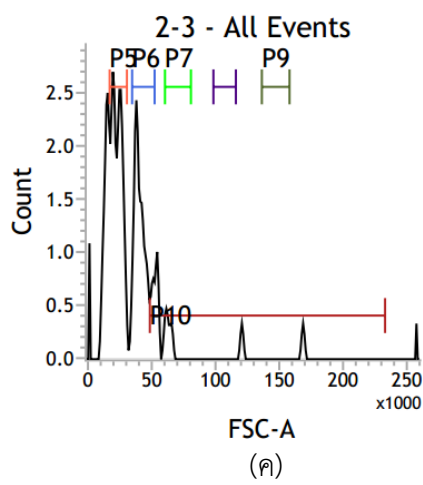
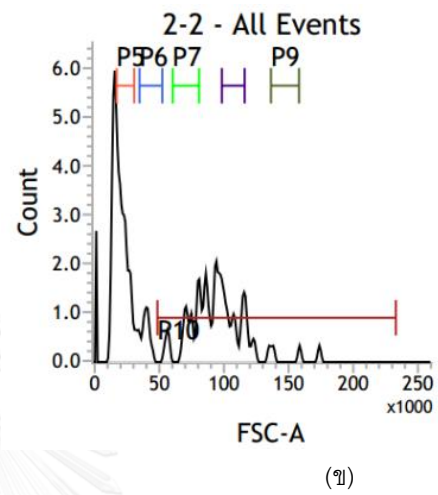
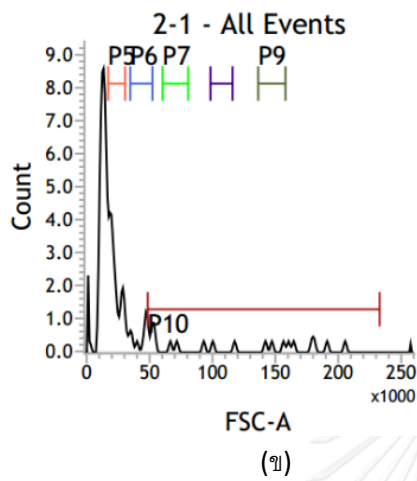
ตารางที่ ข2 การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2

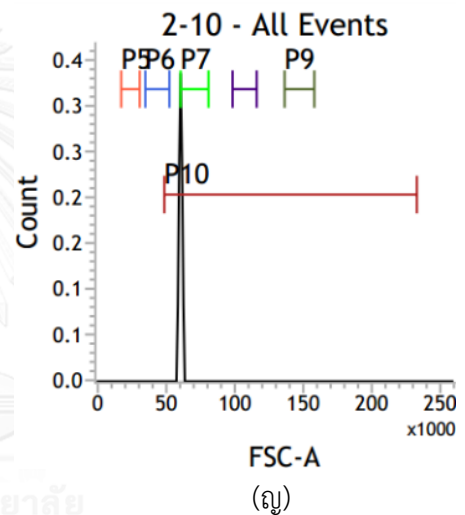
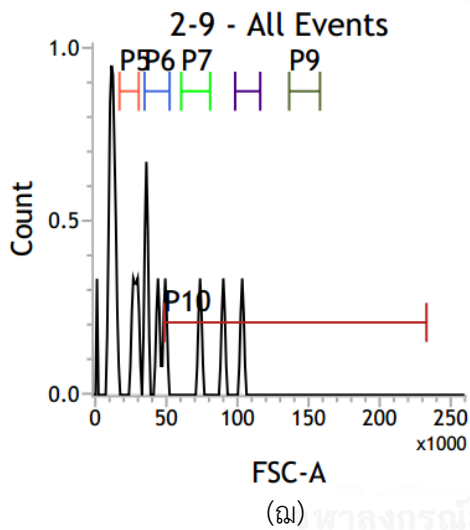
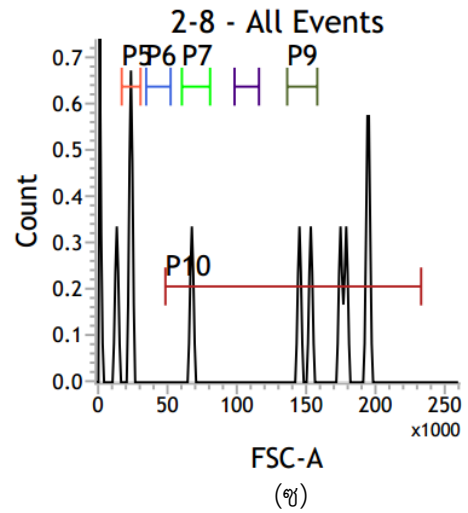
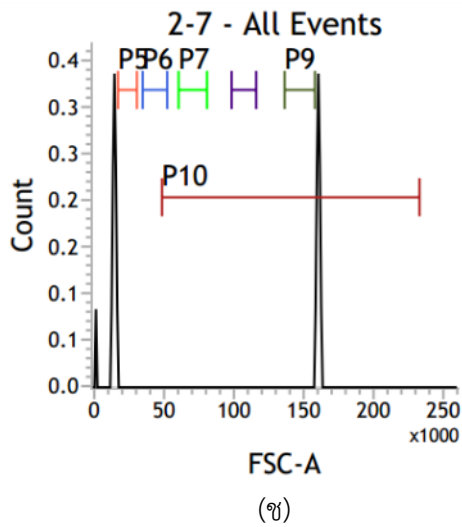
Statistics					
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	Events/uL
2-1:All Events	616	***	***	100.00	88.00
2-1:P1	492	79.87	***	79.87	70.29
2-1:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
2-1:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
2-1:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-2:All Events	581	***	***	100.00	116.20
2-2:P1	137	23.58	***	23.58	27.40
2-2:P2	4	0.69	***	0.69	0.80
2-2:P3	143	24.61	***	24.61	28.60
2-2:P4	123	21.17	***	21.17	24.60
2-3:All Events	2,097	***	***	100.00	419.40
2-3:P1	680	32.43	***	32.43	136.00
2-3:P2	1,008	48.07	***	48.07	201.60
2-3:P3	27	1.29	***	1.29	5.40
2-3:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-4:All Events	535	***	***	100.00	76.43
2-4:P1	400	74.77	***	74.77	57.14
2-4:P2	8	1.50	***	1.50	1.14
2-4:P3	1	0.19	***	0.19	0.14
2-4:P4	1	0.19	***	0.19	0.14
2-5:All Events	489	***	***	100.00	54.33
2-5:P1	378	77.30	***	77.30	42.00
2-5:P2	3	0.61	***	0.61	0.33
2-5:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
2-5:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-6:All Events	534	***	***	100.00	89.00
2-6:P1	433	81.09	***	81.09	72.17
2-6:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
2-6:P3	2	0.37	***	0.37	0.33
2-6:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-7:All Events	537	***	***	100.00	76.71
2-7:P1	437	81.38	***	81.38	62.43
2-7:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
2-7:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
2-7:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-8:All Events	581	***	***	100.00	96.83
2-8:P1	457	78.66	***	78.66	76.17
2-8:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
2-8:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
2-8:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-9:All Events	525	***	***	100.00	75.00
2-9:P1	418	79.62	***	79.62	59.71
2-9:P2	1	0.19	***	0.19	0.14
2-9:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
2-9:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
2-10:All Events	543	***	***	100.00	67.88
2-10:P1	429	79.01	***	79.01	53.62
2-10:P2	1	0.18	***	0.18	0.12
2-10:P3	1	0.18	***	0.18	0.12
2-10:P4	0	0.00	***	0.00	0.00

ตารางที่ ข3 การนับเม็ดโพลีเมอร์ผสมขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3

