

การหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยอิเล็กโทรโรเทน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2565  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Electrical characterization of red blood cells by electrorotation



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

Department of Electrical Engineering

FACULTY OF ENGINEERING

Chulalongkorn University

Academic Year 2022

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เมดเลือดแดงด้วยอิเล็กโทรโรเทชัน
โดย	น.ส.รักดี บรรดาตั้ง
สาขาวิชา	วิศวกรรมไฟฟ้า
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ ดร.บุญชัย เตชะอำนาจ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.สุชิน ไตรรงค์จิตเหมาะ

---

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

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

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาภรณ์ ชีรมงคลศรี)

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

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุชิน ไตรรงค์จิตเหมาะ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.มตี ห่อประทุม)

รักดี บรรดาตั้ง : การหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยอิเล็กโทรโรเทชัน. (Electrical characterization of red blood cells by electrorotation) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ศ. ดร.บุญชัย เตชะอำนาจ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร.สุชิน ไตรรงค์จิตเหมาะ

วิทยานิพนธ์นี้ศึกษาการหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยอิเล็กโทรโรเทชัน. ลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้า ได้แก่ ค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์ และค่าสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์. การประมวลผลภาพถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดแดงเนื่องจากมีความรวดเร็วและความแม่นยำ. โปรแกรมสำหรับการประมวลผลภาพกระทำบนซอฟต์แวร์ MATLAB. งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองอิเล็กโทรโรเทชันกับเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจำนวน 50 เซลล์ และเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรียจำนวน 100 เซลล์. อิเล็กโทรดที่ใช้เป็นอิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้ว. สัญญาณแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลองมีขนาด  $1.5 - 3 \text{ Vp}$  ความถี่  $10 \text{ kHz} - 5 \text{ MHz}$ . ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ขนาดของแรงดันไฟฟ้ามีผลต่ออัตราการหมุนของเซลล์ โดยที่อัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติมากกว่าเซลล์ติดเชื้อมาลาเรีย. ความถี่การหมุนสูงสุดและความถี่ตัดข้ามที่ได้จากอัตราเร็วการหมุน ถูกนำไปใช้วิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้า. ผลการวิเคราะห์แสดงว่า เซลล์ปกติมีค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์สูงกว่าเซลล์ติดเชื้อ แต่ค่าสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์ของเซลล์ปกติต่ำกว่าเซลล์ติดเชื้อ. นอกจากนี้ อิเล็กโทรดขั้วสลับ 2 ชุด ถูกนำมาใช้ทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณงานในการทดลอง. ผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณงานการทดลองได้ด้วยอิเล็กโทรดขั้วสลับ. อย่างไรก็ตาม การประกอบชิ้นงานทำได้ยากและใช้เวลานานกว่าอิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้ว.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา วิศวกรรมไฟฟ้า

ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 6470261521 : MAJOR ELECTRICAL ENGINEERING

KEYWORD: Electrorotation, Red blood cells, Image processing, Quadrupole electrodes, Malaria

Rakdee Bandatang : Electrical characterization of red blood cells by electrorotation. Advisor: Prof. Boonchai Techaumnat, Ph.D. Co-advisor: Assoc. Prof. Suchin Trirongjitmoah, Ph.D.

This thesis studies the electrical characterization of red blood cells (RBCs) by electrorotation. The electrical characteristic of RBCs depends on electrical parameters such as membrane capacitance and cytoplasm conductivity. Image processing is used to determine the rotation rate of cells to reduce the processing time and improve accuracy. The image processing is done by using the MATLAB. The electrorotation experiment is conducted on 50 normal RBCs and 100 malaria infected RBCs. Quadrupole electrodes are used for the experiment. The applied voltage has a magnitude of  $1.5 - 3 V_p$  with a frequency range from 10 kHz – 5 MHz. The experimental results show that the rotation rate of cells depends on the voltage magnitude. The rotation rate of normal RBCs is higher than that of infected RBCs. The maximum rotating frequency and the crossover frequency obtained from the rotation rate are used to analyze the electrical parameters of the RBCs. Results of the analysis show that the normal RBCs have higher membrane capacitance but lower cytoplasm conductivity than the infected RBCs. In addition, a use of two sets of interdigitated electrodes is tried to increase the throughput of the electrorotation. It is found the experimental throughput can be increased by using the interdigitated electrodes. However, the difficulty of the device setup takes longer preparation time than the use of the coplanar quadrupole electrodes.

Field of Study: Electrical Engineering

Student's Signature .....

Academic Year: 2022

Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์, รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธพรทิพย์ และ นางสาวอุรุษยา พัฒนวงศ์ จากภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการจัดเตรียมเซลล์เลือด, ศาสตราจารย์ ดร.เกศินี โชติวานิช จาก Cell and Tissue Culture Resources Unit (CTCRU) คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับการจัดเตรียมเซลล์เพาะติดเชื้อมาลาเรียม, นางธิติมา มธุรส แดเนี่ยลส์ จากศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC) สำหรับการจัดทำอิเล็กทรอนิกส์ และ บริษัท โซวา เดนโกะ แมททีเรียลส์ (ประเทศไทย) จำกัด สำหรับฟิล์มไวแสง.

รักดี บรรดาตั้ง



## สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	2
1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ไดโพลไฟฟ้า.....	3
2.2 ไดอิเล็กโตรโฟรีซิส (Dielectrophoresis).....	5
2.3 อิเล็กโตรโรเทชัน (Electrorotation).....	8
2.4 แบบจำลองทางไฟฟ้าของเซลล์ .....	10
2.4.1 แบบจำลองทรงกลมแบบเปลือกหุ้มชั้นเดียว (Single-shell spherical model).....	10
2.4.2 แบบจำลองทรงรีเนื้อเดียว (Homogeneous ellipsoid of model) .....	12
2.4.3 แบบจำลองทรงกลมแบนแบบเปลือกหุ้มชั้นเดียว (Single-shell oblate spheroidal model) .....	13
2.5 การประเมินผลภาพ.....	14

2.5.1 ชนิดของภาพ .....	14
2.5.2 คำสั่งที่ใช้ในการจัดการรูปภาพ .....	15
2.6 การหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ .....	16
2.7 การหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์ .....	18
2.7.1 การหาความยาวแต่ละด้านของทรงกลมแบน .....	18
2.7.2 โปรแกรมคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดง .....	20
2.8 ทบทวนวรรณกรรม .....	22
บทที่ 3 การทดลอง .....	31
3.1 อุปกรณ์การทดลอง .....	31
3.1.1 อิเล็กโทรด 4 ขั้ว (Quadrupole).....	31
3.1.2 อิเล็กโทรดขั้วสลับ (Interdigitated electrodes) .....	31
3.1.3 เครื่องกำเนิดสัญญาณ .....	33
3.1.4 วงจรขยายแบบกลับเฟส (Inverting Amplifier) .....	34
3.1.5 อุปกรณ์บันทึกผลการทดลอง .....	34
3.2 การทดลอง.....	35
3.2.1 การเตรียมสารละลายสภาพนำไฟฟ้าต่ำ .....	35
3.2.2 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ .....	35
3.2.3 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรีย .....	37
3.2.4 ระบบการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน.....	37
3.2.5 ขั้นตอนการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน.....	38
บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล.....	40
4.1 ผลการตรวจจับขนาดมุมระหว่างจุดสังเกตและแกนอ้างอิง.....	40
4.2 การตรวจสอบความถูกต้องของอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพ.....	41
4.3 ผลของแรงดันไฟฟ้าที่มีต่ออัตราเร็วการหมุนของเซลล์.....	43



4.4 ผลการศึกษาขั้นตอนอัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดที่แรงดันไฟฟ้า 3 V <sub>p</sub> .....	44
4.5 ค่าความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุดและความถี่ตัดข้ามของเซลล์เม็ดเลือดแดง .....	45
4.6 ค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดง .....	47
4.6.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุดและความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์ .....	49
4.6.2 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์และความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์ .....	50
4.7 ผลการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรโทรเทชันด้วยอิเล็กทรอนิกส์ .....	50
บทที่ 5 สรุป .....	53
บรรณานุกรม .....	54
ภาคผนวก.....	56
ภาคผนวก ก การสร้างอิเล็กทรอนิกส์ชี้้ว .....	57
ภาคผนวก ข การใช้งานโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันไฟฟ้า .....	58
ภาคผนวก ค การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง .....	60
ประวัติผู้เขียน.....	62

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณลักษณะทางสรีรวิทยาไฟฟ้าของเซลล์นั้น ๆ การตรวจหาโรค การติดตามผลการรักษา ตลอดจนการพัฒนาการรักษาโรคและยาฆ่าเชื้อต่าง ๆ จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเลือดในการศึกษาและติดตามผล. ลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงจึงเป็นประโยชน์อย่างมากในด้านการวินิจฉัยทางการแพทย์เนื่องจากสามารถใช้บ่งชี้ความผิดปกติของเซลล์ได้ เช่น เซลล์ติดเชื้อมาลาเรียมีความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะเยื่อหุ้มที่น้อยกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ [1]. เทคนิคการหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์ เช่น แพทช์แคลมป์ (Patch Clamp) นาโนโพรบ (Nanoprobe) อิเล็กโทรโรเทชัน (Electrorotation) แต่ละเทคนิคมีข้อดีและข้อเสียต่างกัน [2]. เทคนิคแพทช์แคลมป์จำเป็นต้องเปลี่ยนจานเซลล์ทุกครั้งที่ทำการวัด ซึ่งทำให้ใช้เวลานาน. เทคนิคนาโนโพรบเป็นระบบขนาดใหญ่และจำเป็นต้องอยู่ในคลินิกรูม. อิเล็กโทรโรเทชันเป็นเทคนิคที่ไม่รุกราน (Noninvasive technique) และไม่ต้องเตรียมเซลล์จำนวนมากสำหรับการวัด. มีรายงานการใช้เทคนิคอิเล็กโทรโรเทชันสำหรับการหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์ชนิดต่าง ๆ เช่น เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต [3] เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว [4] เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม [5] เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของหนูก่อนและหลังการทำทรีตเมนต์ด้วยซิลเวอร์ไอออน [6]. เทคนิคอิเล็กโทรโรเทชันเป็นการศึกษาพฤติกรรมการหมุนของเซลล์ภายใต้สนามไฟฟ้าแบบหมุน. อัตราเร็วการหมุนของเซลล์สามารถนำมาสร้างสเปกตรัมอิเล็กโทรโรเทชัน (ROT Spectra) ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วการหมุนต่อความถี่ไฟฟ้า ทำให้ทราบความถี่ตัดข้าม (Crossover frequency) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการเซลล์และหาค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์ต่อไป.

อิเล็กโทรโรเทชันเป็นปรากฏการณ์ที่อนุภาค (หรือเซลล์) ซึ่งแขวนลอยอยู่ในสารละลายตัวกลาง เกิดการหมุนเนื่องจากแรงบิดที่ถูกเหนี่ยวนำขึ้นโดยสนามไฟฟ้าแบบหมุน. สนามไฟฟ้าแบบหมุนนิยมสร้างขึ้นโดยการป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับที่มีเฟสต่างกัน  $90^\circ$  ให้กับอิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้ว. ความเร็วและทิศทางการหมุนของเซลล์ขึ้นกับขนาดและความถี่ไฟฟ้าของแรงดัน. ความถี่ตัดข้ามเป็นความถี่ที่เซลล์เปลี่ยนทิศทางการหมุนจากตามเข็มนาฬิกาเป็นทวนเข็มนาฬิกาหรือในทางกลับกัน. เมื่อได้ ROT Spectra แล้ว จะใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของเซลล์เพื่อหาค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์ เช่น ความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ สภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์. การหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ในงานวิจัยช่วงเริ่มต้นนั้น ได้มาจากการสังเกตจากวิดีโออิเล็กโทรโรเทชันโดยตัวผู้วิจัยเอง [7]. ในเวลาต่อมา การประมวลผลภาพจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการหา

อัตราเร็วการหมุนของเซลล์ [8, 9] ซึ่งเป็นกระบวนการจัดการและวิเคราะห์ข้อมูลรูปภาพที่อยู่ในรูปแบบดิจิทัลที่จะช่วยให้การหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์มีความแม่นยำและรวดเร็วมากขึ้น. ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เมื่อดัดแปลงด้วยอิเล็กโทรโรเทชัน. ในวิทยานิพนธ์นี้ ผู้วิจัยจะศึกษาการหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์โดยใช้การประมวลผลภาพบนโปรแกรมที่ทำงานบนซอฟต์แวร์ MATLAB.

## 1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1. หาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เมื่อดัดแปลงด้วยอิเล็กโทรโรเทชัน.
- 1.2.2. ประยุกต์ใช้การประมวลผลภาพในการหาอัตราการหมุนของเซลล์เพื่อให้มีความรวดเร็วและแม่นยำ.

## 1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน

- 1.3.1 ศึกษาคุณสมบัติและการตอบสนองของเซลล์เมื่อดัดแปลงปกติในการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน.
- 1.3.2 หาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์จากวิดีโออิเล็กโทรโรเทชันโดยใช้การประมวลผลภาพด้วยโปรแกรมที่ทำงานบนซอฟต์แวร์ MATLAB.
- 1.3.3 ทดลองอิเล็กโทรโรเทชันครั้งละหนึ่งเซลล์ด้วยอิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้ว.
- 1.3.4 ทดลองอิเล็กโทรโรเทชันครั้งละหลายเซลล์ด้วยอิเล็กโทรดแบบขั้วสลับ (Interdigitated Electrodes).

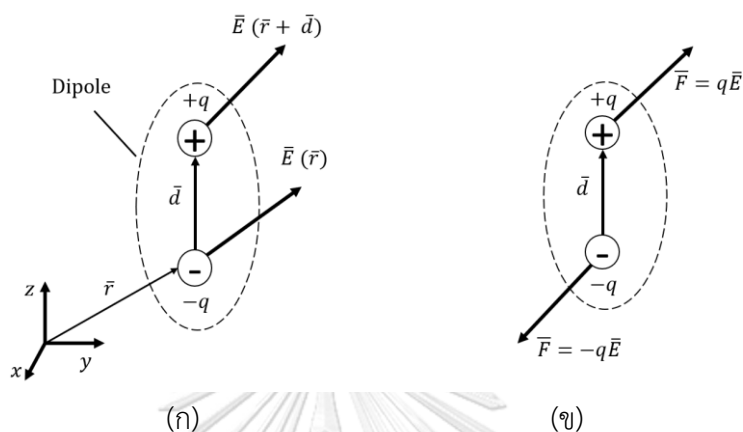
## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถหาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เมื่อดัดแปลงปกติได้ด้วยกระบวนการที่มีความถูกต้องและได้ปริมาณงาน (Throughput) ที่ดี ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยโรค หรือการวิจัยยารักษาโรคได้ต่อไป.

## บทที่ 2

### หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ไดโพลไฟฟ้า



รูปที่ 2.1 แรงที่กระทำบนไดโพลไฟฟ้าภายใต้สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ [10].

(ก) สนามไฟฟ้า ณ ตำแหน่งประจุของไดโพล.

(ข) แรงบนไดโพลภายใต้สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอ.

ไดโพลไฟฟ้า (Electric dipole) ประกอบด้วยประจุที่มีขั้วตรงกันข้าม วางห่างกันด้วยเวกเตอร์  $\vec{d}$ . เมื่อไดโพลอยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ ประจุ  $+q$  และ  $-q$  จะได้รับสนามไฟฟ้าที่มีขนาดและทิศทางแตกต่างกัน. ดังนั้น แรงลัพธ์ที่เกิดบนไดโพลคำนวณได้จาก

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

เมื่อ  $\vec{r}$  เป็นเวกเตอร์จากจุดกำเนิดไปยังตำแหน่งประจุ  $-q$ . เนื่องจาก  $\vec{d}$  มีขนาดเล็กมาก เมื่อเทียบกับความไม่สม่ำเสมอของสนามไฟฟ้า. สนามไฟฟ้าที่ตำแหน่งประจุ  $+q$  เขียนให้อยู่ในรูปของอนุกรมเทย์เลอร์ได้เป็น

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

แทนสมการที่ (2.2) ลงในสมการที่ (2.1)

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

เมื่อขนาดของ  $\vec{d}$  มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ และโมเมนต์ไดโพล  $\vec{p} \equiv q\vec{d}$  จะได้แรงลัพธ์ที่เกิดบนไดโพลขนาดเล็กดังสมการ

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

พิจารณารูปที่ 2.1 (ข) แรงคู่ควบที่กระทำบนไดโพลเนื่องจากสนามไฟฟ้า ทำให้เกิดแรงบิด  $\bar{T}^e$

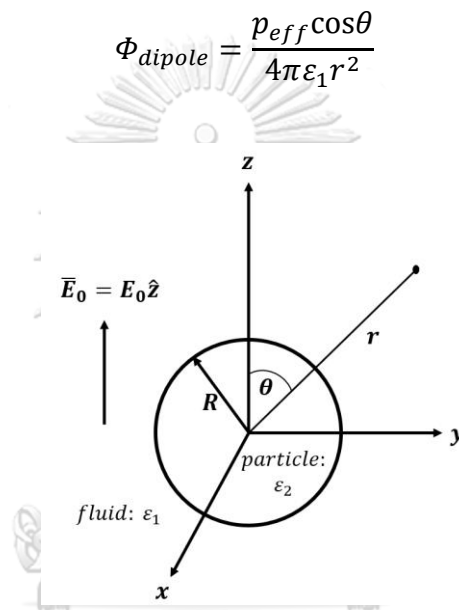
$$\bar{T}^e = \left[ \frac{\bar{d}}{2} \times q\bar{E} \right] + \left[ \frac{\bar{d}}{2} \times (-q\bar{E}) \right] = q\bar{d} \times \bar{E} \quad (2.5)$$

เมื่อเรานิยามโมเมนต์ไดโพล  $\bar{p} \equiv q\bar{d}$  จะได้แรงบิด  $\bar{T}_{dipole}^e$  ที่กระทำกับไดโพล

$$\bar{T}_{dipole}^e = \bar{p} \times \bar{E} \quad (2.6)$$

ศักย์ไฟฟ้า  $\Phi_{dipole}$  เนื่องจากโมเมนต์ไดโพลประสิทธิผล  $\bar{p}_{eff}$  อยู่ในตัวกลางของเหลวที่มีสภาพยอม  $\epsilon_1$  มีค่าเป็น

$$\Phi_{dipole} = \frac{p_{eff} \cos\theta}{4\pi\epsilon_1 r^2} \quad (2.7)$$



รูปที่ 2.2 อนุภาคฉนวนทรงกลมที่มีรัศมี  $R$  และสภาพยอม  $\epsilon_2$  ลอยตัวอยู่ในของเหลวที่มีสภาพยอม  $\epsilon_1$  ภายใต้สนามไฟฟ้าสม่ำเสมอขนาด  $E_0$  และทิศทางในแกน  $z$  [10].

จากรูปที่ 2.2 สามารถหาค่าศักย์ไฟฟ้าภายนอก ( $\Phi_1$ ) และภายในอนุภาค ( $\Phi_2$ ) ได้จาก

$$\Phi_1(r, \theta) = -E_0 r \cos\theta + \frac{A \cos\theta}{r^2}, r > R \quad (2.8.1)$$

$$\Phi_2(r, \theta) = -B r \cos\theta, r < R \quad (2.8.2)$$

พจน์แรกทางด้านขวามือของสมการที่ (2.8.1) ได้มาจากสนามไฟฟ้าภายนอก และพจน์ที่สองคือศักย์ไฟฟ้าของไดโพลที่ถูกเหนี่ยวนำเนื่องจากอนุภาค. สัมประสิทธิ์  $A$  และ  $B$  เป็นตัวแปรที่ไม่ทราบค่า สามารถหาได้จากความสัมพันธ์ของเงื่อนไขขอบเขตระหว่างอนุภาคและตัวกลางของเหลว 2 ประการ ที่  $r = R$ .

ประการแรก ศักย์ไฟฟ้าต้องมีความต่อเนื่องที่ขอบเขต จะได้ว่า

$$\Phi_1(R, \theta) = \Phi_2(R, \theta) \quad (2.9.1)$$

ประการที่สอง ความหนาแน่นของฟลักซ์ไฟฟ้าต้องต่อเนื่องในแนวตั้งฉากที่ขอบเขต

$$\varepsilon_1 E_{r1}(R, \theta) = \varepsilon_2 E_{r2}(R, \theta) \quad (2.9.2)$$

เมื่อ  $E_{r1} = \frac{-\partial\Phi_1}{\partial r}$  และ  $E_{r2} = \frac{-\partial\Phi_2}{\partial r}$

พิจารณาสมการที่ (2.8.1) (2.8.2) (2.9.1) และ (2.9.2) เราสามารถหาค่าสัมประสิทธิ์  $A$  และ  $B$  ได้จาก

$$A = \frac{\varepsilon_2 - \varepsilon_1}{\varepsilon_2 + 2\varepsilon_1} R^3 E_0 \quad (2.10.1)$$

$$B = \frac{3\varepsilon_1}{\varepsilon_2 + 2\varepsilon_1} E_0 \quad (2.10.2)$$

เปรียบเทียบกับสมการที่ (2.7) กับพจน์ที่สองของสมการที่ (2.8.1) เราจะได้

$$p_{eff} = 4\pi\varepsilon_1 A \quad (2.11)$$

ดังนั้น โมเมนต์ไดโพลประสิทธิผล  $p_{eff}$  (Effective Dipole Moment) สำหรับอนุภาคฉนวนทรงกลมภายใต้สนามไฟฟ้าภายนอก  $E_0$

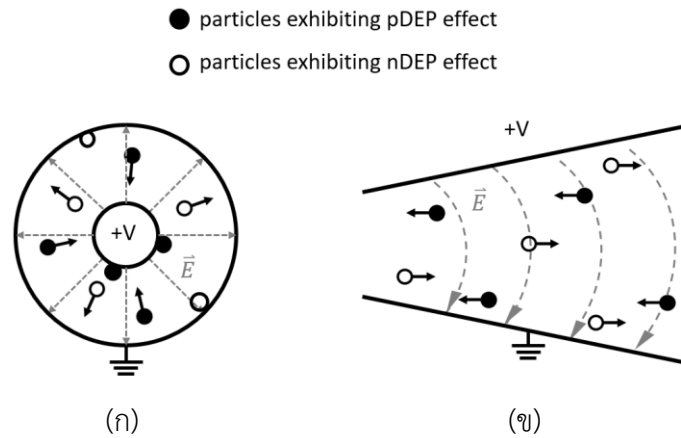
$$p_{eff} = 4\pi\varepsilon_1 K R^3 E_0 \quad (2.12)$$

เมื่อ  $K$  คือตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ (Clausius-Mossotti)

$$K(\varepsilon_2, \varepsilon_1) = \frac{\varepsilon_2 - \varepsilon_1}{\varepsilon_2 + 2\varepsilon_1} \quad (2.13)$$

## 2.2 ไดอิเล็กโตรโฟเรซิส (Dielectrophoresis)

แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติก (Dielectrophoretic Force) เป็นแรงที่กระทำต่ออนุภาคฉนวนและส่งผลให้อนุภาคเกิดการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ. แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติกแบบบวก (Positive Dielectrophoresis, pDEP) ทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูง. แรงไดอิเล็กโตรโฟเรติกแบบลบ (Negative Dielectrophoresis, nDEP) ทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าต่ำ. รูปที่ 2.3 แสดงการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายใต้สนามไฟฟ้า. อนุภาคสีดำแสดงถึงอนุภาคที่เคลื่อนที่เนื่องจากแรง pDEP และอนุภาคสีขาวแสดงถึงอนุภาคที่เคลื่อนที่ด้วยแรง nDEP.



รูปที่ 2.3 การเคลื่อนที่ของอนุภาคเนื่องจากแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติกในโครงสร้างอิเล็กโตรดที่ต่างกัน [10].

- (ก) ทิศทางของสนามไฟฟ้าขนานกับแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก.  
(ข) ทิศทางของสนามไฟฟ้าตั้งฉากกับแรงไดอิเล็กโตรโฟรีติก.

พิจารณารูปที่ 2.2 ในกรณีของสนามไฟฟ้ากระแสสลับขนาด  $E_0$  ที่มีความถี่เชิงมุม  $\omega$ . กำหนดให้อนุภาคมีค่าสภาพยอม  $\epsilon_2$  และสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_2$  ลอยอยู่ในตัวกลางของเหลวที่มีสภาพยอม  $\epsilon_1$  และสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_1$ . ภายใต้ เราสามารถเขียนสนามไฟฟ้ากระแสสลับในรูปของเฟสเซอร์และสภาพยอมเชิงซ้อนได้เป็น

$$\underline{\bar{E}}(t) = \text{Re}[\underline{\bar{E}}_0 \hat{z} \exp(j\omega t)] \quad (2.14)$$

$$\underline{\bar{\epsilon}} = \epsilon + \frac{\sigma}{j\omega} \quad (2.15)$$

ทั้งนี้ เส้นขีดด้านล่างตัวแปรบ่งชี้จำนวนเชิงซ้อนหรือเฟสเซอร์. จากสมการที่ (2.13) ตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติจะอยู่ในรูปจำนวนเชิงซ้อน. ตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ ( $\underline{K}$ ) และโมเมนต์ไดโพลประสิทธิผลเชิงซ้อน ( $\underline{\bar{p}}_{eff}$ ) ดังสมการ

$$\underline{K}(\epsilon_2, \epsilon_1) = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \quad (2.16)$$

$$\underline{\bar{p}}_{eff} = 4\pi\epsilon_1 \underline{K} R^3 \underline{\bar{E}}_0 \quad (2.17)$$

จากสมการที่ (2.4) ถ้าอนุภาคภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับไม่สม่ำเสมอ ซึ่งเปลี่ยนแปลงตามเวลา เราจะได้สมการของแรงที่กระทำต่ออนุภาค ณ เวลา  $t$  เป็น

$$\underline{\bar{F}}_{DEP}(t) = \text{Re}[\underline{\bar{p}}_{eff} \exp(j\omega t)] \cdot \nabla \text{Re}[\underline{\bar{E}} \exp(j\omega t)] \quad (2.18)$$

แรงไดโพลเล็กโทรโฟเรติกเฉลี่ยตามเวลาสามารถเขียนให้อยู่ในรูปค่าเชิงซ้อนของโมเมนต์ไดโพลและสนามไฟฟ้าได้เป็น

$$\langle \bar{F}_{DEP}(t) \rangle = \frac{1}{2} \text{Re}[\bar{p}_{eff} \cdot \nabla \bar{E}^*] \quad (2.19)$$

โดยที่เครื่องหมาย “\*” หมายถึง ค่าสังยุคของจำนวนเชิงซ้อน

เมื่อแทน  $\bar{p}_{eff}$  จากสมการที่ (2.17) ลงในสมการที่ (2.19) เราจะได้แรงไดโพลเล็กโทรโฟเรติกเฉลี่ยที่กระทำต่ออนุภาคภายใต้สนามไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอเป็น

$$\langle \bar{F}_{DEP}(t) \rangle = 2\pi\epsilon_1 R^3 \text{Re}[\underline{K}(\omega)] \nabla E_{rms}^2 \quad (2.20)$$

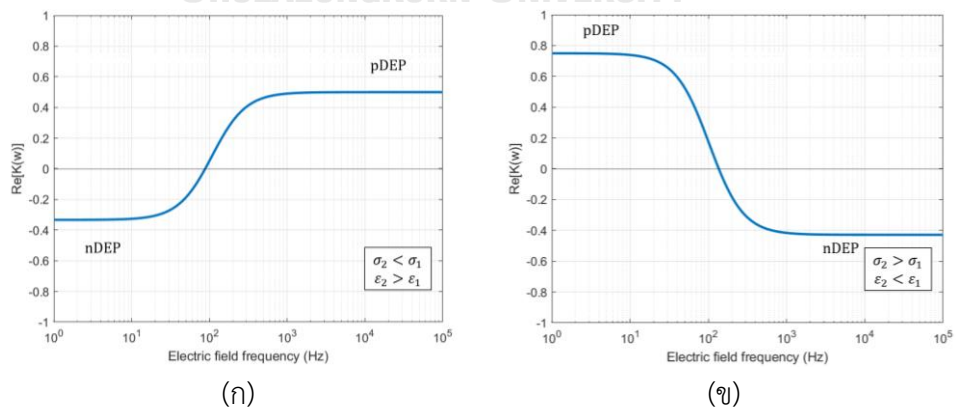
เมื่อส่วนจริงของตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติคำนวณได้จาก

$$\text{Re}[\underline{K}(\omega)] = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} + \frac{3(\epsilon_1\sigma_2 - \epsilon_2\sigma_1)}{\tau_{MW}(\sigma_2 + 2\sigma_1)^2(1 + \omega^2\tau_{MW}^2)} \quad (2.21)$$

โดยที่  $\tau_{MW}$  คือเวลาผ่อนคลายประจุแมกซ์เวลล์-แวกเนอร์ (Maxwell-Wagner relaxation time)

$$\tau_{MW} = \frac{\epsilon_2 + \epsilon_1}{\sigma_2 + 2\sigma_1} \quad (2.22)$$

สมการที่ (2.20) แสดงให้เห็นว่า แรง  $\langle \bar{F}_{DEP} \rangle$  ขึ้นอยู่กับความถี่ ตัวอย่างความสัมพันธ์ระหว่างส่วนจริงของตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ  $\text{Re}[\underline{K}(\omega)]$  และความถี่สนามไฟฟ้าแสดงได้ดังรูปที่ 2.4. สเปกตรัมไดโพลเล็กโทรโฟเรติก (DEP Spectra) ของอนุภาคคณวนทรงกลมของรูปที่ 2.4 ได้จากสมการที่ (2.21) โดยในรูป (ก) ผู้วิจัยกำหนดค่าพารามิเตอร์ดังนี้  $\epsilon_1 = 2.5\epsilon_0$ ,  $\epsilon_2 = 10\epsilon_0$ ,  $\sigma_1 = 4 \times 10^{-8}$  S/m และ  $\sigma_2 = 10^{-8}$  S/m. ค่าพารามิเตอร์สำหรับรูป (ข)  $\epsilon_1 = 10\epsilon_0$ ,  $\epsilon_2 = \epsilon_0$ ,  $\sigma_1 = 10^{-8}$  S/m และ  $\sigma_2 = 10^{-7}$  S/m.



