

รายการอ้างอิง

- [1] <http://pcfcij.dbs.aber.ac.uk/teaching/fcmmeth.html>
- [2] มานะ ศรียุทธศักดิ์ เอกสารประกอบการสอน อิเล็กทรอนิกส์ชีวแพทย์ 1992
- [3] Luckrum R. and Hauptmann P. The quartz crystal microbalance: mass sensitivity, viscoelasticity and acoustic amplification. Sensors and Actuators B: Chemical 70 (2000) :30-36
- [4] Jinzhong Z. , LiliBao, Shouzhuo, and Wanzhi. A series piezoelectric quartz crystal microbial Sensing Technique Used for Biochemical oxygen demand assay in environmental monitoring. Microchemical Journal 62(1999) :405-412
- [5] Janshoff A., Wegener J., Sieber M., and Galla H.-j. Double-mode impedance analysis of epithelial cell monolayers cultured on shear wave resonator measurement. Eur. Biophys.J. 25(1996):105-113
- [6] Kenneth A. Marx, Tiesan Z., Montrone A., Schulze H., Susan J. Braunhut. A quartz crystal microbalance cell biosensor: detection of microtubule alternations in living cells at nM nocodazole concentrations. Biosensors&Bioelectronics 16(2001) :773-782
- [7] Sauerbrey G, Z. Phys. 155 (1959) 206-222 อ้างอิงจาก Massood Z. Atashbar, Bruce B., Aditya V. and Srikanth S. QCM biosensor with ultra thin polymer film. Sensors and Actuators B: Chemical 107(2005) :945-951
- [8] Kanazawa K. K. and Gordon II J. Frequency of a Quartz Microbalance in contact with Liquid. Anal Chem. 57(1985) :1770-1771
- [9] Nanto H..Novel gas sensor using polymer-film-coated quartz resonator for environmental monitoring. Materials Science and Engineering C 12(2000) :43-48.
- [10] Attili B. S.; Suleiman A. A. Piezoelectric Immunosensor for the Detection of Cocaine. Microchem. 54, (1996):174-179
- [11] Wang J.Mismatch-sensitive Hybridization detection by PNA immobilized on a QCM. Anal. Chem. 69 (1997) :5200-5202
- [12] Velimir M. R. Principle of Acoustic Devices. John Wiley&Sons 1983
- [13] Pazen B. with Arthur B. Design of crystal and other harmonic. John Wiley&Sons 1983
- [14] Ward M.D., Delawsk E. J. Radial Mass Sensitivity of the Quartz Crystal Microbalance in Liquid Media. Anal. Chem. , 63(1991): 886-890
- [15] <http://www.ems.psu.edu/~schlom/>
- [16] www.rfdesign.com

- [17] Eichebaum E., Borngaber R., Schroder J., Lucklum R., and Hauptmann P. Interface circuits for quartz-crystal-microbalancesensors. Rev. Sci. Instrum.,70(1999): 2537-2545
- [18] Nivens D.E., Chambers J.Q., Anderson T.R., and White D.C. Long-term, on-line monitoring of microbial biofilms using a quartz crystal microbalance. Anal. Chem. 65(1993): 65-69
- [19] Lin Z., Ward M.D. The Role of Longitudinal Waves in Quartz Crystal Microbalance Applications in Liquids. Anal. Chem. 67(1995):685-693.
- [20] Schneider W.T. and Martin S. J.Influence of Compressional Wave Generation on Thickness Shear Mode Resonator Response in a fluid. Anal. Chem. 67(1995):3324-3335
- [21] Buttry D.A., Ward M. D. Measurement of Interfacial Processes at Electrode Surfaces with the Electrochemical Quartz Crystal Microbalance. Chem. Rev.,92(1992), 1355-1379
- [22] Nimeri G., Fredrikson C, Elwing H, Liu L, Rodahl M, KasemoB Neutrophil interaction with protein-coated surfaces studied by an extended quartz crystal microbalance .Coll Surf B Biointerfaces, 11((1998):255–264
- [23] Marxer C.G., Coen M.C., Greber T. , Greber U.F., Schlapbach L.. Cell spreading on quartz crystal microbalance elicits positive frequency shifts indicative of viscosity changes. Anal Bioanal Chem. 377 (2003) : 578–586
- [24] Alessandrini A. , Croce M.A., Tiozzo R., Facci P. Monitoring cell-cycle-related viscoelasticity by a quartz crystal microbalance. Applied Physics Letters88(2006):
- [25] Wegener J., Janshoff A., Gala H.J. Cell adhesion monitoring using a quartz crystal microbalance: comparative analysis of different mammalian cell lines. Eur Biophys J. 28(1998) :26-37
- [26] Gryte D.M., Ward M.D. , Hu Wei-Shou Real-Time Measurement of Anchorage-Dependence Cell Adhesion Using a Quartz Crystal Microbalance. Biotechnol. Prog. 9(1999) :105-108