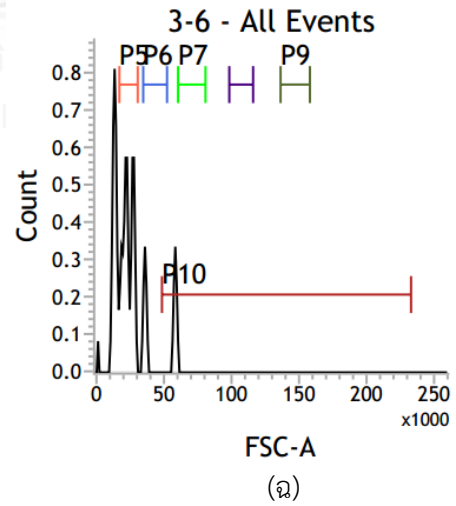
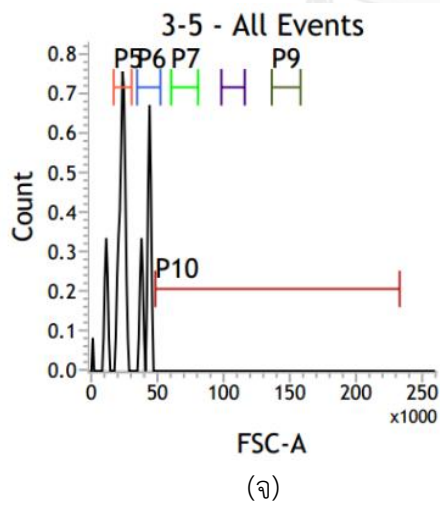
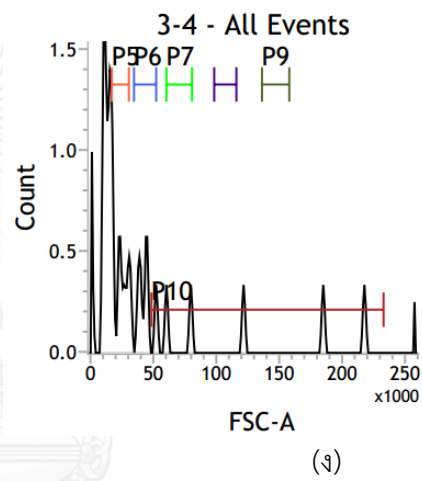
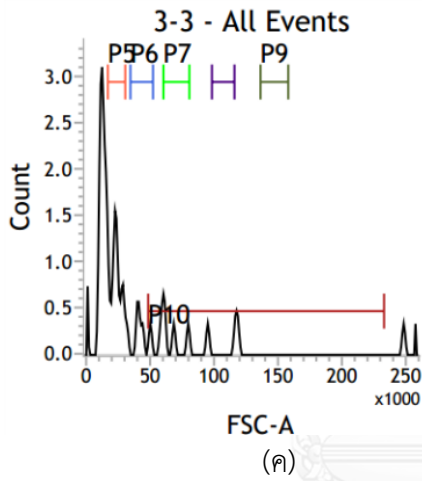
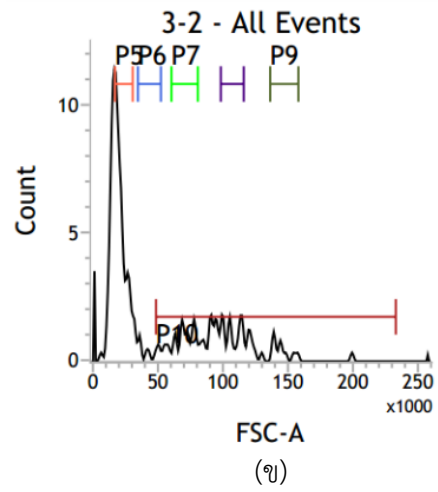
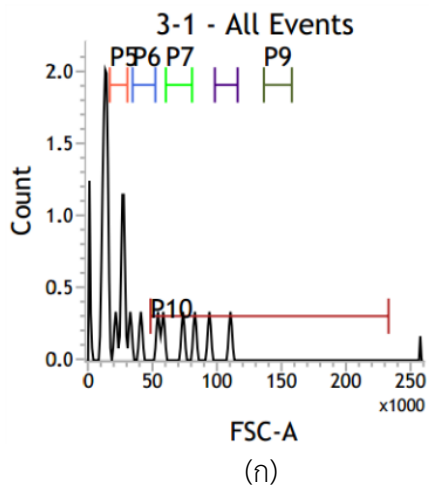
Statistics					
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	Events/uL
3-1:All Events	213	***	***	100.00	4.73
3-1:P1	126	59.15	***	59.15	2.80
3-1:P2	4	1.88	***	1.88	0.09
3-1:P3	2	0.94	***	0.94	0.04
3-1:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-2:All Events	547	***	***	100.00	78.14
3-2:P1	165	30.16	***	30.16	23.57
3-2:P2	4	0.73	***	0.73	0.57
3-2:P3	159	29.07	***	29.07	22.71
3-2:P4	26	4.75	***	4.75	3.71
3-3:All Events	634	***	***	100.00	317.00
3-3:P1	50	7.89	***	7.89	25.00
3-3:P2	470	74.13	***	74.13	235.00
3-3:P3	7	1.10	***	1.10	3.50
3-3:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-4:All Events	572	***	***	100.00	143.00
3-4:P1	450	78.67	***	78.67	112.50
3-4:P2	5	0.87	***	0.87	1.25
3-4:P3	1	0.17	***	0.17	0.25
3-4:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-5:All Events	573	***	***	100.00	143.25
3-5:P1	481	83.94	***	83.94	120.25
3-5:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
3-5:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
3-5:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-6:All Events	528	***	***	100.00	75.43
3-6:P1	434	82.20	***	82.20	62.00
3-6:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
3-6:P3	1	0.19	***	0.19	0.14
3-6:P4	1	0.19	***	0.19	0.14
3-7:All Events	38	***	***	100.00	1.41
3-7:P1	3	7.89	***	7.89	0.11
3-7:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
3-7:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
3-7:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-8:All Events	503	***	***	100.00	31.44
3-8:P1	406	80.72	***	80.72	25.38
3-8:P2	2	0.40	***	0.40	0.12
3-8:P3	1	0.20	***	0.20	0.06
3-8:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-9:All Events	520	***	***	100.00	57.78
3-9:P1	425	81.73	***	81.73	47.22
3-9:P2	0	0.00	***	0.00	0.00
3-9:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
3-9:P4	0	0.00	***	0.00	0.00
3-10:All Events	221	***	***	100.00	6.70
3-10:P1	82	37.10	***	37.10	2.48
3-10:P2	3	1.36	***	1.36	0.09
3-10:P3	0	0.00	***	0.00	0.00
3-10:P4	0	0.00	***	0.00	0.00

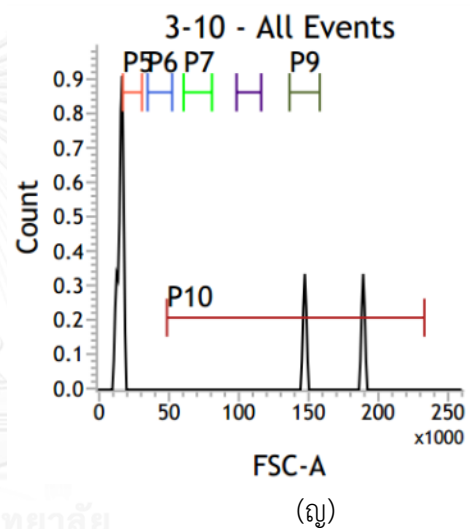
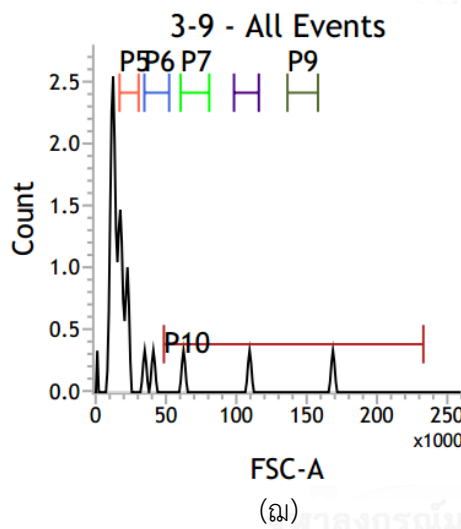
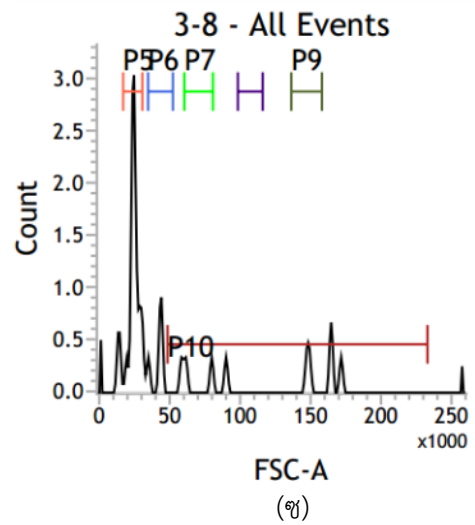
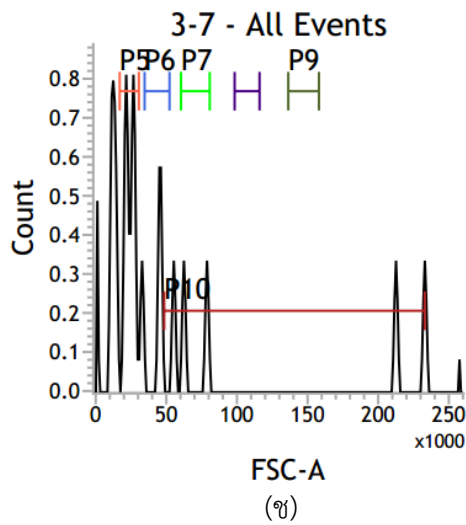
ภาคผนวก ค