รูปที่ 2.4 สเปกตรัมไดโพลเล็กโทรโฟเรติกของอนุภาคคณวนทรงกลม.

(ก) สภาพนำของอนุภาคน้อยกว่าตัวกลาง.

(ข) สภาพนำของอนุภาคมากกว่าตัวกลาง.



ในรูปที่ 2.4 (ก) สภาพนำของอนุภาคน้อยกว่าตัวกลาง ( $\sigma_2 < \sigma_1$ ) และสภาพยอมของอนุภาคมากกว่าตัวกลางภายนอก ( $\epsilon_2 > \epsilon_1$ ). ในช่วงความถี่ต่ำ ค่า  $\text{Re}[K(\omega)]$  มีค่าติดลบ เกิด nDEP ทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าสูง แต่ในช่วงความถี่สูงเกิด pDEP ทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีความเข้มสนามไฟฟ้าต่ำ. ในทางตรงกันข้าม ในรูป (ข) ในช่วงความถี่ต่ำจะเกิด pDEP และช่วงความถี่สูงจะเกิด nDEP. ความถี่ ณ จุดที่ค่า  $\text{Re}[K(\omega)]$  มีค่าเป็นศูนย์ เรียกว่า ความถี่ตัดข้าม (Crossover frequency,  $f_c$ ) ซึ่งแรงที่กระทำต่ออนุภาคเท่ากับศูนย์ คำนวณได้จากสมการที่ (2.23).

$$\omega_c = \sqrt{\frac{(\sigma_1 - \sigma_2)(\sigma_2 + 2\sigma_1)}{(\epsilon_2 - \epsilon_1)(\epsilon_2 + 2\epsilon_1)}} \quad (2.23)$$

เมื่อ  $f_c = \omega_c/2\pi$ .

## 2.3 อิเล็กโตรโรเทชัน (Electrorotation)

อิเล็กโตรโรเทชันเป็นปรากฏการณ์ที่อนุภาคเกิดการหมุน เนื่องจากแรงบิดที่ถูกเหนี่ยวนำขึ้นภายใต้สนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุน. จากสมการที่ (2.6) เราจะได้สมการของแรงบิดที่กระทำต่ออนุภาค ณ เวลา  $t$  เป็น

$$\overline{T}^e(t) = \text{Re}[\underline{\overline{p}}_{\text{eff}} \exp(j\omega t)] \times \text{Re}[\underline{\overline{E}} \exp(j\omega t)] \quad (2.24)$$

แรงบิดเฉลี่ยสามารถเขียนให้อยู่ในรูปจำนวนเชิงซ้อนของโมเมนต์ไดโพลและสนามไฟฟ้าได้เป็น

$$\langle \overline{T}^e(t) \rangle = \frac{1}{2} \text{Re}[\underline{\overline{p}}_{\text{eff}} \times \underline{\overline{E}}^*] \quad (2.25)$$

เมื่อแทน  $\underline{\overline{p}}_{\text{eff}}$  จากสมการที่ (2.17) ลงในสมการที่ (2.25) โดยที่สนามไฟฟ้ามีขนาดและทิศทางเป็น

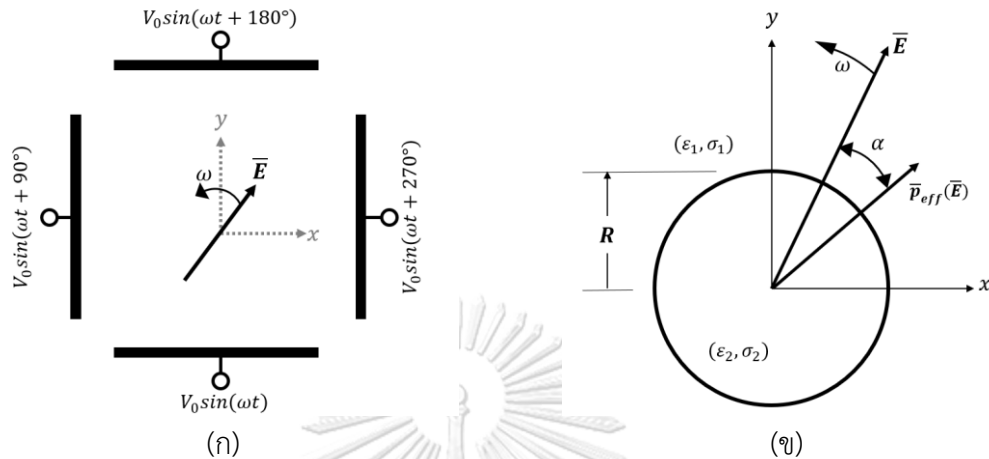
$$\underline{\overline{E}} = E_0(\hat{x} - j\hat{y}) \quad (2.26)$$

จะได้แรงบิดเฉลี่ยที่กระทำบนอนุภาค ซึ่งขึ้นกับส่วนจินตภาพ  $\text{Im}[K(\omega)]$  ของตัวประกอบคลอเซียสมอสซอตติ ดังสมการ

$$\langle \overline{T}^e(t) \rangle = -4\pi\epsilon_1 R^3 \text{Im}[K(\omega)] E_0^2 \hat{z} \quad (2.27)$$

รูปที่ 2.5 (ก) แสดงการสร้างสนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุนด้วยอิเล็กโตรดแบบ 4 ขั้ว ด้วยการป้อนสัญญาณแรงดันรูปคลื่นไซน์ที่มีมุมเฟสต่างกัน  $90^\circ$  ทำให้เกิดสนามไฟฟ้าที่หมุนในทิศทางทวนเข็มนาฬิกา. อนุภาคจะหมุนรอบแกน  $Z$ . กล่าวคือ อนุภาคสามารถหมุนได้สองทิศทาง ได้แก่ ทิศทาง

ตามเข็มนาฬิกาและทวนเข็มนาฬิกา โดยมีมุมเฟส  $\alpha$  เป็นมุมระหว่างโมเมนต์ไดโพล  $\vec{p}_{eff}$  และสนามไฟฟ้า  $\vec{E}$  แสดงดังรูปที่ 2.4 (ข).

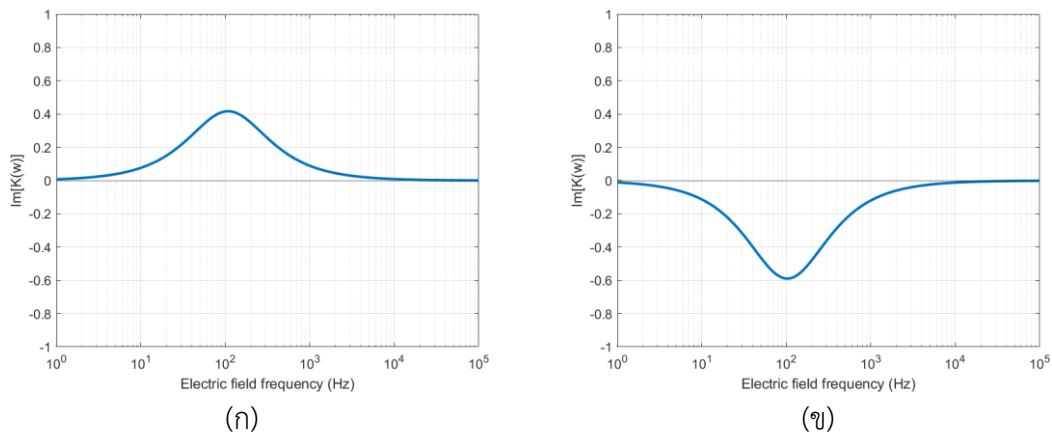


รูปที่ 2.5 อิเล็กโทรโรเทชัน [10].

(ก) การสร้างสนามไฟฟ้ากระแสสลับแบบหมุนในทิศทางทวนเข็มนาฬิกาด้วยอิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้ว.

(ข) เวกเตอร์สนามไฟฟ้าแบบหมุนและโมเมนต์ไดโพลของอนุภาค.

จากสมการที่ (2.27) เครื่องหมายและขนาดค่าส่วนจินตภาพของตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอตติ  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  เป็นตัวกำหนดทิศทางการหมุนและความเร็วในการหมุนตามลำดับ. ถ้าหากค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  เป็นบวก อนุภาคจะหมุนไปในทิศทางเดียวกับทิศทางของสนามไฟฟ้าแบบหมุน เรียกว่าอิเล็กโทรโรเทชันแบบลบ (Negative Eelctrorotation, nROT). ในทางตรงกันข้าม ค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  ที่เป็นลบ อนุภาคจะหมุนในทิศทางตรงกันข้ามกับสนามไฟฟ้าแบบหมุน เรียกว่าอิเล็กโทรโรเทชันแบบบวก (Positive Eelctrorotation, pROT). เราสามารถพล็อตสเปกตรัมอิเล็กโทรโรเทชัน (ROT Spectra) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  และความถี่สนามไฟฟ้าดังรูปที่ 2.6. สเปกตรัมในรูปที่ 2.6 พล็อตจากค่าส่วนจินตภาพของผลการคำนวณจากสมการที่ (2.21). รูป (ก) กำหนดพารามิเตอร์  $\epsilon_1 = 2.5\epsilon_0$ ,  $\epsilon_2 = 10\epsilon_0$ ,  $\sigma_1 = 4 \times 10^{-8}$  S/m และ  $\sigma_2 = 10^{-8}$  S/m. รูป (ข) กำหนดพารามิเตอร์  $\epsilon_1 = 10\epsilon_0$ ,  $\epsilon_2 = \epsilon_0$ ,  $\sigma_1 = 10^{-8}$  S/m และ  $\sigma_2 = 10^{-7}$  S/m.



รูปที่ 2.6 สเปกตรัมอิมพีแดนซ์ของอนุภาคขนาดนาโนทรังกลม.

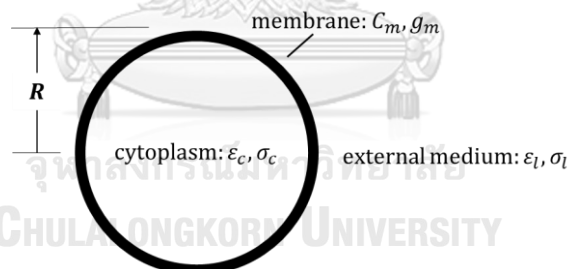
(ก) อิมพีแดนซ์แบบลบ (nROT).

(ข) อิมพีแดนซ์แบบบวก (pROT).

## 2.4 แบบจำลองทางไฟฟ้าของเซลล์

### 2.4.1 แบบจำลองทรงกลมแบบเปลือกหุ้มชั้นเดียว (Single-shell spherical model)

ตัวอย่างของเซลล์แบบเปลือกหุ้มชั้นเดียว ได้แก่ โพรโตพลาสต์ ซึ่งเป็นเซลล์พืชที่ถูกย่อยผนังเซลล์ (Cell wall) ออกด้วยเอนไซม์ และเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นตัวอย่างศึกษาของวิทยานิพนธ์นี้.



รูปที่ 2.7 แบบจำลองทางไฟฟ้าของเซลล์ [10].

รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างเซลล์ ประกอบด้วย ไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) ที่ห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) วางอยู่ในตัวกลางของเหลว. พิจารณาเซลล์เป็นวงกลมที่มีรัศมี  $R$ . ตัวกลางของเหลวภายนอกเซลล์ประกอบด้วยสภาพยอม  $\epsilon_l$  และสภาพนำ  $\sigma_l$ . ไซโทพลาสซึมประกอบด้วยสภาพยอม  $\epsilon_c$  และสภาพนำ  $\sigma_c$ . เยื่อหุ้มเซลล์ประกอบด้วยค่าความเก็บประจุจำเพาะ (ต่อพื้นที่)  $C_m$  และความนำจำเพาะ  $g_m$ . เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติเป็นเยื่อเลือกผ่านสารระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ เมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะปกติจะละลายค่าความนำ  $g_m$  ของเยื่อหุ้มเซลล์เนื่องจากมีค่าน้อยมาก. ค่าสภาพยอมประสิทธิผล (Effective permittivity) ของอนุภาคสามารถคำนวณได้จาก

$$\underline{\epsilon}'_c = C_m R \left[ \frac{j\omega\tau_c + 1}{j\omega(\tau_m + \tau_c) + 1} \right] \quad (2.28)$$

เมื่อ  $\tau_m = \frac{C_m R}{\sigma_c} \quad (2.29)$

และ  $\tau_c = \frac{\epsilon_c}{\sigma_c} \quad (2.30)$

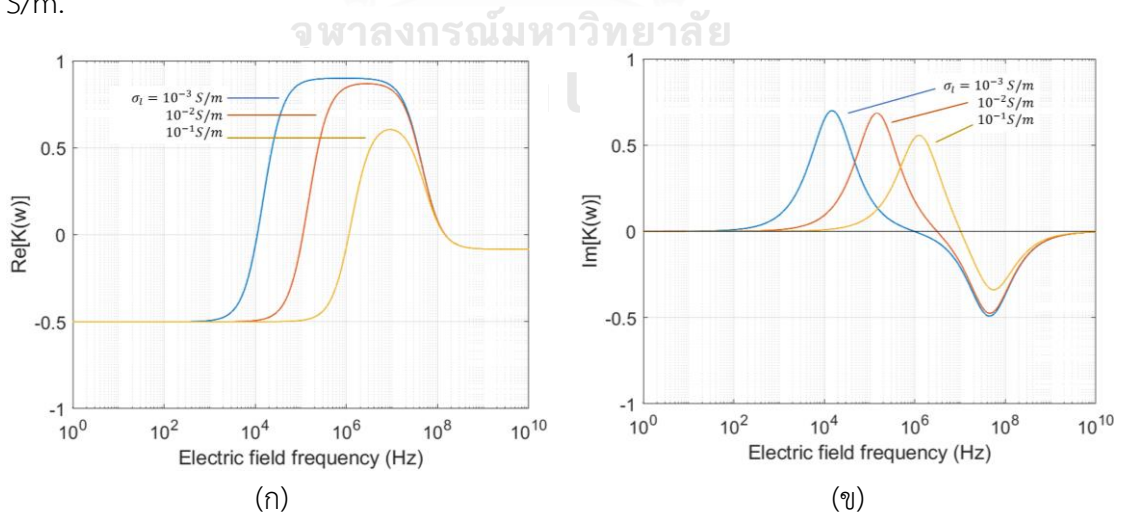
เมื่อแทนค่า  $\underline{\epsilon}_2$  ในสมการที่ (2.16) ด้วย  $\underline{\epsilon}'_c$  จากสมการที่ (2.28) จะได้ตัวประกอบคโลเซียมอสซอดติเป็น

$$\underline{K}(\omega) = - \frac{\omega^2(\tau_l\tau_m - \tau_c\tau'_m) + j\omega(\tau'_m - \tau_l - \tau_m) - 1}{\omega^2(\tau_c\tau'_m + 2\tau_l\tau_m) - j\omega(\tau'_m + 2\tau_l + \tau_m) - 2} \quad (2.31)$$

เมื่อ  $\tau_l = \frac{\epsilon_l}{\sigma_l} \quad (2.32)$

และ  $\tau'_m = \frac{C_m R}{\sigma_l} \quad (2.33)$

จากสมการที่ (2.31) เราสามารถสร้าง DEP Spectra จากค่า  $\text{Re}[\underline{K}(\omega)]$  และ ROT Spectra จากค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  ได้ดังรูปที่ 2.8 (ก) และ (ข) ตามลำดับ. ทั้งสองรูปใช้พารามิเตอร์ค่าเดียวกัน ประกอบด้วย  $\epsilon_c = 60\epsilon_0$ ,  $\epsilon_l = 78\epsilon_0$ ,  $\sigma_c = 0.5 \text{ S/m}$  และ  $C_m = 1.0 \mu\text{F/cm}^2$ . กราฟแต่ละเส้นจะเปลี่ยนค่าสภาพนำของตัวกลางของเหลว  $\sigma_l$  แตกต่างกันไป ได้แก่  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  และ  $10^{-1} \text{ S/m}$ .

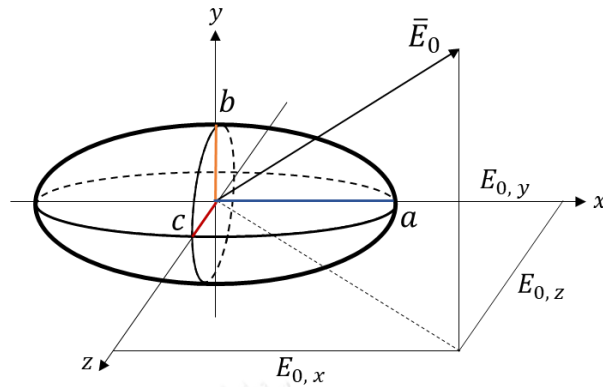


รูปที่ 2.8 สเปกตรัมแบบจำลองทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงทรงกลม.

(ก) DEP Spectra.

(ข) ROT Spectra.

### 2.4.2 แบบจำลองทรงรีเนื้อเดียว (Homogeneous ellipsoid of model)



รูปที่ 2.9 Isotropic ellipsoid.

พิจารณาทรงรีที่มีกึ่งความยาวแกน (Semi-axis)  $a > b > c$  มีสภาพยอม  $\epsilon_c$  และสภาพนำ  $\sigma_c$  อยู่ในตัวกลางของเหลวสภาพยอม  $\epsilon_l$  และสภาพนำ  $\sigma_l$  ภายใต้สนามไฟฟ้าคงที่  $\bar{E}_0$  ที่มีองค์ประกอบสนามไฟฟ้าทั้งสามทิศทาง

$$\bar{E}_0 = \hat{x}E_{0,x} + \hat{y}E_{0,y} + \hat{z}E_{0,z} \quad (2.34)$$

เรากำหนดให้  $\bar{E}^-$  เป็นสนามไฟฟ้าภายในทรงรี. จากสมการที่ (2.6) แสดงแรงบิดที่กระทำต่อไดโพลขนาดเล็ก เราสามารถแสดงไดโพลโมเมนต์ประสิทธิผลในรูปของโพลาริเซชันส่วนเกินประสิทธิผล (Effective excess polarization) โดยพิจารณาเงื่อนไขขอบเขตไฟฟ้าสถิตย์ของทรงรีได้เป็น

$$\bar{p}_{eff} = \frac{4\pi abc}{3} (\epsilon_2 - \epsilon_1) \bar{E}^- \quad (2.35)$$

และแสดงสนามไฟฟ้าด้วยตัวประกอบดีโพลาริเซชัน  $L$  (Depolarization factor) ของทรงรีตามแนวแกน  $x$  จาก

$$E_x^- = \frac{E_{0,x}}{1 + \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_1}\right) L_x} \quad (2.36)$$

$$L_x = \frac{abc}{2} \int_0^\infty \frac{ds}{(s + a^2)R_s} \quad (2.37)$$

เมื่อ  $R_s \equiv \sqrt{(s + a^2)(s + b^2)(s + c^2)}$ .

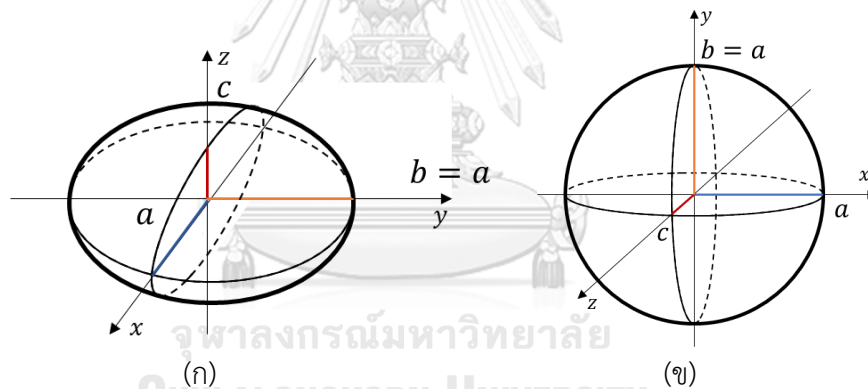
องค์ประกอบสนามไฟฟ้า  $E_y^-$  และ  $E_z^-$  คำนวณได้จากสมการที่ (2.36).  $L_y$  และ  $L_z$  คำนวณได้จากสมการที่ (2.37) โดยเปลี่ยนจาก  $a$  (ในอินทิกรัล) เป็น  $b$  และ  $c$  ตามลำดับ. ความสัมพันธ์ของตัวประกอบดีโพลาร์ไรเซชันทั้ง 3 ทิศทาง มีดังนี้

$$0 \leq L_\alpha \leq 1 \text{ เมื่อ } \alpha = x, y \text{ และ } z \quad (2.38)$$

$$L_x + L_y + L_z = 1 \quad (2.39)$$

### 2.4.3 แบบจำลองทรงกลมแป้นแบบเปลือกหุ้มชั้นเดียว (Single-shell oblate spheroidal model)

เซลล์เม็ดเลือดแดงในการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน เมื่อมองจากด้านบนจะมีรูปร่างคล้ายวงกลม และมองจากด้านข้างจะเป็นรูปร่างตรงกลางเว้าเข้าหากัน (Biconcave). การคำนวณค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  จึงพิจารณาเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นทรงกลมแป้น เพื่อให้ใกล้เคียงกับลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดงในการทดลอง.



รูปที่ 2.10 ทรงกลมแป้น.

(ก) มุมมองด้านข้าง.

(ข) มุมมองด้านบน.

จากสมการที่ (2.34) สนามไฟฟ้าที่กระทำกับอนุภาคทรงรีถูกพิจารณาในแกน  $x$ ,  $y$  และ  $z$ . จากรูปที่ 2.10 กำหนดให้ทรงกลมแป้นมีสภาพยอม  $\epsilon_c$  ลอยอยู่ในตัวกลางของเหลวที่มีสภาพยอม  $\epsilon_l$ . เนื่องจากทรงกลมแป้นมีขนาดด้าน  $a = b > c$  ดังนั้น จึงพิจารณาให้สนามไฟฟ้ามีองค์ประกอบในแนวขนานและตั้งฉากกับแกนของระยะ “ $a$ ”

$$\vec{E}_0 = \vec{E}_\parallel + \vec{E}_\perp \quad (2.40)$$

จากสมการที่ (2.39) จะได้ว่า  $L_{\perp} = 1 - 2L_{\parallel}$  [10]. แสดงตัวประกอบดีโพลาร์ไรเซชันทิศทางขนาน  $L_{\parallel}$  ได้เป็น

$$L_{\parallel} = \frac{a^2 c}{2} \int_0^{\infty} \frac{ds}{(s+a^2)^2 \sqrt{s+c^2}} = \frac{a^2 c}{2(a^2 - c^2)} \left[ \frac{\text{Arccos}\left(\frac{c}{a}\right)}{\sqrt{a^2 - c^2}} - \frac{c}{a^2} \right] \quad (2.41)$$

คำนวณค่าตัวประกอบคลอเซียส-มอสซอสติ  $K$  จาก

$$K = \frac{\varepsilon_c' - \varepsilon_l}{3[\varepsilon_l + (\varepsilon_c' - \varepsilon_l)L_{\parallel}]} \quad (2.42)$$

เมื่อ  $\varepsilon_c' = \varepsilon_m \left[ \frac{\varepsilon_c + \Delta_x(\varepsilon_c + \varepsilon_m)/a}{\varepsilon_m + \Delta_x(\varepsilon_c + \varepsilon_m)/a} \right]$

$\Delta_x$  คือ ความหนาเยื่อหุ้มเซลล์ และ

$\varepsilon_m$  คือ สภาพยอมเยื่อหุ้มเซลล์, เท่ากับ  $C_m \Delta_x$ .