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การพิสูจน์สมการของ Sauerbrey และ Kanazawa [19]

จากสมการการเคลื่อนที่แบบซิมเปิลฮาร์โมนิกตำแหน่งการเคลื่อนที่ของวัตถุสามารถแสดงได้ดังสมการ ก1 โดยที่ x_0 แทนการขจัดสูงสุด, x แทนตำแหน่งการเคลื่อนที่

$$x = x_0 \sin \omega t \quad (ก1)$$

สมการความเร็ว, v , สามารถเขียนได้เป็น

$$v = x_0 \omega \cos \omega t \quad (ก2)$$

พลังงานจลน์สูงสุด, T , สามารถแสดงได้ในสมการที่ ก3

$$T = \frac{1}{2} m v^2 = \frac{1}{2} m (x_0 \omega^2) \quad (ก3)$$

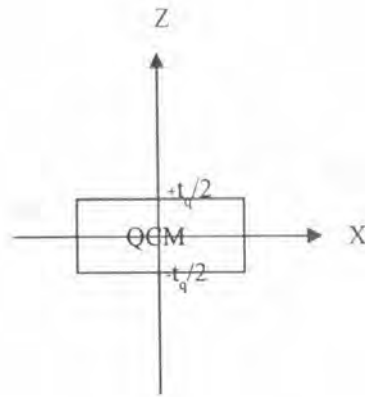
ดังนั้น

$$\frac{dT}{d\omega} = m x_0 \omega = \frac{2T}{\omega} \quad (ก4)$$

หากมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานจลน์, T และ ความถี่เชิงมุม, ω น้อยๆ สมการที่ ก4 สามารถประมาณเป็นเชิงเส้นได้เป็น

$$\frac{\Delta T}{\Delta \omega} \approx \frac{2T}{\omega} \quad (ก5)$$

$$\therefore \frac{\Delta f}{f} = \frac{\Delta T}{2T} \quad (ก6)$$



รูปที่ ก1 แกนอ้างอิงของ QCM ที่ใช้ในการคำนวณ

ความเร็วของคลื่นเฉือนใน QCM สามารถแสดงได้ดังสมการ ก6 [20] โดยที่ v_x แทนความเร็วในแกน x , V_0 แทนแอมพลิจูดของความเร็ว, r แทนระยะจากจุดศูนย์กลางอิเล็กโทรดเป็นรัศมีใดๆ, r_c แทนรัศมีอิเล็กโทรดของ QCM, a แทนค่าคงที่, t_q แทนความหนาของ QCM

$$v_x(r, z) = V_0 \cos \omega t \sin\left(\frac{\pi z}{t_q}\right) \exp\left(-\frac{ar^2}{r_c^2}\right) \quad (\text{ก7})$$

กำหนดให้ m_q แทนมวลของ QCM จะได้ว่าพลังงานใน QCM ทั้งหมดในขณะสั่นมีค่าเท่ากับ

$$\begin{aligned} T &= \frac{1}{2} \int v_x^2 dm_q = \frac{1}{2} \rho_q V_0^2 \int_{-1/2 t_q}^{1/2 t_q} \sin^2\left(\frac{\pi z}{t_q}\right) dz \times \int \exp\left(-2 \frac{ar^2}{r_c^2}\right) dA \\ &= \frac{1}{4} \rho_q t_q V_0^2 \int \exp\left(-2 \frac{ar^2}{r_c^2}\right) dA \end{aligned} \quad (\text{ก8})$$