ผลการนับเซลล์ขนาด 15 – 25 μm ครั้งที่ 1 – 3



รูปที่ ค1 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ง) ช่องที่ 8 (ฉ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10





รูปที่ ค2 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 15 – 25 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ฉ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10

ตารางที่ ค1 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 1

Statistics						
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL
1-1:P5	100	25.25	***	25.25	23,778	1.00
1-1:P6	35	8.84	***	8.84	41,858	0.35
1-1:P7	12	3.03	***	3.03	68,208	0.12
1-1:P9	14	3.54	***	3.54	151,115	0.14
1-1:P8	19	4.80	***	4.80	107,904	0.19
1-2:P5	92	16.73	***	16.73	22,384	13.14
1-2:P6	7	1.27	***	1.27	40,516	1.00
1-2:P7	19	3.45	***	3.45	74,239	2.71
1-2:P8	63	11.45	***	11.45	108,582	9.00
1-2:P9	62	11.27	***	11.27	147,685	8.86
1-3:P5	42	26.75	***	26.75	24,186	2.21
1-3:P6	42	26.75	***	26.75	42,363	2.21
1-3:P7	7	4.46	***	4.46	73,303	0.37
1-3:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-3:P9	2	1.27	***	1.27	143,108	0.11
1-4:P5	25	41.67	***	41.67	21,915	1.09
1-4:P6	7	11.67	***	11.67	40,045	0.30
1-4:P7	3	5.00	***	5.00	69,687	0.13
1-4:P8	1	1.67	***	1.67	106,225	0.04
1-4:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-5:P5	27	31.03	***	31.03	22,369	0.51
1-5:P6	10	11.49	***	11.49	42,258	0.19
1-5:P7	1	1.15	***	1.15	62,805	0.02
1-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-5:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-6:P5	31	41.33	***	41.33	24,738	3.88
1-6:P6	7	9.33	***	9.33	44,425	0.88
1-6:P7	9	12.00	***	12.00	72,173	1.12
1-6:P8	1	1.33	***	1.33	110,458	0.12
1-6:P9	2	2.67	***	2.67	152,376	0.25
1-7:P5	30	34.48	***	34.48	21,987	1.30
1-7:P6	7	8.05	***	8.05	43,362	0.30
1-7:P7	2	2.30	***	2.30	72,100	0.09
1-7:P8	1	1.15	***	1.15	104,397	0.04
1-7:P9	1	1.15	***	1.15	142,462	0.04
1-8:P5	38	40.86	***	40.86	22,709	1.58
1-8:P6	9	9.68	***	9.68	44,462	0.38
1-8:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-8:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-8:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-9:P5	17	33.33	***	33.33	22,543	0.65
1-9:P6	5	9.80	***	9.80	42,862	0.19
1-9:P7	1	1.96	***	1.96	68,556	0.04
1-9:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-10:P5	15	25.00	***	25.00	22,630	0.83
1-10:P6	9	15.00	***	15.00	40,059	0.50
1-10:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-10:P8	1	1.67	***	1.67	114,790	0.06
1-10:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
1-1:P10	110	27.78	***	27.78	116,692	1.10
1-2:P10	304	55.27	***	55.27	124,752	43.43
1-3:P10	30	19.11	***	19.11	86,863	1.58
1-4:P10	11	18.33	***	18.33	73,896	0.48
1-5:P10	8	9.20	***	9.20	93,901	0.15
1-6:P10	19	25.33	***	25.33	85,272	2.38
1-7:P10	15	17.24	***	17.24	97,918	0.65
1-8:P10	6	6.45	***	6.45	81,544	0.25
1-9:P10	5	9.80	***	9.80	90,359	0.19
1-10:P10	4	6.67	***	6.67	70,466	0.22

ตารางที่ ค2 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 2

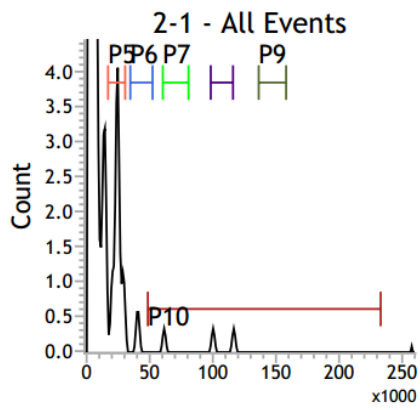
Statistics						
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL
2-1:P5	34	23.78	***	23.78	22,711	0.48
2-1:P6	8	5.59	***	5.59	44,916	0.11
2-1:P7	2	1.40	***	1.40	70,401	0.03
2-1:P8	1	0.70	***	0.70	101,828	0.01
2-1:P9	3	2.10	***	2.10	150,345	0.04
2-1:P10	22	15.38	***	15.38	109,685	0.31
2-2:P5	40	23.67	***	23.67	22,653	20.00
2-2:P6	8	4.73	***	4.73	40,848	4.00
2-2:P7	11	6.51	***	6.51	74,621	5.50
2-2:P8	17	10.06	***	10.06	107,332	8.50
2-2:P9	1	0.59	***	0.59	139,705	0.50
2-2:P10	68	40.24	***	40.24	97,143	34.00
2-3:P5	30	34.09	***	34.09	23,599	2.14
2-3:P6	22	25.00	***	25.00	42,340	1.57
2-3:P7	3	3.41	***	3.41	64,376	0.21
2-3:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-3:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-3:P10	11	12.50	***	12.50	73,647	0.79
2-4:P5	17	28.81	***	28.81	22,136	0.34
2-4:P6	5	8.47	***	8.47	40,073	0.10
2-4:P7	1	1.69	***	1.69	65,366	0.02
2-4:P8	1	1.69	***	1.69	112,909	0.02
2-4:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-4:P10	5	8.47	***	8.47	69,183	0.10
2-5:P5	4	57.14	***	57.14	21,484	0.11
2-5:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-5:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-5:P9	1	14.29	***	14.29	157,152	0.03
2-5:P10	2	28.57	***	28.57	167,632	0.05
2-6:P5	1	25.00	***	25.00	19,228	0.07
2-6:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P10	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P5	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P10	1	33.33	***	33.33	162,592	0.07
2-8:P5	2	14.29	***	14.29	25,198	0.20
2-8:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-8:P7	1	7.14	***	7.14	69,031	0.10
2-8:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-8:P9	2	14.29	***	14.29	151,080	0.20
2-8:P10	7	50.00	***	50.00	160,174	0.70
2-9:P5	1	5.56	***	5.56	27,667	0.06
2-9:P6	4	22.22	***	22.22	42,653	0.25
2-9:P7	1	5.56	***	5.56	75,557	0.06
2-9:P8	1	5.56	***	5.56	105,200	0.06
2-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-9:P10	4	22.22	***	22.22	80,795	0.25
2-10:P5	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-10:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-10:P7	1	100.00	***	100.00	61,869	0.17
2-10:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-10:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-10:P10	1	100.00	***	100.00	61,869	0.17

ตารางที่ ค3 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 15 – 25 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 3