## 2.5 การประมวลผลภาพ

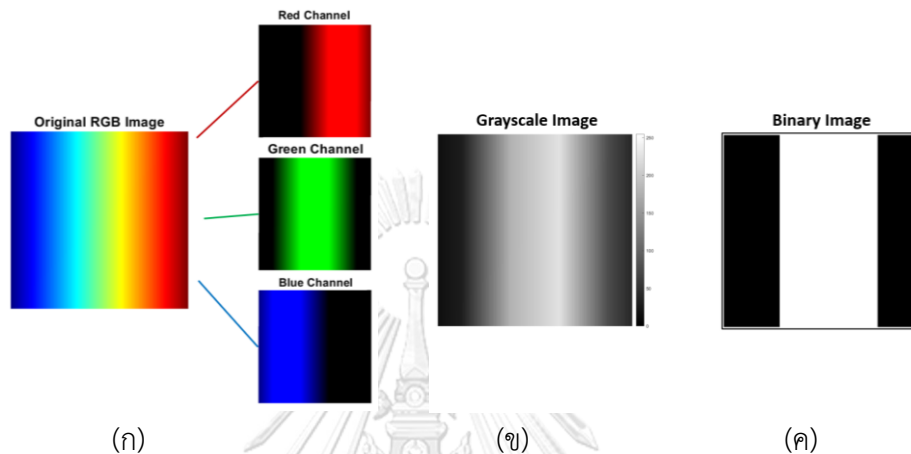
การประมวลผลภาพ (Image Processing) หมายถึง กระบวนการจัดการและวิเคราะห์ข้อมูลภาพที่อยู่ในรูปแบบสัญญาณดิจิทัล เพื่อให้ได้ข้อมูลในเชิงคุณภาพและปริมาณ. ภาพที่แสดงบนคอมพิวเตอร์เป็นสัญญาณในรูปแบบดิจิทัล ข้อมูลภาพจะถูกเก็บในรูปแบบอาร์เรย์ ซึ่งตำแหน่งของอาร์เรย์หมายถึงตำแหน่งของพิกเซล (Pixel) บนภาพ และค่าในอาร์เรย์แต่ละช่องแสดงถึงคุณสมบัติบนจุดพิกเซลนั้น ๆ. ภาพดิจิทัลจะมีรูปแบบการเก็บเป็นเมทริกซ์ ซึ่งภาพที่ต่างชนิดกันก็จะมีเมทริกซ์ที่แตกต่างกัน.

### 2.5.1 ชนิดของภาพ

งานวิจัยนี้ใช้ภาพดิจิทัลทั้งหมด 3 ชนิด แสดงรายละเอียดโดยใช้รูปที่ 2.11 ประกอบการอธิบายได้ดังนี้

- 1) ภาพสี (RGB Image) เป็นรูปที่เก็บโดยใช้อาร์เรย์ 3 มิติ ขนาด  $m \times n \times 3$  ซึ่ง  $m$  คือความยาวของภาพ  $n$  คือความกว้างของภาพ และมีมิติสุดท้ายหมายถึงช่องสี ได้แก่ สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue). ค่าความเข้มสีในแต่ละพิกเซลภายในช่องสีนั้น ๆ มีค่า 0 - 255.

- 2) ภาพระดับสีเทา (Grayscale Image) เป็นรูปที่เก็บโดยใช้อาร์เรย์ 2 มิติ แต่ละพิกเซลมีค่าความเข้มสี 0 – 255. ค่าความเข้มสี 0 แสดงสีดำ ไล่ระดับสีเทาไปจนถึง 255 จะแสดงเป็นสีขาว.
- 3) ภาพไบนารี (Binary Image) คือ ภาพขาวดำ ข้อมูลภาพเป็นอาร์เรย์ 2 มิติ แต่ละพิกเซลมีค่าความเข้มสีได้เพียงสองค่า คือ 0 และ 1. ค่า 0 แสดงสีดำ และค่า 1 แสดงสีขาว.



รูปที่ 2.11 ภาพดิจิทัล.

(ก) ภาพสี.

(ข) ภาพระดับสีเทา.

(ค) ภาพไบนารี.

### 2.5.2 คำสั่งที่ใช้ในการจัดการรูปภาพ

คำสั่งในโปรแกรมที่ทำงานบนซอฟต์แวร์ MATLAB ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่

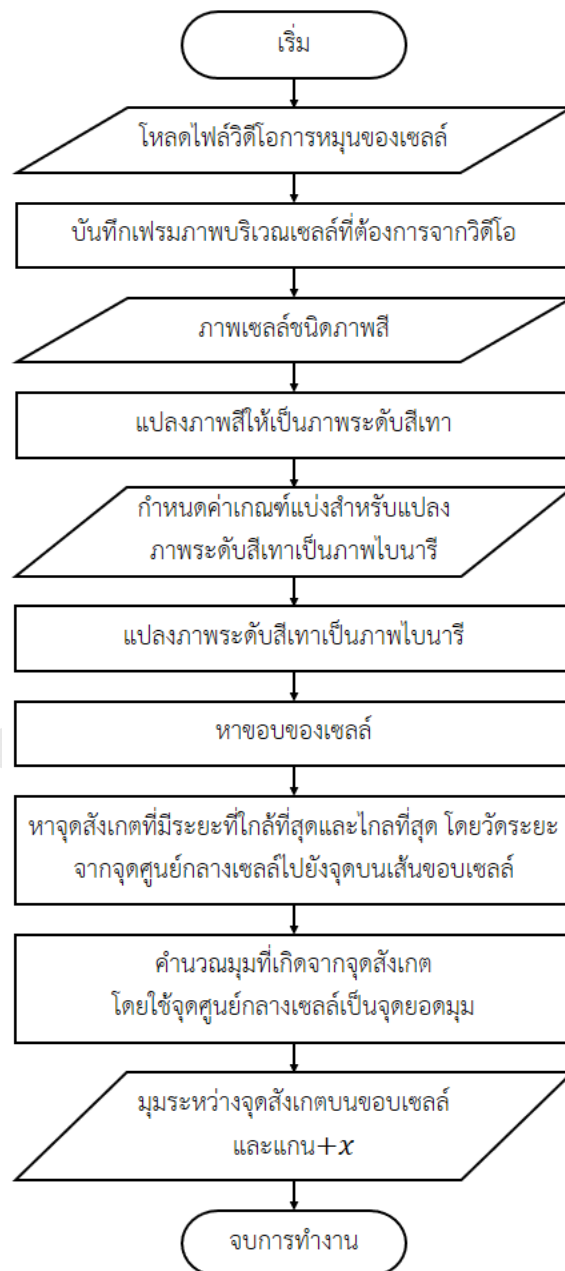
- 1) `rgb2gray` เป็นคำสั่งที่แปลงภาพสีเป็นภาพระดับสีเทาโดยการกำจัดค่าสีที่เป็นสมบัติเฉพาะตัวของสีนั้น ๆ (Hue) และค่าความอิ่มตัวของสี (Saturation)
- 2) `imadjust` เป็นคำสั่งที่ปรับปรุงภาพให้มีการกระจายค่าของความสว่างมากขึ้น ซึ่งจะช่วยให้ภาพที่ผ่านการปรับปรุงมีความคมชัด (Contrast) มากขึ้น
- 3) `bwboundaries` เป็นคำสั่งที่ระบุขอบของวัตถุ รูปร่าง รูปทรงต่าง ๆ ที่ปรากฏบนภาพไบนารี
- 4) `regionprops` เป็นคำสั่งที่หาขอบเขตของวัตถุในภาพไบนารี และเมื่อใช้ร่วมกับคำสั่ง `Centroid` จะทำให้ได้จุดศูนย์กลางของวัตถุนั้น ๆ
- 5) `Centroid` เป็นคำสั่งใช้หาจุดศูนย์กลางของวัตถุที่คำนวณโดยใช้ค่าเฉลี่ยพิกัดขอบเขตของวัตถุ
- 6) `sgolayfilt` เป็นฟิลเตอร์ที่ใช้ปรับปรุงข้อมูลให้เรียบขึ้น โดยในงานวิจัยนี้นำมาใช้ปรับขอบเซลล์ให้เรียบมากขึ้น



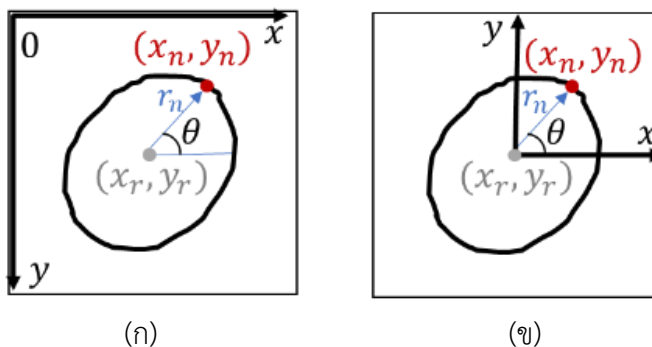
## 2.6 การหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์

การหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ การหามุมที่เกิดจากจุดสังเกตบนขอบเซลล์ และการคำนวณอัตราเร็วการหมุน. จุดสังเกตบนขอบเซลล์ คือ จุดที่มีระยะห่างไกลที่สุดและใกล้ที่สุดจากจุดศูนย์กลางของเซลล์. มุมที่ใช้ในการพิจารณาการหมุนนี้ คือมุมที่เกิดจากจุดสังเกตกระทำกับแกน  $+x$ . อัตราเร็วการหมุน คือ ระยะที่มุมเปลี่ยนแปลงไปในหนึ่งหน่วยเวลา.

- 1) การหามุมที่เกิดจากจุดสังเกตบนขอบเซลล์ มีขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ผังการทำงานการหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์.



รูปที่ 2.13 พิกัดจุดสังเกตและจุดศูนย์กลางเซลล์.

(ก) พิกัดบนไฟล์รูปภาพ.

(ข) พิกัดที่กำหนดขึ้นใหม่.

รูปที่ 2.13 (ก) แสดงพิกัดจุดสังเกตและจุดศูนย์กลางเซลล์บนไฟล์รูปภาพ และ (ข) แสดงพิกัดที่กำหนดขึ้นใหม่ โดยที่จุดศูนย์กลางของเซลล์ถูกพิจารณาให้เป็นจุดกำเนิด. รายละเอียดการคำนวณมุมระหว่างจุดสังเกตและแกน  $+x$  มีดังนี้

(ก) การหาจุดสังเกตบนขอบเซลล์ สามารถทำได้โดยคำนวณระยะจากจุดศูนย์กลางเซลล์ไปยังจุดทุกจุดบนขอบเซลล์ แล้วจึงทำการหาตำแหน่งของจุดที่ทำให้เกิดระยะใกล้สุดและไกลสุด. ระยะจากจุดศูนย์กลางเซลล์สามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$r_n = \sqrt{(x_n - x_r)^2 + (y_n - y_r)^2} \quad (2.43)$$

เมื่อ  $r_n$  คือ ระยะจากจุดศูนย์กลางเซลล์ถึงจุดใดๆ บนขอบเซลล์

$(x_n, y_n)$  คือ พิกัดบนขอบเซลล์

$(x_r, y_r)$  คือ พิกัดจุดศูนย์กลางของเซลล์.

(ข) มุมระหว่างจุดสังเกตบนขอบเซลล์และแกน  $+x$  คำนวณได้จาก

$$\theta_n = \arctan \frac{y_n - y_r}{x_n - x_r} \quad (2.44)$$

(ค) ระยะมุมที่เปลี่ยนแปลงของเฟรมที่อยู่ติดกัน

$$\Delta\theta_p = \theta_{p+1} - \theta_p \quad (2.45)$$

เมื่อ  $\theta_p$  คือ มุมที่เกิดจากจุดสังเกตของเฟรม  $p$

$\theta_{p+1}$  คือ มุมที่เกิดจากจุดสังเกตของเฟรมที่อยู่ถัดจากเฟรม  $p$  ( $p + 1$ ).

2) การคำนวณอัตราเร็วการหมุนซึ่งในที่นี้เป็นอัตราเร็วเฉลี่ยของการหมุน สามารถหาได้จากระยะของมุมที่เปลี่ยนแปลงไปจากภาพเฟรมแรกจนถึงเฟรมสุดท้ายต่อเวลาที่ใช้ในการหมุน

$$\bar{\omega}_p = \frac{\sum_{i=1}^{p-1} \Delta\theta_i}{(p-1)\Delta t} \quad (2.46)$$

เมื่อ  $\bar{\omega}_p$  คือ อัตราเร็วเฉลี่ยของการหมุนของเซลล์

$\Delta\theta_i$  คือ มุมที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างเฟรมภาพ

$\Delta t$  คือ เวลาที่ใช้ในการหมุนของเซลล์ระหว่างเฟรมภาพ.

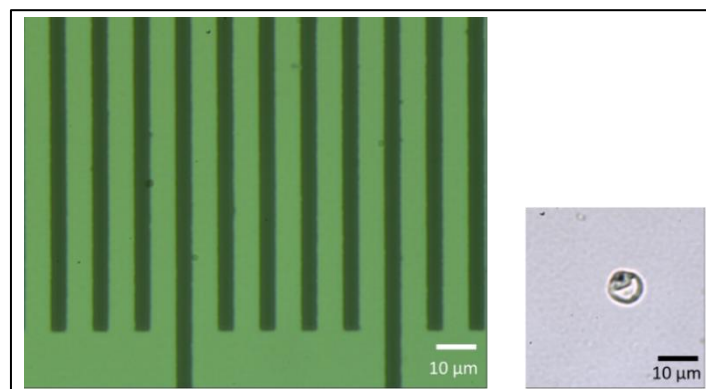
## 2.7 การหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์

อัตราการหมุนที่เปลี่ยนแปลงตามความถี่ของแต่ละเซลล์ ทำให้ทราบค่าความถี่  $f_m$  และ  $f_c$  ซึ่งเป็นความถี่ที่เซลล์มีอัตราการหมุนสูงสุด และมีอัตราการหมุนเป็นศูนย์ ตามลำดับ. งานวิจัยนี้ ได้ทำการหาค่าความเก็บประจุจำเพาะเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  และสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$ . การหาค่าพารามิเตอร์ทำได้โดยแทนค่าพารามิเตอร์ทั้งสองลงในสมการที่ (2.42) เพื่อคำนวณค่าส่วนจินตภาพของตัวประกอบคลอเซียส-มอชชอสติ  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  ที่ทำให้ ROT spectra มีค่าความถี่  $f_m$  และ  $f_c$  ตรงกันกับค่าที่ได้จากการทดลอง.

### 2.7.1 การหาความยาวแต่ละด้านของทรงกลมแบน

ความยาวด้าน  $a$   $b$  และ  $c$  ของทรงกลมแบน คำนวณได้จากการประมาณให้ปริมาตรทรงกลมแบน  $V_{oblate}$  เท่ากับปริมาตรเซลล์เม็ดเลือดแดง  $V_{RBC}$ .  $V_{RBC}$  คำนวณได้จากการพิจารณาเซลล์เป็นรูปร่างตรงกลางเว้าเข้าหากัน (Biconcave). ขั้นตอนการหาความยาวแต่ละด้านของทรงกลมแบน แสดงรายละเอียดดังนี้

1) วัดรัศมี  $R_{meas}$  จากภาพถ่าย. รูปที่ 2.14 แสดงตัวอย่างภาพจากกล้อง CCD BASLER (acA1300 - 200uc) บันทึกผ่านกล้องจุลทรรศน์ Nikon (ECLIPSE Si) เลนส์กำลังขยาย 100x. ขนาดพิกเซลบนภาพต่อขนาดจริงเป็น 116 px: 10  $\mu\text{m}$  คิดเป็นพื้นที่ 13,456 px<sup>2</sup>: 100  $\mu\text{m}^2$ .



รูปที่ 2.14 ขนาดเซลล์เปรียบเทียบกับ Calibration slide.

รูปที่ 2.15 ใช้ประกอบการอธิบายขั้นตอนการวัดรัศมี ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

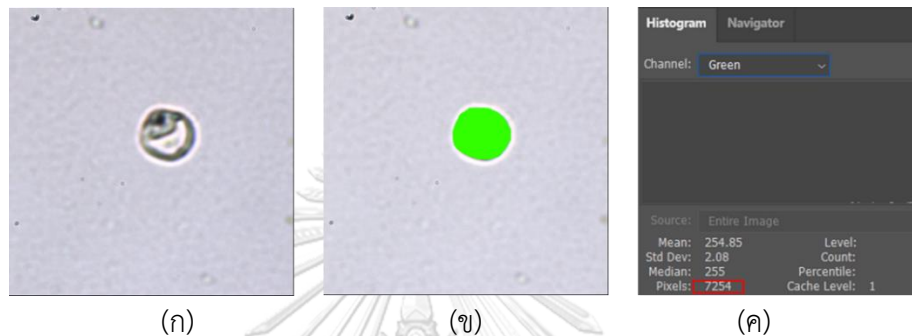
ก) เปิดภาพบน Photoshop

ข) ลงสีบนเซลล์

ค) เลือกบริเวณที่ลงสีไว้ แล้วอ่านค่าพื้นที่พิกเซล ( $A_{px}$ ) จากหน้าต่าง Histogram

ง) นำค่าพื้นที่พิกเซล  $A_{px}$  มาเปรียบเทียบกับพื้นที่จริง  $A_{real} = \frac{A_{px}}{13,456} \times 100 \mu m^2$

จ) หาค่า  $R$  โดยพิจารณาให้พื้นที่เซลล์เป็นวงกลม  $R = \sqrt{A_{real}/\pi}$  (ตัวอย่าง  $R = 4.142436 \mu m$ )



รูปที่ 2.15 ขั้นตอนการหารัศมีของเซลล์.

(ก) เปิดรูปเซลล์.

(ข) ลงสีบนเซลล์.

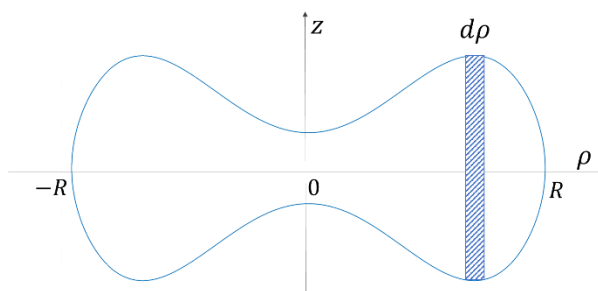
(ค) หน้าต่าง Histogram.

2) คำนวณปริมาตร  $V_{RBC}$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงจากการอินทิเกรตรูปร่างจานแบบเว้าสองหน้า (Biconcave disc) แสดงดังรูปที่ 2.16 ซึ่งประมาณรูปร่างด้วยสมการเส้นโค้งเป็น

$$f(\rho) = \sqrt{1 - \left(\frac{\rho}{R_0}\right)^2} \left( C_0 + C_2 \left(\frac{\rho}{R_0}\right)^2 + C_4 \left(\frac{\rho}{R_0}\right)^4 \right) \quad (2.47)$$

$$V_{RBC} = \int_0^R 2\pi\rho f(\rho) d\rho \quad (2.48)$$

$R_0 = R$ ,  $C_0 = 0.81 \mu m$ ,  $C_2 = 7.83 \mu m$  และ  $C_4 = -4.39 \mu m$  [1].



รูปที่ 2.16 รูปร่างจานแบบเว้าสองหน้าที่ใช้ประมาณรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง.

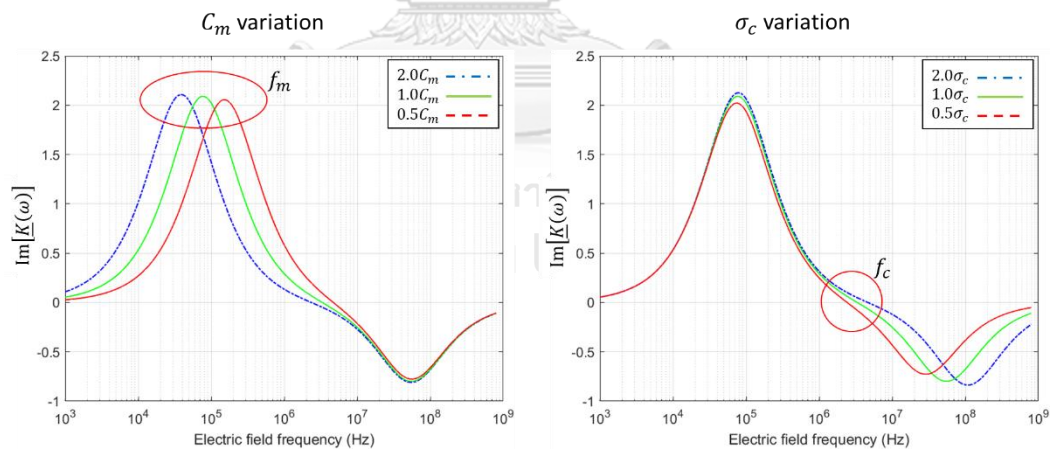
3) หา  $c$  จากปริมาตร  $V_{oblate}$  ของทรงกลมแป้น โดยให้  $V_{oblate} = V_{RBC}$ .

$$V_{oblate} = \frac{4}{3} \pi a^2 c \quad (2.49)$$

เมื่อ  $a = R_{meas}$ . ความยาวแต่ละด้านของทรงกลมแป้นที่ได้ จะถูกนำไปใช้คำนวณค่าตัวประกอบดีโพลาร์เซชัน  $L_{||}$  จากสมการที่ (2.41). ค่า  $\text{Im}[K(\omega)]$  คำนวณด้วยสมการที่ (2.42).

### 2.7.2 โปรแกรมคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดง

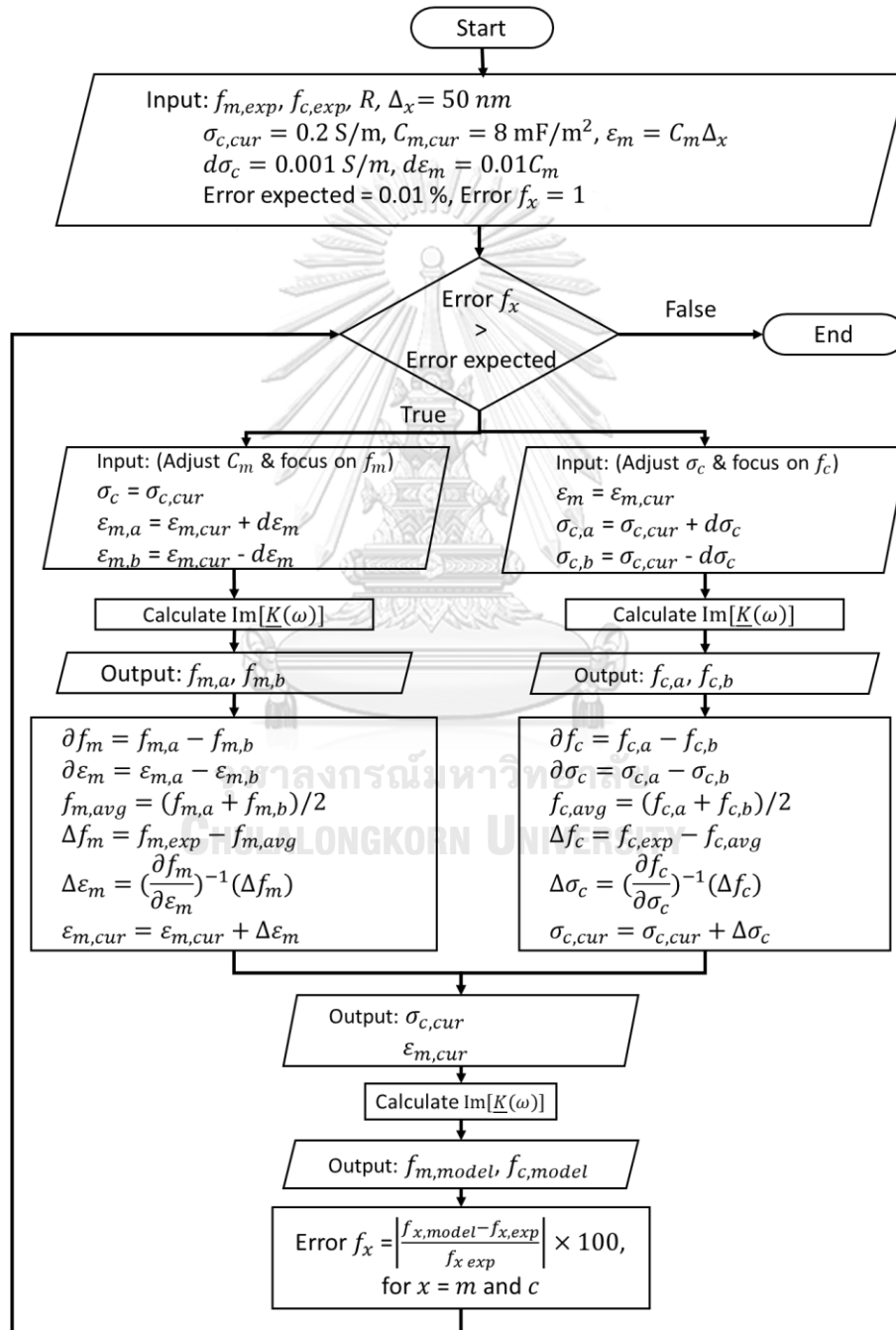
พารามิเตอร์ทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงหาได้จากการจำลองแทนค่าพารามิเตอร์  $C_m$  และ  $\sigma_c$  ลงในสมการที่ (2.42) จากนั้นโปรแกรมจะปรับค่าพารามิเตอร์จนได้ค่าที่ทำให้  $f_{m,model}$  และ  $f_{c,model}$  ของแบบจำลองตรงกันกับค่าที่ได้จากการทดลอง. ตัวอย่างค่า  $\text{Im}[K(\omega)]$  ที่เปลี่ยนแปลงตามความถี่ไฟฟ้า แสดงดังรูปที่ 2.17. พารามิเตอร์ที่ใช้แทนค่า ประกอบด้วย  $\epsilon_l = 78\epsilon_0$ ,  $\epsilon_c = 60\epsilon_0$ ,  $\sigma_l = 0.02 \text{ S/m}$ ,  $R = 2.75 \mu\text{m}$ , ความหนาเยื่อหุ้มเซลล์  $\Delta_x = 50 \text{ nm}$ ,  $C_m = 10 \text{ mF/m}^2$  และ  $\sigma_c = 0.3 \text{ S/m}$ . จากรูป (ก) เมื่อปรับค่า  $C_m$  เพิ่มขึ้น พบว่าความถี่  $f_m$  ลดลงอย่างชัดเจน. รูป (ข) เมื่อปรับ  $\sigma_c$  เพิ่มขึ้น ทำให้ความถี่  $f_c$  สูงขึ้น. ดังนั้น การหาค่าพารามิเตอร์ที่ทำให้ความถี่  $f_m$  ตรงกับการทดลอง จะเป็นการปรับค่า  $C_m$  และสำหรับความถี่  $f_c$  เป็นการปรับค่า  $\sigma_c$ .



รูปที่ 2.17 ตัวอย่างผลการปรับค่าพารามิเตอร์ทางไฟฟ้า.

ขั้นตอนการทำงานของโปรแกรมคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้า แสดงดังรูปที่ 2.17. อันดับแรก กำหนดข้อมูลรับเข้า  $f_{m,exp}$ ,  $f_{c,exp}$  และ  $R$  ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากผลการทดลอง ( $f_{m,exp}$  และ  $f_{c,exp}$ ) ของเซลล์แต่ละเซลล์. ค่าพารามิเตอร์เริ่มต้นที่ใช้ในการคำนวณครั้งแรกถูกกำหนดให้กับไว้ในตัวแปร  $\sigma_{c,cur}$  และ  $\epsilon_{m,cur}$ . ลำดับถัดมา โปรแกรมจะคำนวณค่า  $\text{Im}[K(\omega)]$  ที่เกิดจาก  $\epsilon_m$  สองค่า. จากนั้น จะใช้ค่าความถี่  $f_{m,a}$  และ  $f_{m,b}$  สำหรับการหา  $\Delta\epsilon_m$  เพื่อใช้ปรับค่าพารามิเตอร์ที่

ทำให้ความถี่  $f_{m,model}$  ตรงกันกับ  $f_{m,exp}$ . ค่า  $\varepsilon_m$  ที่ปรับใหม่แล้วจะถูกเก็บไว้ในตัวแปร  $\varepsilon_{m,cur}$ . เมื่อปรับค่า  $\varepsilon_m$  แล้ว โปรแกรมจะปรับค่า  $\sigma_c$  เพื่อหาค่าที่ทำให้ความถี่  $f_{c,model}$  ตรงกันกับ  $f_{c,exp}$ . หลังจากการปรับค่าพารามิเตอร์แต่ละครั้ง โปรแกรมจะคำนวณ  $\text{Im}[K(\omega)]$  โดยใช้ค่าพารามิเตอร์ปัจจุบัน ( $\varepsilon_{m,cur}, \sigma_{c,cur}$ ) เพื่อตรวจสอบว่าค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างแบบจำลองและการทดลองน้อยกว่าค่าที่กำหนดไว้หรือไม่ หากน้อยกว่าค่าที่กำหนดไว้ โปรแกรมจะหยุดทำงาน.