เงื่อนไขการเกิดคลื่นเรโซแนนซ์ของ QCM กับ ความยาวคลื่น (λ) แสดงได้ดังสมการ ก9

$$t_q = n \frac{\lambda}{2} \quad n = 1, 3, 5 \dots \quad (\text{ก9})$$

ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์พื้นฐาน ($n = 1$) กับความหนาของ QCM สามารถแสดงได้ในสมการที่ ก10

$$f = \frac{v}{\lambda} = \frac{\sqrt{\mu_q / \rho_q}}{2t_q} \quad (\text{ก10})$$

$$\therefore \rho_q t_q = \frac{(\mu_q \rho_q)^{\frac{1}{2}}}{2f} \quad (\text{ก11})$$

จากเงื่อนไขของ Sauerbrey มวลที่เกาะที่ผิวของ QCM ต้องมีลักษณะเป็นฟิล์มบาง พลังงานจลน์ที่เปลี่ยนแปลง ΔT จะมีค่าเท่ากับ

$$\Delta T = \frac{1}{2} \int (v_x(r, \frac{t_q}{2}))^2 dm_q \quad (\text{ก12})$$

ความเร็วที่ตำแหน่ง $z = 0$ มีค่าเท่ากับ

$$v_x(r, \frac{t_q}{2}) = V_0 \cos \omega t \exp(-\frac{ar^2}{r_e^2}) \quad (\text{ก13})$$

$$\begin{aligned} \therefore \Delta T &= \frac{1}{2} \rho_f t_f V_0^2 \int \exp(-2\frac{ar^2}{r_e^2}) dA \\ &= \frac{\Delta m_f}{2A} V_0^2 \int \exp(-2\frac{ar^2}{r_e^2}) dA \end{aligned} \quad (\text{ก14})$$

ρ_f คือ ความหนาแน่นของฟิล์มบนผิวของ QCM, t_f คือ ความหนาของฟิล์มบนผิวของ QCM, m_f คือมวลของฟิล์ม

จากสมการที่ ก6

$$\frac{\Delta f}{f} = -\frac{\Delta T}{2T} = -\frac{\rho_f t_f}{\rho_q t_q} = -\frac{2f}{(\mu_q \rho_q)^{\frac{1}{2}}} \frac{\Delta m_f}{A} \quad (\text{ก15})$$

$$\Delta f = -\frac{2f^2}{(\mu_q \rho_q)^{\frac{1}{2}}} \frac{\Delta m_f}{A} \quad \text{Sauerbrey equation} \quad (ก16)$$

สำหรับสมการของ Kanazawa

เนื่องจากของเหลวสัมผัสกับผิวหน้าของ QCM ดังนั้น ความเร็วรอยต่อระหว่างผิวของ QCM กับของเหลวมีค่าเท่ากัน จากสมการของ Navier-Stokes ความเร็วของคลื่นเฉือนในของเหลวสามารถเขียนได้เป็น

$$v_x(r, z + \frac{t_q}{2}) = V_0 \cos \omega t \exp(-\frac{ar^2}{r_c^2}) \exp(-2kz) \quad (ก17)$$

พลังงานจลน์ที่เปลี่ยนแปลง ΔT_L จะมีค่าเท่ากับ

$$\Delta T_L = \frac{1}{2} \int v_x^2 dm_L = \frac{1}{2} \rho_L V_0^2 \int_0^\infty \exp(-2kz) dz \times \int \exp(-\frac{2ar^2}{r_c^2}) dA$$

กำหนดให้เลขคลื่น, $k = \frac{1}{\delta} = (\frac{\omega \rho_L}{2\eta_L})^{\frac{1}{2}}$, ρ_L คือ ความหนาแน่นของของเหลว, η_L คือ ความหนืดของของเหลว

$$\therefore \Delta T_L = \frac{1}{4} \rho_L \delta V_0^2 \int \exp(-\frac{2ar^2}{r_c^2}) dA \quad (ก18)$$

จากสมการที่ ก6 และ ก10

$$\frac{\Delta f}{f} = -\frac{\Delta T_L}{2T} = -\frac{\rho_L \delta}{2\rho_q t_q} = -\frac{f}{(\mu_q \rho_q)^{\frac{1}{2}}} \rho_L \delta \quad (ก19)$$

$$\rho_L \delta = \rho_L \sqrt{\frac{2\eta_L}{\omega \rho_L}} = \sqrt{\frac{\eta_L \rho_L}{\pi f}} \quad (ก20)$$

$$\therefore \Delta f = -f^{\frac{3}{2}} \left(\sqrt{\frac{\rho_L \eta_L}{\pi \mu_q \rho_q}} \right) \quad \text{Kanazawa equation} \quad (ก21)$$