Statistics						
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL
3-1:P5	6	17.14	***	17.14	25,825	0.22
3-1:P6	1	2.86	***	2.86	42,073	0.04
3-1:P7	1	2.86	***	2.86	74,755	0.04
3-1:P8	1	2.86	***	2.86	112,574	0.04
3-1:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-1:P10	6	17.14	***	17.14	80,586	0.22
3-2:P5	86	32.33	***	32.33	21,944	21.50
3-2:P6	8	3.01	***	3.01	43,997	2.00
3-2:P7	21	7.89	***	7.89	72,842	5.25
3-2:P8	21	7.89	***	7.89	107,848	5.25
3-2:P9	10	3.76	***	3.76	146,489	2.50
3-2:P10	88	33.08	***	33.08	99,190	22.00
3-3:P5	15	27.27	***	27.27	23,220	1.88
3-3:P6	4	7.27	***	7.27	45,355	0.50
3-3:P7	3	5.45	***	5.45	65,141	0.38
3-3:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-3:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-3:P10	9	16.36	***	16.36	80,358	1.12
3-4:P5	7	18.42	***	18.42	21,457	1.00
3-4:P6	4	10.53	***	10.53	43,178	0.57
3-4:P7	1	2.63	***	2.63	61,490	0.14
3-4:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-4:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-4:P10	6	15.79	***	15.79	120,965	0.86
3-5:P5	4	44.44	***	44.44	24,755	0.50
3-5:P6	3	33.33	***	33.33	43,423	0.38
3-5:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P10	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P5	5	45.45	***	45.45	24,930	0.28
3-6:P6	1	9.09	***	9.09	37,317	0.06
3-6:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P10	1	9.09	***	9.09	59,682	0.06
3-7:P5	6	26.09	***	26.09	25,526	0.46
3-7:P6	2	8.70	***	8.70	47,120	0.15
3-7:P7	2	8.70	***	8.70	72,238	0.15
3-7:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-7:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-7:P10	4	17.39	***	17.39	103,867	0.31
3-8:P5	14	35.00	***	35.00	25,937	1.00
3-8:P6	4	10.00	***	10.00	42,792	0.29
3-8:P7	2	5.00	***	5.00	71,839	0.14
3-8:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-8:P9	2	5.00	***	5.00	150,105	0.14
3-8:P10	9	22.50	***	22.50	122,556	0.64
3-9:P5	9	31.03	***	31.03	20,850	0.47
3-9:P6	2	6.90	***	6.90	39,518	0.11
3-9:P7	1	3.45	***	3.45	64,445	0.05
3-9:P8	1	3.45	***	3.45	111,398	0.05
3-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-9:P10	3	10.34	***	10.34	115,609	0.16
3-10:P5	2	33.33	***	33.33	18,035	0.11
3-10:P6	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-10:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-10:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-10:P9	1	16.67	***	16.67	148,644	0.05
3-10:P10	2	33.33	***	33.33	169,975	0.11

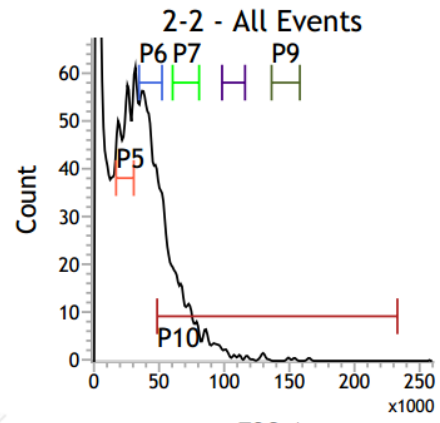
ภาคผนวก ง

ผลการนับเซลล์ขนาด 10 - 15 μm ครั้งที่ 1 - 3



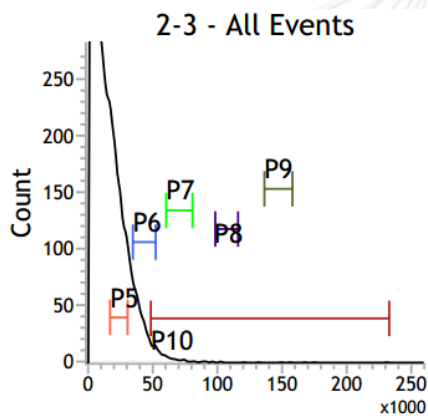
FSC-A

(ก)



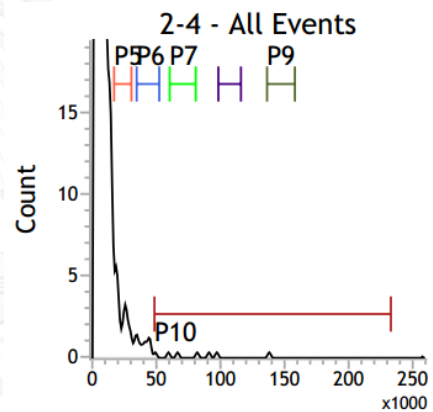
FSC-A

(ข)



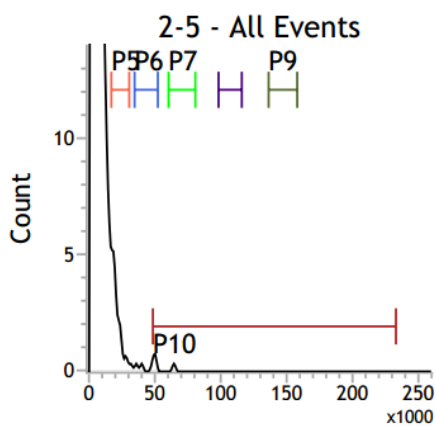
FSC-A

(ค)



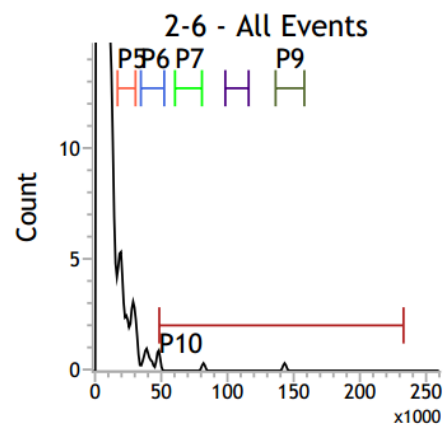
FSC-A

(ง)



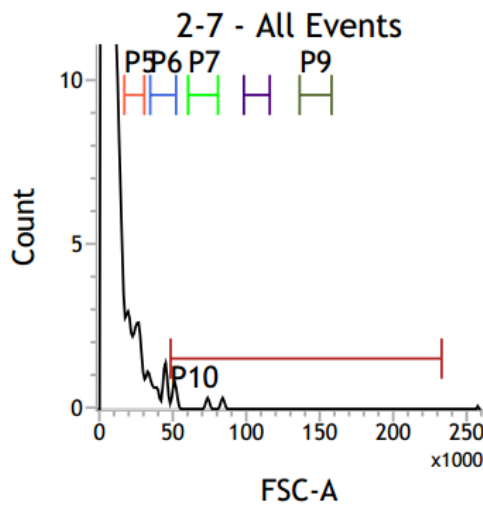
FSC-A

(จ)

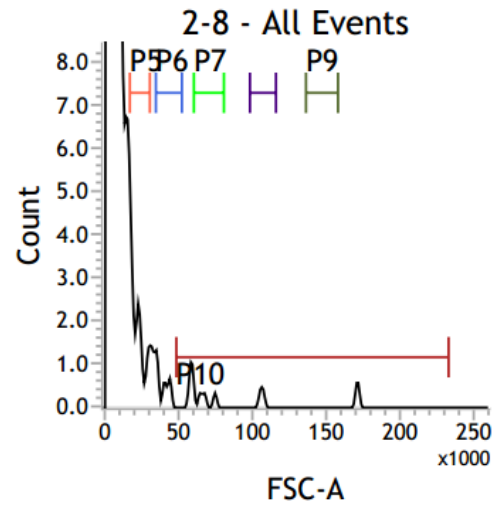


FSC-A

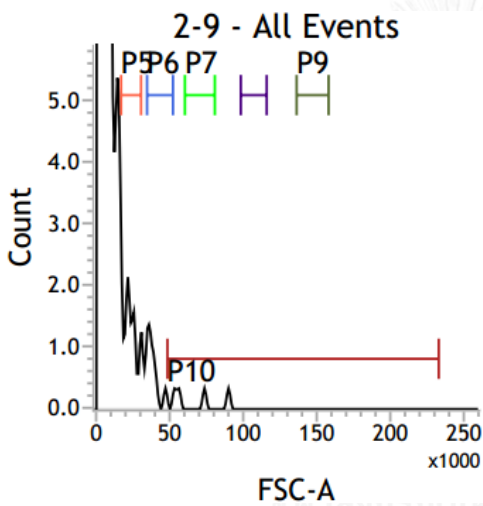
(ฉ)



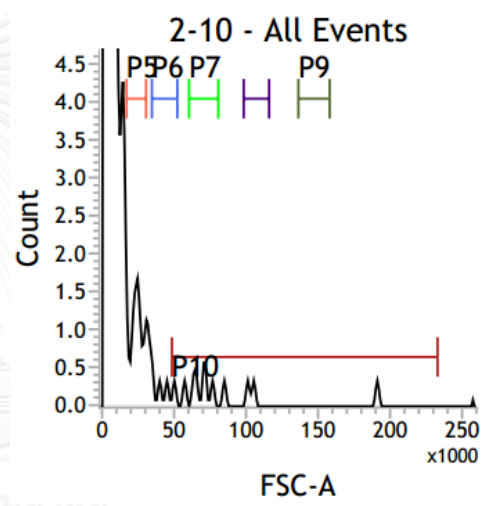
(ข)



(ค)