รูปที่ 2.18 แผนผังโปรแกรมคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดง.

## 2.8 ทบทวนวรรณกรรม

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำอิเล็กโทรโพรเทชันและการประมวลผลภาพที่ผ่านมามีดังนี้

T. Lannin และคณะ [11] ได้ศึกษาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์มะเร็งระดับอ่อนด้วยอิเล็กโทรโพรเทชันแบบอัตโนมัติเพื่อประเมินผลการลดชีรั้ม, การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์จาก epithelial เป็น mesenchymal (Epithelial-mesenchymal transition, EMT) และพัฒนาการของการดื้อยาเคมีบำบัด. การทดลองอิเล็กโทรโพรเทชันในงานวิจัยนี้จะทำให้ได้ ROT Spectra ซึ่งจะถูกนำไปใช้เพื่อหาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์และคำนวณสเปกตรัมของไดอิเล็กโทรโพเรซิส (DEP Spectra). เซลล์มะเร็งระดับอ่อนที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เซลล์ที่ดื้อยาเจมิซิตาไบน์ (Gemcitabine-resistant cells) เซลล์ที่ถูกลดชีรั้ม (Serum starved cells) และเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนรูปร่าง (EMT-induced cells) รวมไปถึงเซลล์แม่และเซลล์ที่ไม่ได้รับการรักษา (Parent/untreated cells). นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยยังได้ทำการทดลองกับเซลล์เม็ดเลือดขาว เพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเซลล์มะเร็งระดับอ่อน.

การทดลองอิเล็กโทรโพรเทชันใช้อิเล็กโทรดแบบ 4 ขั้วที่มีระยะห่างระหว่างขั้วตรงข้ามเท่ากับ 800  $\mu\text{m}$ . การสร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุนในใช้สัญญาณแรงดันรูปคลื่นไซน์ขนาด 3.8  $V_{p-p}$  จากเครื่องกำเนิดสัญญาณชนิดที่มีเอาต์พุต 4 ช่อง. การป้อนสัญญาณแบบอัตโนมัติทำได้โดยตั้งค่าบนซอฟต์แวร์ของเครื่องกำเนิดสัญญาณ โดยกำหนดให้ป้อนความถี่ที่ต่างกันทั้งหมด 36 ค่า อยู่ในช่วง 1.125 kHz ถึง 62.5 kHz แต่ละความถี่ป้อนสัญญาณเป็นเวลา 5 วินาที. ลำดับการทำงานจะเริ่มจากป้อนความถี่ 51.4 kHz จากนั้นป้อนสนามไฟฟ้าแบบหมุนทิศทางตามเข็มนาฬิกา 5 วินาที และเปลี่ยนเป็นทิศทางทวนเข็มนาฬิกา 5 วินาที (ป้อนความถี่ 51.4 kHz เพื่อคั่นระหว่างการเปลี่ยนทิศทางสนามไฟฟ้าแบบหมุนเป็นเวลาสั้น ๆ).

อัตราการหมุนของเซลล์ได้มาจากการประมาณอัตราการหมุนอัตโนมัติ โดยผ่านอัลกอริทึมที่คณะผู้วิจัยพัฒนาขึ้น. ขั้นตอนการประมาณอัตราการหมุนเริ่มต้นจากบันทึกเฟรมภาพออกมาจากวิดีโอ แล้วลบพื้นหลังออกจากทุกเฟรมเพื่อกำจัดภาพเศษฝุ่นที่ติดมา. ผู้ใช้งานคลิกเลือกจุดศูนย์กลางเซลล์เป็นระยะ ๆ ตลอดทั้งวิดีโอจากหน้าต่างสำหรับผู้ใช้งานบนซอฟต์แวร์ MATLAB (MATLAB GUI) แล้วจึงคำนวณอัตราการหมุนแบบเฟรมต่อเฟรม. อัตราการหมุนที่ได้ถูกนำมาสร้าง ROT Spectra ทำให้ได้คุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์ในตารางที่ 2.1 และ DEP Spectra ของเซลล์มะเร็งระดับอ่อนและเซลล์เม็ดเลือดขาว. คุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์และ DEP Spectra ที่ได้ ถูกนำมาเปรียบเทียบกับ โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุด (WBCs อยู่ในทุกชุด) ได้แก่ 1) เซลล์ BxPC3 ที่ดื้อยากับเซลล์ที่ไม่ดื้อยาเจมิซิตาไบน์ 2) เซลล์ BxPC3 และ PANC-1 ที่ทำการลดชีรั้มกับเซลล์ที่ไม่ได้รับชีรั้ม 3) เซลล์ PANC-1 ที่ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปร่างกับเซลล์ที่ไม่มีการเปลี่ยนรูปร่าง.

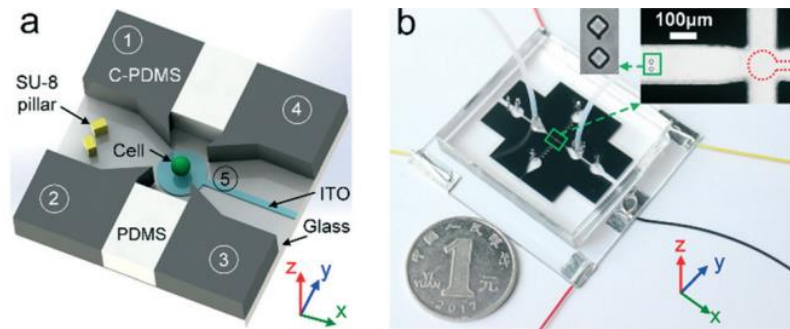
ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ความถี่ตัดข้ามที่คำนวณได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในเซลล์ที่ดื้อยาเจมิซิตาไบน์. ช่วงความถี่ที่เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่แสดงพฤติกรรม pDEP เซลล์เม็ดเลือดขาวจะแสดงพฤติกรรมเป็น nDEP. เซลล์ดื้อยาเจมิซิตาไบน์ระดับปานกลางเปรียบเทียบกับระดับสูง พบว่าระดับปานกลางมีค่าความถี่ตัดข้ามลดลง ( $f_c$ ) ซึ่งเป็นความถี่ที่เซลล์เปลี่ยนทิศทางการเคลื่อนที่ (หรือเซลล์ไม่เคลื่อนที่) มีค่าความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ (Membrane specific capacitance,  $C_m$ ) และรัศมี (Cell radius,  $R$ ) ที่เพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 2.1.

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์มะเร็งระดับอ่อน [11].

Cell type	Membrane specific capacitance [mF/m <sup>2</sup> ]	Cell radius [μm]	Cytoplasmic conductivity [mS/m]	Cytoplasmic relative permittivity	Calculated $f_c$ [kHz]	Significant difference in $f_c$ from WBC.	Significant difference in $f_c$ from corresponding untreated cell.
White blood cells ( $N_{\text{cells}} = 49$ )	9.8	5.6	721	111	271	Base type	No comparison made
Serum-Starved BxPC3 Cells ( $N_{\text{cells}} = 39$ )	21.7	8.5	467	88	82	Yes	No
BxGR80c, moderately gemcitabine resistant subclone ( $N_{\text{cells}} = 55$ )	26.4	9.9	503	85	56	Yes	Yes
BxGR360c, strongly gemcitabine resistant subclone ( $N_{\text{cells}} = 54$ )	25.9	9.6	575	92	59	Yes	Yes

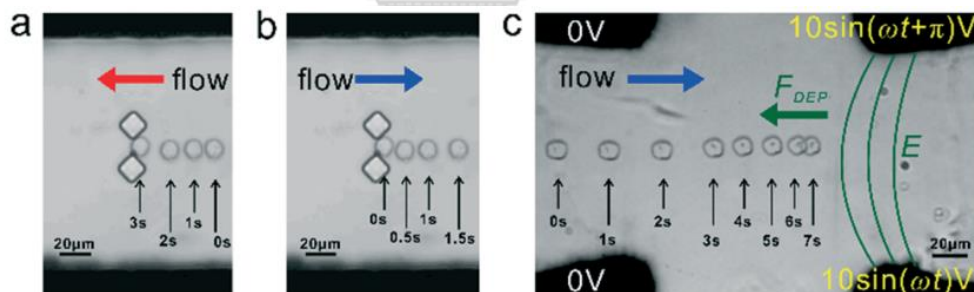
L. Huang และคณะ [5] ได้สร้างอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์โรเทชันแบบบนชิพ (Electrorotation-on-chip, EOC) ที่สามารถเคลื่อนย้ายเซลล์เข้าสู่ตำแหน่งที่เหมาะสมและหมุนเซลล์เดี่ยวได้. การหมุนของเซลล์ที่ได้จากการทดลอง แสดงถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของเซลล์ ภาพถ่ายสามมิติของเซลล์และคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์. โครงสร้างของอุปกรณ์แสดงดังรูปที่ 2.19 ประกอบด้วยอิเล็กโทรดด้านข้างที่แยกออกจากกัน 4 ด้าน ทำจากวัสดุ C-PDMS และอิเล็กโทรดโปร่งแสงที่อยู่ด้านล่างทำจากวัสดุ ITO. บริเวณที่มีรูปร่างตัว V ที่เกิดจากเสา (SU-8 pillar) 2 ต้น ทำหน้าที่เป็นตัวดักจับเซลล์เดี่ยว. ช่องทางไหล (Microfluidic channel) สำหรับบรรจุและหมุนเซลล์ มีขนาดความกว้าง 200 μm และความสูง 160 μm ซึ่งเป็นแชมเบอร์ (Rotation chamber) ที่สามารถมองเห็นได้ โดยจะอยู่ด้านบนของอิเล็กโทรดวงกลม.





รูปที่ 2.19 อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สามมิติ [5].

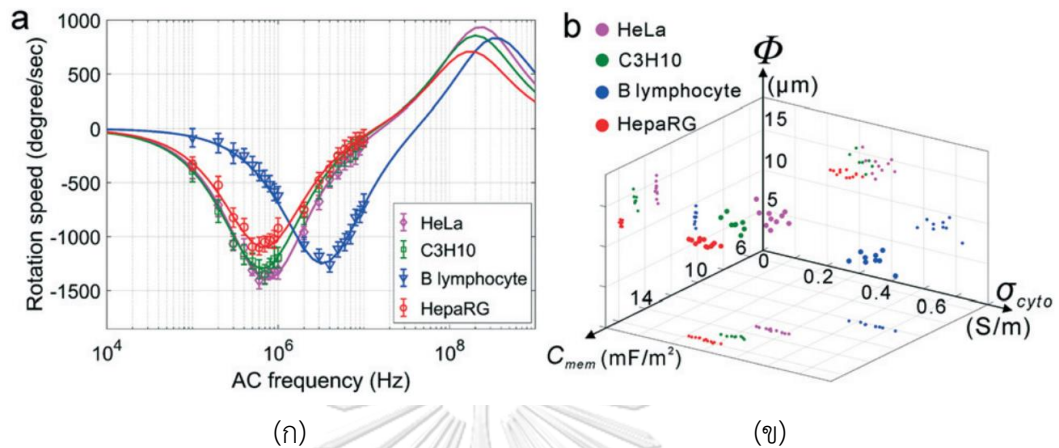
การเคลื่อนย้ายเซลล์ให้อยู่ตรงกลางของอิเล็กโทรด แสดงดังรูปที่ 2.20. เริ่มจากการปล่อยให้เซลล์ไหลมาตามช่องทางไหล เซลล์เดี่ยวจะถูกดักจับไว้ที่บริเวณที่เป็นรูปร่างตัว V. จากนั้นจะมีแรงทำให้ไหลกลับมาด้านขวา ใช้คู่อิเล็กโทรดฝั่งขวาสร้างแรง  $F_{DEP}$  เพื่อต้านทานแรงลากและทำให้เซลล์อยู่ในตำแหน่งที่สมดุลภายในแชนเบอร์. การหมุนเซลล์ของอุปกรณ์นี้ แบ่งเป็นการหมุนในระนาบ (In-plane) และนอกระนาบ (Out-of-plane). การหมุนทั้งในและนอกระนาบจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อขนาดของสัญญาณแรงดันมากกว่า 5 V และถ้าหากขนาดแรงดันมากกว่า 14.5 V เซลล์จะเกิดการสลายตัวด้วยไฟฟ้า (Electrolysis).



รูปที่ 2.20 การจัดวางตำแหน่งเซลล์ให้อยู่ตรงกลางอิเล็กโทรด 4 ขั้ว [5].

การหมุนในระนาบสำหรับงานวิจัยนี้ หมายถึงการหมุนรอบแกน Z สนามไฟฟ้าแบบหมุนถูกสร้างโดยป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้ากระแสสลับที่มีเฟสต่างกัน  $90^\circ$  ให้กับอิเล็กโทรดด้านข้างทั้ง 4 ขั้ว โดยไม่ต้องป้อนให้กับอิเล็กโทรดวงกลมด้านล่าง. สเปกตรัมที่ได้จากการหมุนในระนาบถูกนำไปใช้เพื่อหาคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของเซลล์โดยอ้างอิงจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของเซลล์เดี่ยวทรงกลม แสดงดังรูปที่ 2.21 (ก). รูปที่ 2.21 (ข) แสดงข้อมูลคุณสมบัติไดอิเล็กทริก ( $C_{mem}$ ,  $\sigma_{cyto}$ ) เปรียบเทียบกับขนาดเซลล์ ( $\Phi$ ) ของเซลล์ทั้ง 4 ชนิด นอกจากนี้ ยังมีการพล็อตข้อมูลเป็นแบบ 2 มิติ เพื่อให้ง่ายต่อการสังเกตข้อมูล. การหมุนนอกระนาบคือการหมุนรอบแกน X และ Y ซึ่งมีการป้อน

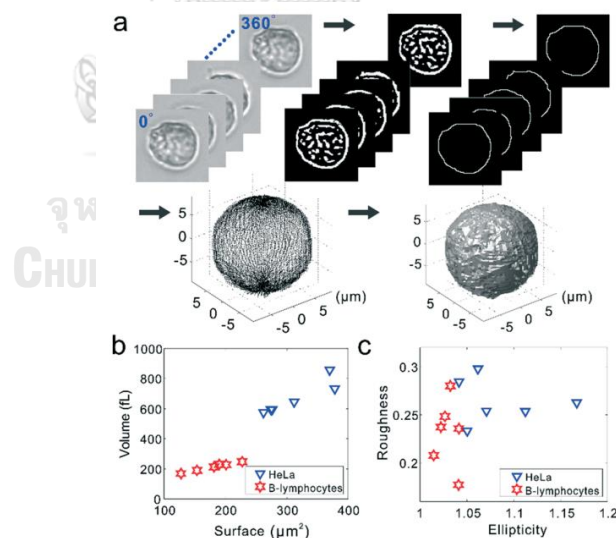
สัญญาณเพื่อสร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุนที่แตกต่างจากการหมุนในระนาบ. ภาพซ้อนของการหมุนนอก  
ระนาบจะถูกนำมาประกอบขึ้นใหม่เป็นรูปร่างของเซลล์แบบสามมิติ ซึ่งทำให้ได้พารามิเตอร์ทาง  
เรขาคณิตของเซลล์ เช่น พื้นที่ของพื้นผิวเซลล์ ปริมาตร แสดงดังรูปที่ 2.22.



รูปที่ 2.21 สเปกตรัมการหมุนและคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของเซลล์โดยใช้เล็ทโรด 4 ขั้ว [5].

(ก) ความเร็วการหมุนในระนาบต่อความถี่ไฟฟ้า.

(ข) ความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของเซลล์และขนาดเซลล์.



รูปที่ 2.22 รูปร่างสามมิติและพารามิเตอร์ทางเรขาคณิตของเซลล์ HeLa [5].

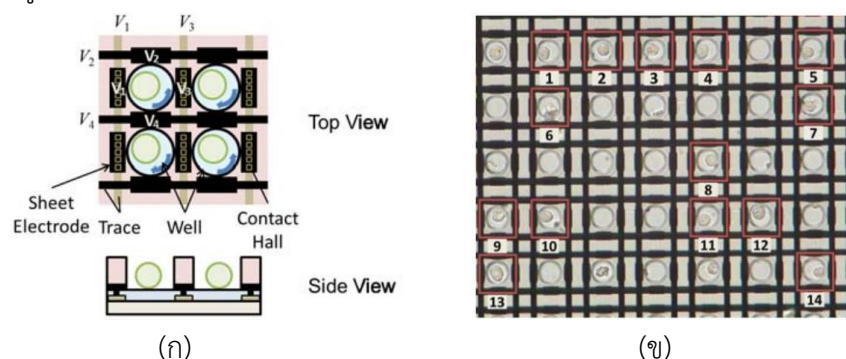
คณะผู้วิจัยได้ทำการทดสอบการใช้งานของอุปกรณ์กับเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด 4  
ชนิด ได้แก่ HeLa C3H10 B-lymphocyte และ HepaRG. เซลล์แต่ละชนิดใช้ตัวอย่างในการทดลอง  
ประมาณ 8 – 12 เซลล์. คุณสมบัติทางไฟฟ้าแสดงดังตารางที่ 2.2. ค่าความเก็บประจุไฟฟ้าจำเพาะ

ของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $C_m$ ) และสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์ (Cytoplasm conductivity,  $\sigma_c$ ) ของ B-lymphocyte ใกล้เคียงกับงานศึกษาที่ผ่านมา ( $C_m = 10.33 \pm 1.60$  mF/m<sup>2</sup> และ  $\sigma_c = 0.41 \pm 0.1$  S/m). ค่าความเก็บประจุ  $C_m$  ของเซลล์ HeLa มากกว่า B lymphocyte อย่างชัดเจน (ทั้งสองชนิดเป็นเซลล์ของมนุษย์).

**ตารางที่ 2.2** คุณสมบัติไดอิเล็กทริกของเซลล์ทั้ง 4 ชนิด จากงานวิจัยของ L. Huang [5].

Cell type	Sample number	Diameter ( $\mu\text{m}$ )	$C_m$ (mF/m <sup>2</sup> )	$\sigma_c$ (S/m)
HeLa	10	14.0 $\pm$ 1.8	13.11 $\pm$ 0.11	0.36 $\pm$ 0.05
C3H10	8	14.0 $\pm$ 1.5	14.73 $\pm$ 0.14	0.31 $\pm$ 0.04
B lymphocyte	9	8.2 $\pm$ 1.4	10.14 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.07
HepaRG	12	12.0 $\pm$ 0.5	15.83 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.05

K. Horio และคณะ [12] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่างของเซลล์และความเร็วเชิงมุมของเซลล์ โดยใช้การประมวลผลภาพและการวิเคราะห์ข้อมูล. นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยยังได้แก้ไขความเร็วเชิงมุมให้ถูกต้องโดยอ้างอิงจากรูปร่าง ซึ่งจะช่วยปรับปรุงความแม่นยำในการดักจับเซลล์มะเร็งในกระแสเลือด (Circulating tumor cell, CTCs). รูปที่ 2.23 (ก) แสดงโครงสร้างของอุปกรณ์ ประกอบด้วยอิเล็กโทรดอาร์เรย์หรืออิเล็กโทรดนิ้วสลับ (Interdigitated array, IDA) ที่เป็นฟิล์มบางวางตามแนวยาวและตามแนวขวาง และบ่อ (Well) สำหรับบรรจุเซลล์เพื่อทำการหมุน. อุปกรณ์มีทั้งหมด 4 ชั้น โดยชั้นที่ 1 และชั้นที่ 3 เป็นอิเล็กโทรดตามแนวยาวและตามแนวขวางตามลำดับ. ชั้นที่ 2 เป็นฟิล์มฉนวนคั่นระหว่างชั้น 1 และ 3. ชั้นที่ 4 เป็นฟิล์มฉนวนที่มีลักษณะเป็นบ่อเรียงกันในรูปแบบตาข่าย. ภาพถ่ายอุปกรณ์จากกล้องจุลทรรศน์ในระหว่างการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน แสดงดังรูปที่ 2.23 (ข).



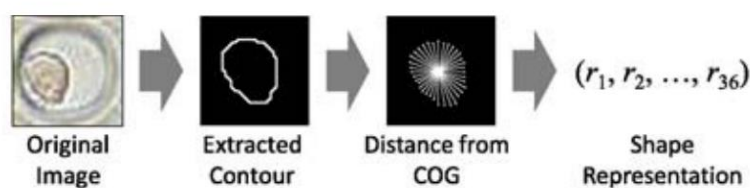
**รูปที่ 2.23** อุปกรณ์อิเล็กโทรโรเทชันแบบมีบ่อวางอยู่บนอิเล็กโทรดนิ้วสลับ [12].

(ก) โครงสร้างอุปกรณ์.

(ข) ภาพถ่ายอุปกรณ์จากกล้องจุลทรรศน์.

งานวิจัยนี้ทำการวัดความเร็วเชิงมุมของเซลล์มะเร็งปอดและอนุภาคแบรียมไททาเนต โดยใช้ตัวอย่างทั้งหมด 14 เซลล์ และ 18 อนุภาค ตามลำดับ. วิดีโอการหมุนของเซลล์บันทึกโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ความเร็วสูงที่มีอัตราการจับภาพ 125 เฟรมต่อวินาที. อุปกรณ์สำหรับเซลล์มะเร็งปอดใช้ท่อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 30  $\mu\text{m}$  และสำหรับอนุภาคแบรียมไททาเนตใช้ 50  $\mu\text{m}$ . การทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชันทำที่ความถี่ 30 MHz กับเซลล์มะเร็งปอด และวัดความเร็วเชิงมุมโดยคำนวณจากเวลาที่เซลล์หมุน 10 รอบ ซึ่งเป็นการนับจำนวนรอบด้วยสายตาของผู้วิจัยเอง. เซลล์มะเร็งมีความเร็วเชิงมุม 21.49 rad/s. อนุภาคแบรียมไททาเนตทำการทดลองที่ 80 kHz มีความเร็วเชิงมุม 16.54 rad/s.

วิธีการจัดการข้อมูลแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ วิธีการอธิบายรูปร่าง (Shape description method) และวิธีการแสดงออกของรูปร่าง (Shape expression method). รูปร่างในงานวิจัยนี้หมายถึงสิ่งที่เกิดขึ้นบนภายนอกของเซลล์ เช่น รูปร่าง ขนาด. วิธีแรกเป็นการแสดงรูปร่างโดยการแปลงลักษณะเฉพาะของรูปร่าง (เช่น ขนาดใหญ่ ความกลม) เป็นจำนวนคุณลักษณะ (Feature amount). วิธีที่สองเป็นการแสดงรูปร่างด้วยรูปร่างของตัวเอง ข้อมูลเป็นปริมาณคุณลักษณะ (Feature quantity) สามารถประมาณค่าเพื่อสร้างรูปร่างที่อยู่ตรงกลางระหว่าง 2 รูปร่างได้. ชุดข้อมูลของระยะทางระหว่างจุดศูนย์กลางและเส้นขอบเซลล์ (ข้อมูลรูปร่าง) ประกอบด้วยเวกเตอร์ 36 เวกเตอร์ โดยเวกเตอร์แต่ละเส้นจะห่างกัน  $10^\circ$  มีจุดศูนย์กลางเซลล์เป็นจุดอ้างอิงและจุดปลายคือเส้นขอบเซลล์ ดังรูปที่ 2.24. ข้อมูลรูปร่างมีขนาดใหญ่ทำให้วิเคราะห์ข้อมูลได้ยาก จึงมีการลดขนาดข้อมูลโดยใช้ Self-organizing map (SOM) แล้วจึงนำข้อมูลไปวิเคราะห์ต่อไป.



รูปที่ 2.24 การแสดงค่าแทนรูปร่างเซลล์ (หรืออนุภาค) ด้วยปริมาณคุณลักษณะ [12].

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่างและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ที่ได้จากงานวิจัยนี้ พบว่า ความเร็วเชิงมุมมีแนวโน้มลดลงเมื่อพื้นที่มีขนาดใหญ่ขึ้นทั้งในเซลล์มะเร็งปอดและอนุภาคแบรียมไททาเนต. กราฟแสดงค่าความเร็วเชิงมุมเปรียบเทียบกับค่ากำลังสองของความเข้มสนามไฟฟ้า ( $E^2$ ) ที่เบี่ยงเบนตามความสูงจากด้านล่างบ่อ แสดงให้เห็นว่าระยะที่เพิ่มขึ้นมีความเร็วเชิงมุมที่ลดลงทั้งในเซลล์มะเร็งปอดและอนุภาคแบรียมไททาเนต ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าระยะความสูงจากด้านล่างบ่อส่งผลต่อความเร็วเชิงมุม. นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ศึกษา

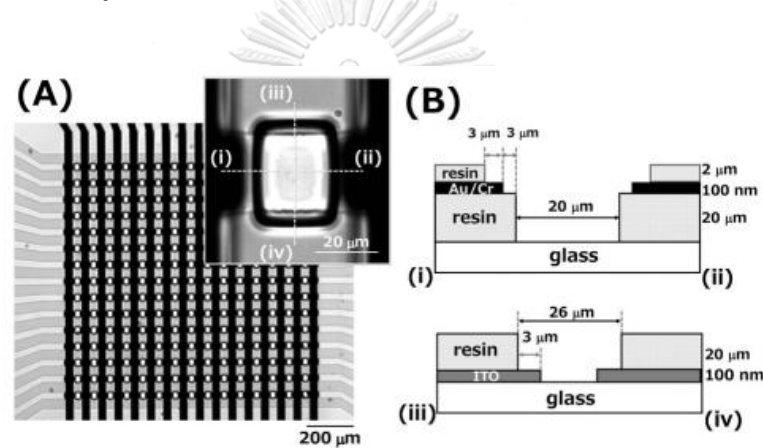
ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของรูปร่างเซลล์และความเร็วเชิงมุม ซึ่งแสดงให้เห็นแนวโน้มว่า ความเร็วเชิงมุมลดลงในขณะที่พื้นที่เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น. ความสัมพันธ์นี้ถูกนำมาใช้ทำนายและชดเชยความเร็วเชิงมุมที่ไม่เป็นไปตามแนวโน้ม. อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยยังไม่สามารถทำการชดเชยความเร็วเชิงมุมได้อย่างถูกต้อง เนื่องจากอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อความเร็วเชิงมุมนอกเหนือจากพื้นที่หรือรูปร่าง. จากเอกสารอ้างอิงนี้ทำให้ทราบว่า ค่าความเร็วเชิงมุมที่แม่นยำมีความจำเป็นต่อการศึกษาคณิตศาสตร์ทางไฟฟ้าของเซลล์.