การพิสูจน์การเกิดคลื่นตามยาว (Longitudinal wave)

จากสมการอนุรักษ์มวลของของเหลว

$$\frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_y}{\partial y} + \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0 \quad (ข1)$$

เนื่องจากความเร็วในแกน Y ที่เกิดขึ้นใน QCM มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงดังนั้น

$$\frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0 \quad (ข2)$$

ความเร็วของคลื่นเฉือนในแกน X มีค่าเท่ากับ

$$|v_x| = |V_0| \cos(\omega t - kz) \times e^{-kz} \times e^{\left(\frac{-ar^2}{r_e^2}\right)} \quad (ข3)$$

$$\therefore \frac{\partial v_x}{\partial x} = \left(-2 \times \frac{ax}{r_e^2}\right) \times |V_0| \cos(\omega t - kz) \times e^{-kz} \times e^{\frac{-ar^2}{r_e^2}} \quad (ข4)$$

$$v_z = -\int_0^z \frac{\partial v_x}{\partial x} dz \quad (ข5)$$

ที่ระยะห่างจาก QCM มากๆ ($kz \gg 1$) ความเร็วของคลื่นตามยาวเป็น

$$v_z = \frac{\sqrt{2ax}V_0}{kr_e^2} \cos\left(\omega t - \frac{\pi}{4}\right) \times e^{\frac{-ar^2}{r_e^2}} \quad (ข6)$$

คลื่นตามยาวนี้จะเกิดการสะท้อนและแทรกสอดทำให้ความเครียดที่ผิวของ QCM เปลี่ยนแปลง ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการถ่ายเลี้ยงเซลล์ RAW 246.7 และ การเตรียมเซลล์ RAW 246.7 มาใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ สารละลายเลี้ยงเซลล์ DMEM (10%FBS v/v), gentamycin, PBS1X

อุปกรณ์ที่ใช้ auto- pipette, micro pipette , หลอดทดลอง, Hemacytometer , เพลตเลี้ยงเซลล์, water bath , กล้องจุลทรรศน์, เครื่องปั่นเหวี่ยง, ตู้ปลอดเชื้อ, ตู้บ่มเชื้อ

- 1.อุ่นสารละลายเลี้ยงเซลล์ และ PBS ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที
- 2.นำเซลล์ออกจากตู้บ่มเชื้อ คำนวณของเซลล์ในแต่ละวัน
- 3.ใช้ auto-pipette ดูดสารละลายเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด ใส่ PBS ปริมาตร 3 ml เที่ยงเพลตเลี้ยงเซลล์ ให้ PBS กระจายทั่วผิวของภาชนะเพื่อล้างผิว จากนั้นใช้ auto-pipette ดูด PBS ออกให้หมด
- 4.ใส่ PBS ลงในภาชนะเลี้ยงเซลล์ 5 ml จากนั้นใช้ auto-pipette ฉีดขึ้นลงหลายรอบ ทั่วเพลตเลี้ยงเซลล์ เพื่อให้เซลล์หลุดจากผิว เมื่อเซลล์หลุดจากผิวแล้วดูด PBS ที่มีเซลล์กระจายอยู่ ใส่หลอดทดลอง
- 5.นำเซลล์ที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณ โดยใช้ Hemacytometer แล้วถ่ายเซลล์ส่วนหนึ่งใส่ลงในภาชนะเลี้ยงใหม่ (ประมาณ 1×10^5 Cells/ml) ใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 7 ml แล้วนำไปเก็บในตู้บ่มเชื้อสำหรับการทดลองในครั้งต่อไปโดยมีการเปลี่ยนถ่ายทุก 2-3 วัน
- 6.นำเซลล์ที่เหลือไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการเท PBS ทิ้ง จากนั้นใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์ให้ได้พอดีกับความเข้มข้นของเซลล์ที่ต้องการ
- 7.นำเซลล์ความเข้มข้นนี้ไปนับด้วย Hemacytometer อีกรอบ จากนั้นนำเซลล์ที่ได้ไปทำการทดลอง