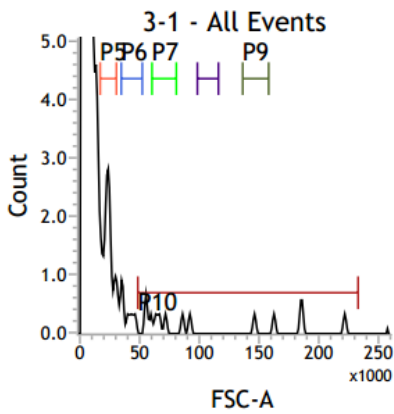


(ง)

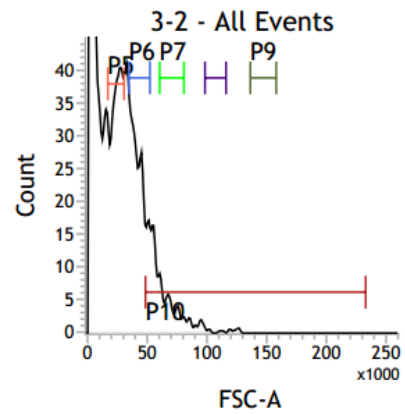


(จ)

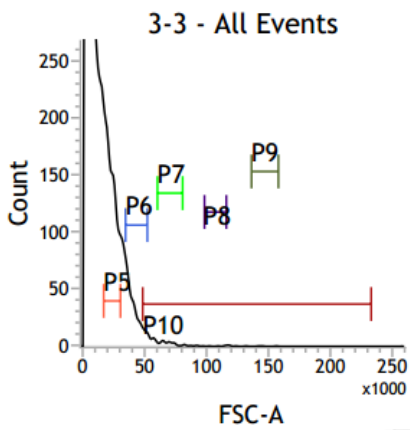
รูปที่ ง1 ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร ครั้งที่ 2 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 7 (ข) ช่องที่ 8 (ค) ช่องที่ 9 และ (ง) ช่องที่ 10



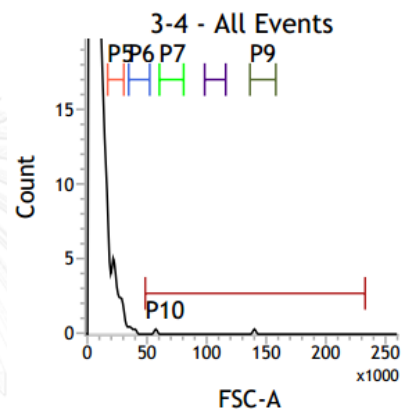
(ก)



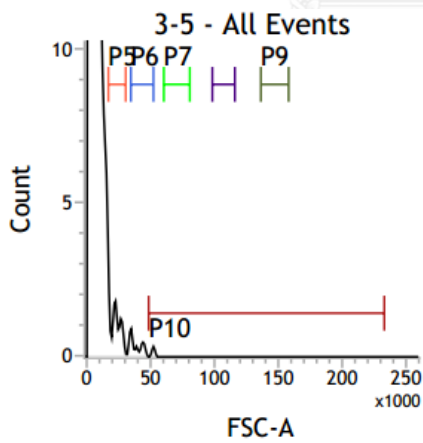
(ข)



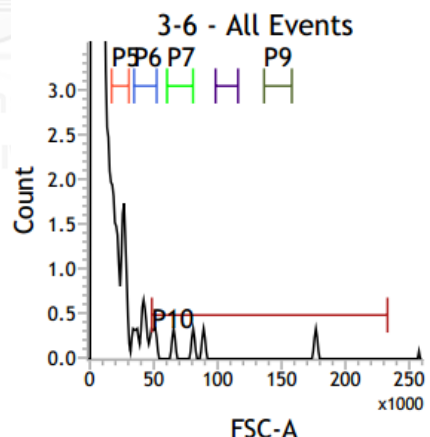
(ค)



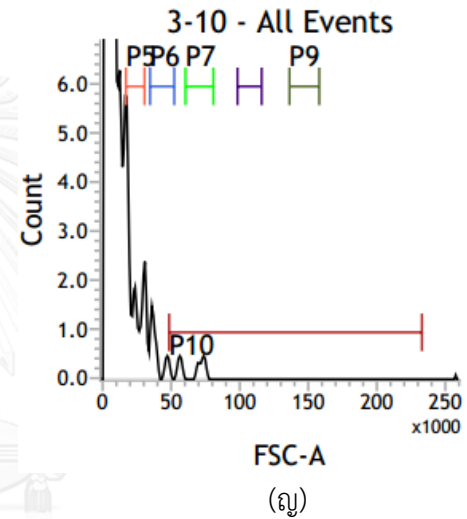
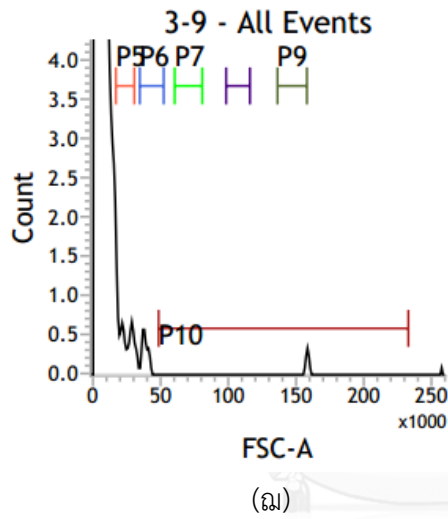
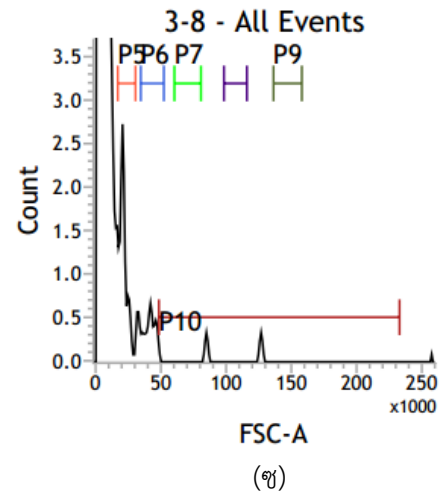
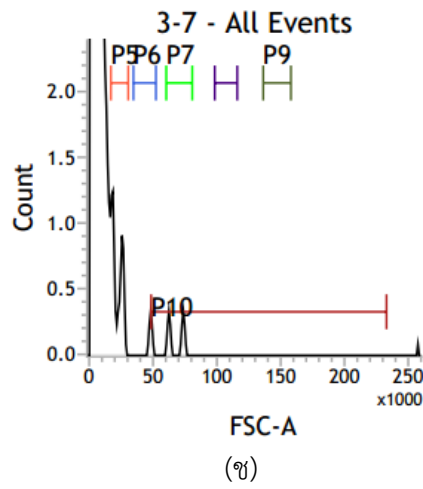
(ง)



(จ)



(ฉ)



รูปที่ ๖๒ ผลการนับเซลล์มะเร็งขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร ครั้งที่ 3 จากช่องทางออกหมายเลข (ก) ช่องที่ 1 (ข) ช่องที่ 2 (ค) ช่องที่ 3 (ง) ช่องที่ 4 (จ) ช่องที่ 5 (ฉ) ช่องที่ 6 (ช) ช่องที่ 7 (ซ) ช่องที่ 8 (ฅ) ช่องที่ 9 และ (ญ) ช่องที่ 10