งานวิจัยที่ผ่านมาของ M. Suzuki และคณะ ได้สร้างอิเล็กโทรดอาร์เรย์สำหรับใช้งานในด้านการจัดการเซลล์ด้วย DEP เพื่อตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอิมมูโนแอสเสย์ (Immunoassay) และชิปเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture chip) [13-18]. ในเวลาต่อมา คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาชิปอิเล็กโทรโรเทชันโดยใช้อิเล็กโทรดขั้วสลับ เพื่อสร้างเครื่องมือการทดลองที่ให้ปริมาณงานสูง. อิเล็กโทรดถูกจัดวางในลักษณะหันด้านอิเล็กโทรดเข้าหากัน โดยวางอิเล็กโทรดแผ่นบนตามแนวขวางกับแผ่นล่างเพื่อให้เกิดพื้นที่สี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด  $20 \times 20 \mu\text{m}$  ทั้งหมด 2401 พื้นที่. ผู้วิจัยได้ทำการทดลองอิเล็กโทรโรเทชันกับอนุภาคโพลิสไตรีน (Polystyrene microparticle) ซึ่งเป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง  $15 \mu\text{m}$  และอนุภาคแก้วรูปแท่ง (Glass microrod) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง  $6 \mu\text{m}$  ความยาว  $10 - 30 \mu\text{m}$ . งานวิจัยนี้ แสดงสมรรถนะของชิปโดยพิจารณาจากการหมุนของอนุภาครูปแท่งเป็นหลัก เนื่องจากสามารถสังเกตการหมุนได้ง่ายกว่าอนุภาคทรงกลม. การทดลองอิเล็กโทรโรเทชันของอนุภาครูปแท่ง ทำการทดลองทั้งหมด 3 แรงดัน ได้แก่ 10 15 และ  $20 V_{pp}$  ที่ความถี่ 600 -1200 kHz. ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อัตราการหมุนของอนุภาคเพิ่มขึ้นเมื่อความถี่ลดลง และอนุภาคหมุนเร็วขึ้นเมื่อขนาดแรงดันเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง. ชิปที่ได้พัฒนาขึ้น ทำให้การทดลองเพื่อหาคุณลักษณะทางไฟฟ้าของอนุภาคไมโครเกิดปริมาณงานที่สูง.

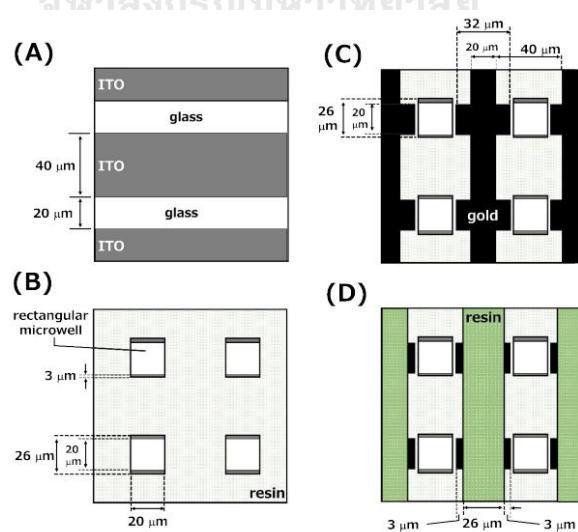
งานวิจัยของ M. Suzuki ได้พัฒนาอุปกรณ์อิเล็กโทรโรเทชันขึ้นสำหรับตรวจสอบอัตราการหมุนของเซลล์แบบตามเวลาจริง (Real time) [19]. อุปกรณ์นี้ประกอบด้วยบ่อขนาดเล็ก (Microwells) จำนวน 255 บ่อ ซึ่งสามารถทดลอง ROT ได้ประมาณ 70 เซลล์ต่อการดำเนินการแต่ละครั้ง. การหาอัตราการหมุนของเซลล์ใช้วิธี Image recognition โดยโปรแกรมที่เขียนจากภาษา Python. อัตราการหมุนของเซลล์สำหรับงานนี้ ถูกนำมาใช้ตรวจสอบ (Monitor) การขยายเยื่อหุ้มเซลล์ และใช้ติดตามผลตอบสนองของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat cells) ก่อนและหลังการได้รับสารไอโอโนไมซิน (Ionomycin). ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อัตราการหมุนของเซลล์ลดลงประมาณ 10% หลังเติมสารละลายที่มี Ionomycin. ช่วงเวลาที่อัตราการหมุนของเซลล์ลดลงใกล้เคียงกับการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้น  $\text{Ca}^{2+}$  ภายในเซลล์. การลดลงของอัตราการหมุน แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของความเก็บประจุเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเกิดจากพื้นที่ผิวที่เพิ่มมากขึ้น.



ภาพถ่ายจากด้านบนของอุปกรณ์ ROT และภาพตัดขวางของอุปกรณ์ แสดงดังรูปที่ 2.25. อิเล็กโทรดชุดที่ติดกับกระจกเป็นอิเล็กโทรดชนิด Indium tin oxide (ITO) หนา 100 nm. ชั้นถัดมาเป็นเรซินหนา 20  $\mu\text{m}$ . ชั้นถัดขึ้นมาจากเรซินคืออิเล็กโทรดที่ทำจากทองคำ (Au) หนา 100 nm. ชั้นสุดท้ายเป็นเรซินหนา 2  $\mu\text{m}$  ปิดทับบนอิเล็กโทรดทองคำ. ในการทดลองจะใช้เข็มเบอร์ทรงกระบอกที่ทำจาก PDMS วางบนอุปกรณ์ ROT สำหรับหยดสารละลาย. เข็มเบอร์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้านนอก 15 mm ด้านใน 10 mm ความสูง 6 mm และปริมาตร 470  $\mu\text{l}$ . รูปที่ 2.26 แสดงลำดับการสร้างอุปกรณ์ ROT ตามลำดับ (A) – (D). ในลำดับแรก อิเล็กโทรด ITO ถูกสร้างบนฐานกระจก. แล้วจากนั้น ชั้นเรซินที่เว้นพื้นที่เป็นช่องสี่เหลี่ยมถูกใช้สร้างบ่อขนาดเล็กสำหรับดักจับเซลล์. อิเล็กโทรดทองคำวางอยู่ในแนวขวางกับอิเล็กโทรด ITO และปิดทับด้วยเรซินในชั้นสุดท้าย.



รูปที่ 2.25 ภาพตัดขวางของอุปกรณ์อิเล็กโทรโรเทชันแบบมีบ่ออยู่ระหว่างอิเล็กโทรดขั้วสลับ [19].



รูปที่ 2.26 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์อุปกรณ์อิเล็กโทรโรเทชันแบบมีบ่ออยู่ระหว่างอิเล็กโทรดขั้วสลับ

[19].

การทดลองเพื่อติดตามผลตอบสนองของเซลล์ Jurkat ก่อนและหลังการได้รับสารละลาย Ionomycin มีรายละเอียดดังนี้. แรงดันที่ใช้มีขนาด  $2 V_{p-p}$  ความถี่ 300 kHz สำหรับการสร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุน. ในช่วงเริ่มต้นของการทดลอง เซลล์อยู่ในสารละลายที่ไม่มี Ionomycin. จากนั้น สัญญาณแรงดันจะถูกป้อน เมื่อเวลาผ่านไป 10 วินาที จะทำการหยุด Ionomycin  $1 \mu\text{l}$  ลงในแชมเบอร์. ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อัตราหมุนเซลล์ลดลงประมาณ 10% หลังเติมสารละลาย Ionomycin เข้าไป. การหาอัตราการหมุนเซลล์ใช้วิดีโอการทดลองที่บันทึกด้วยอัตรา 30 fps. วิดีโอถูกนำมาบันทึกเฟรมภาพ โดยเลือกบริเวณที่สนใจ และใช้ Otsu's thresholding เพื่อแยกขอบเขตเซลล์กับพื้นหลัง. เรียกใช้ OpenCV เพื่อระบุเส้นขอบเซลล์ และกำหนดให้พื้นหลังเป็นสีดำ. จากนั้นทำการคำนวณ Normalized cross-correlation (NCC) ที่เกิดจากเฟรมภาพทั้งหมด และแสดงอัตราการหมุนในหน่วย rad/s.

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา เราได้เห็นถึงประโยชน์ของปรากฏการณ์อิเล็กทรอนิกส์โทโรเทชันสำหรับการใช้งานชีวเวช. อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่งมีลักษณะสมบัติการกระจายทางสถิติ จำเป็นต้องใช้การศึกษาตัวอย่างที่มีจำนวนเพียงพอ. รวมทั้ง ซัพพลายเมนต์ที่ใช้ตรวจสอบลักษณะสมบัติเซลล์ไม่ควรมีความซับซ้อนเกินไป ทำให้ยากต่อการใช้งานในห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์นี้มุ่งที่จะปรับปรุงกระบวนการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โทโรเทชันโดยใช้อิเล็กทรอนิกส์แบบง่ายและการวิเคราะห์ผลที่ได้ ให้มีความรวดเร็วและเกิดปริมาณงานสูง.

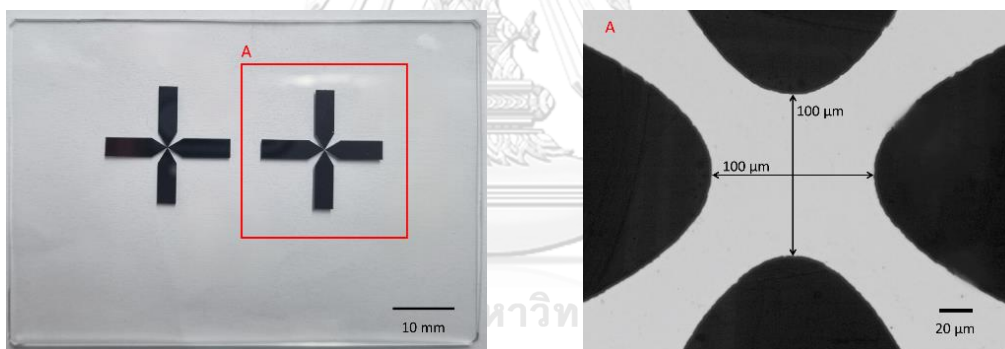
### บทที่ 3

#### การทดลอง

#### 3.1 อุปกรณ์การทดลอง

##### 3.1.1 อิเล็กโทรด 4 ขั้ว (Quadrupole)

อิเล็กโทรด 4 ขั้ว ถูกนำมาใช้สร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุนสำหรับการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน. การสร้างอิเล็กโทรดบนฐานกระจกด้วยวิธีลิฟต์ออฟ (Lift-off) มีรายละเอียดการสร้างแสดงในภาคผนวก ก. รูปที่ 3.1 แสดงอิเล็กโทรด 4 ขั้ว ที่สร้างมาจากโครเมียม ประกอบด้วยอิเล็กโทรด 2 ชุด บนฐานกระจกสไลด์. อิเล็กโทรดชุดด้านซ้ายมือของรูป (ก) มีระยะแกบระหว่างคู่อิเล็กโทรด  $50\ \mu\text{m}$ . อิเล็กโทรดชุดด้านขวามือมีระยะแกบระหว่างคู่อิเล็กโทรด  $100\ \mu\text{m}$  ซึ่งเป็นอิเล็กโทรดที่ใช้สำหรับการทดลองในงานวิจัยนี้ แสดงภาพขยายด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์กำลังขยาย 4X ดังรูป (ข). ลวดตัวนำ ถูกเชื่อมต่อกับอิเล็กโทรดด้วย Conductive Silver Paint เพื่อใช้เป็นจุดรับสัญญาณแรงดันไฟฟ้า.



รูปที่ 3.1 อิเล็กโทรดสี่ขั้วชนิดโครเมียม.

(ก) ชิ้นงานจริงอิเล็กโทรดสี่ขั้วบนฐานกระจก.

(ข) ระยะแกบระหว่างคู่อิเล็กโทรด.

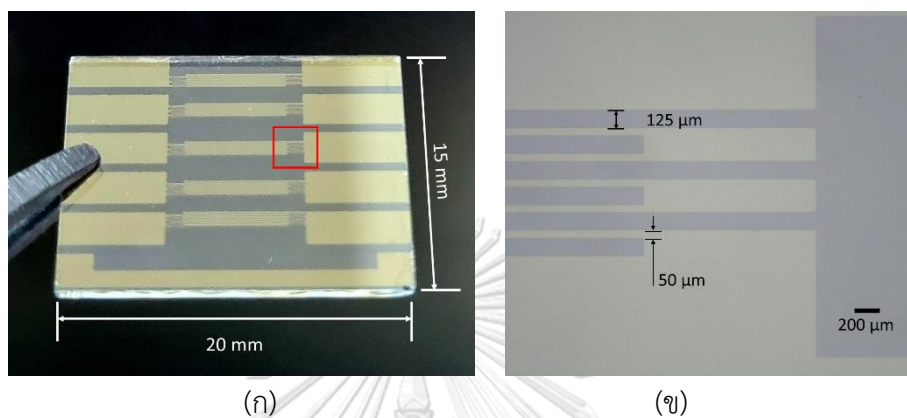
(ข) ระยะแกบระหว่างคู่อิเล็กโทรด.

##### 3.1.2 อิเล็กโทรดขั้วสลับ (Interdigitated electrodes)

อิเล็กโทรดขั้วสลับที่นำมาประยุกต์ใช้สำหรับการทดลองอิเล็กโทรโรเทชันในงานวิจัยนี้ คือ อิเล็กโทรดใสที่ทำจาก Indium tin oxide (ITO) บนฐานกระจก. แผ่นอิเล็กโทรดมีขนาดกว้าง x ยาว เป็น  $20 \times 15\ \text{mm}$ . ชั้นตัวนำมีความหนา  $100\ \text{nm}$ . แผ่นอิเล็กโทรดมีความหนารวม  $1.1\ \text{mm}$ . รูปที่ 3.2 (ก) แสดงภาพถ่ายแผ่นอิเล็กโทรดขั้วสลับ ITO. แผ่นอิเล็กโทรด 1 แผ่น ประกอบด้วยชุด



อิเล็กโทรดขั้วสลับ 5 ชุด. รูป (ข) แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์เลนส์กำลังขยาย 4x บริเวณกรอบสีแดงในรูป (ก). แถบอิเล็กโทรดมีความกว้าง 125  $\mu\text{m}$ . ระยะแถบระหว่างขั้วตรงข้ามมีขนาด 50  $\mu\text{m}$ . อิเล็กโทรดขั้วสลับ 1 ชุด มีแถบระหว่างขั้วตรงข้ามทั้งหมด 5 คู่. ดังนั้น อิเล็กโทรด 1 แผ่น มีแถบระหว่างขั้วตรงข้ามทั้งหมด 25 คู่.



(ก)

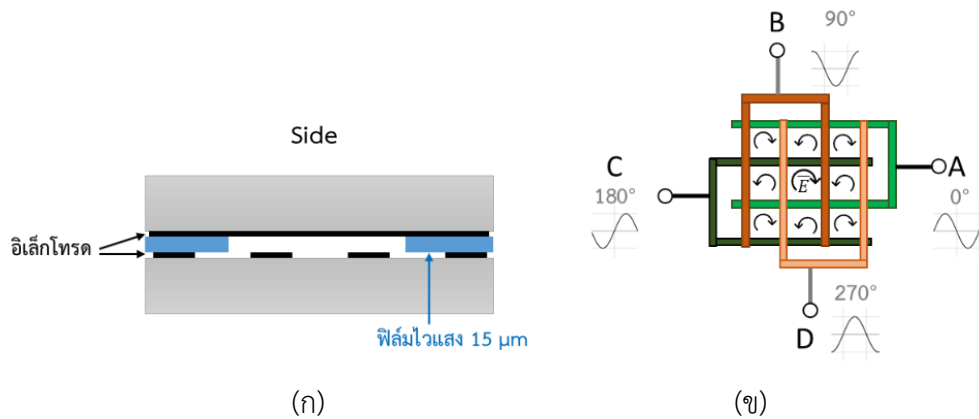
(ข)

รูปที่ 3.2 อิเล็กโทรดขั้วสลับ ITO.

(ก) อิเล็กโทรดขั้วสลับ ITO บนฐานกระจก.

(ข) ระยะแถบระหว่างขั้วตรงข้าม.

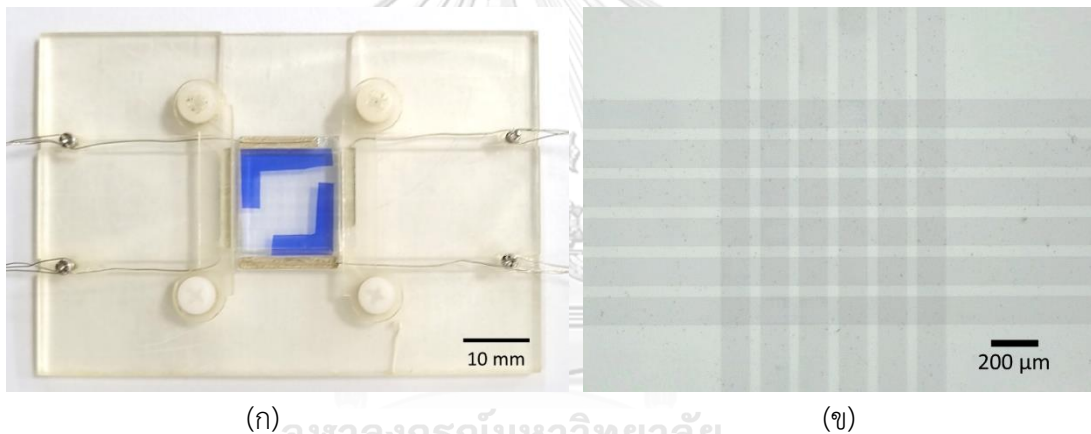
ชิ้นงานสำหรับการทดลองอิเล็กโทรโรเทชันด้วยอิเล็กโทรดขั้วสลับ ใช้อิเล็กโทรดขั้วสลับทั้งหมด 2 แผ่น แสดงภาพตัดขวางดังรูปที่ 3.3 (ก). สวดตัวนำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.14 mm ถูกเชื่อมต่อกับอิเล็กโทรดด้วย Conductive Silver Paint เพื่อใช้เป็นจุดรับสัญญาณแรงดันไฟฟ้า. กระจกอิเล็กโทรดถูกวางซ้อนกันเป็นเครื่องหมายบวก โดยหันด้านที่เป็นตัวนำไฟฟ้าเข้าหากัน. फिल्मไวแสงความหนา 15  $\mu\text{m}$  ถูกใช้เป็นตัวคั่น (Spacer) ระหว่างตัวนำ เพื่อสร้างระยะห่างระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดให้สม่ำเสมอและป้องกันการเชื่อมต่อกันของตัวนำอิเล็กโทรด. สนามไฟฟ้าแบบหมุนสร้างได้จากสัญญาณรูปคลื่นไซน์ และแสดงการป้อนสัญญาณดังรูป 3.3 (ข) ซึ่งทำให้ได้สนามไฟฟ้าแบบหมุนในช่องสี่เหลี่ยมที่อยู่ติดกันมีทิศทางตรงข้ามกัน. ฐานรองรับอิเล็กโทรดขั้วสลับถูกออกแบบด้วยโปรแกรม AutoCAD และพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ (ELEGOO MARS PRO). รูปที่ 3.4 (ก) แสดงชิ้นงานจริงที่ประกอบแผ่นอิเล็กโทรดเข้ากับฐานรองรับแล้ว. ชิ้นงานนี้มีตำแหน่งที่ชุดอิเล็กโทรดติดกันแล้วเกิดพื้นที่สี่เหลี่ยมสำหรับใช้ทดลองได้ 4 ตำแหน่ง แต่ละตำแหน่งมีช่องสี่เหลี่ยม 25 ช่อง แสดงดังรูปที่ 3.4 (ข).



รูปที่ 3.3 การวางอิเล็กโทรดข้ามสลับซ้อนกัน.

(ก) ภาพตัดขวาง.

(ข) การป้อนสัญญาณและทิศทางสนามไฟฟ้า.



(ก)

(ข)

รูปที่ 3.4 อุปกรณ์ทดลองอิเล็กโทรโรเทชันด้วยแผ่นอิเล็กโทรดข้ามสลับ.

(ก) แผ่นอิเล็กโทรดที่ประกอบเข้ากับฐานรองรับ.

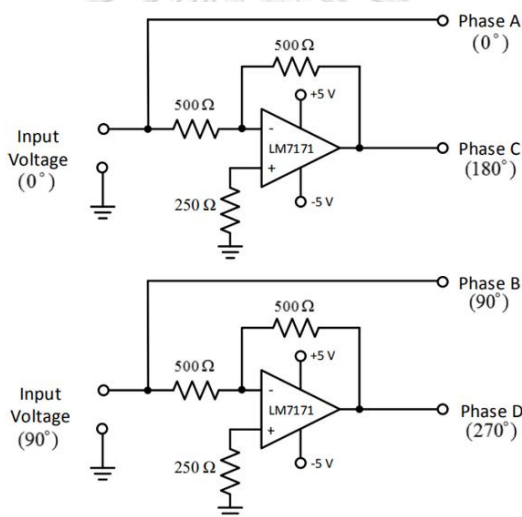
(ข) ช่องสี่เหลี่ยม ณ ตำแหน่งที่ชุดอิเล็กโทรดข้ามสลับตัดกัน.

### 3.1.3 เครื่องกำเนิดสัญญาณ

เครื่องกำเนิดสัญญาณ (AFG3022C, Tektronix) สำหรับใช้สร้างแรงดันรูปคลื่นไซน์มีสัญญาณขาออก 2 ช่อง มีพิกัดแรงดัน 20 mV<sub>p-p</sub> ถึง 20 V<sub>p-p</sub> (สำหรับโหลดแบบ High Z) และพิกัดความถี่ 1 μHz – 25 MHz.

### 3.1.4 วงจรขยายแบบกลับเฟส (Inverting Amplifier)

สัญญาณที่ใช้ในการสร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุนสำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ เป็นสัญญาณรูปคลื่นไซน์ 4 เฟส โดยแต่ละเฟสมีมุมเฟสต่างกัน  $90^\circ$ . สัญญาณแรงดันนี้ถูกสร้างจากวงจรขยายแบบกลับเฟส. วงจรขยายแรงดันแบบกลับเฟสใช้ออปแอมป์ LM7171 (Texas Instruments). วงจรนี้สามารถทำงานได้ในย่านความถี่ 10 kHz ถึง 25 MHz. สัญญาณขาเข้าของวงจร คือสัญญาณแรงดันรูปคลื่นไซน์ที่มีมุมเฟส  $0^\circ$  และ  $90^\circ$  จากเครื่องกำเนิดสัญญาณ. เมื่อสัญญาณแรงดันผ่านวงจรที่ออกแบบดังรูปที่ 3.5 [20] จะทำให้ได้สัญญาณขาออกของวงจรเป็นสัญญาณแรงดันรูปคลื่นไซน์ 4 เฟส ประกอบไปด้วยสัญญาณที่มีมุมเฟส  $0^\circ$   $90^\circ$   $180^\circ$  และ  $270^\circ$ . การควบคุมสัญญาณแรงดันและความถี่ที่ใช้ในการทดลอง เป็นการควบคุมสัญญาณขาออกของเครื่องกำเนิดสัญญาณผ่านโปรแกรมที่ทำงานบน MATLAB. รายละเอียดการทำงานของโปรแกรมควบคุมสัญญาณแสดงในภาคผนวก ข.



รูปที่ 3.5 แผนภาพวงจรขยายแบบกลับเฟส [20].

### 3.1.5 อุปกรณ์บันทึกผลการทดลอง

- 1) กล้องจุลทรรศน์แบบ Upright (ECLIPSE E200, Nikon) ประกอบด้วยเลนส์กำลังขยาย 4X 10X 20X และ 40X.
- 2) กล้องจุลทรรศน์แบบ Upright (ECLIPSE Si, Nikon) ประกอบด้วยเลนส์กำลังขยาย 4X 10X 20X 40X และ 100X.
- 3) กล้อง CCD อัตราเฟรมเรทสูงสุด 30 fps (WAT-231S2, Watec) ความละเอียดวิดีโอ 640x480 Pixels. กล้องเชื่อมต่อกับตัวรับสัญญาณ (A833, AverMedia) และส่งข้อมูลไปยัง

คอมพิวเตอร์ผ่านพอร์ต USB 3.0. ไฟล์ภาพและวิดีโอถูกบันทึกผ่านโปรแกรม AVerTV บนคอมพิวเตอร์.

4) กล้อง CCD อัตราเฟรมเรทสูงสุด 203 fps (acA1300-200uc, BASLER) และกล้อง CCD อัตราเฟรมเรทสูงสุด 55 fps (acA2040-55uc, BASLER). วิดีโอจากกล้อง BASLER ทั้งสอง มีความละเอียด 1280x1024 Pixels. กล้องเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ด้วยพอร์ต USB 3.0. ไฟล์ภาพและวิดีโอถูกบันทึกผ่านโปรแกรม Pylon Viewer.

## 3.2 การทดลอง

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายสภาพนำไฟฟ้าต่ำ

สารละลายสภาพนำไฟฟ้าต่ำถูกนำมาใช้ล้างเซลล์และรักษาสภาพของเซลล์เม็ดเลือดแดงขณะทำการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน. สารละลายประกอบด้วย ซูโครส (AR Grade, Ajax-Finechem) 8.5 % w/v เดกซ์โทรส (AR Grade, Ajax-Finechem) 0.3 % w/v ในน้ำ DI. PBS (Phosphate Buffer Saline) ถูกใช้ในการปรับสภาพนำไฟฟ้า. สารละลายมีความเข้มข้น 0.3 M. ขั้นตอนการผสมสารละลายสภาพนำไฟฟ้า 0.02 S/m มีดังนี้

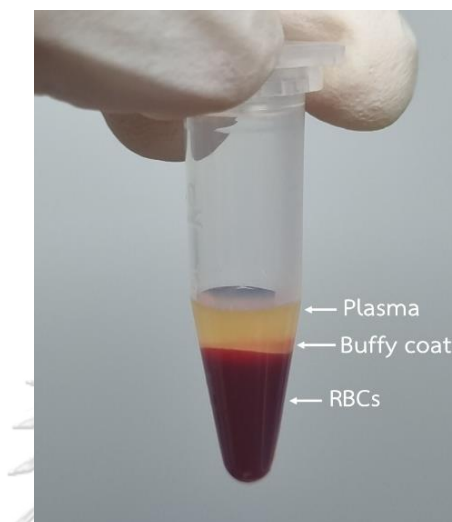
- เตรียมน้ำ DI ปริมาตร 100 ml ในบีกเกอร์ (Beaker) และวางบนเครื่องกวนสารแบบแม่เหล็ก (MS 155, HL Instrument).
- เติมหาโครส 8.5 g และเดกซ์โทรส 0.3 g. กวนสารละลายจนสารที่เติมเข้าไปละลายได้สมบูรณ์.
- เติมหา BSA (Bovine Serum Albumin) ปริมาตร 500  $\mu$ l เพื่อช่วยลดการจับตัวกันของเซลล์.
- ปรับสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายให้ได้ 0.02 S/m ด้วยการเติม PBS (ประมาณ 1,200  $\mu$ l) และตรวจสอบค่าสภาพนำไฟฟ้าของสารละลาย.
- เก็บรักษาสารละลายในหลอดทดลองในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ 4°C.