ภาคผนวก ง

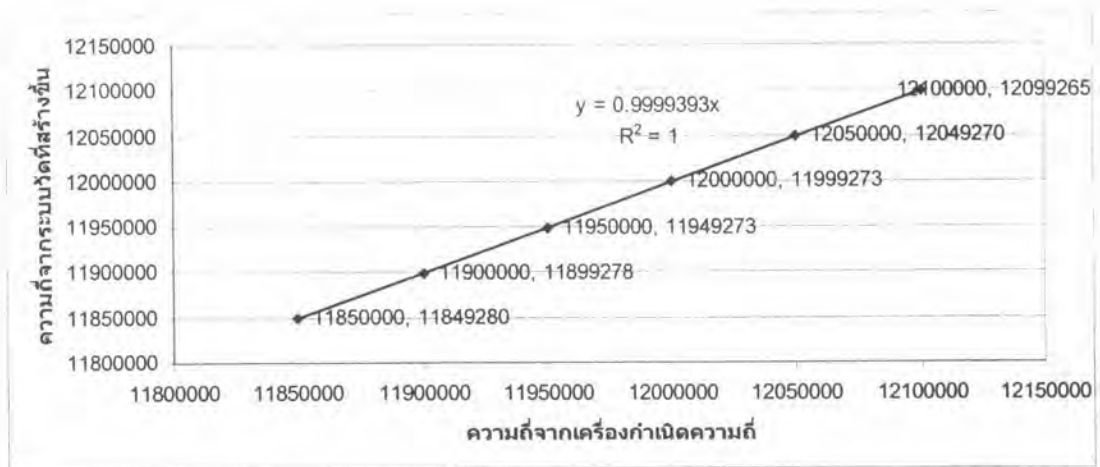
การทดสอบวงจรวัดความถี่ที่พัฒนาขึ้น

เนื่องจากการวัดความถี่ให้ได้ค่าถูกต้องควรมีการสอบเทียบระบบการวัดที่พัฒนาขึ้นกับเครื่องมือมาตรฐาน ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองระบบวัดความถี่ที่สร้างขึ้นกับเครื่องกำเนิดความถี่ของ Fluke รุ่น Fluke282 จากสเปกของเครื่องระบุว่าความถี่ที่สร้างขึ้นมีค่าผิดพลาดจากค่าที่ตั้งไว้ไม่เกิน 1 ppm ผลการวัดความถี่จากระบบวัดที่พัฒนาขึ้นกับเครื่องกำเนิดความถี่แสดงได้ตาราง ง1

ค่าความถี่ที่สร้างจากเครื่องกำเนิดความถี่(Hz)	ค่าความถี่ที่อ่านได้จากระบบวัดที่สร้างขึ้น(Hz)
12,100,000	12,099,265
12,050,000	12,049,270
12,000,000	11,999,273
11,950,000	11,949,273
11,900,000	11,899,278
11,850,000	11,849,280

ตารางที่ ง1 ค่าความถี่ที่ได้จากเครื่องกำเนิดความถี่เทียบกับค่าความถี่ที่อ่านได้จากระบบวัดที่พัฒนาขึ้น

จากตารางที่ ง1 เมื่อนำค่าความถี่ที่สร้างจากเครื่องกำเนิดความถี่กับค่าความถี่ที่อ่านได้จากระบบวัดที่สร้างขึ้นมาสร้างกราฟ จะพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างเชิงเส้น โดยมีค่าความชันเท่ากับ 0.9999393 และมีจุดตัดแกนที่ 0 ซึ่งหมายความว่าค่าความถี่ที่วัดได้ไม่เกิดจากความผิดพลาดคงที่ (constant error) อย่างไรก็ตามจากค่าความชันจะมีค่าความผิดพลาดสัดส่วน (proportional error) เท่ากับ 0.00607% ซึ่งหากนำมาใช้ในการทดลองวัดปริมาณเซลล์ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงความถี่สูงสุด 600 Hz จะวัดผิดพลาดไป 0.0036 Hz ซึ่งเห็นได้ว่าระบบวัดที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือต่อการนำมาตรวจวัดจำนวนเซลล์



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ที่ได้จากเครื่องกำเนิดความถี่กับค่าความถี่ที่อ่านได้จากระบบวัดที่พัฒนาขึ้น

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นาย เอนก วุฒยวนิช เกิดวันที่ 16 มิถุนายน พ.ศ. 2525 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546 และ เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547