ตารางที่ ง1 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 1

Statistics							
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL	
1-1:P5	72	10.81	***	10.81	24,371	1.26	
1-1:P6	15	2.25	***	2.25	43,440	0.26	
1-1:P7	9	1.35	***	1.35	73,790	0.16	
1-1:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-1:P8	1	0.15	***	0.15	110,199	0.02	
1-2:P5	503	18.66	***	18.66	24,334	41.92	
1-2:P6	557	20.66	***	20.66	42,773	46.42	
1-2:P7	144	5.34	***	5.34	68,397	12.00	
1-2:P8	11	0.41	***	0.41	105,361	0.92	
1-2:P9	1	0.04	***	0.04	151,895	0.08	
1-3:P5	721	23.56	***	23.56	23,044	240.33	
1-3:P6	230	7.52	***	7.52	40,964	76.67	
1-3:P7	16	0.52	***	0.52	69,361	5.33	
1-3:P8	2	0.07	***	0.07	107,398	0.67	
1-3:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-4:P5	46	4.63	***	4.63	21,114	11.50	
1-4:P6	8	0.81	***	0.81	38,906	2.00	
1-4:P7	1	0.10	***	0.10	65,541	0.25	
1-4:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-4:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-5:P5	84	7.66	***	7.66	21,428	42.00	
1-5:P6	11	1.00	***	1.00	41,142	5.50	
1-5:P7	3	0.27	***	0.27	66,933	1.50	
1-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-5:P9	1	0.09	***	0.09	148,103	0.50	
1-6:P5	48	5.10	***	5.10	22,069	6.86	
1-6:P6	16	1.70	***	1.70	40,538	2.29	
1-6:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-6:P8	1	0.11	***	0.11	104,484	0.14	
1-6:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-7:P5	88	9.42	***	9.42	22,536	11.00	
1-7:P6	23	2.46	***	2.46	41,150	2.88	
1-7:P7	3	0.32	***	0.32	75,764	0.38	
1-7:P8	1	0.11	***	0.11	104,401	0.12	
1-7:P9	1	0.11	***	0.11	152,598	0.12	
1-8:P5	111	11.70	***	11.70	22,518	10.09	
1-8:P6	23	2.42	***	2.42	43,302	2.09	
1-8:P7	4	0.42	***	0.42	69,215	0.36	
1-8:P8	1	0.11	***	0.11	101,455	0.09	
1-8:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-9:P5	33	4.63	***	4.63	22,899	4.12	
1-9:P6	19	2.66	***	2.66	41,718	2.38	
1-9:P7	2	0.28	***	0.28	75,161	0.25	
1-9:P8	1	0.14	***	0.14	113,061	0.12	
1-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00	
1-10:P5	44	8.37	***	8.37	22,601	3.14	
1-10:P6	11	2.09	***	2.09	41,157	0.79	
1-10:P7	2	0.38	***	0.38	63,560	0.14	
1-10:P8	1	0.19	***	0.19	109,478	0.07	
1-10:P9	1	0.19	***	0.19	140,668	0.07	
1-1:P10	19	2.85	***	2.85	78,157	0.33	
1-2:P10	443	16.43	***	16.43	65,485	36.92	
1-3:P10	65	2.12	***	2.12	61,701	21.67	
1-4:P10	7	0.70	***	0.70	97,887	1.75	
1-5:P10	5	0.46	***	0.46	79,608	2.50	
1-6:P10	13	1.38	***	1.38	87,217	1.86	
1-7:P10	10	1.07	***	1.07	82,912	1.25	
1-8:P10	14	1.48	***	1.48	76,152	1.27	
1-9:P10	8	1.12	***	1.12	68,842	1.00	
1-10:P10	8	1.52	***	1.52	92,494	0.57	

ตารางที่ ง2 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 2

Statistics						
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL
2-1:P5	20	11.83	***	11.83	25,553	0.43
2-1:P6	2	1.18	***	1.18	42,301	0.04
2-1:P7	1	0.59	***	0.59	63,441	0.02
2-1:P8	1	0.59	***	0.59	102,323	0.02
2-1:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-1:P10	3	1.78	***	1.78	94,649	0.07
2-2:P5	674	17.72	***	17.72	24,172	28.08
2-2:P6	847	22.27	***	22.27	43,012	35.29
2-2:P7	274	7.20	***	7.20	69,282	11.42
2-2:P8	22	0.58	***	0.58	105,765	0.92
2-2:P9	4	0.11	***	0.11	153,187	0.17
2-2:P10	766	20.14	***	20.14	66,635	31.92
2-3:P5	2,348	23.48	***	23.48	23,052	180.62
2-3:P6	717	7.17	***	7.17	41,205	55.15
2-3:P7	58	0.58	***	0.58	68,684	4.46
2-3:P8	3	0.03	***	0.03	104,259	0.23
2-3:P9	2	0.02	***	0.02	154,742	0.15
2-3:P10	227	2.27	***	2.27	63,905	17.46
2-4:P5	48	7.28	***	7.28	22,717	48.00
2-4:P6	15	2.28	***	2.28	41,705	15.00
2-4:P7	2	0.30	***	0.30	64,714	2.00
2-4:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-4:P9	1	0.15	***	0.15	139,473	1.00
2-4:P10	7	1.06	***	1.06	84,969	7.00
2-5:P5	36	5.31	***	5.31	21,473	12.00
2-5:P6	5	0.74	***	0.74	46,441	1.67
2-5:P7	1	0.15	***	0.15	66,078	0.33
2-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-5:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-5:P10	4	0.59	***	0.59	54,883	1.33
2-6:P5	45	6.22	***	6.22	23,231	9.00
2-6:P6	9	1.24	***	1.24	43,618	1.80
2-6:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-6:P9	1	0.14	***	0.14	145,321	0.20
2-6:P10	4	0.55	***	0.55	81,759	0.80
2-7:P5	35	6.97	***	6.97	23,782	7.00
2-7:P6	13	2.59	***	2.59	43,449	2.60
2-7:P7	1	0.20	***	0.20	75,082	0.20
2-7:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-7:P10	5	1.00	***	1.00	63,673	1.00
2-8:P5	31	6.18	***	6.18	21,584	5.17
2-8:P6	8	1.59	***	1.59	40,343	1.33
2-8:P7	5	1.00	***	1.00	66,739	0.83
2-8:P8	2	0.40	***	0.40	107,921	0.33
2-8:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-8:P10	11	2.19	***	2.19	92,306	1.83
2-9:P5	22	4.46	***	4.46	22,592	3.67
2-9:P6	10	2.03	***	2.03	39,392	1.67
2-9:P7	1	0.20	***	0.20	75,215	0.17
2-9:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-9:P10	5	1.01	***	1.01	65,506	0.83
2-10:P5	16	5.71	***	5.71	23,745	1.78
2-10:P6	5	1.79	***	1.79	42,482	0.56
2-10:P7	5	1.79	***	1.79	71,095	0.56
2-10:P8	2	0.71	***	0.71	105,181	0.22
2-10:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
2-10:P10	11	3.93	***	3.93	86,841	1.22

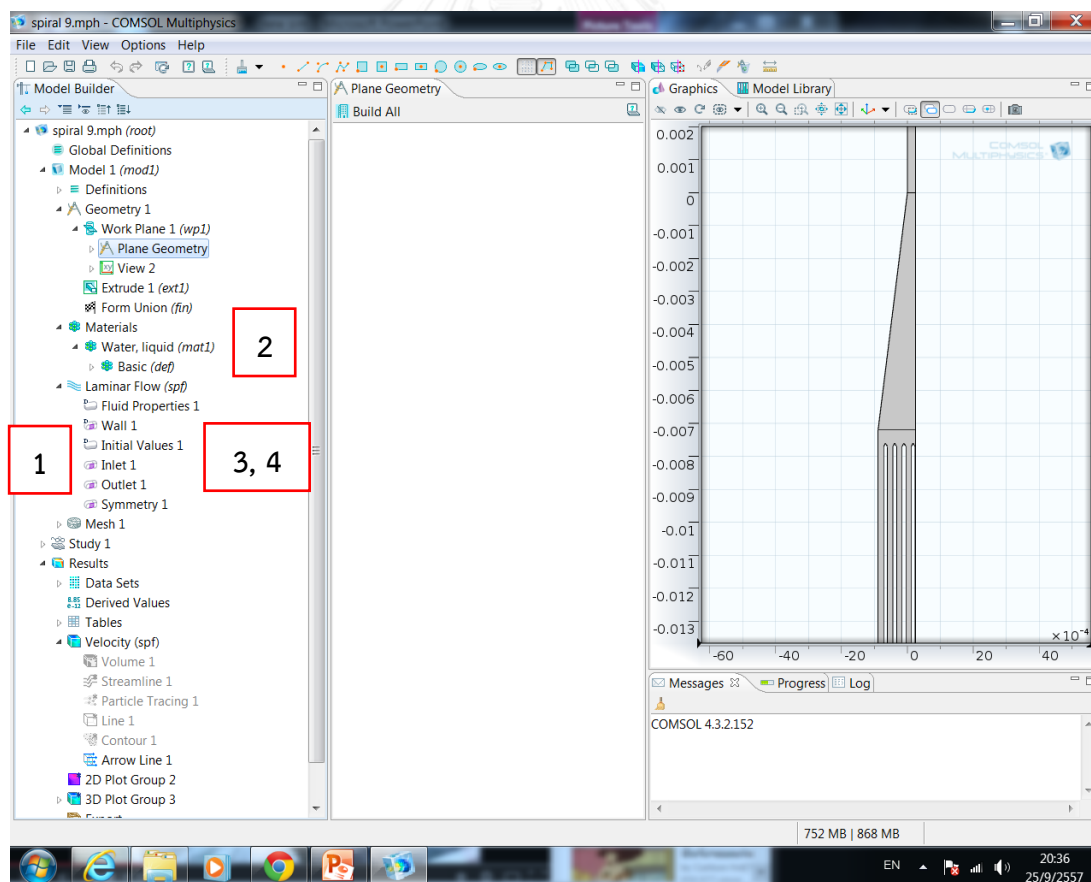
ตารางที่ 3 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งขนาด 10 – 15 ไมโครเมตร ของการทดลองครั้งที่ 3