### 3.2.2 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ

เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวอย่างเลือดที่ได้รับจากอาสาสมัคร. ตัวอย่างเลือดที่รับมาถูกบรรจุอยู่ในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดฝาสีม่วง (EDTA K3 Tube) ขนาด 3 ml. การเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงสำหรับการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

- 1) เขย่าหลอดเก็บตัวอย่างเลือดเบา ๆ เพื่อผสมเลือดที่แยกชั้นอยู่ให้เข้ากัน
- 2) ดูดตัวอย่างเลือด 500  $\mu$ l จากหลอดเก็บตัวอย่าง ใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1,500  $\mu$ l จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1500 rpm เวลา 5 นาที. หลังจากปั่นเหวี่ยงแล้ว

ตัวอย่างเลือดในหลอดทดลองจะแยกชั้นเป็น พลาสมา (Plasma) เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด (Buffy coat) และเซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cells, RBCs) ซึ่งเป็นชั้นที่ตกตะกอนอยู่ด้านล่างสุดของหลอดทดลอง ดังรูปที่ 3.6.



รูปที่ 3.6 ตัวอย่างเลือดที่แยกชั้นหลังการปั่นเหวี่ยง.

- 3) คูดเซลล์เม็ดเลือดแดง 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับกับสารละลายบัฟเฟอร์ 1,000  $\mu\text{l}$ . จากนั้น ใช้ปิเปตทวนสารละลายให้เข้ากัน และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1500 rpm เวลา 5 นาที. เมื่อบั่นเหวี่ยงแล้ว คูดสารละลายบัฟเฟอร์ออกประมาณ 1,000  $\mu\text{l}$ . ขั้นตอนนี้เป็นการล้างเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยจะทำซ้ำ 2 ครั้ง.
- 4) หลังจากขั้นตอนการล้างเซลล์ เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1,000  $\mu\text{l}$  ลงในหลอดทดลองที่มีเซลล์เม็ดเลือดแดงตกตะกอนอยู่ประมาณ 2  $\mu\text{l}$  ทำให้ได้ตัวอย่างเซลล์ที่มีความหนาแน่นประมาณ 15,000 cells/ $\mu\text{l}$  (ความหนาแน่นหาได้จากการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย Hemocytometer แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ค).
- 5) นำตัวอย่างเซลล์จากข้อ 4 ปริมาตร 30  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ 470  $\mu\text{l}$  ทำให้ได้ตัวอย่างเซลล์ที่มีความหนาแน่นประมาณ 1,000 cells/ $\mu\text{l}$  สำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรโรเทชันด้วยอิเล็กทรอนิกส์ซีว. ตัวอย่างเซลล์สำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรโรเทชันด้วยอิเล็กทรอนิกส์ซีว สลับ ใช้ ตัวอย่างเซลล์ที่ผ่านการล้างจากข้อ 2 ปริมาตร 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ 1,200  $\mu\text{l}$  ทำให้ได้ตัวอย่างเซลล์ความหนาแน่นประมาณ 12,000 cells/ $\mu\text{l}$ .

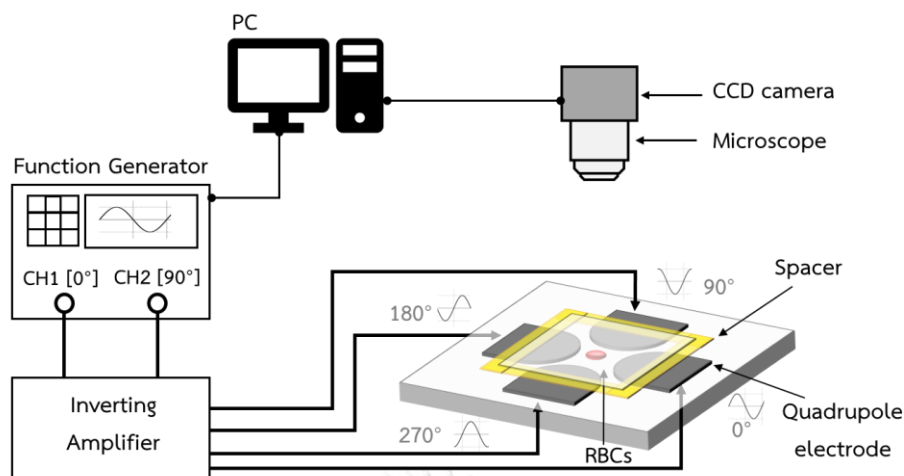
### 3.2.3 การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรีย

เซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการทดลองเป็นเซลล์ติดเชื้อสายพันธุ์ Plasmodium Falciparum ระยะ Late Stage จัดเตรียมโดยหน่วยวิจัยมหิตลิวแวกซ์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล. เซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 ในอัตราส่วน 50:1,000  $\mu\text{l}$ . ตัวอย่างเลือดเพาะติดเชื้อมีความหนาแน่นประมาณ  $1.1 \times 10^5$  cells/ $\mu\text{l}$ . การเตรียมตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรีย มีขั้นตอนดังนี้

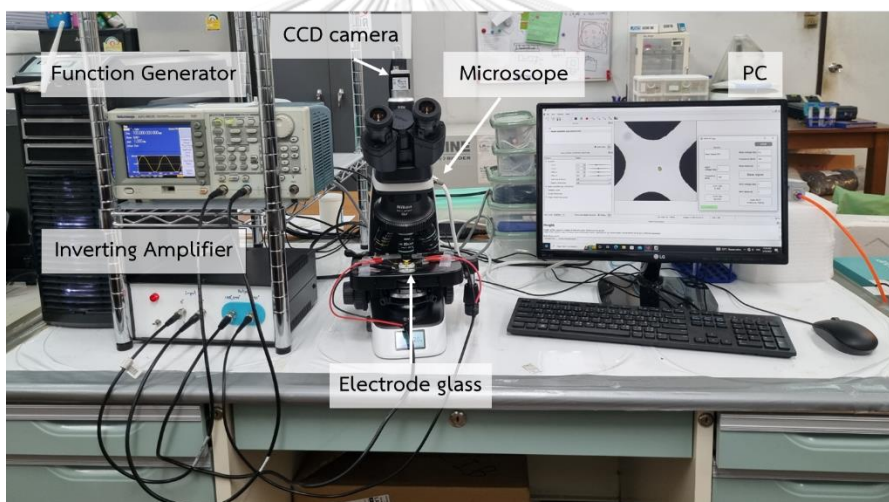
- 1) เขย่าหลอดเก็บตัวอย่างเลือดเบา ๆ เพื่อผสมเลือดที่แยกชั้นอยู่ให้เข้ากัน.
- 2) ดูดตัวอย่างเลือด 2  $\mu\text{l}$  ผสมกับกับสารละลายบัฟเฟอร์ 200  $\mu\text{l}$  ในหลอดทดลองปริมาตร 1,500  $\mu\text{l}$  จากนั้น ใช้ปิเปตกวนสารละลายให้เข้ากัน.
- 3) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1,000  $\mu\text{l}$  และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1500 rpm เวลา 5 นาที. เมื่อปั่นเหวี่ยงแล้ว ดูดสารละลายบัฟเฟอร์ออก 1,000  $\mu\text{l}$ . ขั้นตอนนี้เป็นการล้างเซลล์ โดยจะทำซ้ำ 3 ครั้ง.
- 4) หลังจากขั้นตอนการล้างเซลล์ ในหลอดทดลองจะเหลือเซลล์ตกตะกอนอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ 200  $\mu\text{l}$ . ใช้ปิเปตกวนเบาๆ ให้เข้ากัน ทำให้ได้ตัวอย่างเซลล์ความหนาแน่นประมาณ 1,100 cells/ $\mu\text{l}$ .

### 3.2.4 ระบบการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชัน

ระบบการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชัน มีหลักการทำงานดังนี้ สัญญาณแรงดันไฟฟ้ารูปคลื่นไซน์จากเครื่องกำเนิดสัญญาณถูกป้อนให้กับวงจรขยายแบบกลับเฟส เพื่อสร้างสัญญาณรูปคลื่นไซน์ที่มีเฟสต่างกัน  $90^\circ$ . จากนั้น สัญญาณแต่ละเฟสถูกป้อนให้กับอิเล็กทรอนิกส์โรตเพื่อใช้สร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุน. วิดีโอผลการทดลองถูกบันทึกด้วยกล้อง CCD ผ่านกล้องจุลทรรศน์. แผนภาพระบบการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.7. เมื่อป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้าตามแผนภาพ จะทำให้ได้สนามไฟฟ้าแบบหมุนในทิศทางตามเข็มนาฬิกา. ระบบการทดลองจริง แสดงดังรูปที่ 3.8.



รูปที่ 3.7 แผนภาพระบบการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน.



รูปที่ 3.8 ระบบการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน.

### 3.2.5 ขั้นตอนการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน

การทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ใช้ อิเล็กโทรด 4 ขั้ว และการทดลองที่ใช้อิเล็กโทรดขั้วสลับ.

1) การทดลองอิเล็กโทรโรเทชันด้วยอิเล็กโทรด 4 ขั้ว แสดงขั้นตอนการทดลองดังนี้

- ล้างกระจกอิเล็กโทรดก่อนนำมาใช้ทำการทดลองด้วย IPA. จากนั้น ล้างด้วยน้ำ DI และเป่าให้แห้ง.

- หยด BSA 2% (ส่วนผสมของ BSA 10  $\mu$ l และน้ำ DI 500  $\mu$ l) ปริมาตร 40  $\mu$ l ลงบนบริเวณกึ่งกลางของอิเล็กโทรดที่ใช้ทำการทดลอง. วางกระจกอิเล็กโทรดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง. จากนั้น ใช้น้ำ DI ล้างกระจกอิเล็กโทรด และเป่าให้แห้ง.
- หยดตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงลงบนกระจกอิเล็กโทรดปริมาตร 10  $\mu$ l. จากนั้น ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover Glass) ลงบนเทปฉนวน (Low Static Polyimide Film Tape 5419, 3M) ที่มีความหนา 50  $\mu$ m. เทปฉนวนถูกใช้เป็นตัวคั่น (Spacer) เพื่อสร้างพื้นที่ให้เซลล์สามารถเคลื่อนที่ได้. ใช้ปากคีบ (forceps) กดกระจกปิดสไลด์ให้แนบกับเทปฉนวน.
- วางกระจกอิเล็กโทรดลงบนแท่นวางสไลด์ของกล้องจุลทรรศน์. ใช้ปากคีบเคลื่อนกระจกปิดสไลด์เพื่อให้เซลล์อยู่ตรงกลางระหว่างขั้วอิเล็กโทรด.
- ป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้า 0.15  $V_p$  ความถี่ 50 kHz เป็นสัญญาณฐาน.
- ป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้า 3  $V_p$  โดยปรับความถี่ 10 kHz ถึง 5 MHz เป็นสัญญาณควบคุม. ลำดับการป้อนสัญญาณเรียงจากความถี่สูงไปหาความถี่ต่ำ. ความถี่ที่ทำการทดลองทั้งหมด 16 ค่า ได้แก่ 5.0 4.0 3.0 2.6 2.2 1.8 1.4 1.0 MHz และ 600 400 200 160 120 80 40 10 kHz. สัญญาณควบคุมถูกป้อนเป็นเวลา 2 วินาที คั่นด้วยสัญญาณฐาน 1 วินาที.
- บันทึกวิดีโอการหมุนของเซลล์ด้วยกล้อง CCD.

## 2) การทดลองอิเล็กโทรโรเทชันด้วยอิเล็กโทรดขั้วสลับ แสดงขั้นตอนการทดลองดังนี้

- ขั้นตอนการเตรียมกระจกอิเล็กโทรดก่อนนำมาใช้ทำการทดลอง มีขั้นตอนเหมือนกันกับอิเล็กโทรด 4 ขั้ว.
- หยดตัวอย่างเซลล์ปริมาตร 8  $\mu$ l ลงบนแผ่นอิเล็กโทรดแผ่นล่าง. จากนั้น ปิดทับด้วยอิเล็กโทรดแผ่นบนในลักษณะหันด้านที่เป็นตัวนำเข้าหากัน.
- ป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้า 0.2  $V_p$  ความถี่ 100 kHz เป็นสัญญาณฐาน.
- ป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้า 1.5  $V_p$  โดยปรับความถี่ 120 kHz ถึง 5 MHz เป็นสัญญาณควบคุม. ลำดับการป้อนสัญญาณเรียงจากความถี่สูงไปหาความถี่ต่ำ. ความถี่ที่ทำการทดลองทั้งหมด 7 ค่า ได้แก่ 5.0 3.0 1.0 MHz และ 400 200 160 120 kHz. สัญญาณควบคุมถูกป้อนเป็นเวลา 2 วินาที คั่นด้วยสัญญาณฐาน 1 วินาที.
- บันทึกวิดีโอการหมุนของเซลล์ด้วยกล้อง CCD.

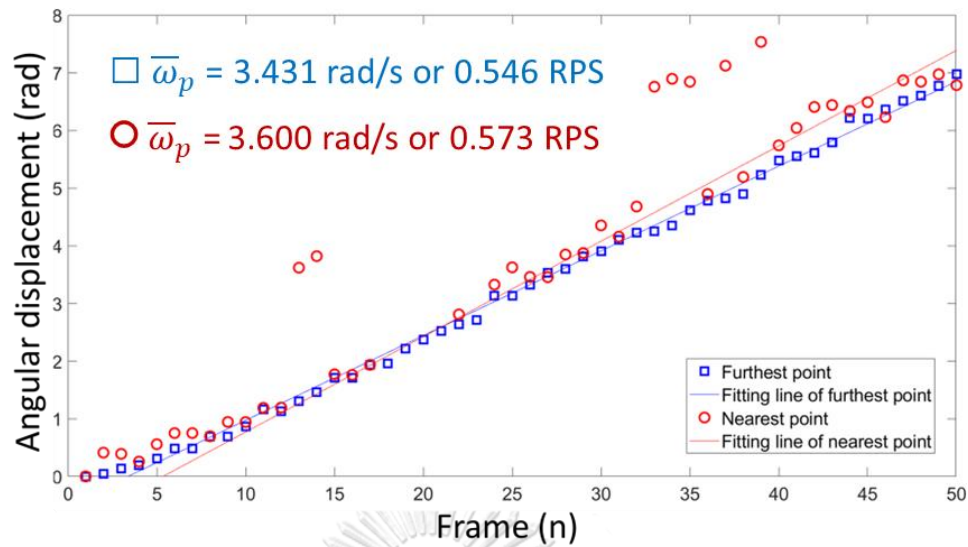


## บทที่ 4

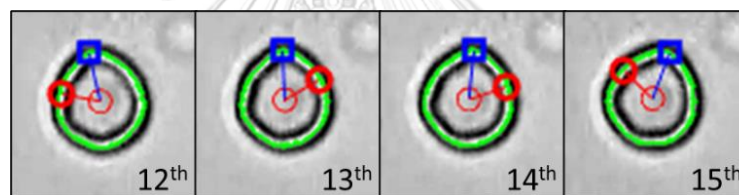
### ผลการศึกษาและอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการตรวจนับขนาดมูมระหว่างจุดสังเกตและแกนอ้างอิง

อัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพ คือ การกระจัดเชิงมุมที่จุดสังเกตกวาดไปได้ต่อเวลาที่ใช้ในการหมุน. จุดสังเกตที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 2 จุด ได้แก่ จุดที่มีระยะไกลที่สุด และจุดที่มีระยะใกล้ที่สุด ซึ่งหาได้จากการวัดระยะจากจุดศูนย์กลางเซลล์ไปยังขอบเซลล์. ตัวอย่างผลการตรวจนับขนาดมูมของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ (Normal Red Blood Cells, nRBCs) ที่ทำการทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้า  $3 V_p$  ความถี่ 10 kHz แสดงดังรูปที่ 4.1. แกนแนวตั้งแสดงค่าการกระจัดเชิงมุมระหว่างเฟรมที่อยู่ติดกันในหน่วยเรเดียน (Radian, rad). แกนแนวนอนแสดงค่าลำดับเฟรมภาพที่บันทึกจากวิดีโอ. ขนาดมูมระหว่างจุดสังเกตที่มีระยะไกลที่สุดและแกนอ้างอิง ( $+x$ ) แสดงแทนด้วยสัญลักษณ์สี่เหลี่ยม ( $\square$ ) และขนาดมูมของจุดสังเกตที่มีระยะใกล้ที่สุด แสดงแทนด้วยสัญลักษณ์วงกลม ( $\circ$ ) โดยกำหนดให้ขนาดมูมของเฟรมแรกเท่ากับศูนย์. ขนาดมูมที่เกิดจากจุดสังเกตในแต่ละเฟรม สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2.44) ในหัวข้อ 2.6. จากกราฟพบว่า ขนาดมูมที่เกิดจากจุดสังเกตที่ใกล้ที่สุดของเฟรมภาพบางเฟรม มีค่าต่างจากเฟรมใกล้เคียงอย่างชัดเจน. ตัวอย่างผลการตรวจนับมูมของช่วงเฟรมที่ 12 ถึง 15 แสดงในรูปที่ 4.2. เฟรมที่ 13 และ 14 มีการตรวจนับจุดสังเกตที่มีระยะใกล้ที่สุดผิดพลาด ซึ่งส่งผลทำให้ขนาดมูมในรูปที่ 4.1 แตกต่างจากเฟรม 12 และ 15 อย่างชัดเจน. เฟรมที่มีการกระจัดเชิงมุมแตกต่างจากกับเฟรมก่อนหน้ามากเกินไป จะถูกละเลยและไม่นำมาคำนวณอัตราเร็วการหมุน. แม้ว่าในตัวอย่างนี้ ขนาดมูมที่ตรวจนับโดยใช้จุดที่มีระยะใกล้ที่สุดมีความผิดพลาดน้อยกว่าจุดที่มีระยะไกลที่สุด. แต่ในบางกรณีที่เซลล์มีรูปร่างแตกต่างกันออกไป จุดที่มีระยะใกล้ที่สุดให้ผลการตรวจนับขนาดมูมที่ดีกว่า. อัตราเร็วการหมุน ( $\bar{\omega}_p$ ) ถูกแสดงในหน่วย รอบ/วินาที (Revolutions per second, RPS). อัตราเร็วการหมุนที่ได้จากจุดที่มีระยะใกล้ที่สุดเท่ากับ 0.546 RPS และจุดที่ใกล้ที่สุดเท่ากับ 0.576 RPS. เซลล์ที่มีรูปร่างค่อนข้างกลมอาจเกิดการตรวจนับขนาดมูมที่ผิดพลาดได้ง่าย ซึ่งเป็นผลมาจากแสงและเงาที่เปลี่ยนแปลงขณะเซลล์กำลังหมุน ทำให้รูปร่างเซลล์ในวิดีโอเกิดการเปลี่ยนแปลงและทำให้ตำแหน่งของจุดสังเกตเปลี่ยนตำแหน่งไป.



รูปที่ 4.1 ผลการตรวจจับขนาดมุมของเซลล์ปกติที่ทำการทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้า  $3 V_p$  ความถี่ 10 kHz.



รูปที่ 4.2 ตัวอย่างผลการตรวจจับขนาดมุมที่ผิดพลาด.

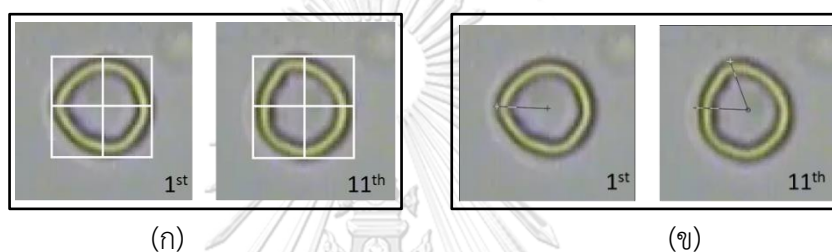
#### 4.2 การตรวจสอบความถูกต้องของอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพ

ความถูกต้องของอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพ ถูกตรวจสอบด้วยการเปรียบเทียบกับอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากการสังเกตของผู้วิจัย (Visual Analysis). โดยผู้วิจัย วัดการกระจัดเชิงมุมที่จุดสังเกต (บนขอบเซลล์) กวาดไปในช่วงเวลาหนึ่ง. ผู้วิจัยได้ยกตัวอย่างการวัดการกระจัดเชิงมุมของเซลล์ปกติที่ทำการทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้า  $3 V_p$  ความถี่ 10 kHz. การวัดขนาดมุนั้น กระทำบนซอฟต์แวร์ Adobe Photoshop 2020 ซึ่งทำการวัดที่เฟรม 1, 11, 21, 31, 41 และ 50.

ขั้นตอนการวัดการกระจัดเชิงมุมที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างเฟรมภาพ มีดังนี้

- เปิดไฟล์ภาพเซลล์ 2 ภาพ ที่ต้องการวัดให้อยู่ในหน้าต่างการทำงานเดียวกัน
- สร้างกรอบสี่เหลี่ยมที่มีพื้นที่ครอบคลุมรูปร่างเซลล์ โดยมีเส้นตรง ณ จุดกึ่งกลางความยาวแต่ละด้านเพื่อสร้างจุดศูนย์กลางของกรอบสี่เหลี่ยมนี้

- เลื่อนตำแหน่งภาพ (ทั้งสองภาพ) ให้รูปร่างของเซลล์อยู่ในกรอบสี่เหลี่ยม แสดงดังรูปที่ 4.3 (ก)
- ปิดการมองเห็นภาพที่สองไว้ แล้วใช้เครื่องมือไม้บรรทัด (Ruler Tool) วัดระยะจากจุดศูนย์กลางเซลล์ไปยังจุดสังเกตบนขอบเซลล์ของภาพแรก
- เปิดการมองเห็นภาพที่สอง, กด Alt ค้างไว้แล้วคลิกที่จุดศูนย์กลางเซลล์เพื่อทำให้เกิดเป็นจุดยอดมุม. จากนั้น คลิกที่จุดสังเกตบนขอบเซลล์ของภาพที่สอง ดังรูปที่ 4.3 (ข)
- ขนาดมุมที่เกิดจากสองตำแหน่งนี้จะปรากฏบนแถบสถานะการวัด, ตัวอย่างมีขนาดมุม 1.18 rad หรือ  $67.5^\circ$ .

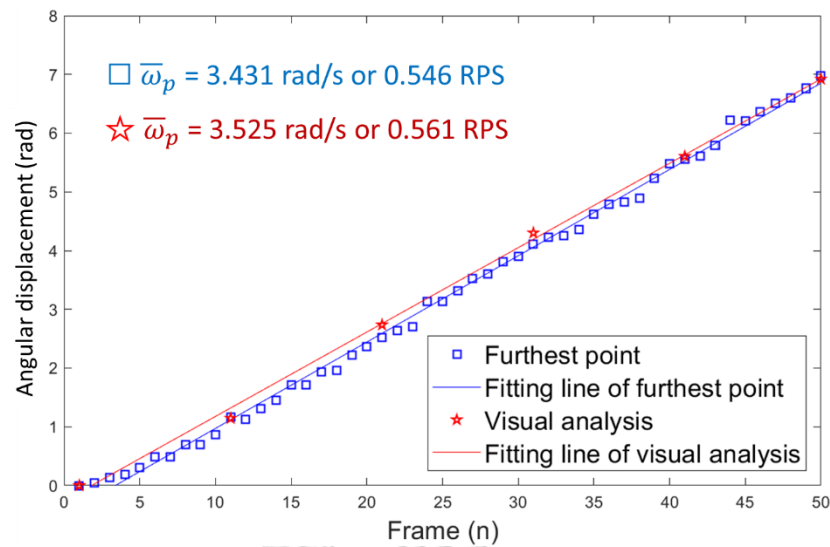


รูปที่ 4.3 ตัวอย่างการวัดการกระจัดเชิงมุมด้วยวิธีการสังเกตโดยผู้วิจัย.

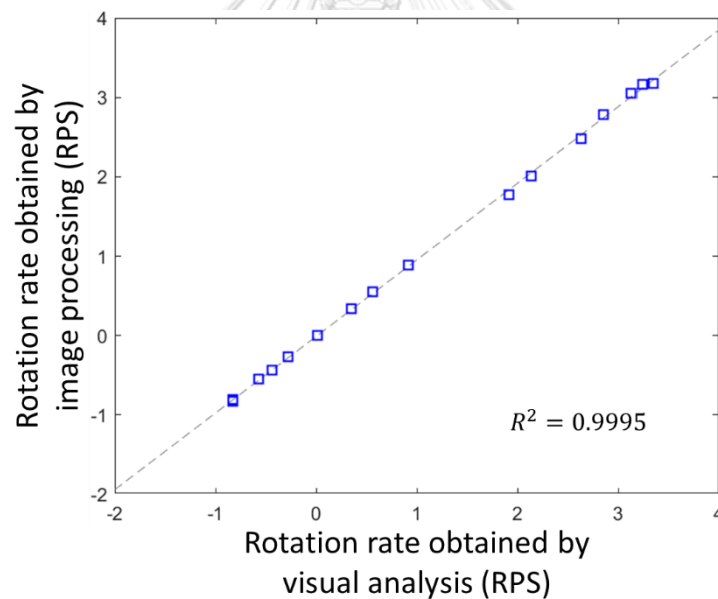
(ก) การวางตำแหน่งเซลล์ให้อยู่ภายในกรอบสี่เหลี่ยม.

(ข) การกำหนดจุดสังเกตเพื่อวัดการกระจัดเชิงมุม.

ตัวอย่างผลการวัดการกระจัดเชิงมุมตามลำดับเฟรมภาพที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพและวิธีการสังเกตโดยผู้วิจัย แสดงดังรูปที่ 4.4. การกระจัดเชิงมุมที่ได้จากการวัดโดยผู้วิจัย แสดงแทนด้วยสัญลักษณ์รูปดาว ( $\star$ ) อัตราเร็วการหมุนเท่ากับ 0.561 RPS. การกระจัดเชิงมุมที่ได้จากจุดสังเกตที่มีระยะที่ไกลที่สุด แสดงแทนด้วยสัญลักษณ์สี่เหลี่ยม ( $\square$ ) อัตราเร็วการหมุนเท่ากับ 0.573 RPS. เนื่องจากอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากทั้งสองวิธีมีค่าที่ใกล้เคียงกัน ผู้วิจัยจึงสรุปได้ว่าวิธีการประมวลผลภาพมีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการคำนวณอัตราเร็วการหมุน. นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้วัดอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ที่ใช้อย่างนี้ ณ ความถี่ทำการทดลอง ได้แก่ 0.01, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20, 0.40, 0.60, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6, 3.0, 4.0 และ 5.0 MHz. รูปที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพและวิธีการสังเกตโดยผู้วิจัย. ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9995 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน.



รูปที่ 4.4 การกระจัดเชิงมุมต่อลำดับเฟรมภาพของเซลล์ปกติที่ทำการทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้า 3 V<sub>p</sub> ความถี่ 10 kHz ที่ทำได้จากวิธีการประมวลผลภาพและการสังเกตโดยผู้วิจัย.



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วการหมุนที่ได้จากวิธีการประมวลผลภาพและวิธีการสังเกตโดยผู้วิจัย.