Statistics						
Name	Events	% Parent	% Grandparent	% Total	FSC-A Mean	Events/uL
3-1:P5	24	8.99	***	8.99	23,256	0.83
3-1:P6	6	2.25	***	2.25	40,644	0.21
3-1:P7	3	1.12	***	1.12	68,939	0.10
3-1:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-1:P9	1	0.37	***	0.37	148,365	0.03
3-1:P10	13	4.87	***	4.87	113,357	0.45
3-2:P5	490	19.75	***	19.75	24,331	37.69
3-2:P6	468	18.86	***	18.86	42,389	36.00
3-2:P7	100	4.03	***	4.03	68,701	7.69
3-2:P8	7	0.28	***	0.28	104,775	0.54
3-2:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-2:P10	312	12.58	***	12.58	64,619	24.00
3-3:P5	2,191	21.91	***	21.91	23,074	168.54
3-3:P6	672	6.72	***	6.72	40,935	51.69
3-3:P7	60	0.60	***	0.60	69,249	4.62
3-3:P8	3	0.03	***	0.03	110,393	0.23
3-3:P9	3	0.03	***	0.03	149,868	0.23
3-3:P10	211	2.11	***	2.11	64,489	16.23
3-4:P5	59	7.65	***	7.65	22,556	29.50
3-4:P6	3	0.39	***	0.39	38,590	1.50
3-4:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-4:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-4:P9	1	0.13	***	0.13	142,240	0.50
3-4:P10	2	0.26	***	0.26	100,661	1.00
3-5:P5	22	3.68	***	3.68	22,077	3.67
3-5:P6	6	1.00	***	1.00	39,841	1.00
3-5:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-5:P10	1	0.17	***	0.17	54,117	0.17
3-6:P5	20	8.66	***	8.66	23,635	5.00
3-6:P6	6	2.60	***	2.60	42,551	1.50
3-6:P7	1	0.43	***	0.43	66,618	0.25
3-6:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-6:P10	6	2.60	***	2.60	86,871	1.50
3-7:P5	10	3.92	***	3.92	22,015	3.33
3-7:P6	1	0.39	***	0.39	49,494	0.33
3-7:P7	2	0.78	***	0.78	69,386	0.67
3-7:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-7:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-7:P10	3	1.18	***	1.18	62,755	1.00
3-8:P5	16	6.78	***	6.78	22,191	4.00
3-8:P6	6	2.54	***	2.54	43,407	1.50
3-8:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-8:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-8:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-8:P10	3	1.27	***	1.27	87,890	0.75
3-9:P5	11	3.62	***	3.62	22,385	3.67
3-9:P6	3	0.99	***	0.99	40,293	1.00
3-9:P7	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-9:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-9:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-9:P10	1	0.33	***	0.33	160,394	0.33
3-10:P5	32	10.09	***	10.09	21,194	3.20
3-10:P6	9	2.84	***	2.84	40,576	0.90
3-10:P7	3	0.95	***	0.95	74,060	0.30
3-10:P8	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-10:P9	0	0.00	***	0.00	***	0.00
3-10:P10	6	1.89	***	1.89	64,604	0.60

ภาคผนวก จ

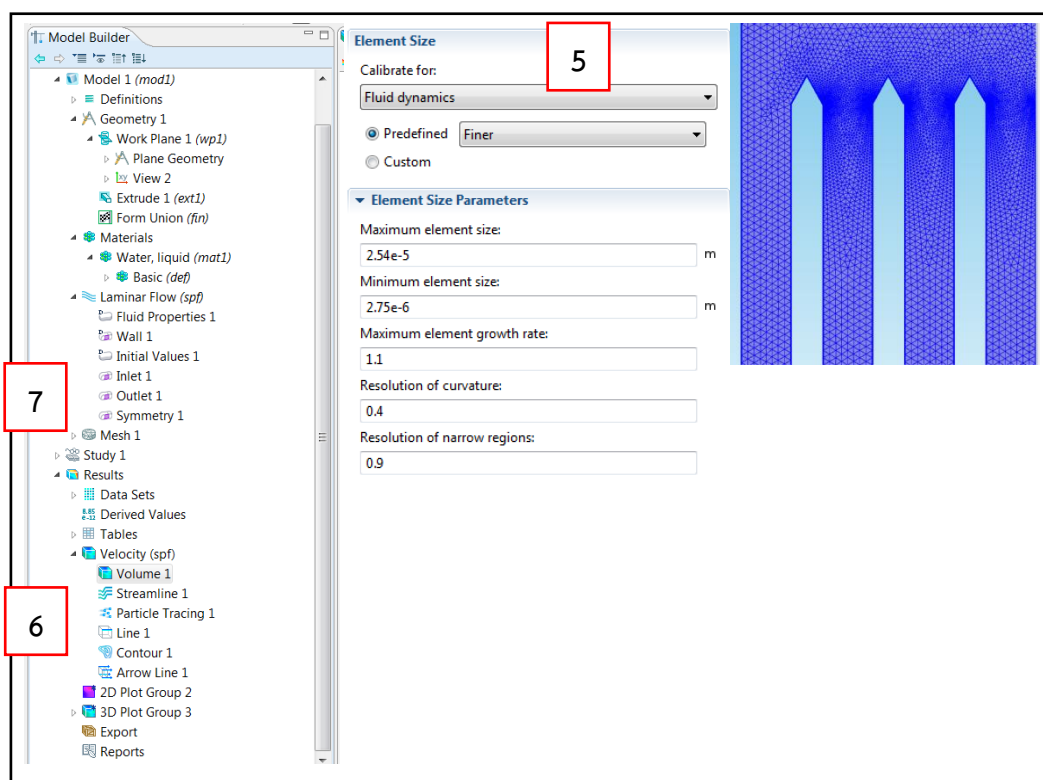
ขั้นตอนการใช้ Software COMSOL

1. เริ่มต้นจากการเลือกหมวดของการไหล ซึ่งหมวดที่เลือกใช้คือ Laminar Flow จากนั้นเริ่มสร้างรูปร่างช่องทางการไหลในรูปแบบ 2 มิติในหัวข้อ Work Plane > Plane Geometry ตามขนาดที่เราต้องการ แสดงดังรูปที่ จ1
2. ต่อมาเลือกชนิดของของไหลภายในท่อ ซึ่งการจำลองนี้ได้เลือกน้ำ (Water) ซึ่งจะประกอบไปด้วยความหนาแน่นเท่ากับ $1,000 \text{ kg/m}^3$ และค่าความหนืด (dynamics viscosity) เท่ากับ 1.002 Pa.s
3. เลือกคำสั่ง Extrude ขึ้นงานตามความสูงหรือความหนา เพื่อให้ชิ้นงานออกมาเป็นรูปแบบสามมิติ
4. เลือกการจำลองการนี้ได้กำหนดขอบเขตการพิจารณา (boundary condition) การไหลเป็นแบบราบเรียบ กำหนดการไหลในท่อทางเข้าเป็นความเร็วเฉลี่ยและมีทิศทางตามแกนของท่อที่กำหนดเงื่อนไขไม่ลื่นไหล (no slip condition) จะทำให้ความเร็วบริเวณที่ผนังของท่อเท่ากับศูนย์ จากนั้นจึงกำหนดทิศทางการไหลของท่อทางเข้าและท่อทางออก

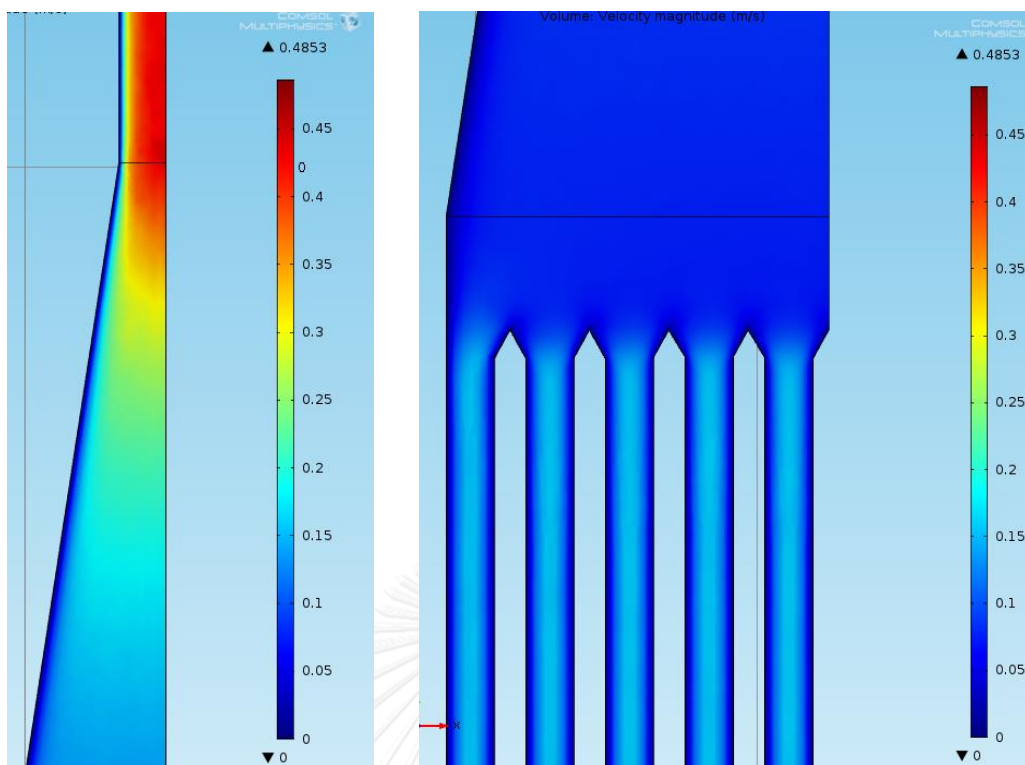


รูปที่ จ1 ภาพแสดงการกำหนดหมวดต่างๆของโปรแกรม

5. เลือกองค์ประกอบของชิ้นงาน (element) โดยหากเลือกความละเอียดมากทำให้การคำนวณทางคอมพิวเตอร์มีความแม่นยำสูงขึ้นด้วยแสดงดังรูปที่ จ2
6. ก่อนเริ่มทำการคำนวณสามารถเลือกรูปแบบการแสดงผลได้ดังต่อไปนี้คือ ความเร็ว (Velocity), รูปแบบการไหล (Streamline), การจำลองการเคลื่อนที่ของอนุภาค (Particle Tracing) เป็นต้น
7. หลังจากนั้นเริ่มการคำนวณโดยการกด Study เพื่อเริ่มในการคำนวณและสามารถติดตามผลการจำลองได้ดังรูปที่ จ3

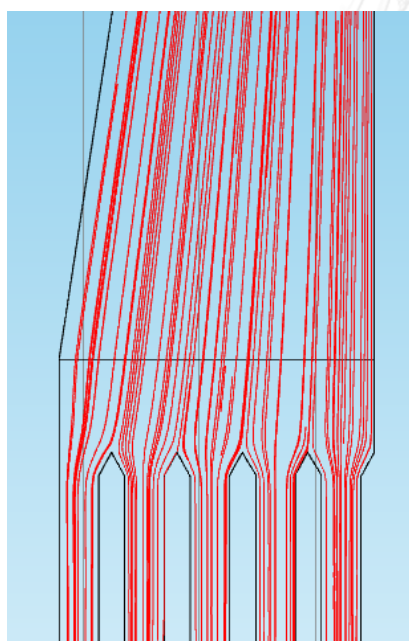


รูปที่ จ2 ภาพแสดงการกำหนดของ element

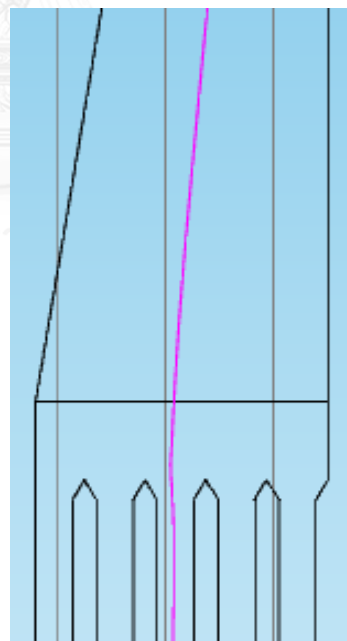


(ก)

(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 3 ผลการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (ก), (ข) ความเร็ว (Velocity), (ค) รูปแบบการไหล (Streamline) และ (ง) การจำลองการเคลื่อนที่ของอนุภาค (Particle Tracing)

ภาคผนวก ฉ
การวิเคราะห์ Shear stress

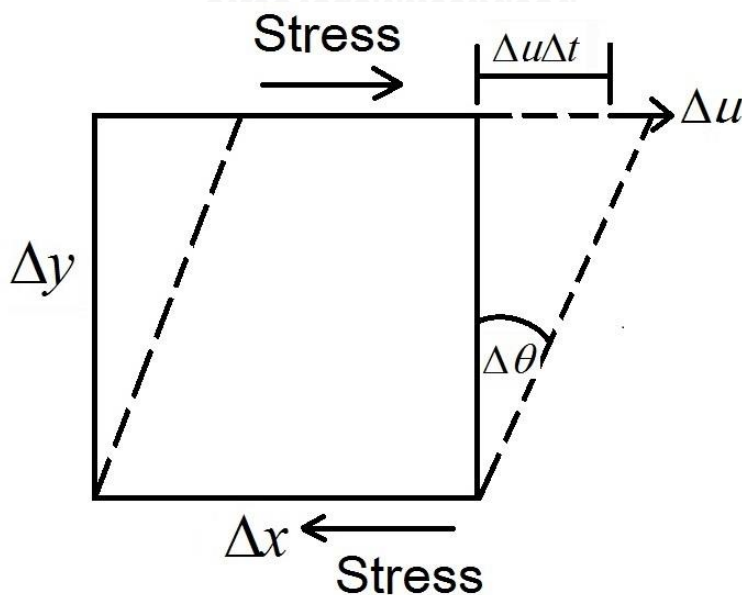
- ความเค้นเฉือน

จากการจำลองการไหลที่ท่อทางออกมุมบานที่ 6, 9 และ 12 องศา เพื่อหาขนาดของความเค้นเฉือนในทิศทางตามแกน X, Y และ Z โดยพบว่าความเค้นเฉือน (Shear stress) ซึ่งใช้สูตรการแสดงผลคือ $\text{spf} \cdot \mu \cdot (v_z + w_y)$, $\text{spf} \cdot \mu \cdot (w_x + u_z)$ และ $\text{spf} \cdot \mu \cdot (v_x + u_y)$ ซึ่ง $\text{spf} \cdot \mu$ คือ ค่า velocity gradient โดยในการจำลองนี้ได้ใช้ค่า μ หรือ Dynamic viscosity เท่ากับ 1.03×10^{-3} Pa.s จากการแสดงผลการจำลอง สี Contour สีต่างๆแสดงถึงค่า Shear stress ของการไหลภายในท่อ เรียงตามลำดับความแตกต่างของสีเริ่มจากสีน้ำเงินจนถึงสีแดง ซึ่งหมายถึงค่า shear stress ตั้งแต่ -4 ถึง 4 Pa แสดงดังรูปที่ 3.15, 3.16 และ 3.17 มีค่าสูงที่บริเวณท่อทางออกของมุมบาน 6, 9 และ 12 องศา โดยถ้าหากค่า Shear stress มีค่าสูงจะส่งผลกระทบต่อเซลล์ที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไป เพราะฉะนั้นค่าเค้นเฉือนควรมีค่าน้อยที่สุด

ซึ่งจากรูปที่ ฉ1 ค่า shear rate สามารถเขียนได้ในอีกหนึ่ง คือ $\text{shear rate} = \frac{\Delta\theta}{\Delta t}$

โดยที่มีค่าเท่ากับ $\frac{\Delta\theta}{\Delta t} = \frac{\Delta u \Delta t}{\Delta y} \cdot \frac{1}{\Delta t} = \frac{\Delta u}{\Delta y}$ เมื่อ $\Delta t \rightarrow 0$ จะได้ค่าเท่ากับ $\text{shear rate} = \frac{du}{dy}$ และ

สุดท้ายสามารถสรุปเป็นสมการ Newton Fluid จะเท่ากับ $\tau = \mu \frac{du}{dy}$



รูปที่ ฉ1 ภาพประกอบแสดงความสัมพันธ์ของสมการ Shear stress

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอรรถวุฒิ ถนอมศรีเดชชัย เกิดเมื่อวันที่ 25 พฤศจิกายน พ.ศ.2533 ที่จังหวัดระยอง เป็นบุตรชายคนโตของนายธรรณันดร ถนอมศรีเดชชัย และนางอรอนงค์ ถนอมศรีเดชชัย สำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ปีการศึกษา 2555 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556