#### 4.3 ผลของแรงดันไฟฟ้าที่มีต่ออัตราเร็วการหมุนของเซลล์

แรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลองถูกลดขนาดลง เพื่อให้เซลล์มีอัตราเร็วการหมุนลดลง. หากเซลล์มีอัตราเร็วการหมุนที่มากเกินไป จะทำให้เฟรมภาพที่บันทึกจากวิดีโอแสดงรูปร่างเซลล์ไม่ชัดเจน และทำให้การตรวจจับมุมเกิดความผิดพลาดได้. การทดลองอิเล็กโทรโพรเทชันของเซลล์ปกติถูกทำที่

แรงดันไฟฟ้าทั้งหมด 3 ค่า ได้แก่ 1.5 V<sub>p</sub>, 2 และ 3 V<sub>p</sub>. เซลล์ติดเชื้อ (Infected Red Blood Cells, iRBCs) ทำการทดลองที่แรงดันทั้งหมด 2 ค่า ได้แก่ 2 และ 3 V<sub>p</sub>.

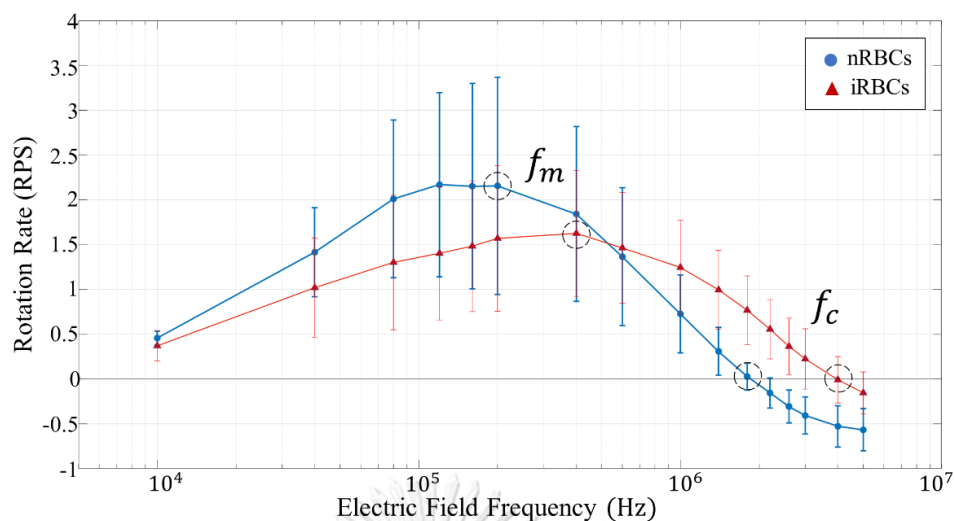
ค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) อัตราเร็วการหมุนสูงสุด  $\bar{\omega}_{max}$  ( $\bar{\omega}_p$  ณ ความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$ ) ของเซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื้อที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ณ แรงดันไฟฟ้าที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4.1. ค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการหมุนสูงสุดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อขนาดแรงดันไฟฟ้าเพิ่มขึ้น. ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วการหมุนสูงสุดและขนาดแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลอง สอดคล้องกับสมการที่ (2.27) แรงบิดเฉลี่ยที่กระทำต่อเซลล์แปรผันกับกำลังสองของขนาดสนามไฟฟ้า. กล่าวคือ อัตราเร็วที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากขนาดสนามไฟฟ้ากำลังสอง  $E_0^2$ . เซลล์ติดเชื้อมีค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการหมุนน้อยกว่าเซลล์ปกติ เมื่ออยู่ภายใต้สนามไฟฟ้าที่เกิดจากแรงดันไฟฟ้าเท่ากัน.

**ตารางที่ 4.1** อัตราเร็วการหมุนสูงสุดของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้าที่แตกต่างกัน.

ชนิดเซลล์	แรงดันไฟฟ้า (V <sub>p</sub> )	จำนวนเซลล์	$\bar{\omega}_{max}$ (RPS)
nRBCs	1.5	31	0.88 ± 0.39
	2.0	11	1.21 ± 0.49
	3.0	8	2.27 ± 1.15
iRBCs	2.0	71	0.83 ± 0.47
	3.0	29	1.76 ± 0.83

#### 4.4 ผลการศึกษาขั้นต้นอัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดที่แรงดันไฟฟ้า 3 V<sub>p</sub>

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชันด้วยแรงดัน 3 V<sub>p</sub> ความถี่ 16 ค่า ตั้งแต่ 10 kHz ถึง 5 MHz. รูปที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ปกติ (จำนวน 8 เซลล์) และเซลล์ติดเชื้อ (จำนวน 29 เซลล์) ต่อความถี่สนามไฟฟ้า. แถบข้อผิดพลาด (Error Bars) แสดง ณ จุดความถี่ที่ทำการทดลอง. สนามไฟฟ้าแบบหมุนที่ถูกสร้างขึ้นในการทดลองนี้ มีทิศทางการหมุนตามเข็มนาฬิกา. อัตราเร็วมีค่าเป็นบวก หากเซลล์หมุนในทิศทางเดียวกันกับสนามไฟฟ้า (nROT) และค่าเป็นลบ หากเซลล์หมุนในทิศทางตรงกันข้าม (pROT). เซลล์แต่ละเซลล์มีอัตราเร็วการหมุนสูงสุด  $\bar{\omega}_{max}$  ณ ความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  และมีอัตราเร็วการหมุนเป็นศูนย์ ณ ความถี่ตัดข้าม  $f_c$ . จากรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.2 เซลล์ติดเชื้อมีค่าเฉลี่ย  $\bar{\omega}_{max}$  น้อยกว่าเซลล์ปกติ. ค่าความถี่ทั้งสองค่านี้ ( $f_m$ ,  $f_c$ ) จะถูกนำไปใช้คำนวณหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์ต่อไป.



รูปที่ 4.6 อัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติต่อความถี่สนามไฟฟ้าที่ใช้แรงดันไฟฟ้า  $3 V_p$ .

ตารางที่ 4.2 ความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุดและความถี่ตัดข้ามของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้จากการทดลองขั้นต้นโดยใช้แรงดันไฟฟ้า  $3 V_p$ .

	เซลล์ปกติ (nRBCs, 8 เซลล์)	เซลล์ติดเชื่อมมาลาเรีย (iRBCs, 29 เซลล์)
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
$\bar{\omega}_{max}$ (RPS)	$2.27 \pm 1.15$	$1.76 \pm 0.83$
$f_m$ (kHz)	$165 \pm 46.64$	$379.31 \pm 265.87$
$f_c$ (MHz)	$1.91 \pm 0.30$	$4.09 \pm 0.92$

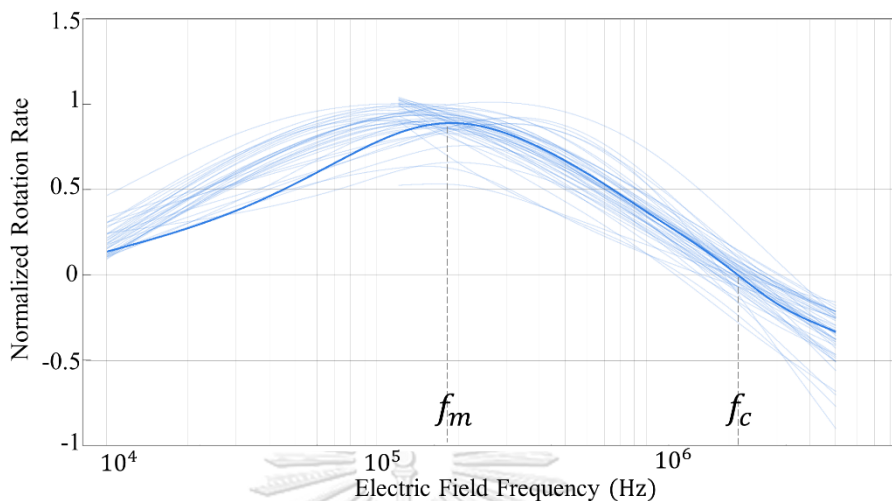
#### 4.5 ค่าความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุดและความถี่ตัดข้ามของเซลล์เม็ดเลือดแดง

ผู้วิจัยได้ทำการลดแรงดันไฟฟ้าสำหรับการทดลองเซลล์ปกติจาก  $3 V_p$  เป็น  $2 V_p$  พบว่าเซลล์ยังมีการหมุนที่เร็ว. ผู้วิจัยจึงลดขนาดแรงดันไฟฟ้าลงมาเป็น  $1.5 V_p$ . แรงดันไฟฟ้าสำหรับการทดลองเซลล์ติดเชื้อถูกลดลงจาก  $3 V_p$  เป็น  $2 V_p$  ซึ่งทำให้เซลล์หมุนด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสม เฟรมภาพที่บันทึกจากวิดีโอแสดงรูปร่างเซลล์ได้ชัดเจน. แรงดันไฟฟ้า  $2 V_p$  จึงถูกใช้สำหรับการทดลองเซลล์ติดเชื้อเพื่อเก็บผลการทดลองจนครบ 100 เซลล์.

##### 1) เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ

เนื่องจากสเปกตรัมอัตราเร็วการหมุนได้จากการทดลองหลายเซลล์ และเซลล์ทั้งหมดทดลองด้วยแรงดันไฟฟ้าที่แตกต่างกัน. อัตราเร็วการหมุนของแต่ละเซลล์จึงถูกปรับบรรทัดฐานข้อมูล (Normalization) โดยใช้ค่าอัตราการหมุนสูงสุดของเซลล์นั้นๆ. รูปที่ 4.7 แสดงอัตราเร็วการหมุนที่ปรับบรรทัดฐานกับความถี่สนามไฟฟ้าด้วยเส้นกราฟสีน้ำเงินโปร่งแสง. เส้นกราฟสีน้ำเงินเข้มบนกราฟ

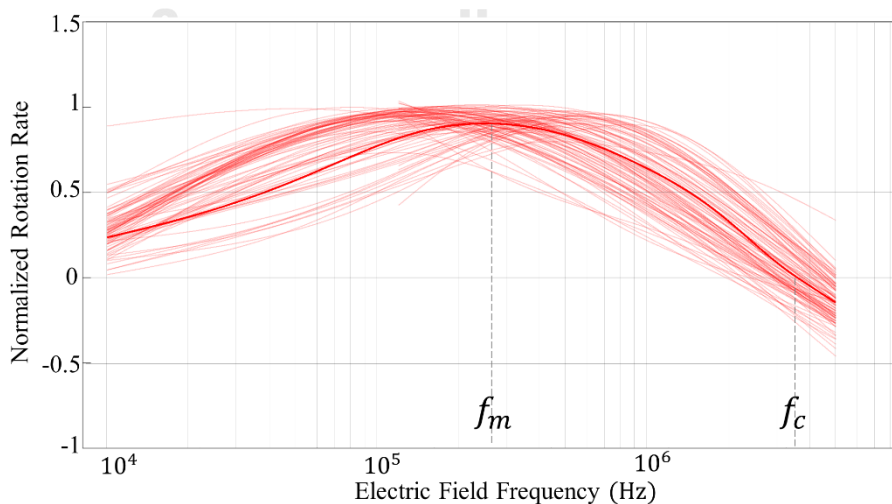
คือค่าเฉลี่ยที่ได้จากเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจำนวน 50 เซลล์. ค่าเฉลี่ยความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  เท่ากับ  $180.8 \pm 65.4$  kHz และความถี่ตัดข้าม  $f_c$  เท่ากับ  $2.22 \pm 0.34$  MHz.



รูปที่ 4.7 สเปกตรัมอัตราเร็วการหมุน (ที่ถูกปรับบรรทัดฐาน) ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติต่อความถี่สนามไฟฟ้า.

## 2) เซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื้อมาลาเรีย

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วการหมุนที่ถูกปรับบรรทัดฐานของเซลล์ติดเชื้อและความถี่สนามไฟฟ้า แสดงดังรูปที่ 4.8. เส้นกราฟสีแดงโปร่งแสงคืออัตราเร็วการหมุนของเซลล์แต่ละเซลล์. เส้นกราฟสีแดงเข้มคือค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการหมุนของเซลล์จำนวน 100 เซลล์. ค่าเฉลี่ยความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  เท่ากับ  $290.80 \pm 209.83$  kHz และความถี่ตัดข้าม  $f_c$  เท่ากับ  $3.61 \pm 0.93$  MHz.

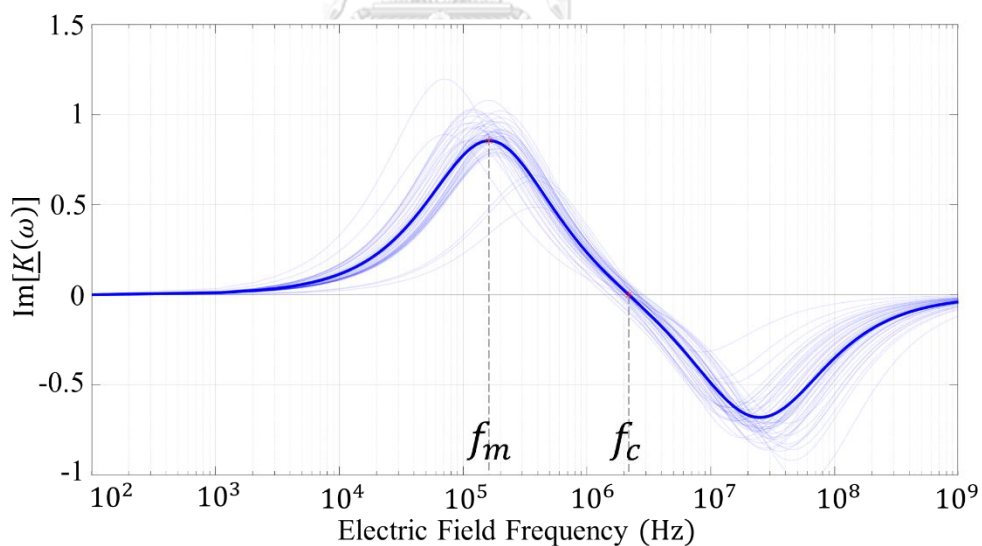


รูปที่ 4.8 สเปกตรัมอัตราเร็วการหมุน (ที่ถูกปรับบรรทัดฐาน) ของเซลล์ติดเชื้อมาลาเรียต่อความถี่สนามไฟฟ้า.



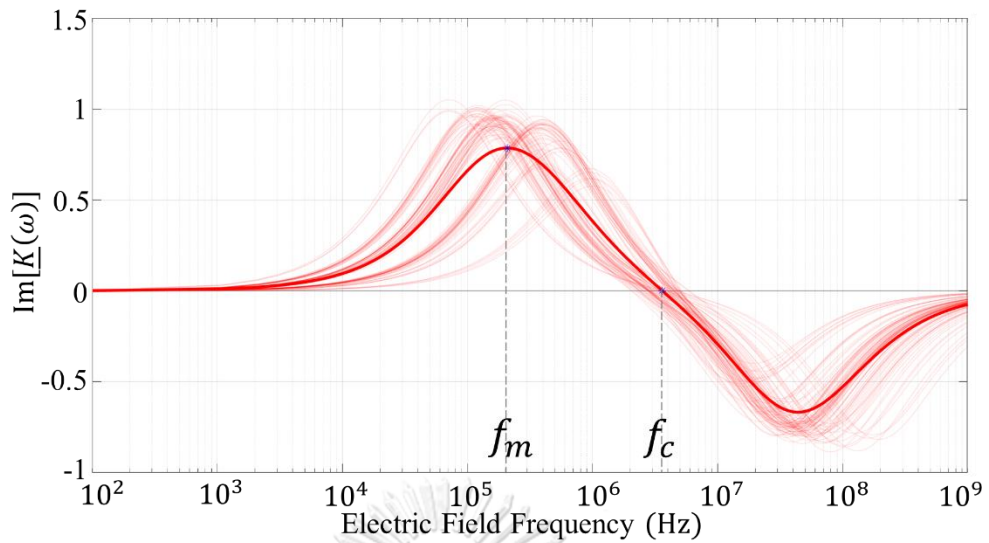
#### 4.6 ค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดง

ค่าความถี่  $f_m$ ,  $f_c$  และรัศมี  $R$  ที่ได้จากการทดลองของแต่ละเซลล์ถูกป้อนให้กับโปรแกรมหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าของเซลล์. รายละเอียดขั้นตอนการหาค่าพารามิเตอร์ แสดงในหัวข้อ 2.7. โปรแกรมจะทำการหาค่าความเก็บประจุจำเพาะเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  และสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$  ที่ทำให้สเปกตรัม ROT มีค่าความถี่  $f_m$  และ  $f_c$  ตรงกับสเปกตรัมอัตราเร็วการหมุน. สเปกตรัม ROT ถูกคำนวณในช่วงความถี่ 100 Hz ถึง 1 GHz เพื่อแสดงผลการตอบสนองของเซลล์ต่อความถี่สนามไฟฟ้า. รูปที่ 4.9 และ 4.10 แสดงสเปกตรัม ROT ของเซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื้อ ตามลำดับ. เส้นกราฟโปร่งแสงสีน้ำเงินหรือสีแดงแสดงค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  ของแต่ละเซลล์ โดยมีจำนวนทั้งหมด 50 เซลล์สำหรับเซลล์ปกติ และ 100 เซลล์สำหรับเซลล์ติดเชื้อ. เส้นกราฟสีเข้มแสดงค่าเฉลี่ยของเส้นกราฟโปร่งแสงทั้งหมด. สเปกตรัม ROT ของเซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื้อแสดงให้เห็นว่า เซลล์ติดเชื้อมีการกระจายของข้อมูลที่มากกว่าเซลล์ปกติ. ในหัวข้อ 2.7.2 ตัวอย่างสเปกตรัม ROT ที่เป็นผลจากการปรับค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าแสดงให้เห็นว่า ค่าความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  ขึ้นกับค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$ . ดังนั้น ค่า  $C_m$  ที่ได้จากโปรแกรมนั้น มีการกระจายของข้อมูลอย่างมากด้วยเช่นกัน.



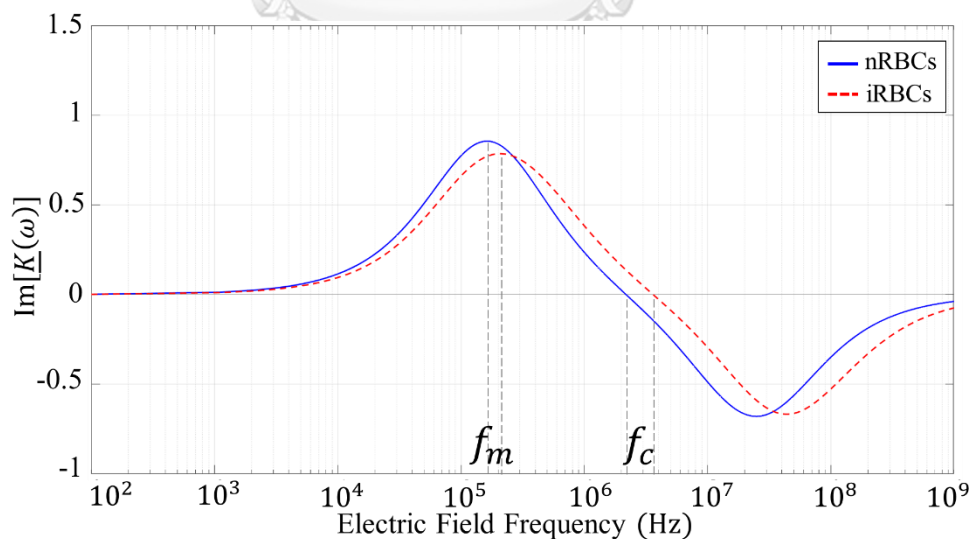
รูปที่ 4.9 สเปกตรัม ROT ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจำนวน 50 เซลล์.





รูปที่ 4.10 สเปกตรัม ROT ของเซลล์ติดเชื่อมมาลาเรียจำนวน 100 เซลล์.

รูปที่ 4.11 เปรียบเทียบเส้นกราฟค่าเฉลี่ย  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  ของเซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื้อ. ความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  ของเซลล์คือความถี่ ณ จุดที่ค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  มีค่าสูงสุด. ในช่วงความถี่  $10^5$  ถึง  $10^6$  Hz เซลล์ติดเชื้อ (เส้นประ) มีค่า  $\text{Im}[\underline{K}(\omega)]$  สูงสุดน้อยกว่าเซลล์ปกติ. ความถี่ตัดข้าม  $f_c$  ของเซลล์ติดเชื้อสูงกว่าเซลล์ปกติอย่างชัดเจน ซึ่งบ่งชี้ว่าค่าสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$  ของติดเชื้อมีค่ามากกว่าเซลล์ปกติ.



รูปที่ 4.11 สเปกตรัม ROT ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติเปรียบเทียบกับเซลล์ติดเชื่อมมาลาเรีย.

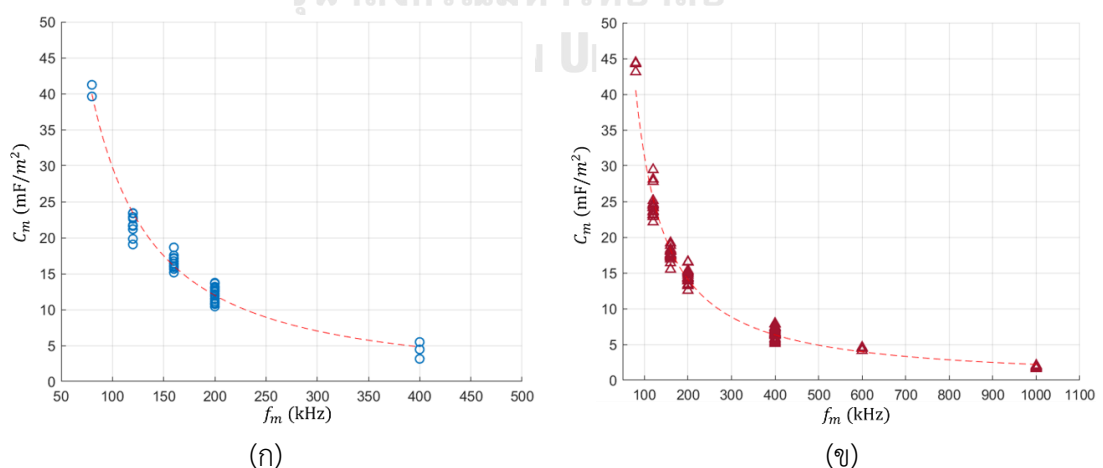
ตารางที่ 4.3 สรุปค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่ามัธยฐาน (Median) ของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของเซลล์ที่คำนวณได้. เซลล์ติดเชื่อมมาลาเรียมีค่าสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$  มากกว่าเซลล์ปกติ และมีค่าความเก็บประจุไฟฟ้า  $C_m$  น้อยกว่าเซลล์ปกติ.

ตารางที่ 4.3 พารามิเตอร์ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติและเซลล์ติดเชื่อมมาลาเรีย.

	เซลล์ปกติ (nRBCs, 50 เซลล์)		เซลล์ติดเชื่อมมาลาเรีย (iRBCs, 100 เซลล์)	
	Mean $\pm$ SD	Median	Mean $\pm$ SD	Median
$R$ ( $\mu\text{m}$ )	$4.63 \pm 0.48$	4.66	$4.13 \pm 0.32$	4.17
$f_m$ (kHz)	$180.80 \pm 65.60$	180.00	$290.80 \pm 209.83$	200.00
$f_c$ (MHz)	$2.22 \pm 0.34$	2.21	$3.61 \pm 0.93$	3.40
$\sigma_c$ (S/m)	$0.49 \pm 0.25$	0.45	$0.93 \pm 0.64$	0.79
$C_m$ (mF/m <sup>2</sup> )	$16.00 \pm 6.76$	14.43	$14.36 \pm 8.83$	14.38

#### 4.6.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุดและความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์

ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  และค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  ที่คำนวณได้ของแต่ละเซลล์ แสดงดังรูปที่ 4.12. เส้นแนวโน้มของข้อมูลแสดงด้วยเส้นประ. รูปที่ 4.12 (ก) และ (ข) แสดงว่า เมื่อค่า  $C_m$  ลดลง ให้เซลล์มีค่าความถี่  $f_m$  เพิ่มขึ้นในลักษณะฟังก์ชันเลขชี้กำลัง (Exponential). เซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื่อมมีแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างสองตัวแปรนี้ในลักษณะเดียวกัน.



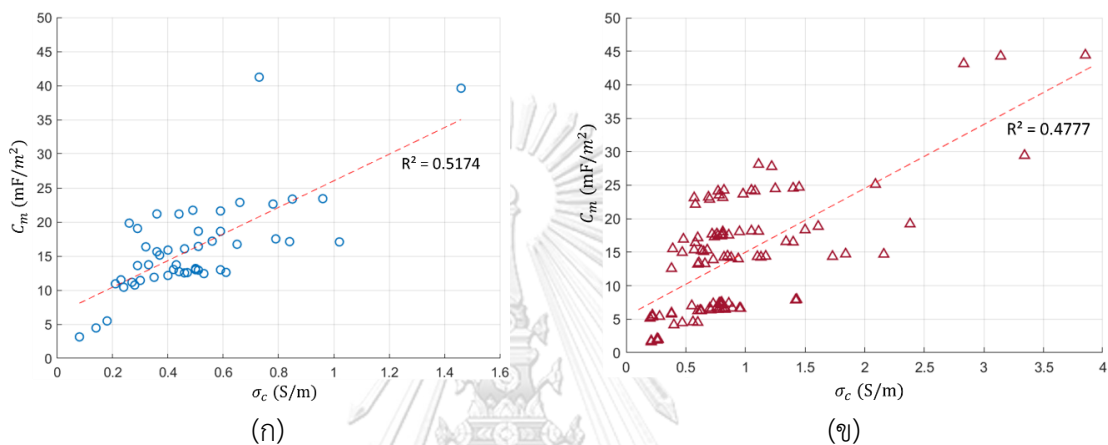
รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  และความเก็บประจุไฟฟ้า  $C_m$ .

(ก) เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ.

(ข) เซลล์ติดเชื่อมมาลาเรีย.

#### 4.6.2 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์และความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_c$  และค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  แสดงดังรูปที่ 4.13. เส้นแนวโน้มแทนด้วยเส้นประในลักษณะเชิงเส้น. เซลล์ปกติและเซลล์ติดเชื้อมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.5174 และ 0.4777 ตามลำดับ. แม้ว่าเซลล์ปกติมีค่า  $R^2$  มากกว่าเซลล์ติดเชื้อ แต่ระดับของค่า  $R^2$  แสดงให้เห็นว่าความผันแปรของ  $C_m$  ไม่ขึ้นกับ  $\sigma_c$ .



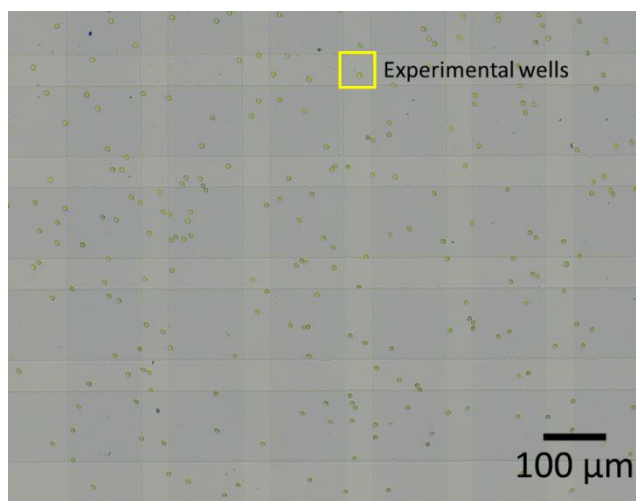
รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพนำไฟฟ้า  $\sigma_c$  และความเก็บประจุไฟฟ้า  $C_m$ .

(ก) เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ.

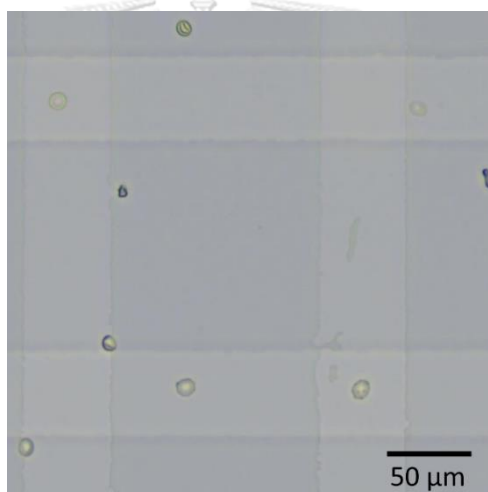
(ข) เซลล์ติดเชื้อมาลาเรีย.

#### 4.7 ผลการทดลองอิเล็กโทรโพรเทชันด้วยอิเล็กโทรดขั้วสลับ

การทดลองด้วยอิเล็กโทรดขั้วสลับศึกษาความเป็นไปได้ที่จะเพิ่มปริมาณงานของการเก็บข้อมูลการทดลอง ทำการทดลองกับเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ. อย่างไรก็ตาม หลังจากประกอบกระจกอิเล็กโทรดแผ่นบนเข้ากับฐานรองรับแล้ว เซลล์ส่วนมากตกอยู่ตามแนวเส้นอิเล็กโทรดขั้วสลับที่ไม่ใช่บริเวณการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.14. ผู้วิจัยจึงได้ป้อนสัญญาณแรงดันไฟฟ้าเพื่อสร้างแรง DEP สำหรับผลักเซลล์ให้เคลื่อนที่มาอยู่ในบริเวณช่องสี่เหลี่ยมสำหรับการทดลอง. แรงดันไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลองมีขนาด  $1.5 V_p$ . หากแรงดันไฟฟ้าน้อยกว่า  $1.5 V_p$  ผู้วิจัยจะไม่สามารถสังเกตเห็นการหมุนของเซลล์ได้ และถ้ามากกว่า  $1.5 V_p$  แรง DEP จะมีค่ามากพอจนทำให้เซลล์ถูกดูดเข้าขอบอิเล็กโทรดในช่วงความถี่สูง (ประมาณ 2 MHz ขึ้นไป). ความถี่ที่ใช้ในการทดลองอยู่ในช่วง 120 kHz ถึง 5 MHz. สัญญาณฐานที่ใช้คั่นระหว่างความถี่ทดลองมีขนาด  $0.2 V_p$  ความถี่ 100 kHz. วิดีโอถูกบันทึกผ่านกล้องจุลทรรศน์เลนส์กำลังขยาย 20x โดยเลือกพื้นที่บันทึกขนาด 800x800 pixels แสดงดังรูปที่ 4.15.



รูปที่ 4.14 ตำแหน่งของเซลล์หลังจากประกอบกระจกอิเล็กทรอนิกส์ทรอดแผ่นด้านบนเข้ากับฐานรองรับ.



รูปที่ 4.15 พื้นที่บนที่ผลการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชันโดยใช้อิเล็กทรอนิกส์ตัวสลั.

จากการทดลองผู้วิจัยพบว่า ชิ้นงานสำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรเทชันโดยใช้อิเล็กทรอนิกส์ตัวสลั สามารถเก็บผลการทดลองได้ครั้งละประมาณ 10 เซลล์ต่อการหยดตัวอย่างเซลล์ (8  $\mu\text{L}$ ) 1 ครั้ง. ข้อควรระวังสำหรับการประกอบชิ้นงานคือ การประกอบกระจกอิเล็กทรอนิกส์ทรอดแผ่นด้านบนกับแผ่นกระจกอิเล็กทรอนิกส์ทรอดด้านล่าง กระจกต้องปิดทับในลักษณะที่แนบสนิทและไม่มีฟองอากาศระหว่างกระจก. ฟองอากาศระหว่างกระจกอิเล็กทรอนิกส์ทรอดทั้งสองแผ่น จะทำให้ตัวอย่างเซลล์เคลื่อนที่. ส่งผลให้ไม่สามารถทำการทดลองได้และต้องถอดอุปกรณ์เพื่อประกอบใหม่. ดังนั้น แม้ว่าการทดลองด้วยอิเล็กทรอนิกส์ตัวสลั จะสามารถเก็บผลการทดลองได้มากกว่าต่อการหยดตัวอย่างเซลล์ 1 ครั้ง แต่การประกอบชิ้นงานทำได้ยาก ส่งผลให้ใช้เวลาในการทดลองนานกว่าการใช้อิเล็กทรอนิกส์ 4 ขั้ว. การทดลองด้วยอิเล็กทรอนิกส์ 4 ขั้ว สามารถเก็บผลการทดลองได้ครั้งละประมาณ 3 เซลล์ต่อการหยดตัวอย่างเซลล์ (10  $\mu\text{L}$ ) 1 ครั้ง.

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรโรเทชันกับเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติโดยใช้อิเล็กทรอนิกส์หัวสลับ. วิดีโอผลการทดลองถูกบันทึกด้วยกล้อง CCD ที่ต่ออยู่กับกล้องจุลทรรศน์เลนส์กำลังขยาย 20x. ภาพวิดีโอมีขนาด 800x800 pixels ซึ่งสามารถบันทึกผลการทดลองได้ครอบคลุมพื้นที่การทดลอง 4 ช่อง. ผู้วิจัยได้หาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์โดยใช้วิธีการประมวลผลภาพ ทำให้ได้อัตราเร็วการหมุนสูงสุดและพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง แสดงดังตารางที่ 4.4. เมื่อเปรียบเทียบตารางที่ 4.4 กับตารางที่ 4.3 ซึ่งได้จากการใช้อิเล็กทรอนิกส์ 4 ขั้ว ความถี่  $f_m$  และ  $f_c$  ที่ได้จากการทดลองด้วยอิเล็กทรอนิกส์หัวสลับมีค่าสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการใช้อิเล็กทรอนิกส์ 4 ขั้ว. ค่าเฉลี่ยของ  $f_m$  และ  $f_c$  ที่ได้ แตกต่างจากค่าของ nRBCs ในตารางที่ 4.3 ประมาณ 9.6% และ 22.0% ตามลำดับ. ทั้งนี้ ผลการทดลองในตารางที่ 4.4 ได้จากจำนวนเซลล์ 7 เซลล์เท่านั้น.

**ตารางที่ 4.4** ผลการทดลองอิเล็กทรอนิกส์โรโรเทชันโดยใช้อิเล็กทรอนิกส์หัวสลับที่ได้จากเซลล์ปกติ (7 เซลล์).

	Mean $\pm$ SD	Median	ความแตกต่างจากตารางที่ 4.3 (%)
$f_m$ (kHz)	200.00	200.00	9.6
$f_c$ (MHz)	1.82 $\pm$ 0.24	1.75	22.0

## บทที่ 5

### สรุป

เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ถูกนำมาใช้หาลักษณะทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ และเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื่อมมาลาเรีย. วิธีการประมวลผลภาพถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการคำนวณอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ เพื่อลดเวลาการประมวลผลข้อมูล และทำให้ผลที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำ. นอกจากนี้ อิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ ITO ถูกนำมาใช้สร้างเป็นชิ้นงานสำหรับการทดลองอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ เพื่อให้เกิดปริมาณงานที่สูงขึ้น.

สำหรับการประมวลผลภาพ การตรวจจับขนาดมุมระหว่างจุดสังเกตและแกนอ้างอิงยังมีความผิดพลาดในบางเฟรมภาพ. การประมวลผลภาพเพื่อหาอัตราเร็วการหมุนของเซลล์ที่ใช้มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการแสดงอัตราเร็วการหมุน เนื่องจากมีความสอดคล้องกับอัตราเร็วการหมุนที่ได้การสังเกตโดยผู้วิจัย. วิธีการหาอัตราเร็วการหมุนที่พัฒนาขึ้น ช่วยลดเวลาการประมวลผล เพิ่มความแม่นยำของอัตราเร็วการหมุนที่หาได้ และสามารถนำไปใช้กับเซลล์ชนิดอื่นได้.

ผลการศึกษาแสดงว่า อัตราเร็วการหมุนของเซลล์เพิ่มขึ้นตามขนาดของแรงดันไฟฟ้า. ค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการหมุนของเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื่อมมาลาเรีย มีค่าน้อยกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ. สเปกตรัมการหมุนทำให้ทราบว่า ความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  และความถี่ตัดข้าม  $f_c$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื่อมมาลาเรียสูงกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ. โปรแกรมหาพารามิเตอร์ที่เขียนขึ้น สามารถหาค่าพารามิเตอร์ไฟฟ้าที่ทำให้ค่า  $\text{Im}[K(\omega)]$  มีค่าความถี่ทั้งสอง  $f_m$  และ  $f_c$  ตรงกับผลการทดลองได้ โดยเซลล์ถูกพิจารณาให้มีรูปร่างเป็นทรงกลมแบน และใช้  $f_m$   $f_c$  และ  $R$  ของแต่ละเซลล์เป็นข้อมูลรับเข้าของโปรแกรม.

จากผลการคำนวณพารามิเตอร์ของเซลล์ เซลล์เม็ดเลือดแดงเพาะติดเชื่อมมาลาเรียมีค่าสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$  มากกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ และมีค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  น้อยกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ. ทั้งนี้ หากความถี่ที่เกิดการหมุนสูงสุด  $f_m$  สูงขึ้น  $C_m$  จะลดลงในลักษณะฟังก์ชันเลขชี้กำลังในเซลล์ทั้งสองชนิด. ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพนำไฟฟ้าภายในเซลล์  $\sigma_c$  และค่าความเก็บประจุไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์  $C_m$  ของเซลล์ทั้งสองชนิด แสดงถึงความไม่ผันแปรตามกันของตัวแปร. ชิ้นงานอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์โดยใช้อิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ที่พัฒนาขึ้น สามารถสร้างสนามไฟฟ้าแบบหมุนเพื่อทดลองอิเล็กทรอนิกส์ทรานซิสเตอร์ครั้งละหลายเซลล์ได้. ดังนั้น เราสามารถเพิ่มปริมาณงานการทดลองได้ หากสามารถปรับปรุงขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์เพื่อทำการทดลองให้มีความเหมาะสมมากขึ้น.

## บรรณานุกรม

1. Gascoyne, P., et al., *Dielectrophoretic detection of changes in erythrocyte membranes following malarial infection*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes, 1997. **1323**(2): p. 240-252.
2. Mansor, M.A. and M.R. Ahmad, *Single cell electrical characterization techniques*. International journal of molecular sciences, 2015. **16**(6): p. 12686-12712.
3. Huang, Y., et al., *Differences in the AC electrodynamics of viable and non-viable yeast cells determined through combined dielectrophoresis and electrorotation studies*. Physics in Medicine & Biology, 1992. **37**(7): p. 1499.
4. Becker, F., et al., *The removal of human leukaemia cells from blood using interdigitated microelectrodes*. Journal of Physics D: Applied Physics, 1994. **27**(12): p. 2659.
5. Lannin, T., et al., *Automated electrorotation shows electrokinetic separation of pancreatic cancer cells is robust to acquired chemotherapy resistance, serum starvation, and EMT*. Biomicrofluidics, 2016. **10**(6): p. 064109.
6. Arnold, W. and U. Zimmermann, *Electro-rotation: development of a technique for dielectric measurements on individual cells and particles*. Journal of Electrostatics, 1988. **21**(2-3): p. 151-191.
7. Huang, C., et al., *Membrane dielectric responses of bufalin-induced apoptosis in HL-60 cells detected by an electrorotation chip*. Biotechnology letters, 2007. **29**(9): p. 1307-1313.
8. Li, H., D. Chen, and Q. Yang. *Image Processing Technique for Characteristic Test of Cell Based on Electrorotation Chip*. in *2008 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*. 2008. IEEE.
9. Yang, Q. and Q. Wang. *Tissue Cell Boundaries Detection based on Curvelet-based Snake Model in Electrorotation Bio-chip Control System*. in *2008 International Conference on BioMedical Engineering and Informatics*. 2008. IEEE.
10. Jones, T., *Electromechanics of Particles* Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1995.
11. Huang, L., P. Zhao, and W. Wang, *3D cell electrorotation and imaging for*

- measuring multiple cellular biophysical properties*. Lab on a Chip, 2018. **18**(16): p. 2359-2368.
12. Horio, K., et al. *Consideration of Relationship between Shape and Angular Velocity of Particles under Electrorotation*. in *2018 World Automation Congress (WAC)*. 2018. IEEE.
  13. Suzuki, M., et al., *Dielectrophoretic micropatterning with microparticle monolayers covalently linked to glass surfaces*. Langmuir, 2004. **20**(25): p. 11005-11011.
  14. Suzuki, M., et al., *Negative dielectrophoretic patterning with colloidal particles and encapsulation into a hydrogel*. Langmuir, 2007. **23**(7): p. 4088-4094.
  15. Lee, H.J., et al., *Rapid fabrication of nanoparticles array on polycarbonate membrane based on positive dielectrophoresis*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008. **131**(2): p. 424-431.
  16. Suzuki, M., et al., *Negative dielectrophoretic patterning with different cell types*. Biosensors and bioelectronics, 2008. **24**(4): p. 1043-1047.
  17. Lee, H.J., et al., *Simple and rapid preparation of vertically aligned gold nanoparticle arrays and fused nanorods in pores of alumina membrane based on positive dielectrophoresis*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2009. **136**(2): p. 320-325.
  18. Yasukawa, T., et al., *Control of the microparticle position in the channel based on dielectrophoresis*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2009. **142**(1): p. 400-403.
  19. Suzuki, M., et al., *Development of a simultaneous electrorotation device with microwells for monitoring the rotation rates of multiple single cells upon chemical stimulation*. Lab on a Chip, 2023.
  20. Panklang, N., *Application of dielectrophoretic force in microfluidic systems to manipulation of blood cells*, in *Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering 2020*, Chulalongkorn University. p. 48.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ภาคผนวก ก การสร้างอิเล็กทรอนิกส์ขั้ว

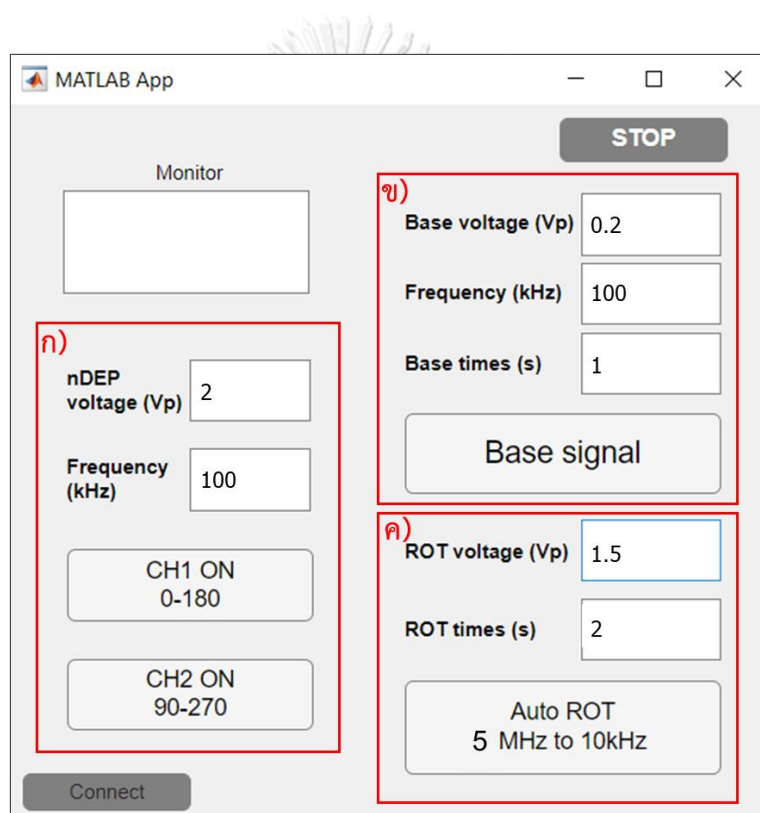
แม่พิมพ์สำหรับสร้างอิเล็กทรอนิกส์ขั้วถูกสร้างด้วยวิธีลิโธอกราฟีบนกระจกสไลด์. การสร้างอิเล็กทรอนิกส์บนกระจกสไลด์กระบวนการสปีดเตอร์. งานวิจัยนี้ ใช้อิเล็กทรอนิกส์ 2 ชนิด ได้แก่ ทอง และ โครเมียม.

- ทำความสะอาดกระจกสไลด์ด้วยไอโซโพรพานอล (AR Grade, Qrec) ในเครื่องล้างอัลตราโซนิค 5 นาที จากนั้น ล้างกระจกสไลด์ด้วยน้ำขจัดไอออน (Deionized Water, DI) และเป่ากระจกสไลด์ให้แห้ง.
- วางกระจกสไลด์บนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เวลา 10 นาที เพื่อไล่ความชื้น.
- ตีฟิล์มไวแสงลงบนกระจกสไลด์ด้วยเครื่องรีดแบบลูกกลิ้งความร้อน (PDA3-330C) ที่อุณหภูมิ 110°C.
- วางชิ้นงานบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เวลา 15 นาที
- ฉายแสงยูวีลงบนฟิล์มไวแสงผ่านหน้ากากบังแสงที่มีรูปร่างของอิเล็กทรอนิกส์เป็นเวลา 4.5 วินาที (หลอดยูวีถูกเปิดทิ้งไว้ 20 นาที ก่อนทำการฉายแสง).
- วางชิ้นงานบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เวลา 30 นาที
- ล้างชิ้นงานด้วยสารละลายที่ประกอบด้วยส่วนผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต (AR Grade, Ajax-Finechem) กับน้ำ DI. สารละลายมีอัตราส่วนโซเดียมคาร์บอเนต 1 g ต่อน้ำ DI ปริมาตร 100 ml.
- ล้างชิ้นงานด้วยน้ำ DI และเป่าชิ้นงานให้แห้ง. วางชิ้นงานบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 45°C เวลา 10 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 90°C เวลา 20 นาที.
- ปิดส่วนที่ไม่ต้องการให้โลหะติดกับฐานกระจกด้วยเทปพอลิเอไมด์ (Low Static Polyamide Film Tape 5491, 3M).
- นำชิ้นงานนี้ไปเคลือบโลหะด้วยกระบวนการสปีดเตอร์. โลหะที่ใช้เคลือบลงบนชิ้นงานเป็น โครเมียมหรือทองคำความหนาประมาณ 100 nm.
- ล้างชิ้นงานด้วยอะซิโตน (Acetone) ในเครื่องล้างอัลตราโซนิคเพื่อนำส่วนของฟิล์มไวแสงออกจากฐานกระจก.
- ล้างชิ้นงานด้วยไอโซโพรพานอลในเครื่องล้างอัลตราโซนิค 5 นาที จากนั้น ล้างชิ้นงานด้วยน้ำ DI และเป่าให้แห้ง.
- วางชิ้นงานบนเตาความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เวลา 10 นาที.

## ภาคผนวก ข

## การใช้งานโปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันไฟฟ้า

โปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันไฟฟ้าถูกเขียนขึ้นบนซอฟต์แวร์ MATLAB. หน้าต่างโปรแกรมสำหรับผู้ใช้งาน (Graphical user interface, GUI) ถูกออกแบบผ่าน MATLAB App Designer. โปรแกรมสามารถเปิดใช้งานผ่านซอฟต์แวร์ MATLAB ที่มี Instrument Control Toolbox. โปรแกรมจะสื่อสารกับเครื่องกำเนิดสัญญาณด้วย Tektronix AFG 3000 Series Instrument Driver และซอฟต์แวร์ TekVISA Connectivity.

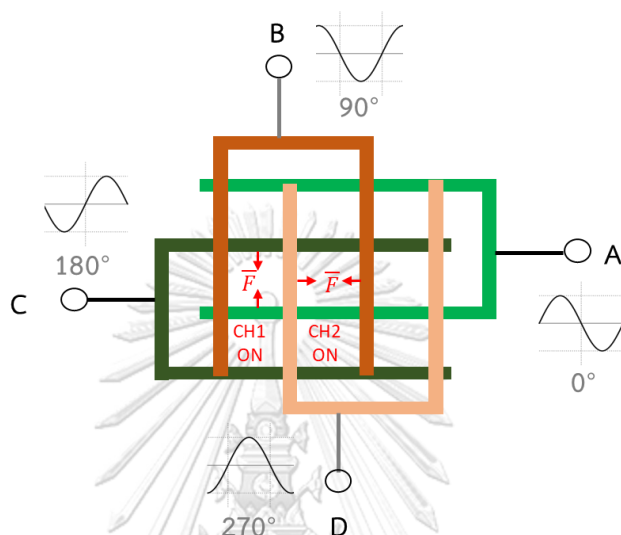


รูปที่ ข.1 หน้าต่าง GUI โปรแกรมควบคุมสัญญาณแรงดันไฟฟ้า.

การใช้งานหน้าต่าง GUI แบ่งออกเป็น 3 ส่วน แสดงดังรูปที่ ข.1. ก่อนใช้งานโปรแกรม ผู้ใช้งานต้องกดปุ่ม Connect เพื่อเชื่อมต่อโปรแกรมกับเครื่องกำเนิดสัญญาณ. ช่องแสดงผล Monitor ใช้แสดงค่าความถี่ของสัญญาณที่กำลังป้อนให้กับอิลีกโทรด. รายละเอียดการใช้งานแต่ละส่วนแสดงรายละเอียดดังนี้

ก) การสร้างแรง nDEP เพื่อผลักเซลล์ออกจากขอบอิลีกโทรด. ผู้ใช้งานกรอกขนาดแรงดันไฟฟ้าและความถี่ไฟฟ้า. เนื่องจากวงจรขยายแบบกลับเฟสที่ใช้ในการทดลอง สร้างสัญญาณ

ไซน์  $0^\circ$  และ  $180^\circ$  จากขาออก CH1 ของเครื่องกำเนิดสัญญาณ. สัญญาณไซน์  $90^\circ$  และ  $270^\circ$  ถูกสร้างจากขาออก CH2. ดังนั้น เมื่อกดปุ่ม CH1 ON เซลล์จะถูกผลักออกจากอิเล็กโทรดด้วยแรงจากด้านบนและด้านล่าง. ในทางตรงกันข้าม เมื่อกดปุ่ม CH2 ON เซลล์จะถูกผลักจากอิเล็กโทรดด้านซ้ายและขวา ดังแสดงในรูปที่ ข.2.



รูปที่ ข.2 ทิศทางแรง nDEP สำหรับผลักเซลล์ออกจากขอบีเล็กโทรด.

ข) การสร้างสัญญาณฐานที่ใช้คั่นระหว่างสัญญาณวัด. ผู้ใช้งานกรอกขนาดแรงดันไฟฟ้า ความถี่ และระยะเวลาที่ต้องการป้อนสัญญาณฐาน. หากผู้ใช้งานกดปุ่ม Base signal จะเป็นการป้อนสัญญาณตลอดเวลาจนกว่าปุ่มจะถูกกดซ้ำอีกครั้ง.

ค) การสร้างสัญญาณควบคุมสำหรับการทดลองอิเล็กโทรโรเทชัน. ผู้ใช้งานกรอกขนาดแรงดันไฟฟ้า และระยะเวลาที่ต้องการป้อนสัญญาณควบคุม. ค่าความถี่ที่ทำการทดลองถูกกำหนดในโค้ดของโปรแกรม. เมื่อผู้ใช้งานกดปุ่ม Auto ROT 5 MHz to 10 kHz เครื่องกำเนิดสัญญาณจะป้อนสัญญาณควบคุม โดยเริ่มจากความถี่ 5 MHz จนถึง 10 kHz.

ภาคผนวก ค  
การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง

การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงใช้อุปกรณ์ Hemocytometer. อุปกรณ์มีพื้นที่สำหรับการวัด 2 จุด ตำแหน่งการนับเซลล์เม็ดเลือดแดง แสดงดังรูปที่ ค.1. ตัวอย่างเซลล์ถูกหยดลงบนพื้นที่ในกรอบสี่เหลี่ยม จากนั้นปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์. ตัวอย่างการนับจำนวนเซลล์ แสดงดังรูปที่ ค.2. เซลล์ที่อยู่บริเวณขอบที่เป็นเส้นทึบจะถูกนับ. ความหนาแน่นของเซลล์คำนวณได้จาก

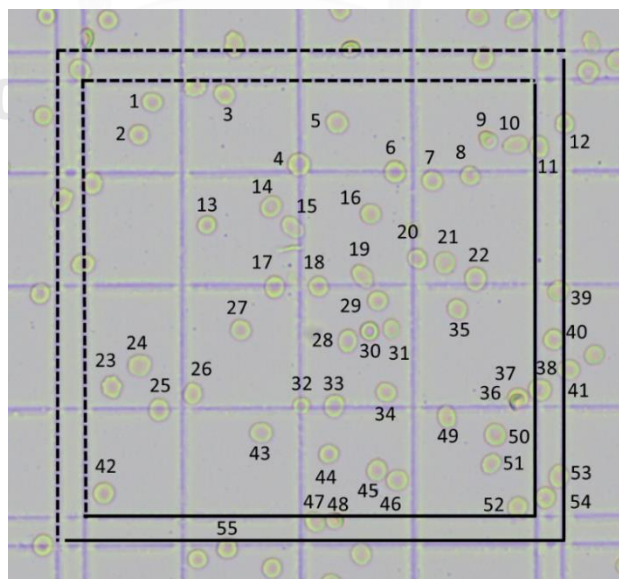
$$D_{RBC} = \frac{N_T \times 5}{0.1} \quad (\text{ค.1})$$

เมื่อ  $D_{RBC}$  คือความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดง.

$N_T$  คือผลรวมจำนวนเซลล์จากขอบเขตการนับทั้งหมด.



รูปที่ ค.1 พื้นที่สำหรับหยดตัวอย่างเซลล์และตำแหน่งการนับเซลล์เม็ดเลือดแดง.



รูปที่ ค.2 ตัวอย่างการนับเซลล์ในขอบเขตการนับลำดับที่ 5.

ตารางที่ ค.1 ผลการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติในตัวอย่างเซลล์.

ลำดับ รอบการนับ	ลำดับขอบเขตการนับ					รวม (Cells)	ความหนาแน่น (Cells/ $\mu$ l)	ความหนาแน่นเฉลี่ย (Cells/ $\mu$ l)
	1	2	3	4	5			
1	54	51	63	74	62	304	15,200	14,520 $\pm$ 2,319
2	64	61	59	76	84	344	17,200	
3	62	58	54	51	63	288	14,400	
4	65	76	65	82	91	379	18,950	
5	65	66	49	80	65	325	16,250	
6	62	62	62	47	53	286	14,300	
7	43	32	42	47	55	219	10,950	
8	73	60	38	32	58	261	13,050	
9	52	53	50	44	51	250	12,500	
10	54	49	52	46	47	248	12,400	

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวรภัที บรรดาตั้ง
วัน เดือน ปี เกิด	30 กันยายน 2541
สถานที่เกิด	จังหวัดอุบลราชธานี
วุฒิการศึกษา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY