

การคัดแยกอนุภาคตามขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายสองส่วน



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SIZE-BASED PARTICLE SORTING USING A TWO-STEP CONTRACTION-EXPANSION DEVICE

Mr. Ampol Kamnerdsook



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

Department of Mechanical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดแยกอนุภาคตามขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลที่มีท่อ หน้าตัดแบบย่อและขยายสองส่วน
โดย	นายอำพล กำเหนิดสุข
สาขาวิชา	วิศวกรรมเครื่องกล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลงกรณ์ พิมพ์พิณ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	นายสัตวแพทย์ ดร.ประพตติดี ปิยะวิริยะกุล ดร.วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีระยุทธ ศรีธรรมาภิบาล)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อลงกรณ์ พิมพ์พิณ)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(นายสัตวแพทย์ ดร.ประพตติดี ปิยะวิริยะกุล)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร.วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัดต์ รัตนสุมาวงศ์)
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.มยุรี ชนะสกุลนิยม)

อำพล กำเหนิดสุข : การคัดแยกอนุภาคตามขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายสองส่วน (SIZE-BASED PARTICLE SORTING USING A TWO-STEP CONTRACTION-EXPANSION DEVICE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ.ดร.อลงกรณ์ พิมพ์พิมพ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: น.สพ.ดร.ประพฤติดี ปิยะวิริยะกุล, ดร.วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ, 130 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบอุปกรณ์การไหลที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายสำหรับคัดแยกเซลล์ออกมาตามขนาด อุปกรณ์การไหลมีความลึก 50 ไมโครเมตรประกอบด้วยท่อทางเข้ามีลักษณะเป็นท่อหน้าตัดตรงกว้าง 50 ไมโครเมตร และยาว 5 มิลลิเมตร มีส่วนขยายที่มีหน้าตัดใหญ่กว่ามีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500 ไมโครเมตร ในส่วนสุดท้ายเป็นท่อทางออกหลักกว้างเท่ากับท่อทางเข้าแต่ยาว 3 มิลลิเมตร ด้านในของส่วนขยายจะมีท่อการไหลต่อออกไปทางด้านข้างซึ่งจะนำของไหลไปสู่ส่วนขยายที่สองที่มีส่วนประกอบเหมือนกับส่วนแรก การทดลองสำหรับการคัดแยกอนุภาคได้ใช้เม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร การทดลองแสดงว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนที่หนึ่งและสองเท่ากับ 100 และ 80 นั้นสามารถคัดแยกอนุภาคขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ได้เท่ากับ 53, 72, 93 และ 73% ตามลำดับ จากนั้นที่สภาวะการทดลองเดียวกันได้ทำการทดลองคัดแยกเซลล์ โดยเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และ เซลล์ไตมาดิงดาร์บี (MDCK) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และ เซลล์ไตมาดิงดาร์บีขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตร ได้เท่ากับ 87, 88, 87 และ 72% ตามลำดับ และสุดท้ายได้ทำการตรวจสอบการมีชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่คัดแยกโดยอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย พบว่าเกิดการตายของเซลล์ภายในอุปกรณ์เท่ากับ 6 และ 4% ตามลำดับ

ภาควิชา วิศวกรรมเครื่องกล

สาขาวิชา วิศวกรรมเครื่องกล

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5870282221 : MAJOR MECHANICAL ENGINEERING

KEYWORDS: MICROFLUIDICS / CONTRACTION-EXPANSION CHANNEL / PARTICLES SORTING

AMPOL KAMNERDSOOK: SIZE-BASED PARTICLE SORTING USING A TWO-STEP CONTRACTION-EXPANSION DEVICE. ADVISOR: ASST.PROF.ALONGKORN PIMPIN, CO-ADVISOR: DR.PRAPRUDDEE PIYAVIRIYAKUL, DR.WUTTHINAN JEAMSAKSIRI, 130 pp.

This study aims to design a contraction-expansion channel for separating cells based on their sizes. The device with the structure depth of 50 μm consists of a main inlet, a straight channel with 5 mm long and 50 μm wide, connecting to the first micro-chamber whose dimension is 500 x 500 μm^2 . The main outlet as wide as the main inlet is 3 mm long. On the sides of the micro-chamber, there are secondary channels delivering fluid to the second micro-chamber, whose dimensions are similar to those of the first one. Among various flow conditions, the experiments at the Reynolds number for the first and second micro-chamber equal to 100 and 80, respectively, could appropriately sort particles with the separation efficiencies for the 5, 10, 15 and 20 μm beads are 53, 72, 93 and 73%, respectively. At the same condition, it could appropriately sort cells with the separation efficiencies for the red blood cell, Jurkat, 15 μm MDCK and 20 μm MDCK cells equal to 87, 88, 87 and 72%, respectively. Finally, the viability testing of white blood cell and Jurkat cells separated by the contraction-expansion channel showed 6 and 4% of dead cell in the device, respectively.

Department:	Mechanical Engineering	Student's Signature
Field of Study:	Mechanical Engineering	Advisor's Signature
Academic Year:	2016	Co-Advisor's Signature
		Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้แต่งขอขอบคุณเงินทุนการศึกษาจากโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา และทุนวิจัยจากโครงการแผนพัฒนาวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (อุปกรณ์การแพทย์ชาวจีน) สร้างเสริมพลังจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (อุปกรณ์การแพทย์ชาวจีน)

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.อลงกรณ์ พิมพ์พิณ ที่ท่านได้ให้คำแนะนำ คำสั่งสอน และความรู้ในการทำวิจัยเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาที่ได้ทำงานร่วมกัน รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการศึกษา การทำงาน และแนวทางในการดำเนินชีวิต ทำให้ผู้แต่งได้ประสบความสำเร็จในด้านการศึกษา และการทำวิจัยตามที่คาดหวังไว้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วีระยุทธ ศรีธรรมาภิบาล ที่ท่านได้ให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะในการทำงานวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการศึกษามาโดยตลอด ทำให้ผู้แต่งได้ประสบความสำเร็จในด้านการศึกษา และการทำวิจัยตามที่คาดหวังไว้

ขอกราบขอบพระคุณ ศ.สพญ.ดร.อัจฉริยา ไสละสุต และ อ.นสพ.ดร. ประพฤติดี ปิยะวิริยะกุล ที่ท่านได้ให้คำแนะนำ และความรู้ทางด้านชีววิทยา รวมทั้งการจัดการเซลล์ที่นำมาใช้สำหรับการทดลองในงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ และ นายวิศรุต ศรีพุ่มไช่ ที่ท่านได้ให้คำแนะนำ และการสนับสนุนด้านการผลิตอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคที่นำมาใช้สำหรับการทดลองในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณนักศึกษาระดับปริญญาเอก และปริญญาโทในกลุ่มวิจัยทุกท่านที่คอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา และความร่วมมือในการทำงานร่วมกันเป็นอย่างดี

สุดท้ายเหนือสิ่งอื่นใด ผู้แต่งขอกราบขอบพระคุณ นายอำพัน กำเหนิดสุข และนางลาวัลย์ กำเหนิดสุข บิดาและมารดาของผู้แต่ง ที่ท่านได้เลี้ยงดู อบรมสั่งสอน ให้กำลังใจ และสนับสนุนผู้แต่งในด้านการศึกษามาโดยตลอด ทำให้ผู้แต่งประสบความสำเร็จได้ในวันนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญรูปภาพ.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ระเบียบขั้นตอนของงานวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.6 แผนการดำเนินงาน.....	4
บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม.....	5
2.1 เทคนิคการแยกขนาดของเซลล์.....	5
2.1.1 กลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอก.....	5
2.1.1.1 การคัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็ก (Pillar array microfluidic).....	5
2.1.1.2 การคัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก (Micro-scale filter microfluidic).....	6
2.1.1.3 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย (Inertial microfluidics).....	7
2.1.2 กลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอก.....	7
2.1.2.1 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงทางไฟฟ้า (Dielectrophoresis microfluidic).....	7

2.1.2.2 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงแม่เหล็ก (Magnetophoretic microfluidic)	8
2.2 การคัดแยกด้วยแรงเฉื่อย.....	8
2.2.1 ท่อหน้าตัดตรง (Straight channel).....	8
2.2.2 ท่อหน้าตัดแบบเกลียว (Spiral channel).....	9
2.2.3 ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel).....	10
2.2.4 ท่อหน้าตัดแบบคดเคี้ยว (Serpentine channel).....	11
2.3 การประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์คัดแยกขนาดของเซลล์ที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายใน กรณีต่างๆ.....	11
2.3.1 งานวิจัยของ Myung Gwon Lee และคณะ.....	11
2.3.2 งานวิจัยของ Xiao Wang และคณะ	15
2.3.3 งานวิจัยของ Jae-Sung Park และคณะ	22
2.3.4 งานวิจัยของ Zhenlong Wu และคณะ.....	24
2.3.5 งานวิจัยของ Soojung Claire Hur และคณะ.....	26
2.4 สรุปผล.....	30
บทที่ 3 การออกแบบอุปกรณ์การไหลจุลภาค	33
3.1 หลักการทำงานของอุปกรณ์.....	33
3.1.1 แรงที่กระทำกับอนุภาค.....	33
3.1.2 ตำแหน่งสมดุลของอนุภาค (equilibrium position).....	34
3.1.3 การแบ่งเส้นทางการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็ก.....	34
3.1.4 เส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (particles focusing position, d_p) และ เส้น ขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (separation boundary, d_b).....	34
3.2 การออกแบบอุปกรณ์การไหลจุลภาค.....	37
3.2.1 แนวความคิดในการออกแบบ.....	37
3.2.2 พื้นที่หน้าตัดท่อ (cross section).....	37

3.2.3	ขนาดความยาวของท่อทางเข้า (length)	38
3.2.4	อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์ (resistant ratio, σ).....	38
3.2.5	ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค (device dimension)	39
3.3	การกำหนดค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหล.....	39
3.3.1	การศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค	40
3.3.2	การจำลองการไหลของเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค	41
3.3.2.1	การตรวจสอบผลของจำนวนกริด (Grid independent).....	41
3.3.2.2	การจำลองการไหลเพื่อหาตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์ โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ.....	44
3.3.3	การกำหนดค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลโดยใช้ตำแหน่งตำแหน่งเส้นทางการ เคลื่อนที่ของอนุภาค และตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค	45
3.3.4	สตรีมไลน์	46
3.4	การวิเคราะห์ข้อมูล และการออกแบบการทดลอง.....	48
3.5	สรุปผล.....	50
บทที่ 4	วิธีการทดลอง และการวิเคราะห์ผล	51
4.1	การสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาค.....	51
4.2	ชุดทดลอง	52
4.2.1	อุปกรณ์การทดลอง.....	52
4.2.2	การติดตั้งอุปกรณ์การทดลอง.....	54
4.3	การเตรียมสารละลาย.....	54
4.3.1	สารละลายผสมเม็ดพลาสติก.....	54
4.3.2	สารละลายบัฟเฟอร์	55
4.4	ขั้นตอนการทดลอง	55

4.5 การวิเคราะห์ผล	56
4.5.1 ความหนาแน่นของอนุภาค (concentration, c)	56
4.5.2 จำนวนอนุภาค (number of particles, N)	56
4.5.3 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ (separation efficiency, η)	56
4.5.4 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายแต่ละส่วน (separation ratio, s)....	56
4.6 การสอบเทียบ และการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการนับอนุภาค	57
4.6.1 ขั้นตอนการใช้งานโปรแกรม Imagej	57
4.6.2 การสอบเทียบโปรแกรม Imagej.....	60
4.7 สรุปผล.....	64
บทที่ 5 ผลการทดลอง.....	65
5.1 การทดลองที่ 1 (อัตราการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งคองที่).....	65
5.2 การทดลองที่ 2 (อัตราการไหลในส่วนขยายที่สองคองที่)	67
5.3 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์.....	71
5.4 การอภิปรายผลการทดลอง	73
5.4.1 ขนาดของกระแสน้ำวน	73
5.4.2 แรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก	74
5.4.3 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ.....	76
5.5 สรุปผลการทดลอง	78
บทที่ 6 การคัดแยกเซลล์ การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์	79
6.1 การคัดแยกเซลล์ (Cell separation).....	79
6.1.1 การเตรียมเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง	79
6.1.1.1 สารละลายผสมเซลล์	79
6.1.1.2 สารละลายบัฟเฟอร์.....	80

6.1.2	ขั้นตอนการทดลอง	80
6.1.3	ผลการทดลอง.....	81
6.1.4	การอภิปรายผลการทดลอง.....	84
6.2	การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability testing)	84
6.2.1	การเตรียมเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง	85
6.2.1.1	สารละลายผสมเซลล์	85
6.2.1.2	สารละลายบัฟเฟอร์.....	85
6.2.2	ขั้นตอนการทดลอง	85
6.2.3	ผลการทดลอง.....	87
6.2.4	การเปรียบเทียบความมีชีวิตของเซลล์ของอุปกรณ์ที่มีท่อน้ำตัดแตกต่างกัน	88
6.2.5	การอภิปรายผลการทดลอง.....	89
6.2.5.1	การจำลองค่าความเค้นเฉือน	89
6.2.5.2	การจำลองความเค้นยึด	90
6.3	สรุปผลการทดลอง	91
บทที่ 7	สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	92
7.1	สรุปผลการทดลอง	92
7.2	ข้อเสนอแนะ	93
รายการอ้างอิง	95
ภาคผนวก.....	98
ภาคผนวก ก	ข้อมูลการนับจำนวนอนุภาคจากการทดลอง	99
ภาคผนวก ข	จำนวนอนุภาคจากการทดลอง.....	110
ภาคผนวก ค	การเปรียบเทียบการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมและการนับด้วยสายตา	120
ภาคผนวก ง	การหุมนวนของอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก.....	123

ภาคผนวก จ ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค	125
ภาคผนวก ฉ การจำลองความเค้นฉีก และความเค้นยึดภายในอุปกรณ์	126
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	132



สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบวิธีการตัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย....	28
ตารางที่ 3.1 ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่ำสุดที่ทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาคขนาดต่างๆที่ตำแหน่งสมดุล.....	38
ตารางที่ 3.2 ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (ไมโครเมตร).....	41
ตารางที่ 3.3 การแสดงผลการตรวจสอบผลของจำนวนกริต.....	43
ตารางที่ 3.4 ตำแหน่งเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ	44
ตารางที่ 4.1 ขนาดพื้นที่ของอนุภาค.....	62
ตารางที่ 4.2 ขนาดพื้นที่ของอนุภาคจากการทำนาย	63
ตารางที่ 6.1 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคระหว่างเม็ดพลาสติกกับเซลล์จริง.....	84
ตารางที่ 6.2 ค่าความเค้นเฉือนสูงสุดจากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์.....	90
ตารางที่ 6.3 ค่าความเค้นเฉือนสูงสุดจากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์	91
ตารางที่ ก.1 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 60.....	99
ตารางที่ ก.2 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80	100
ตารางที่ ก.3 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 100.....	101
ตารางที่ ก.4 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100.....	102
ตารางที่ ก.5 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 120.....	103
ตารางที่ ก.6 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 140.....	104
ตารางที่ ก.7 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 160.....	105
ตารางที่ ก.8 การนับจำนวนอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 180.....	106

ตารางที่ ก.9 การนับจำนวนเซลล์จากการตัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100 และส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80.....	107
ตารางที่ ก.10 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์.....	108
ตารางที่ ก.11 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์	109
ตารางที่ ข.1 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 60.....	110
ตารางที่ ข.2 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80	111
ตารางที่ ข.3 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 100	112
ตารางที่ ข.4 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100	113
ตารางที่ ข.5 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 120	114
ตารางที่ ข.6 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 140	115
ตารางที่ ข.7 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 160	116
ตารางที่ ข.8 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 180	117
ตารางที่ ข.9 จำนวนเซลล์จากการตัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100 และส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80	118
ตารางที่ ข.10 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์	119
ตารางที่ ข.11 จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์	119
ตารางที่ ค.1 การเปรียบเทียบการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมและการนับด้วยสายตา.....	121

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 การเคลื่อนที่ของอนุภาคผ่านเสารูปทรงต่างๆ	6
รูปที่ 2.2 การคัดแยกอนุภาคด้วยตัวกรองแบบต่าง (ก) แบบเขื่อนกั้น (ข) แบบเสานาขนาดเล็ก (ค) แบบการไหลตั้งฉากตัวกรอง	6
รูปที่ 2.3 สมดุลของแรงยกเกรเดียนต์ (F_{LS} , shear gradient lift force) และ แรงยกจากผนัง (F_{LW} , wall induced lift force).....	7
รูปที่ 2.4 การแยกอนุภาคโดยใช้อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียว.....	12
รูปที่ 2.5 (ก) การแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 (สีแดง) และ 10 (สีเขียว) ไมโครเมตร (ข) การแยกอนุภาคขนาด 10 (สีเขียว) และ 15 (สีแดง) ไมโครเมตร โดยใช้อัตราการไหลตั้งแต่ 3 ถึง 22 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง	13
รูปที่ 2.6 การคัดแยกอนุภาคโดยใช้อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียว ...	14
รูปที่ 2.7 ตำแหน่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาดต่างๆที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 4.2, 8.3, 12.6, และ 16.7	14
รูปที่ 2.8 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ที่อัตราการไหลเท่ากับ 3, 6, 9, และ 12 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง	15
รูปที่ 2.9 การทดลองเส้นทางการไหลโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเลสเซนซ์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 (สีเขียว) และ 15.5 ไมโครเมตร (สีแดง) ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 1, 10 และ 50	17
รูปที่ 2.10 (ก) ความเข้มข้นของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 และ 18.5 ไมโครเมตร และ ประสิทธิภาพการคัดแยกขนาด (ข) ความเข้มข้นของอนุภาคขนาด 21 ไมโครเมตร และ ประสิทธิภาพการคัดแยกขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดง และอนุภาคขนาด 21 ไมโครเมตร	18
รูปที่ 2.11 อุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน	19
รูปที่ 2.12 (ก) อุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน (ข) แผนที่แสดงเส้นชั้นความสูงของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติของอนุภาคที่อัตราการไหลตั้งแต่ 80-200 ไมโครลิตรต่อนาที และอัตราส่วนความต้านทานตั้งแต่ 4.3 ถึง 10.2.....	21

รูปที่ 2.13 (ก) ความหนาแน่นของอนุภาคที่ทางออกต่างๆ (ข) ค่าความบริสุทธิ์ของอนุภาคขนาด 23 ไมโครเมตรที่ทางออกที่ 3 (ค) ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 23 ไมโครเมตรที่ทางออกต่างๆ	21
รูปที่ 2.14 (ก) ความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกต่างๆ (ข) ค่าความบริสุทธิ์ของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกที่ 3 (ค) ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกต่างๆ	22
รูปที่ 2.15 หลักการทำงานของอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดตรงพร้อมกับห้องการไหลขนาดเล็กแบบต่อเนื่อง.....	24
รูปที่ 2.16 (ก) ค่าความบริสุทธิ์ (particle purity) และ (ข) ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (particle separation efficiency) ที่อัตราการไหลต่างๆ	26
รูปที่ 2.17 (ก) ลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก (ข) ลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็กโดยใช้อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร และ (ค) 10 ไมโครเมตร	27
รูปที่ 2.18 ประสิทธิภาพ (η) และอัตราส่วนของจำนวนเซลล์มะเร็งต่อเซลล์เม็ดเลือดของทางเข้าต่อทางออก (ER) ของเซลล์มะเร็งชนิด HeLa และ MCF7	27
รูปที่ 3.1 (ก) แรงทางกลที่กระทำกับอนุภาคเนื่องจากการไหลภายในท่อหน้าตัดตรง (ข) การเกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาค (equilibrium position) (ค) การแบ่งกระแสการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็ก (ง) ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (particles focusing position, d_p) และ เส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (separation boundary, d_b).....	36
รูปที่ 3.2 ลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดลักษณะต่างๆ ^[6]	38
รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค.....	39
รูปที่ 3.4 (ก) ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110 (ข) ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคในท่อหน้าตัดตรงแบบจตุรัส	40
รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการจำลองการไหลของเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค การปรับขนาดของกริดทั้ง(ก) แบบจำลอง (ข) เฉพาะส่วน และ (ค) ตำแหน่งเส้นขอบเขต (d_b).....	43
รูปที่ 3.6 ตำแหน่ง d_p และ d_b ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ.....	45

รูปที่ 3.7 สตรีมไลน์ของการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็กที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ.....	47
รูปที่ 3.8 การวิเคราะห์ความต้านทานการไหลแสดงเครือข่ายความต้านทานการไหลของอุปกรณ์และความต้านทานการไหลของอุปกรณ์ในรูปแบบวงจรไฟฟ้าอย่างง่าย.....	48
รูปที่ 4.1 การขึ้นรูปชิ้นงานด้วยเทคโนโลยี Soft lithography.....	51
รูปที่ 4.2 การประสานชิ้นงานด้วยเทคนิคออกซิเจนพลาสมา	52
รูปที่ 4.3 อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่ใช้ในการทดลอง	52
รูปที่ 4.4 อุปกรณ์การทดลอง	53
รูปที่ 4.5 การติดตั้งอุปกรณ์การทดลอง	54
รูปที่ 4.6 ภาพตัวอย่าง (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร (ข) 15 ไมโครเมตร และ (ค) 20 ไมโครเมตร	58
รูปที่ 4.7 ภาพที่ใช้ในการสังับจำนวนอนุภาค (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร (ข) 15 ไมโครเมตร และ (ค) 20 ไมโครเมตร.....	59
รูปที่ 4.8 ภาพการนับจำนวนอนุภาค (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร (ข) 10 ไมโครเมตร (ค) 15 ไมโครเมตร และ (ง) 20 ไมโครเมตร	60
รูปที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยของขนาดพื้นที่ของอนุภาคแต่ละขนาด	63
รูปที่ 5.1 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่สองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 และ (ค) 100.....	67
รูปที่ 5.2 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่งที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 100 (ข) 120 (ค) 140 (ง) 160 และ (จ) 180	70
รูปที่ 5.3 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเป็นค่าคงที่เท่ากับ 80 และ ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ (ก) 100 (ข) 140 และ (ค) 180.....	73
รูปที่ 5.4 การเปรียบเทียบเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ได้จากการจำลองทางคอมพิวเตอร์ (ซ้าย) และการเคลื่อนที่ของอนุภาคจากการทดลอง (ขวา) ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 40 (ข) 80 (ค) 120 และ (ง) 160	74
รูปที่ 5.5 ทิศทางของแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก	75

รูปที่ 5.6 การคำนวณแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็กที่อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 20 ไมโครเมตร	76
รูปที่ 5.7 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ	77
รูปที่ 6.1 ตัวอย่างสารละลายผสมเซลล์.....	80
รูปที่ 6.2 ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 (ส่วนขยายที่ 1) และ 80 (ส่วนขยายที่ 2).....	82
รูปที่ 6.3 ตัวอย่างเซลล์ที่ทางออกต่างๆของอุปกรณ์ (ก) ทางออกที่ 1 (ข) ทางออกที่ 2 (ค) ทางออกที่ 3.....	83
รูปที่ 6.4 ตัวอย่างภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ (ก) เซลล์เม็ดเลือดขาว (ข) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว	87
รูปที่ 6.5 ความมีชีวิตของเซลล์ก่อน และหลังผ่านอุปกรณ์.....	88
รูปที่ 6.6 การเปรียบเทียบความมีชีวิตของเซลล์ของอุปกรณ์ที่มีท่อนำตัดแตกต่างกัน.....	89
รูปที่ ค.1 ตัวอย่างรูปของอนุภาคที่ใช้ในการเปรียบเทียบการนับอนุภาค.....	121
รูปที่ ค.2 สาเหตุของความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการติดกันอนุภาค	122
รูปที่ ง.1 การหมუნวนของอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก.....	124
รูปที่ จ.1 ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค.....	125
รูปที่ ฉ.1 การจำลองความเค้นเฉือนภายในอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 (ค) 100 (ง) 120 (จ) 140 (ฉ) 160 (ช) 180.....	128
รูปที่ ฉ.2 การจำลองความเค้นยืดภายในอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 (ค) 100 (ง) 120 (จ) 140 (ฉ) 160 (ช) 180.....	131

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

กลุ่มตัวอย่างเนื้อเยื่อของเซลล์จะมีสมบัติทางชีววิทยาที่หลากหลายอย่างมากขึ้นอยู่กับลักษณะการทำงานของเนื้อเยื่อนั้น ทำให้ผลการวิเคราะห์สมบัติของเซลล์ด้วยวิธีการในปัจจุบันมีความไม่แน่นอนสูงขึ้นอยู่กับว่าจำนวนเซลล์ส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อที่เก็บมานั้นเป็นประเภทใด ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเริ่มให้ความสนใจในการศึกษาเซลล์ในลักษณะเซลล์เดี่ยว (Single cell)^[1] ซึ่งจะช่วยให้วิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์ได้อย่างชัดเจนและแม่นยำมากขึ้น ดังนั้นเทคโนโลยีระบบของไหลจุลภาค (Microfluidics)^[2, 3] ที่สามารถคัดแยกเซลล์ตามขนาด และดักจับเซลล์ให้อยู่ในลักษณะเซลล์เดี่ยวได้ จึงถูกพัฒนาอย่างรวดเร็วเพื่อตอบสนองความต้องการของการวินิจฉัยทางการแพทย์ในรูปแบบนี้ เทคโนโลยีนี้อาจจะช่วยให้สามารถวิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์ได้อย่างชัดเจนมากขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการแบบเดิม และอาจจะนำไปสู่การค้นคว้าหาวิธีการรักษาที่ดีกว่าสำหรับผู้ป่วยโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง เป็นต้น

ในปัจจุบันการคัดแยกขนาดของอนุภาคโดยใช้เทคโนโลยีระบบของไหลจุลภาคสามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอก^[4-6] ซึ่งจะอาศัยคุณสมบัติของการไหลภายในท่อขนาดเล็กที่มีลักษณะการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ อุปกรณ์แยกขนาดเซลล์ที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นสามารถแบ่งตามลักษณะของท่อเป็น 4 ประเภท คือ ท่อหน้าตัดตรง^[7] ท่อหน้าตัดแบบเกลียว (Spiral channel)^[8, 9] ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel)^[10-17] และท่อหน้าตัดแบบคดเคี้ยว (Serpentine channel)^[18] และอีกกลุ่มหนึ่งคือเทคนิคการคัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอก เช่น การแยกคัดขนาดโดยใช้แรงทางไฟฟ้า^[19] และการคัดแยกขนาดโดยใช้แรงแม่เหล็ก^[20] เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ต้องการจะคัดแยกเซลล์มะเร็งด้วยขนาดเซลล์เพื่อที่จะนำไปศึกษาสมบัติทางชีวภาพของเซลล์ต่อไป ดังนั้นการใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอกอาจจะมีผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางชีวภาพของเซลล์มะเร็ง และทำให้ผลการวิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์มะเร็งคลาดเคลื่อนได้ เทคนิคที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจึงถูกเลือกมาใช้ในงานวิจัยนี้

ในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา ทางทีมวิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้อุปกรณ์คัดแยกขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียวในการแยกขนาดเซลล์มะเร็ง^[21, 22] การศึกษาแสดงให้เห็นว่าเซลล์มะเร็งที่ผ่านอุปกรณ์แยกขนาดนั้นเกิดการเสียรูป และตายมากกว่าครึ่งหนึ่ง สาเหตุอาจจะเกิดจากอุปกรณ์แยกขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียวจำเป็นต้องใช้อัตราการไหลสูง (มากกว่า 1 มิลลิเมตรต่อนาที) ทำให้เกิดความเค้นเฉือนสูงภายในอุปกรณ์และทำให้เซลล์ที่เคลื่อนที่ผ่านมาได้รับผลกระทบอย่างรุนแรง

ดังนั้นทีมวิจัยจึงได้ทำการศึกษาและหาวิธีการตัดแยกขนาดเซลล์แบบอื่นๆ ที่สามารถแยกเซลล์มะเร็งให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ โดยยังยึดหลักการที่มีผลกระทบต่อสมบัติของเซลล์ให้น้อยที่สุด

การศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าวิธีการตัดแยกขนาดเซลล์โดยอาศัยการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก (ซึ่งเป็นส่วนขยายของท่อตรงแบบหน้าตัดย่อขยาย) จะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าอุปกรณ์ตัดแยกขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียวประมาณ 10 เท่า และจากรายงานยังพบว่าสามารถแยกเซลล์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันได้ (ขนาดแตกต่างกันน้อยกว่า 2 ไมโครเมตร) และมีประสิทธิภาพการแยกขนาดอนุภาคมากกว่าร้อยละ 90^[12-15] ด้วยเหตุผลนี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้การตัดแยกอนุภาคโดยอาศัยเทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion, CE) มาใช้สำหรับการตัดแยกเซลล์มะเร็งซึ่งมีขนาดอยู่ในช่วง 10-25 ไมโครเมตร ออกเป็นกลุ่มตามขนาด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

การแยกขนาดเซลล์เพื่อจะศึกษาพฤติกรรมของเซลล์มะเร็งตามขนาด ซึ่งเป็นปริมาณทางกายภาพอันหนึ่งที่อาจจะมีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์มะเร็ง โดยใช้เทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การแยกขนาดเซลล์มะเร็งด้วยระบบของไหลจุลภาคโดยเลือกใช้เทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel) โดยเบื้องต้นจะใช้เม็ดพลาสติก (polystyrene beads) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรเป็นตัวแทนของเซลล์มะเร็ง และนำไปทดลองกับเซลล์จริงคือเซลล์มะเร็งที่ได้มาจากสัตว์ในขั้นตอนต่อไป ซึ่งเซลล์มะเร็งที่ใช้ศึกษามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 10-25 ไมโครเมตรโดยต้องการแบ่งเซลล์เป็น 3 กลุ่มที่มีขนาดที่แตกต่างกัน

1.4 ระเบียบขั้นตอนของงานวิจัย

1. ศึกษาทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีระบบการไหลจุลภาคที่ใช้เทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel) ในการตัดแยกขนาดอนุภาค และทำการออกแบบอุปกรณ์ โดยเลือกขนาดหน้าตัดของท่อที่เหมาะสม
2. ทำการจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อศึกษารูปแบบการไหลของอุปกรณ์ พร้อมทั้งหาอัตราการไหลที่ทำให้เกิดการลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก โดยตำแหน่งของเส้นแบ่งแยกอนุภาคจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงตัวแปรต่างๆภายในอุปกรณ์การแยกขนาดเซลล์ ซึ่งตัวแปรที่มีผลต่อตำแหน่งการเกิดเส้นแบ่งแยกอนุภาคคือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุ

ภาค อัตราการไหล ขนาดความสูงของท่อ และอัตราส่วนของความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์

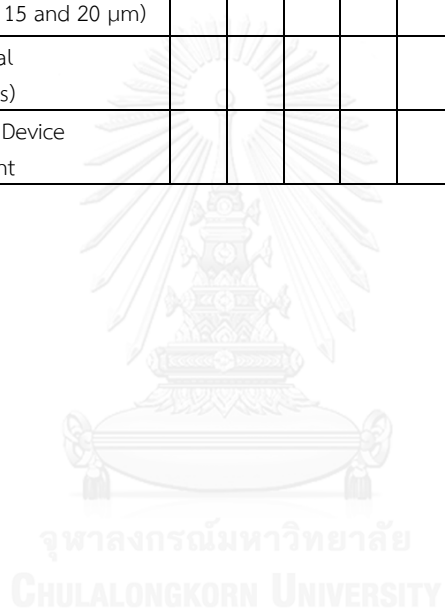
3. ทำการทดลองโดยใช้เม็ดพลาสติกเป็นอนุภาคตัวอย่างแทนเซลล์มะเร็งจริง เพราะการใช้เซลล์มะเร็งจริงนั้นมีอิทธิพลที่ควบคุมลำบากเพิ่มเติมเข้ามาและมีขั้นตอนการเตรียมสารและการทดลองที่ยุ่งยากและซับซ้อน ขั้นตอนแรกจะทำการทดลองด้วยเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร โดยทำการปรับอัตราการไหลของอุปกรณ์เพื่อหาอัตราการไหลที่ทำให้ประสิทธิภาพในการแยกอนุภาคทั้งสามออกจากกันที่ดีที่สุด
4. หลังจากที่ได้ผลการทดลองจากการทดลองที่ใช้เม็ดพลาสติกเป็นอนุภาคในการคัดแยกขนาดแล้วแล้ว จะทำการทดลองซ้ำอีกครั้งในสภาวะการทดลองที่ได้ประสิทธิภาพสูงที่สุดจากตอนแรก โดยใช้เซลล์จริงที่มีขนาด 10-25 ไมโครเมตร เพื่อหาประสิทธิภาพของการแยกเซลล์มะเร็งทั้ง 3 กลุ่มที่ต้องการ
5. ทำการวิเคราะห์ผลการทดลอง เพื่อหาประสิทธิภาพการคัดแยกขนาดเซลล์ของอุปกรณ์การไหลจุลภาค และนำเสนอวิธีการปรับปรุง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาเซลล์เดียวนั้นเป็นสิ่งที่จำเป็นในการวิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์ โดยเทคโนโลยีระบบการไหลจุลภาคจะช่วยให้สามารถวิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์เดี่ยวได้อย่างชัดเจนมากขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการแบบเดิม และนำไปสู่การค้นคว้าหาวิธีการรักษาที่ดีกว่าสำหรับผู้ป่วยโรคมะเร็ง โดยประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัยนี้ น่าจะช่วยออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถแยกขนาดเซลล์มะเร็งที่มีขนาด 10-25 ไมโครเมตรได้ โดยมีผลกระทบต่อคุณสมบัติของเซลล์น้อยที่สุด และสามารถนำไปรวมกับส่วนของการดักเซลล์ และการปล่อยเซลล์ที่กำลังทำวิจัยคู่ขนานกันอยู่ได้

1.6 แผนการดำเนินงาน

แผนงานวิจัย	เดือนที่											
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Literature Review	✓	✓	✓									
Microfluidics-device Design (cross section, length, micro chamber dimension, resistant ratio, etc.)			✓	✓								
Computational Simulation (separation boundary and stream line)			✓	✓								
Device Fabrication					✓	✓						
Experimental (Polystyrene beads 5, 10, 15 and 20 μm)							✓	✓				
Experimental (Cancer cells)									✓	✓		
Data Analysis for Device Improvement											✓	✓



บทที่ 2 ทัศนัวรรณกรรม

ในบทนี้จะกล่าวถึงวิธีการคัดแยกขนาดของเซลล์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน การแบ่งประเภทของอุปกรณ์ตามลักษณะของท่อจุลภาค หลักการทำงานและการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์การคัดแยกขนาดของเซลล์ที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายในกรณีต่างๆ

2.1 เทคนิคการแยกขนาดของเซลล์

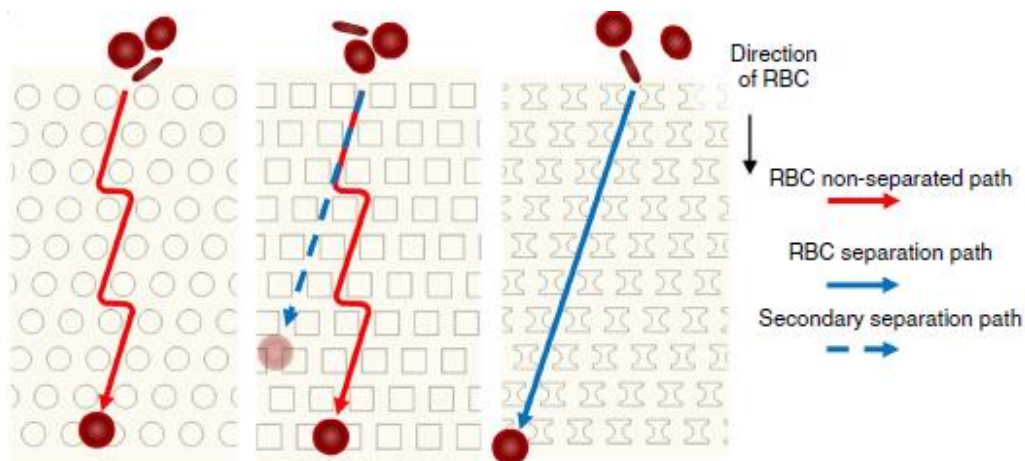
ในปัจจุบันเทคโนโลยีของไหลจุลภาคได้นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการคัดแยกขนาดของเซลล์ โดยวิธีการในการคัดแยกขนาดนั้นมีมากมายหลายวิธี ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลักคือ

2.1.1 กลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอก

การคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นจะอาศัยการไหลภายในท่อขนาดเล็กที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ โดยลักษณะของท่อและหลักการทำงานที่ใช้ในการคัดแยกขนาดอนุภาคจะแตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น การคัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็ก^[4] การคัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก^[5] และการคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย^[6] เป็นต้น

2.1.1.1 การคัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็ก (Pillar array microfluidic)

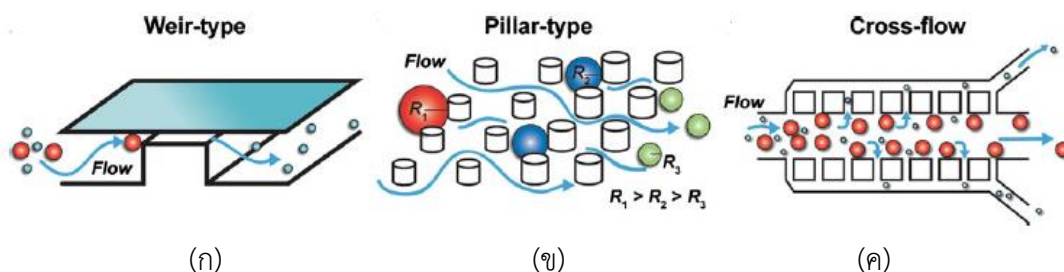
หลักการทำงานของกรการคัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็ก^[4] จะอาศัยการไหลของของเหลวทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาค โดยจะมีเสาขนาดเล็กเรียงตัวขวางการไหลเพื่อให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปสู่ช่องทางออกที่ต้องการ ซึ่งในการออกแบบนั้น เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่างเสาจะต้องมีขนาดเล็กกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค ในงานวิจัยนี้จะเป็นการคัดแยกขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 ไมโครเมตร หน้า 2 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหล 0.2 ไมโครลิตรต่อนาที ร่วมกับสารละลาย PBS ที่อัตราการไหล 0.5 ไมโครลิตรต่อนาที โดยออกแบบเสาขนาดเล็กออกเป็น 3 แบบ คือ เสาแบบกลม เสาแบบสี่เหลี่ยม และเสาแบบตัว ซึ่งผลการทดลอง (รูปที่ 2.1) พบว่าเสาแบบตัวโอมิทิศทางการเคลื่อนที่ที่แน่นอนทำให้ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงดีที่สุด โดยเสาแบบกลมและแบบสี่เหลี่ยมนั้นไม่สามารถคาดเดาทิศทางการเคลื่อนที่ได้ เนื่องจากรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีลักษณะกลมแบนทำให้เมื่อชนกับเสาแบบกลมและแบบสี่เหลี่ยมจะเกิดการเคลื่อนที่แบบไม่เป็นระเบียบ



รูปที่ 2.1 การเคลื่อนที่ของอนุภาคผ่านเสารูปทรงต่างๆ^[4]

2.1.1.2 การคัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก (Micro-scale filter microfluidic)

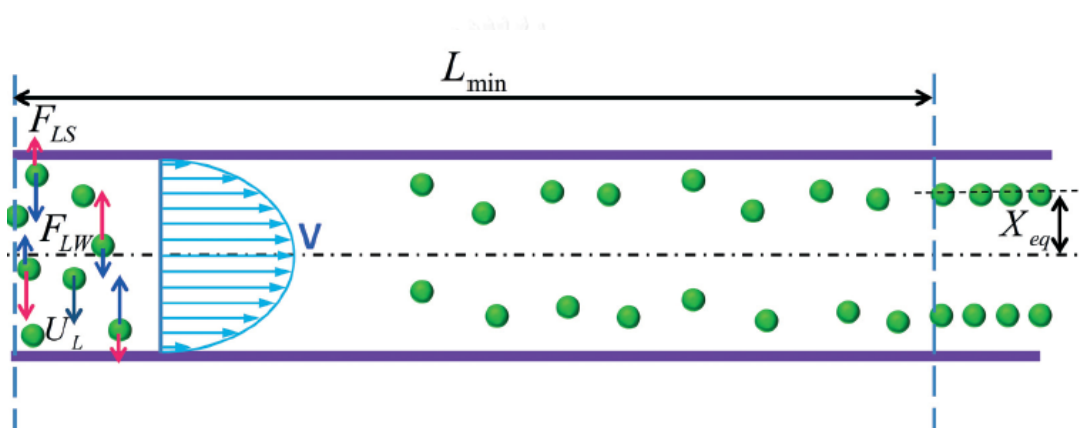
หลักการของการคัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก^[5] จะแตกต่างกันไปตามรูปร่างของตัวกรอง ซึ่งจะแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท (รูปที่ 2.2) ประเภทที่ 1 รูปร่างของตัวกรองจะมีลักษณะคล้ายเขื่อนกัน จะคัดกรองอนุภาคที่มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่ต้องการออก นิยมใช้ในการแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพไม่สูงมากนัก และพบปัญหาการอุดตันของอนุภาคภายในระบบอีกด้วย ประเภทที่ 2 ตัวกรองจะมีลักษณะเป็นเสาขนาดเล็กวางเรียงตัวเพื่อบังคับทิศทางการไหลของอนุภาคให้เคลื่อนที่ไปสู่ช่องทางออกที่ต้องการ นิยมใช้ในการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และประเภทที่ 3 มีลักษณะตัวกรองคล้ายกับแบบที่สอง แต่รูปแบบการไหลจะตั้งฉากกับตัวกรอง เพื่อลดปัญหาการอุดตันภายในระบบ และยังสามารถแยกขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันได้ โดยจะออกแบบขนาดช่องว่างระหว่างตัวกรองให้มีขนาดใหญ่กว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติ ทำให้อนุภาคขนาดเล็กถูกคัดแยกไปสู่ช่องการไหลด้านข้าง และอนุภาคขนาดใหญ่จะถูกคัดแยกไปสู่ช่องการไหลตรงกลาง



รูปที่ 2.2 การคัดแยกอนุภาคด้วยตัวกรองแบบต่าง (ก) แบบเขื่อนกัน (ข) แบบเสาขนาดเล็ก (ค) แบบการไหลตั้งฉากตัวกรอง^[5]

2.1.1.3 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย (Inertial microfluidics)

หลักการการทำงานของ การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย^[6] จะอาศัยการเรียงตัวของอนุภาค ภายในท่อขนาดเล็กโดยออกแบบรูปร่างของท่อ และทิศทางการไหลทำให้เกิดตำแหน่งการเรียงตัวของอนุภาคที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลมาจากสมดุลของแรง 2 แรงที่กระทำกับอนุภาค คือ แรงยกเกรเดียนต์ (F_{LS} , shear gradient lift force) และ แรงยกจากผนัง (F_{LW} , wall induced lift force) ดังรูปที่ 2.3 โดยตำแหน่งการเรียงตัวของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคนั้นๆ เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อยจะมีอัตราการไหลที่ต่ำ แต่จะมีความเค้นเฉือน (shear stress) ที่กระทำกับอนุภาค มากกว่าการแยกขนาดโดยใช้ฟิวเตอร์ต่างๆไป นิยมใช้ในการแยกขนาดเซลล์เม็ดเลือดแดง และ เซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ



รูปที่ 2.3 สมดุลของแรงยกเกรเดียนต์ (F_{LS} , shear gradient lift force) และ แรงยกจากผนัง (F_{LW} , wall induced lift force) ^[6]

2.1.2 กลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอก

การคัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอกนั้นจะอาศัยคุณสมบัติภายในของอนุภาค เช่น ขั้วทางไฟฟ้า หรือแรงแม่เหล็ก โดยจะใช้แรงภายนอกในการเหนี่ยวนำอนุภาคให้เกิดการเคลื่อนที่ไปในทิศทางที่ต้องการ ตัวอย่างเช่น การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงทางไฟฟ้า (Dielectrophoresis microfluidic) ^[19] และการคัดแยกขนาดโดยใช้แรงแม่เหล็ก (Magnetophoretic microfluidic) ^[20] เป็นต้น

2.1.2.1 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงทางไฟฟ้า (Dielectrophoresis microfluidic)

เทคนิคนี้จะใช้สนามไฟฟ้าทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปในบริเวณที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูง โดยสนามไฟฟ้านั้นจะเป็นแบบกระแสตรงหรือกระแสสลับก็ได้ โดยอนุภาคที่ใช้คัดแยกขนาดนั้นจะต้องมีคุณสมบัติทางไฟฟ้าเป็นกลาง ประสิทธิภาพของการคัดแยกขนาดนั้นจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติ

ทางไฟฟ้าของอนุภาค คุณสมบัติทางไฟฟ้าของของไหล ขนาดของอิเล็กโทรด และความถี่ในการทำงาน โดยงานที่รับความนิยมนั้นจะเป็นการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์มะเร็ง

2.1.2.2 การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงแม่เหล็ก (Magnetophoretic microfluidic)

การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงแม่เหล็กนั้นจะอาศัยแรงจากภายนอกซึ่งคือแรงแม่เหล็กถาวร ซึ่งวางตัวทำมุมสัมพันธ์กับทิศทางการไหล ทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปด้านข้างของช่องการไหล โดยอนุภาคที่ต้องการคัดแยกนั้นจะต้องมีคุณสมบัติความเป็นแม่เหล็กภายในตัว ประสิทธิภาพการแยกอนุภาคนั้นขึ้นอยู่กับตำแหน่งการวางแม่เหล็กถาวร และความไวต่อแม่เหล็กของอนุภาค

2.2 การคัดแยกด้วยแรงเฉื่อย

จากการศึกษาหลักการการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดของเซลล์แบบต่างๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นเหมาะสมสำหรับการใช้คัดแยกเซลล์มะเร็ง เนื่องจากการที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจะทำให้คุณสมบัติของเซลล์มะเร็งนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้นการที่จะนำเซลล์มะเร็งไปวิเคราะห์ต่อไปในเชิงทางชีววิทยานั้น สามารถทำได้โดยได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ โดยการออกอุปกรณ์ที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยนี้จึงอาศัยหลักการคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย (Inertial microfluidics) มาใช้ในการออกแบบ ซึ่งสามารถแบ่งประเภทได้ตามลักษณะของท่อหน้าตัด ซึ่งหลักการทำงานจะแตกต่างกันออกไปดังนี้

2.2.1 ท่อหน้าตัดตรง (Straight channel)

หลักการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดแบบท่อหน้าตัดตรง^[6, 7] จะใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาค คือ แรงระหว่างแรงยกเกรเดียนต์ (shear gradient lift force, F_{LS}) และแรงลัพท์จากผนัง (Wall induced lift force, F_{LW}) ดังสมการที่ 2.1 และ 2.2 จะทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาค (equilibrium position) ซึ่งตำแหน่งความยาวของท่อหน้าตัดตรงนั้นจะต้องยาวเพียงพอที่อนุภาคจะเรียงตัวสู่ตำแหน่งสมดุล โดยความยาวที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาคสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.3

$$F_{LS} = \frac{f_L \rho_f u_m^2 a^3}{W} \quad (2.1)$$

$$F_{LW} = \frac{f_L \rho_f u_m^2 a^6}{W^4} \quad (2.2)$$

โดยที่ f_L คือ สัมประสิทธิ์ของการยก, ρ_f คือ ค่าความหนาแน่นของของไหล (kg/m^3), u_m คือ ความเร็วของของไหล (m/s) และ a คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (m)

$$L_{\min} = \frac{3\pi\mu D_h^3}{\rho_f u a^3} \quad (2.3)$$

$$D_h = \frac{2wh}{(w+h)} \quad (2.4)$$

โดยที่ D_h คือ เส้นผ่านศูนย์กลางไฮดรอลิกของท่อหน้าตัด (m) คำนวณได้จากสมการที่ 2.4, w คือ ความกว้างของท่อหน้าตัด (m) และ h คือ ความลึกของท่อหน้าตัด (m)

พารามิเตอร์อีกหนึ่งตัวที่สำคัญในการคัดแยกขนาดอนุภาคคือ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาค (Re_p) ซึ่งเป็นตัวแบ่งแยกว่าอนุภาคจะเคลื่อนที่ข้ามเส้นสตรีมไลน์หรือเคลื่อนที่ไปตามเส้นสตรีมไลน์ของการไหล โดยอนุภาคที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคน้อยกว่า 1 นั้นอนุภาคจะเคลื่อนที่ไปตามเส้นสตรีมไลน์ และอนุภาคที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคมากกว่า 1 นั้นอนุภาคจะเคลื่อนที่ข้ามเส้นสตรีมไลน์ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับความเร็วของการไหล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไฮดรอลิกของท่อหน้าตัด และขนาดของอนุภาค คำนวณได้จากสมการที่ 2.5

$$Re_p = Re_c \frac{a^2}{Dh^2} = \frac{\rho_f u a^2}{\mu D_h^2} \quad (2.5)$$

อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะได้รับอิทธิพลของแรงยกมากกว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก ทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาคที่แตกต่างกัน โดนอนุภาคขนาดใหญ่จะมีตำแหน่งการเรียงตัวของอนุภาคใกล้กับเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก ซึ่งตำแหน่งทางออกนั้นจะสามารถแยกอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกันได้

2.2.2 ท่อหน้าตัดแบบเกลียว (Spiral channel)

หลักการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดท่อหน้าตัดแบบเกลียว^[6, 8, 9] จะใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคที่ไหลผ่านท่อหน้าตัดที่มีความโค้ง คือ แรงดัน (Dean drag force, F_D) และแรงยก (Lift force, F_L) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.6 และ 2.7 ซึ่งแรงทั้งสองจะทำให้เกิดการไหลหมุนวนที่เรียกว่า Dean vortices คือการที่ของไหลเคลื่อนที่ผ่านท่อโค้งซึ่งจะเกิดแรงเหวี่ยงทำให้ผนังท่อด้านบนมีความเร็วสูงสุด และแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 2 ส่วน คือ การหมุนวนเข้มที่ด้านบน และการหมุนตามเข็มนาฬิกาที่ด้านล่าง

$$F_D = 3\pi\mu U_D \quad (2.6)$$

$$F_L = \frac{f_L \rho_f u^2 a^4}{D_h^2} \quad (2.7)$$

โดยที่ μ คือ ค่าความหนืดของของไหล (Ns/m^2) และ U_D คือ ความเร็วสูงสุดของการไหล (m/s)

แรงดันนั้นจะกระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่ไปกับของไหลในทิศทางตามการหมุนวนภายในท่อ และแรงยกจะกระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่ไปกับของไหลในทิศทางเข้าสู่ผนังของท่อ จากรูปที่ 2.8 ตำแหน่งที่ 1 เป็นตำแหน่งที่แรงดันและแรงยกมีทิศทางหักล้างกัน ทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาค และแบ่งกระแสของการเคลื่อนที่เป็น 2 ส่วน จากนั้นที่ตำแหน่งที่ 2 แรงดันกับแรงยกจะกระทำในทิศทางที่เสริมกันทำให้อนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่ผนังท่อทางด้านนอก ส่วนตำแหน่งที่ 3 และ 4 นั้นมีเพียงแรงดันที่กระทำกับอนุภาคเท่านั้น ซึ่งทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปตามกระแสการหมุนวน

ประสิทธิภาพของการคัดแยกขนาดโดยใช้ท่อหน้าตัดแบบเกลียวนั้นขึ้นอยู่กับค่าดีน (Dean number) คำนวณได้จากสมการที่ 2.8 โดยค่าดีนจะแปรผันตรงกับประสิทธิภาพการคัดแยกขนาดของอุปกรณ์ ดังนั้นในการออกแบบอุปกรณ์จึงจำเป็นต้องออกแบบค่าดีนที่สูง ซึ่งความเร็วสูงสุดของการไหล (U_{Dean}) นั้นจะเป็นฟังก์ชันของค่าดีนสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.9

$$De = Re_c \sqrt{\frac{D_h}{2R}} \quad (2.8)$$

$$U_{Dean} = 1.8 \times 10^{-4} De^{1.63} \quad (2.9)$$

โดยที่ Re_c คือ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของท่อหน้าตัด (m) และ R คือ รัศมีความโค้งของท่อหน้าตัด (m)

2.2.3 ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel)

หลักการการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย^[6, 12] จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนย่อ (contraction array) เป็นส่วนทางเข้าของอุปกรณ์จะมีหลักการทำงานคล้ายกับท่อหน้าตัดตรง คือ ใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคคือ แรงระหว่างแรงยก (net inertial lift force) และ แรงต้านการไหล (stokes drag force) ทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลที่แตกต่างกันของอนุภาคขนาดต่างๆ อนุภาคขนาดเล็กจะเรียงตัวอยู่ในตำแหน่งติดกับผนัง ส่วนอนุภาคที่ขนาดใหญ่กว่าจะเรียงตัวใกล้กับกึ่งกลางท่อมากกว่า ส่วนที่สองคือ ส่วนขยาย (expansion array) เป็นส่วนที่ทำให้เกิดแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 3 ทาง คือ กระแสการไหลหลัก (main flow) เป็นส่วนที่อยู่กึ่งกลางท่อของกระแสการไหลทั้งสาม เป็นส่วนที่คัดแยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกของอุปกรณ์ ต่อมาคือกระแสการไหลด้านข้าง (sheath flow) เป็นส่วนที่ใช้คัดแยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (vortex) เป็นส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค ซึ่งอนุภาคที่เข้าไปในส่วนนี้จะเกิดการหมุนวนตามกระแสการไหล โดยการออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถแยกขนาดอนุภาคตามที่ต้องการนั้นจะต้องคำนึงถึงพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดกระแสการไหลทั้ง 3 นี้ คือ ขนาดของอนุภาค (a) ความเร็วของของไหล (U) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไฮดรอลิกของท่อส่วนย่อ (D_h) ขนาดของท่อส่วนขยาย (chamber area) และอัตราส่วนความต้านทานของท่อทางออกทั้งสอง (r/R)

2.2.4 ท่อหน้าตัดแบบคดเคี้ยว (Serpentine channel)

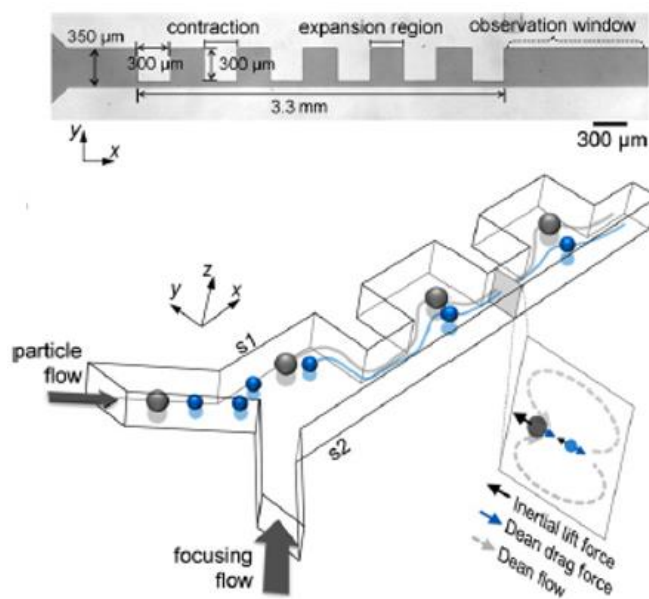
หลักการการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดท่อหน้าตัดแบบคดเคี้ยว^[6, 18] จะอาศัยแรงยก (net inertial lift force) แรงดึง (Dean drag force) และแรงเหวี่ยงของอนุภาค (particle centrifugal force) ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในช่องการไหล โดยแรงทั้ง 3 นั้นจะทำให้เกิดลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในช่องการไหลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาค อนุภาคขนาดใหญ่จะมีการเรียงตัวเข้าสู่ศูนย์กลางของช่องการไหล และอนุภาคขนาดเล็กจะมีการเรียงตัวเข้าสู่ผนังทั้ง 2 ด้านของช่องการไหล แสดงในรูปที่ 2.10 โดยลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคที่แตกต่างกันของอนุภาคทั้งสองขนาดนั้น จะทำให้สามารถแยกอนุภาคได้ที่ทางออกของอุปกรณ์

2.3 การประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์คัดแยกขนาดของเซลล์ที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายในกรณีต่างๆ

จากการศึกษาหลักการการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดของเซลล์แบบต่างๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นเหมาะสมสำหรับการใช้คัดแยกเซลล์มะเร็งมากที่สุด เนื่องจากการที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจะทำให้สมบัติของเซลล์มะเร็งนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้นการที่จะนำเซลล์มะเร็งไปวิเคราะห์ต่อไปในเชิงทางชีววิทยานั้นสามารถทำได้โดยได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ โดยในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้การคัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย (Inertial microfluidics) ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel) เนื่องจากวิธีการนี้ใช้อัตราการไหลค่อนข้างต่ำ และมีประสิทธิภาพที่ดีในการแยกเซลล์ที่มีขนาดตามที่กลุ่มวิจัยต้องการศึกษาได้ (5-20 ไมโครเมตร) โดยในบทนี้จะกล่าวถึงงานวิจัยที่ผ่านมาที่ใช้ อุปกรณ์คัดแยกขนาดเซลล์ ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย

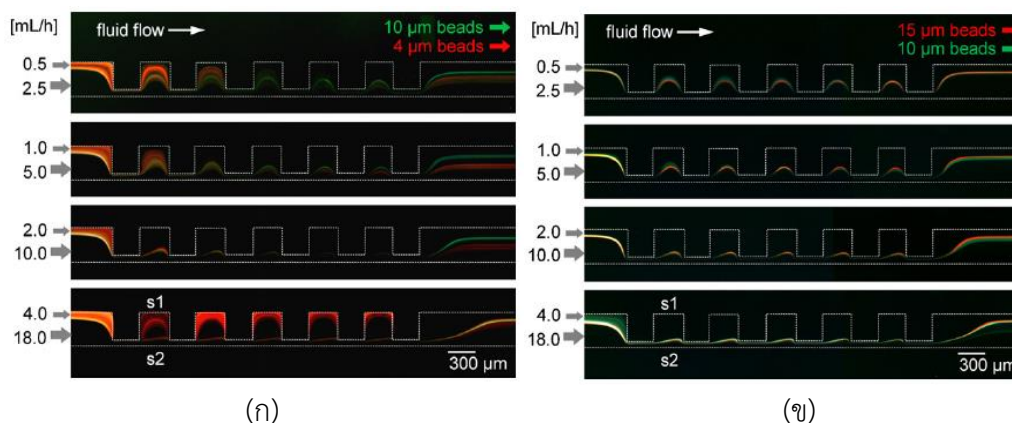
2.3.1 งานวิจัยของ Myung Gwon Lee และคณะ

ในปี ค.ศ. 2011 Myung Gwon Lee และคณะได้ศึกษาการคัดแยกอนุภาคตามขนาดโดยใช้ อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียว^[10] (รูปที่ 2.4) มีความกว้างของหน้าตัดท่อแบบย่อและขยายเท่ากับ 50 และ 350 ไมโครเมตร ความยาวของหน้าตัดท่อแบบขยายเท่ากับ 300 ไมโครเมตร ความลึกเท่ากับ 38 ไมโครเมตร มีทางเข้าแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ การไหลของอนุภาค (particle flow) และการไหลของของไหล (focusing flow) ทำการทดลองโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent polystyrene beads) สีแดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 และ 15 ไมโครเมตร และเม็ดพลาสติกแบบฟลูออเรสเซนต์สีเขียวขนาด 10 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 8.5×10^5 , 3.3×10^5 และ 6.3×10^4 อนุภาคต่อมิลลิลิตร ใช้อัตราการไหลตั้งแต่ 3 ถึง 22 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง โดยอัตราส่วนระหว่างการไหลของอนุภาค และการไหลของสารละลายเท่ากับ 1:5



รูปที่ 2.4 การแยกอนุภาคโดยใช้อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียว ^[10]

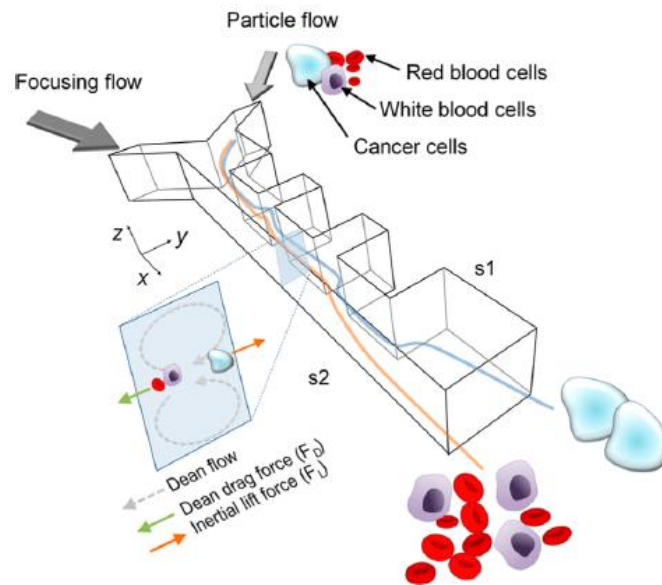
การทดลองนี้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ การแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 (สีแดง) และ 10 (สีเขียว) ไมโครเมตร และการแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 (สีเขียว) และ 15 (สีแดง) ไมโครเมตร โดยใช้อัตราการไหลตั้งแต่ 3 ถึง 22 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าการแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 (สีแดง) และ 10 (สีเขียว) ไมโครเมตร (รูปที่ 2.5ก) ที่อัตราการไหลของอนุภาค 1 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง และการไหลของสารละลาย 13.5 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงจะได้ประสิทธิภาพการแยกขนาดที่ดีที่สุด (99% สำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร และ 100% สำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร) โดยอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ผนังฝั่ง s2 และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปยังผนัง s1 และการแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 (สีเขียว) และ 15 (สีแดง) ไมโครเมตร (รูปที่ 2.5ข) ไม่สามารถแยกขนาดของอนุภาคได้ เนื่องจากอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 และ 15 ไมโครเมตรมีตำแหน่งสมดุลของอนุภาค (equilibrium position) ที่ใกล้เคียงกัน ทำให้อนุภาคถูกคัดแยกไปในเส้นทางเดียวกัน โดยอนุภาคทั้งสองขนาดจะถูกคัดแยกไปทางผนังฝั่ง s1 ทั้งหมด



รูปที่ 2.5 (ก) การแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 (สีแดง) และ 10 (สีเขียว) ไมโครเมตร (ข) การแยกอนุภาคขนาด 10 (สีเขียว) และ 15 (สีแดง) ไมโครเมตร โดยใช้อัตราการไหลตั้งแต่ 3 ถึง 22 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง^[10]

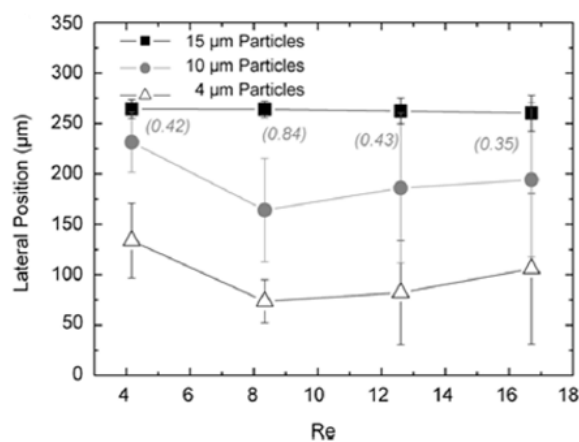
จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการคัดแยกขนาดของอนุภาคโดยใช้อุปกรณ์คัดแยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียวนั้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติของอนุภาคประมาณ 6-7 ไมโครเมตร โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะถูกคัดแยกไปยังผนังฝั่ง s2 และอนุภาคขนาดใหญ่จะถูกคัดแยกไปยังผนังฝั่ง s1 โดยอุปกรณ์สามารถคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 และ 10 ไมโครเมตร ประสิทธิภาพการคัดแยกขนาดเท่ากับ 99% และ 100% ตามลำดับ ที่อัตราการแยกขนาดเท่ากับ 111 อนุภาคต่อวินาที

ในปี ค.ศ. 2013 Myung Gwon Lee และคณะได้ศึกษาการคัดแยกเซลล์มะเร็ง และเซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ โดยอุปกรณ์การแยกขนาดมีลักษณะท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายแบบด้านเดียว^[11] (แสดงดังรูปที่ 2.6) ด้านที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะเรียกว่า ผนัง s1 และท่อหน้าตัดตรงอีกด้านจะเรียกว่าผนัง s2 อุปกรณ์การแยกขนาดมีความกว้างของหน้าตัดท่อแบบย่อและขยายเท่ากับ 50 และ 350 ไมโครเมตร ตามลำดับ ความยาวของหน้าตัดท่อแบบย่อและขยายเท่ากับ 1200 และ 700 ไมโครเมตร ตามลำดับ ความลึกเท่ากับ 63 ไมโครเมตร ไมโครเมตร และมีท่อหน้าตัดย่อและขยายทั้งหมด 6 ชุดเรียงต่อกัน มีทางเข้าแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ การไหลของอนุภาค (particle flow) และการไหลของช่องไหล (focusing flow) ทำการทดลองโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเรสเซนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4, 10 และ 15 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้น 8.5×10^5 , 6.3×10^4 และ 5.2×10^4 อนุภาคต่อมิลลิลิตร สำหรับส่วนการไหลของอนุภาค และใช้น้ำกลั่นไร้ประจุสำหรับการไหลของช่องไหล ใช้อัตราการไหลตั้งแต่ 3.1 ถึง 12.4 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 4.2 ถึง 16.7



รูปที่ 2.6 การคัดแยกอนุภาคโดยใช้อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายด้านเดียว ^[11]

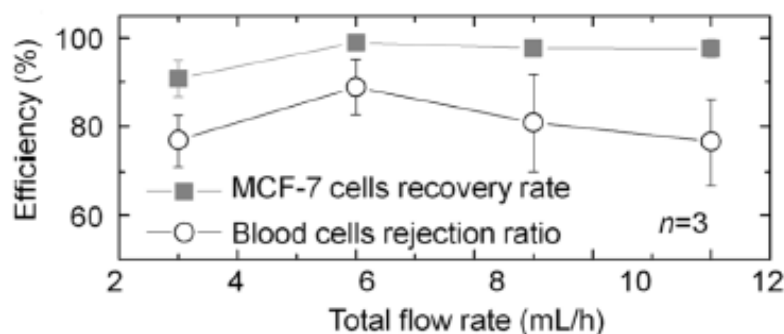
จากผลการทดลอง (รูปที่ 2.7) พบว่าตำแหน่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์น้อยกว่า 8.3 จะได้รับอิทธิพลของแรงยกมากกว่าแรงผลักจากผนัง ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคเข้าใกล้ผนัง s1 ทั้ง 3 ขนาด จากนั้นตำแหน่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 8.3 อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร จะเคลื่อนที่เข้าสู่ผนัง s2 อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะเคลื่อนที่อยู่กึ่งกลางของผนังทั้ง 2 ด้าน และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะยังเคลื่อนที่อยู่ในตำแหน่งเดิม และที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์มากกว่า 12.6 อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 และ 10 ไมโครเมตรจะเคลื่อนที่เข้าสู่ผนัง s2 โดยที่อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะยังเคลื่อนที่อยู่ในตำแหน่งเดิม



รูปที่ 2.7 ตำแหน่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคขนาดต่างๆที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 4.2, 8.3, 12.6, และ 16.7 ^[11]

การทดลองโดยใช้เซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ผสมกับเซลล์เม็ดเลือดแดงในอัตราส่วน 1:1000 ใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 4.0, 8.1, 12.1, และ 16.1 จากผลการทดลองพบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงจะเคลื่อนที่อยู่บริเวณผนัง s2 และเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 จะเคลื่อนที่อยู่บริเวณผนัง s1 และเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์มากขึ้น เซลล์ทั้งสองชนิดจะเคลื่อนที่เข้าสู่ผนัง s1 มากขึ้น จากนั้นได้ทำการทดลองโดยใช้เซลล์มะเร็งชนิด MCF-7, HCC-70 และ SKBR-3 ใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับการทดลองก่อนหน้านี้ ผลการทดลองพบว่าค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 8.1 ขึ้นไปตำแหน่งการเคลื่อนที่ของเซลล์ทั้งสามชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยเซลล์มะเร็งชนิด SKBR-3 จะเคลื่อนที่เข้าใกล้ผนัง s1 มากที่สุด

ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 และเซลล์เม็ดเลือดแดง (รูปที่ 2.8) แสดงให้เห็นว่าที่อัตราการไหลเท่ากับ 6 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 8.1) จะให้ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด เท่ากับ 99.1% และ 88.8% สำหรับการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคจะลดลงเมื่ออัตราการไหลสูงขึ้น



รูปที่ 2.8 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ที่อัตราการไหลเท่ากับ 3, 6, 9, และ 12 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ^[11]

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์สามารถคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ได้ โดยใช้อัตราการไหลเท่ากับ 6 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 8.1) จะให้ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด เท่ากับ 99.1% และ 88.8% สำหรับการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 ตามลำดับ

2.3.2 งานวิจัยของ Xiao Wang และคณะ

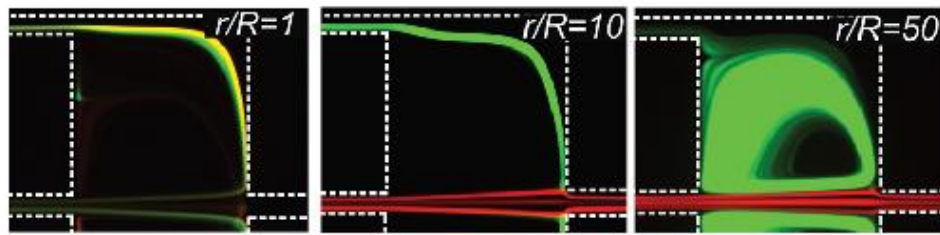
ในปี ค.ศ. 2013 Xiao Wang และคณะได้ศึกษาการคัดแยกเซลล์ตามขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวน ^[12] โดยอุปกรณ์จะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนท่อนำตัดตรง (focusing channel) มีความกว้าง 50 ไมโครเมตร ยาว 10 มิลลิเมตร และส่วนของห้อง

การไหล (chamber) มีขนาด 500x500 ไมโครเมตร ความลึกของท่อหน้าตัดตั้งอุปกรณ์เท่ากับ 100 ไมโครเมตร มีทางเข้า 1 ทาง (inlet) และทางออก 2 ทาง แบ่งเป็น ทางออกหลัก (main outlet) และทางออกรอง (side outlet) และมีการปรับอัตราส่วนความต้านทานของทางออก (r/R)

หลักการทำงานของอุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวน ที่ส่วนทางเข้าของอุปกรณ์ที่เป็นส่วนท่อหน้าตัดตรง จะใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคคือ แรงยกจากแรงเฉือน (shear gradient lift force, F_{LS}) และ แรงยกจากผนัง (wall induce lift force, F_{LW}) ทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลที่แตกต่างกันของอนุภาคขนาดต่างๆ โดยอนุภาคขนาดเล็กจะเรียงตัวอยู่ในตำแหน่งติดกับผนัง ส่วนอนุภาคที่ขนาดใหญ่กว่าจะเรียงตัวเข้าหากึ่งกลางท่อมากขึ้น จากนั้นอนุภาคจะเข้าไปในส่วนของห้องการไหล เป็นส่วนที่ทำให้เกิดแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 3 ทาง (รูปที่ 2.9) คือ กระแสการไหลหลัก (main flow) เป็นส่วนที่อยู่กึ่งกลางท่อของกระแสการไหลทั้งสาม เป็นส่วนที่แยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกของอุปกรณ์ ต่อมาคือกระแสการไหลด้านข้าง (sheath flow) เป็นส่วนที่ใช้แยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (vortex) เป็นส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค ซึ่งอัตราการไหลและอัตราส่วนความต้านทานของทางออก (r/R) จะมีผลทำให้เกิดกระแสการไหลที่แตกต่างกัน

Xiao Wang และคณะได้ทำการทดลองหาเส้นทางการไหลของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 ไมโครเมตรที่อัตราการไหลต่างๆ โดยใช้อัตราส่วนความต้านทานของทางออก (r/R) เท่ากับ 10 ผลการทดลองพบว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 44 อนุภาคจะเคลื่อนที่ไปที่ทางออกหลัก และที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 88 อนุภาคจะเคลื่อนที่ไปที่ทางออกรอง และเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์มากขึ้นอนุภาคจะเริ่มเคลื่อนที่ไปยังทางออกหลัก โดยที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 333 อนุภาคจะเคลื่อนที่ไปยังทางออกหลักทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของอนุภาคที่ทางออกหลักและทางออกรองพบว่า ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 88-133 จะสามารถแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองได้

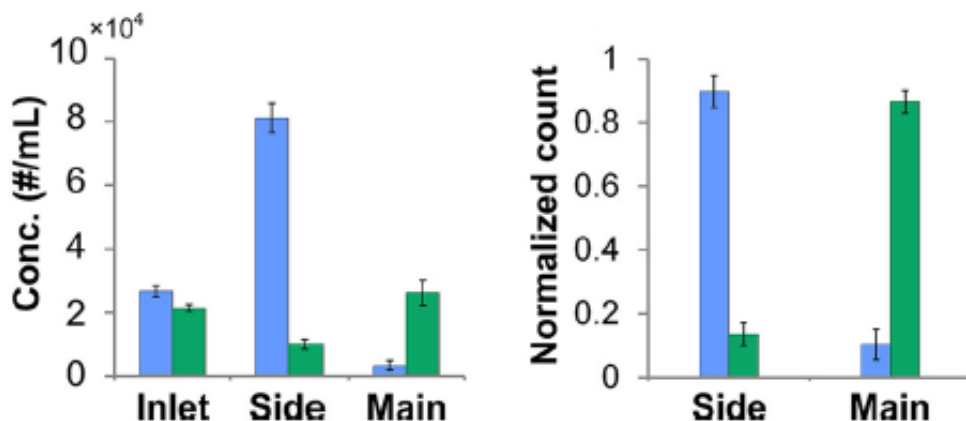
การทดลองเส้นทางการไหลโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเรสเซนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 (สีเขียว) และ 15.5 ไมโครเมตร (สีแดง) ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 1, 10 และ 50 (รูปที่ 2.9) ผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 1 อนุภาคทั้งสองขนาดจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกรอง และมีบางส่วนหมุนวนอยู่ในห้องการไหล ส่วนค่าอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 10 สามารถคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกหลัก และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกรอง และค่าอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 50 อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 ไมโครเมตรจะเคลื่อนที่หมุนวนอยู่ในห้องการไหลก่อนออกไปที่ทางออกรอง



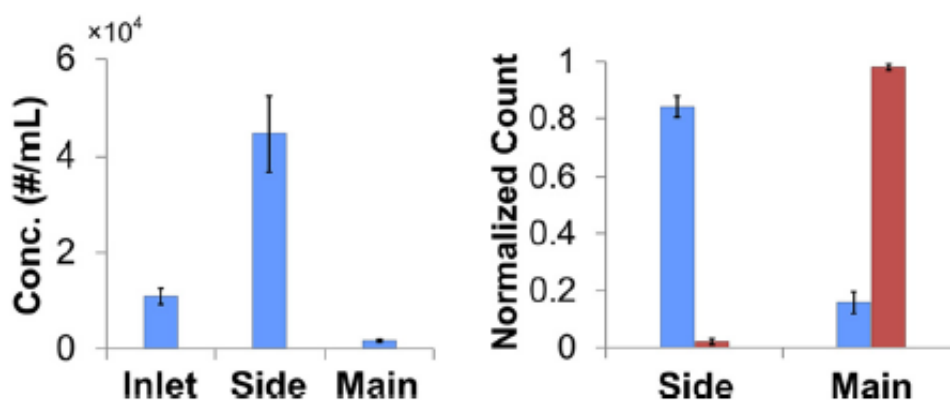
รูปที่ 2.9 การทดลองเส้นทางการไหลโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเรสเซนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 (สีเขียว) และ 15.5 ไมโครเมตร (สีแดง) ที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 1, 10 และ 50 ^[12]

การทดลองประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 และ 18.5 ไมโครเมตร ที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่ตำแหน่งทางออกต่างๆ (รูปที่ 2.10ก) ผลการทดลองพบว่า ค่าความบริสุทธิ์ (purity) ของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 ไมโครเมตรที่ทางออกหลักของอุปกรณ์จะเท่ากับ 91% และค่าความบริสุทธิ์ของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 ไมโครเมตรที่ทางออกรองของอุปกรณ์จะเท่ากับ 93% และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (Normalized count) ของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 21 ไมโครเมตรที่ทางออกหลักและทางออกรองประมาณ 90%

การทดลองประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เซลล์เม็ดเลือดแดง ผสมกับเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 ไมโครเมตร ที่ความเข้มข้นประมาณ 1×10^4 และ 1×10^6 อนุภาคต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่ตำแหน่งทางออกต่างๆ รูปที่ (2.10ข) ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (Normalized count) ของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ทางออกหลักมีค่าประมาณ 99% และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 ไมโครเมตรที่ทางออกรองประมาณ 86%



(ก)

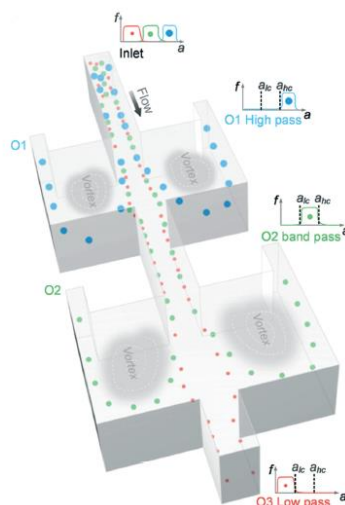


(ข)

รูปที่ 2.10 (ก) ความเข้มข้นของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 และ 18.5 ไมโครเมตร และประสิทธิภาพการคัดแยกขนาด (ข) ความเข้มข้นของอนุภาคขนาด 21 ไมโครเมตร และประสิทธิภาพการคัดแยกขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดง และอนุภาคขนาด 21 ไมโครเมตร ^[12]

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์สามารถคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 ไมโครเมตรได้ โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110 จะให้ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่ากับ 99% ที่ทางออกหลัก และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 ไมโครเมตรเท่ากับ 86% ที่ทางออกหลัก

ในปี ค.ศ. 2014 Xiao Wang และคณะได้ศึกษาการคัดแยกเซลล์ตามขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน ^[13] โดยแต่ละส่วนของอุปกรณ์จะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนท่อนำตัดตรง (focusing channel) และส่วนของห้องการไหล (chamber) มีทางเข้า 1 ทาง (inlet) และทางออก 2 ทาง แบ่งเป็น ทางออกหลัก (main outlet) และทางออกรอง (side outlet) โดยอุปกรณ์การไหลจุลภาคนี้จะประกอบด้วยกลไกการแยกแบบหมุนวนสองส่วนต่อกัน (รูปที่ 2.11) โดยส่วนแรกมีหน้าที่คัดแยกอนุภาคขนาดใหญ่ที่สุด (สีน้ำเงิน) ไปที่ทางออกที่ 1 และอนุภาคขนาดเล็ก (สีแดง) และขนาดกลาง (สีเขียว) ไปเข้าสู่กลไกการแยกแบบหมุนวนในส่วนที่สอง โดยในส่วนที่สองจะมีหน้าที่คัดแยกอนุภาคขนาดกลางไปที่ทางออกที่ 2 และอนุภาคขนาดเล็กไปที่ทางออกที่ 3 ซึ่งหลักการทำงานของกลไกการแยกแบบหมุนวนได้กล่าวไว้ในงานวิจัยก่อนหน้านี้



รูปที่ 2.11 อุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน [13]

Xiao Wang และคณะได้เริ่มทำการทดลองการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ถึง 27 ไมโครเมตร ใช้อัตราการไหลเท่ากับ 500 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110) อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 5.4 โดยอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤต (d_c) อนุภาคนั้นจะถูกคัดแยกไปยังทางออกหลัก และอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตจะถูกคัดแยกไปยังทางออกรอง ผลการทดลองพบว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ถึง 13 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลัก อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 ถึง 23 จะถูกคัดแยกไปที่ทางออกรอง (ประสิทธิภาพมากกว่า 80%) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตของอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคเท่ากับ 14 ไมโครเมตร ซึ่งค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์และอัตราส่วนความต้านทานของทางออกจะมีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤต ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ที่สูงขึ้นจะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตลดลง ในทางกลับกันเมื่อเพิ่มอัตราส่วนความต้านทานของทางออกจะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตเพิ่มขึ้น

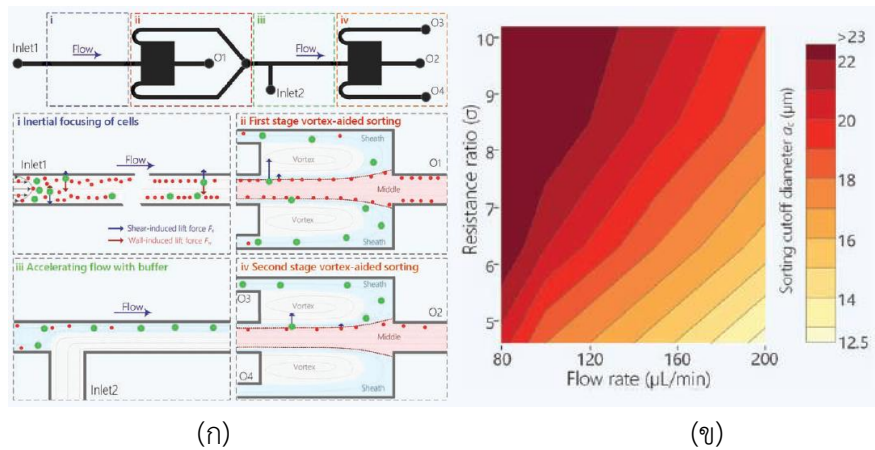
การทดลองการคัดแยกอนุภาคตามขนาดโดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15, 18.5 และ 21 ไมโครเมตร โดยส่วนแรกใช้อัตราการไหลเท่ากับ 525 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 116) และอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 4 และส่วนที่สองใช้อัตราการไหลเท่ากับ 350 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 77) และอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 5.6 ผลการทดลองพบว่าอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตในส่วนแรกเท่ากับ 20 ไมโครเมตร และ 17 ไมโครเมตรในส่วนที่สอง โดยประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ทางออกต่างๆจะเท่ากับ 78%, 87% และ 99% ตามลำดับ

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์สามารถคัดแยกเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15, 18.5 และ 21 ไมโครเมตรได้ โดยส่วนแรกใช้อัตราการไหลเท่ากับ 525 ไมโครลิตรต่อ

นาที (ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 116) และอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 4 และส่วนที่สองใช้อัตราการไหลเท่ากับ 350 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 77) และอัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 5.6 อุปกรณ์คัดแยกอนุภาคมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตในส่วนแรกเท่ากับ 20 ไมโครเมตร และ 17 ไมโครเมตรในส่วนที่สอง โดยประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ทางออกต่างๆจะเท่ากับ 78%, 87% และ 99% ตามลำดับ ซึ่งสามารถปรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตได้โดยปรับค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์และอัตราส่วนความต้านทานของทางออก โดยค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ที่สูงขึ้นจะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตลดลง ในทางกลับกันเมื่อเพิ่มอัตราส่วนความต้านทานของทางออกจะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตเพิ่มขึ้น

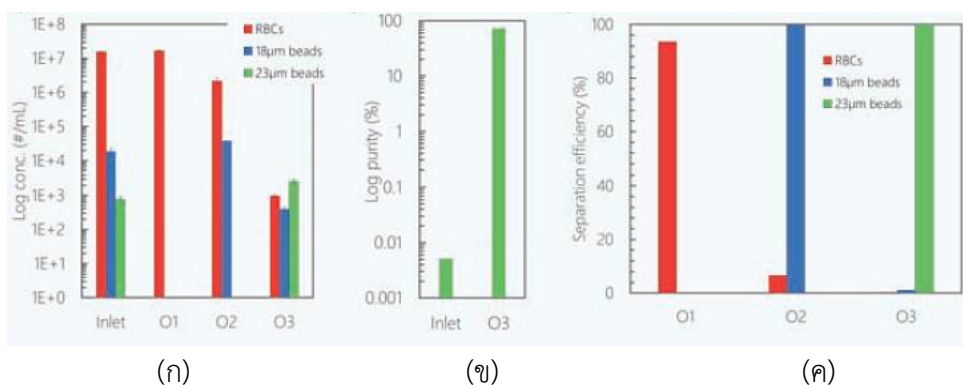
ในปี ค.ศ. 2016 Xiao Wang และคณะได้ศึกษาการคัดแยกเซลล์ตามขนาด ด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน^[14] (รูปที่ 2.12ก) ในส่วนแรกจะเป็นส่วนท่อนำที่ตัดตรง (focusing channel) มีความกว้าง 30 ไมโครเมตร ลึก 50 ไมโครเมตร ในส่วนนี้จะเป็นส่วนทางเข้าของอุปกรณ์ (inlet 1) โดยจะใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคคือ แรงยกจากแรงเฉือนและแรงยกจากผนัง ทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลที่แตกต่างกันของอนุภาคขนาดต่างๆ โดยอนุภาคขนาดเล็กจะเรียงตัวอยู่ในตำแหน่งติดกับผนัง ส่วนอนุภาคที่ขนาดใหญ่กว่าจะเรียงตัวเข้าหาที่กึ่งกลางท่อมากขึ้น จากนั้นจะเข้าไปสู่ส่วนที่สอง คือส่วนของห้องการไหลขนาดเล็ก (micro chamber) มีขนาด 500x500 ไมโครเมตร เป็นส่วนที่ทำให้เกิดแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 3 ทาง คือ กระแสการไหลหลัก (main flow) เป็นส่วนที่อยู่กึ่งกลางท่อของกระแสการไหลทั้งสาม เป็นส่วนที่แยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกของอุปกรณ์ (O1) ต่อมาคือกระแสการไหลด้านข้าง (sheath flow) เป็นส่วนที่ใช้แยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (vortex) เป็นส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค หลังจากนั้นในส่วนที่สาม อนุภาคที่ทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ในส่วนที่สองจะถูกส่งต่อไปในห้องการไหลขนาดเล็ก โดยมีช่องทางการไหลที่ใช้สำหรับปรับอัตราการไหลที่ด้านข้าง (inlet 2) หลักจากที่ปรับอัตราการไหลแล้วอนุภาคที่เหลือทั้งหมดจะเข้าไปยังส่วนที่สี่ คือส่วนของห้องการไหลจะใช้หลักการเดียวกันกับห้องการไหลในส่วนที่สอง แยกอนุภาคที่มีขนาดเล็กไปยังทางออกกึ่งกลาง (O2) และแยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้าง (O3)

Xiao Wang และคณะได้เริ่มทำการทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตของอนุภาค โดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 ถึง 23 ไมโครเมตร ที่อัตราการไหลตั้งแต่ 80-200 ไมโครลิตรต่อนาที และอัตราส่วนความต้านทานตั้งแต่ 4.3 ถึง 10.2 อุปกรณ์สามารถคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตตั้งแต่ 12.5 ถึง 23 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.12ข) ที่อัตราการไหลและอัตราส่วนความต้านทานที่ใช้ในการทดลอง โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตจะมีค่ามากขึ้นเมื่อปรับอัตราส่วนความต้านทานสูงขึ้น ในทางกลับกันหากต้องการเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤตให้มากขึ้นต้องปรับอัตราการไหลให้ต่ำลง



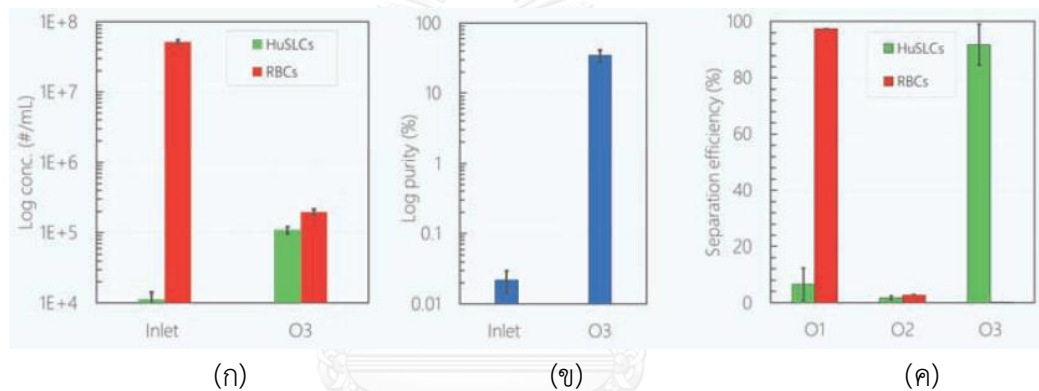
รูปที่ 2.12 (ก) อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่ใช้กลไกการแยกแบบหมุนวนหลายส่วน (ข) แผนที่แสดงเส้นชั้นความสูงของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติของอนุภาคที่อัตราการไหลตั้งแต่ 80-200 ไมโครลิตรต่อนาที และอัตราส่วนความต้านทานตั้งแต่ 4.3 ถึง 10.2 ^[14]

การทดลองการคัดแยกขนาดอนุภาคโดยใช้เซลล์เม็ดเลือดแดง และเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 23 ไมโครเมตรใช้เป็นอนุภาคในการทดลอง ความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดง และเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 23 ไมโครเมตรประมาณ 1.5×10^7 , 18,000 และ 700 อนุภาคต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ที่อัตราการไหลในส่วนที่ 1 และส่วนที่ 2 เท่ากับ 190 และ 90 ไมโครลิตรต่อนาทีตามลำดับ ผลการทดลอง (รูปที่ 2.13) พบว่าความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ทางออกที่ 2 และทางออกที่ 3 จะมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ทางเข้า ค่าความบริสุทธิ์ของอนุภาคขนาด 23 ไมโครเมตรที่ทางออกที่ 3 จะเท่ากับ 71% และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 23 ไมโครเมตรประมาณ 99% ทั้งสองขนาด และประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงประมาณ 99.998%



รูปที่ 2.13 (ก) ความหนาแน่นของอนุภาคที่ทางออกต่างๆ (ข) ค่าความบริสุทธิ์ของอนุภาคขนาด 23 ไมโครเมตรที่ทางออกที่ 3 (ค) ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18.5 และ 23 ไมโครเมตรที่ทางออกต่างๆ ^[14]

การทดลองการคัดแยกขนาดอนุภาคโดยใช้เซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์ต้นกำเนิด เซลล์มะเร็งของมนุษย์ (HuSLCs) ใช้เป็นอนุภาคในการทดลอง ความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ ประมาณ 1.5×10^7 และ 1000 อนุภาคต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ที่อัตราการไหลในส่วนที่ 1 และส่วนที่ 2 เท่ากับ 200 และ 90 ไมโครลิตรต่อนาทีตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ทางออกที่ 3 จะมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ทางเข้า (รูปที่ 2.14ก) ค่าความบริสุทธิ์ของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกที่ 3 จะเพิ่มขึ้นจากที่ทางเข้าประมาณ 1,500 เท่า (รูปที่ 2.14ข) และประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ประมาณ 90% ที่ทางออกที่ 3 และประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงประมาณ 98% ที่ส่วนที่ 1 (คัดแยกไปที่ทางออกที่ 1) และ 99.97% ที่ส่วนที่ 2 (คัดแยกไปที่ทางออกที่ 2) (รูปที่ 2.14ค)



รูปที่ 2.14 (ก) ความหนาแน่นของเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกต่างๆ (ข) ค่าความบริสุทธิ์ของเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกที่ 3 (ค) ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์ต้นกำเนิดเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่ทางออกต่างๆ ^[14]

2.3.3 งานวิจัยของ Jae-Sung Park และคณะ

ในปี ค.ศ. 2008 Jae-Sung Park และคณะได้ศึกษาการคัดแยกอนุภาคขนาดเล็ก (ประมาณ 7 ไมโครเมตร) โดยใช้อุปกรณ์แยกขนาดที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย ^[15] โดยอาศัยลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็กเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดเส้นทางการไหลของอนุภาคที่แตกต่างกัน ซึ่งในการทดลองนั้นได้ทำการออกแบบลักษณะของท่อหน้าตัดออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนท่อหน้าตัดตรง (straight square microchannel) และส่วนท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายแบบหลายส่วน (multi-orifice microchannel) ในส่วนท่อหน้าตัดตรงจะมีความกว้าง (W_s) เท่ากับ 40 ไมโครเมตร และมีความยาว (L_s) ตั้งแต่ 0.5 ถึง 3.0 มิลลิเมตร และที่ทางออกของท่อหน้าตัดแบบตรงจะมีความกว้าง (W_f) เท่ากับ 800 ไมโครเมตร โดยความลึกของอุปกรณ์จะเท่ากับ 50 ไมโครเมตร

และส่วนท่อน้ำตัดแบบย่อและขยายแบบหลายส่วนจะมีความกว้างของส่วนย่อ (W_c) และส่วนขยาย (W_e) เท่ากับ 40 และ 200 ไมโครเมตรตามลำดับ โดยชุดของท่อน้ำตัดแบบย่อและขยายทั้งหมด 80 ชุดต่อกัน มีความยาวทั้งหมด (L_o) เท่ากับ 24 มิลลิเมตร โดยในการทดลองนั้นจะใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 ไมโครเมตรผสมกับน้ำ มีความหนาแน่นของอนุภาคเท่ากับ $1.5-4.5 \times 10^4$ อนุภาคต่อไมโครลิตร

ในส่วนแรกได้ทดลองการกระจายตัวของอนุภาคภายในอุปกรณ์ที่มีลักษณะแบบท่อน้ำตัดตรง มีการปรับขนาดความยาวของท่อ (L_s) เท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, และ 3 มิลลิเมตร และค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาค (Re_p) โดยการวัดการกระจายตัวของอนุภาค (PD) จะสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.10 เมื่อ x_i คือจำนวนของอนุภาคที่ตำแหน่งด้านข้างของท่อน้ำตัดทั้ง 2 ด้าน และ $\sum x_i$ คือ จำนวนของอนุภาคทั้งหมด

$$PD = \frac{x_i}{\sum x_i} \times 100(\%) \quad (2.10)$$

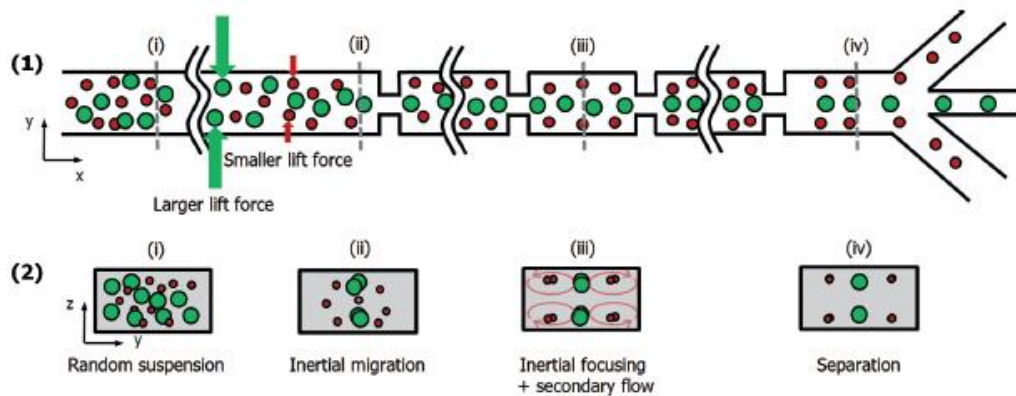
จากผลการทดลอง พบว่าที่ความยาวของท่อน้ำตัดตรงมากกว่า 2 มิลลิเมตรจะเกิดการกระจายตัวของอนุภาคได้ดีที่บริเวณผนังทั้ง 2 ด้าน ($0.6-0.7 r'$) และมีการกระจายตัวน้อยที่บริเวณจุดกึ่งกลางของท่อน้ำตัด โดยลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคในกรณีที่ใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคน้อยกว่า 1 จะทำให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคคงที่ (ความกว้างของการกระจายตัวไม่เกิน 80 ไมโครเมตร) มากกว่ากรณีที่ใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์

ในส่วนที่ 2 ได้ทดลองการกระจายตัวของอนุภาคภายในอุปกรณ์ที่มีลักษณะแบบแบบย่อและขยายแบบหลายส่วน โดยปรับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคตั้งแต่ 0.39-3.88 จากผลการทดลองพบว่า ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคเท่ากับ 0.78-2.33 บริเวณที่มีการกระจายตัวของอนุภาคต่ำนั้นจะอยู่กึ่งกลางของท่อน้ำตัด ($-0.25 < r' < 0.25$) และบริเวณที่มีการกระจายตัวของอนุภาคสูงนั้นจะอยู่ด้านข้างทั้ง 2 ด้านของท่อน้ำตัด ($r' < -0.75$ และ $r' > 0.75$) และค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคเท่ากับ 3.1-3.49 อนุภาคส่วนใหญ่จะมีการกระจายตัวสูงที่บริเวณกึ่งกลางของท่อน้ำตัด

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์คัดแยกขนาดที่มีท่อน้ำตัดแบบย่อและขยายแบบหลายส่วน (multi-orifice microchannel) สามารถแยกเส้นทางการไหลของอนุภาคที่ทางออกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนด้านข้างของท่อน้ำตัด ($\sim 0.6r'$) และส่วนกึ่งกลางของท่อน้ำตัด โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของอนุภาคประมาณ 0.8-2.3 และ 3.0-3.5 ตามลำดับ

2.3.4 งานวิจัยของ Zhenlong Wu และคณะ

ในปี ค.ศ. 2015 Zhenlong Wu และคณะได้ทำการศึกษาการคัดแยกเซลล์ตามขนาดโดยใช้อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดตรงพร้อมกับห้องการไหลขนาดเล็กแบบต่อเนื่อง (รูปที่ 2.15) โดยหลักการทำงานของอุปกรณ์จะแบ่งออกเป็น 4 ช่วง คือ ช่วงแรกที่ทางเข้าของอุปกรณ์ อนุภาคที่เข้ามาจะเกิดการเรียงตัวแบบสุ่ม หลังจากนั้นช่วงที่ 2 ก่อนที่อนุภาคจะไหลเข้าสู่ห้องการไหลขนาดเล็ก (microstructures) อนุภาคจะเกิดการเรียงตัวในตำแหน่งสมดุล โดยจะได้รับอิทธิพลมาจากแรงยก (lift force) ซึ่งจะแปรผันตามขนาดของอนุภาค อนุภาคขนาดใหญ่จะได้รับอิทธิพลของแรงยกมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก อนุภาคขนาดใหญ่จึงเกิดการเรียงตัวที่ตำแหน่งเข้าสู่ศูนย์กลางของท่อหน้าตัด หลังจากนั้นในช่วงที่ 3 เมื่ออนุภาคเคลื่อนที่ผ่านห้องการไหลขนาดเล็กห้องถัดไปเรื่อยๆ อนุภาคขนาดเล็กจะได้รับอิทธิพลจากการไหลทุติยภูมิ (secondary flow) ทำให้เกิดการเรียงตัวเข้าสู่ผนังทั้งสองด้านของท่อหน้าตัด สุดท้ายในส่วนที่ 4 ที่ทางออกของอุปกรณ์อนุภาคขนาดใหญ่จะถูกแยกออกไปที่ทางออกในส่วนกลาง และอนุภาคขนาดเล็กจะถูกแยกออกไปที่ทางออกด้านข้างทั้งสองด้าน



รูปที่ 2.15 หลักการทำงานของอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดตรงพร้อมกับห้องการไหลขนาดเล็กแบบต่อเนื่อง [16]

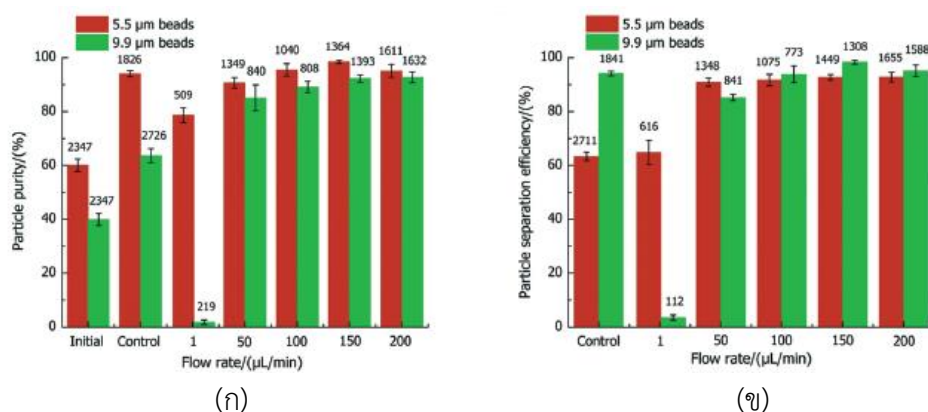
Zhenlong Wu และคณะได้เริ่มทำการทดลองลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคที่มีขนาดและค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ โดยท่อหน้าตัดตรงของอุปกรณ์มีความกว้าง 120 ไมโครเมตร ยาว 0.5 เซนติเมตร ประกอบกับห้องการไหลขนาดเล็กหลายๆห้องลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 45 ไมโครเมตร มีระยะระหว่างห้องการไหล 500 ไมโครเมตร ยาวทั้งหมด 2 เซนติเมตร มีทางออก 3 ทาง ขนาดความกว้าง 125, 30 และ 125 ตามลำดับ และความลึกทั้งหมดของอุปกรณ์เท่ากับ 21 ไมโครเมตร ทำการทดลองโดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.8, 5.5, 6.8, 7.9, 9.9 และ 13 ไมโครเมตร ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 0.24, 5.9, 11.8, 23.7, 35.5 และ 47.3 ผลการทดลองพบว่า ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 0.24 การเรียงตัวของอนุภาคจะยังไม่คงที่ เนื่องจากยังไม่ได้รับอิทธิพลของแรงยก และการไหลทุติยภูมิ และเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้น อนุภาคที่มีขนาดเส้น

ผ่านศูนย์กลางต่ำกว่า 6.8 ไมโครเมตรจะเกิดการเรียงตัวเข้าสู่ผนังทั้งสองด้านของท่อหน้าตัด และอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่า 9.9 ไมโครเมตรจะเกิดการเรียงตัวเข้าสู่กึ่งกลางของท่อหน้าตัด

หลักจากนั้นได้ทำการทดลองการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 และ 9.9 ไมโครเมตรที่อัตราการไหลเท่ากับ 1, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครลิตรต่อนาที ผลการทดลองพบว่า (รูปที่ 2.16ก) ที่อัตราการไหลเท่ากับ 150 ไมโครลิตรต่อนาทีจะได้ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 ไมโครเมตรมีค่าความบริสุทธิ์ และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (ทางออกด้านข้าง) เท่ากับ 92.3% และ 98.3% ตามลำดับ และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.9 ไมโครเมตรมีค่าความบริสุทธิ์ และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (ทางออกตรงกลาง) เท่ากับ 98.4% และ 92.8% ตามลำดับ

การทดลองการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ แบ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดง แขนอนุภาคขนาดเล็ก และเซลล์เม็ดเลือดขาวแทนอนุภาคขนาดใหญ่ ที่อัตราการไหลเท่ากับ 1, 50, 100, 150 และ 200 ไมโครลิตรต่อนาที ผลการทดลองพบว่า (รูปที่ 2.16ข) ที่อัตราการไหลเท่ากับ 150 ไมโครลิตรต่อนาทีจะได้ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (ทางออกด้านข้าง) เท่ากับ 99.6% และ 99.8% ตามลำดับ และเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีค่าความบริสุทธิ์ และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (ทางออกตรงกลาง) เท่ากับ 91.0% และ 89.7% ตามลำดับ

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดตรงพร้อมกับห้องการไหลขนาดเล็กแบบต่อเนื่องสามารถคัดแยกอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5.5 และ 9.9 ไมโครเมตรออกจากกันได้ โดยใช้อัตราการไหลเท่ากับ 150 ไมโครลิตรต่อนาที ประสิทธิภาพเท่ากับ 98.3% และ 92.8% ตามลำดับ และสามารถคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากกันได้ โดยใช้อัตราการไหลเท่ากับ 150 ไมโครลิตรต่อนาที ประสิทธิภาพเท่ากับ 99.8% และ 89.7% ตามลำดับ



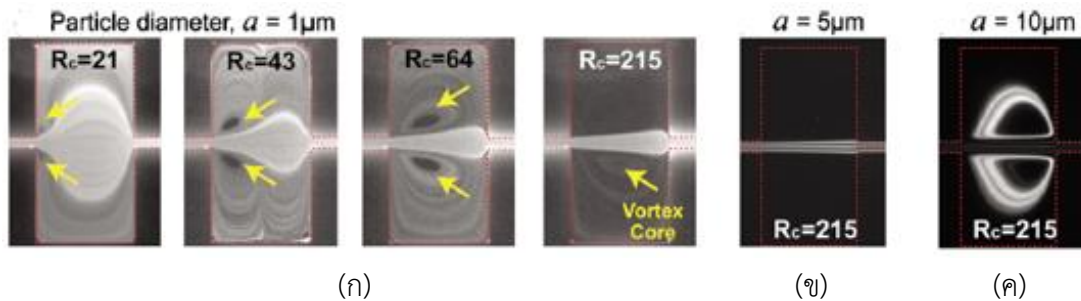
รูปที่ 2.16 (ก) ค่าความบริสุทธิ์ (particle purity) และ (ข) ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (particle separation efficiency) ที่อัตราการไหลต่างๆ^[16]

2.3.5 งานวิจัยของ Soojung Claire Hur และคณะ

อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายนั้นนอกจากการนำไปใช้ในการคัดแยกอนุภาคแล้ว ในปี 2011 Soojung Claire Hur และคณะก็ได้ศึกษาการดักจับเซลล์โดยใช้อุปกรณ์การไหลจุลภาค^[17] มีลักษณะของห้องการไหลขนาดเล็ก (trapping reservoir) จะวางตัวสลับฝั่งระหว่างท่อหน้าตัดตรง จำนวน 80 ห้อง โดยอนุภาคที่มีขนาดใหญ่จะถูกผลักเข้าไปในห้องการไหลขนาดเล็ก และหมวนวนอยู่ภายใน ส่วนอนุภาคขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ตรงไปตามท่อหน้าตัดตรง ขนาดของท่อหน้าตัดตรงมีความกว้าง 50 ไมโครเมตร ยาว 4.5 เซนติเมตร และลึก 70 ไมโครเมตร ขนาดห้องการไหลขนาดเล็กกว้าง 400 ไมโครเมตร ยาว 400 ไมโครเมตร ทางเข้าของอุปกรณ์แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ทางเข้าของอนุภาค (sample) และทางเข้าของสารละลาย (flush) ใช้ fluorescent polystyrene bead ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1, 5 และ 10 ไมโครเมตรผสมกับน้ำกลั่น (deionized water) ในอัตราส่วน 0.1% w/v ในการทดสอบลักษณะการหมวนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก และใช้เซลล์มะเร็งชนิด HeLa (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 12.4 ไมโครเมตร) และ MCF7 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 20 ไมโครเมตร) ผสมกับเซลล์เม็ดเลือดที่อัตราส่วน 1:100 ความหนาแน่นของเซลล์มะเร็งเท่ากับ 202,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองการดักจับเซลล์มะเร็ง

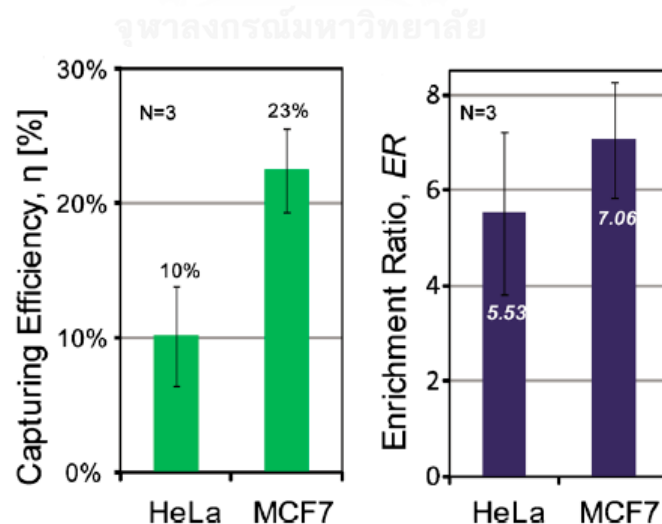
การทดลองเริ่มจากการทดสอบลักษณะการหมวนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็กโดยใช้อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ไมโครเมตร ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ (Re_c) ตั้งแต่ 21 ถึง 215 (รูปที่ 2.17ก) ผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์มากขึ้นจะทำให้ขนาดของการหมวนวนขยายใหญ่ขึ้น โดยที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 215 จะทำให้เกิดการหมวนวนเต็มพื้นที่ของห้องการไหลขนาดเล็ก ต่อมาได้ทำการทดลองโดยใช้อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 215 พบว่า อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะเคลื่อนที่ตรงไปตามท่อหน้าตัดตรง และจะไม่ถูกแยกเข้าไปในส่วนของห้องการไหลขนาดเล็ก ส่วนอนุภาค

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะถูกผลักเข้าไปในห้องการไหลขนาดเล็ก และหมุนวนอยู่ภายใน (รูปที่ 2.17ข-ค)



รูปที่ 2.17 (ก) ลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก (ข) ลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็กโดยใช้อุณหภูมิขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร และ (ค) 10 ไมโครเมตร ^[17]

หลังจากที่ทดสอบลักษณะการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็กแล้ว ได้ทำการทดลองหาประสิทธิภาพการดักจับเซลล์มะเร็งของอุปกรณ์ ใช้เซลล์มะเร็งชนิด HeLa (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 12.4 ไมโครเมตร) และ MCF7 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 20 ไมโครเมตร) ในการทดลอง ที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 270 ผลการทดลอง (รูปที่ 2.18) พบว่า เซลล์มะเร็งชนิด HeLa มีประสิทธิภาพ (η) และอัตราส่วนของจำนวนเซลล์มะเร็งต่อเซลล์เม็ดเลือดของทางเข้าต่อทางออก (ER) เท่ากับ 10% และ 5.53 ตามลำดับ และเซลล์มะเร็งชนิด MCF7 มีประสิทธิภาพ (η) และอัตราส่วนของจำนวนเซลล์มะเร็งต่อเซลล์เม็ดเลือดของทางเข้าต่อทางออก (ER) เท่ากับ 23% และ 7.06 ตามลำดับ



รูปที่ 2.18 ประสิทธิภาพ (η) และอัตราส่วนของจำนวนเซลล์มะเร็งต่อเซลล์เม็ดเลือดของทางเข้าต่อทางออก (ER) ของเซลล์มะเร็งชนิด HeLa และ MCF7 ^[17]

จากการศึกษาบทความเกี่ยวกับการคัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.1 ซึ่งในงานส่วนใหญ่จะแบ่งลักษณะการคัดแยกอนุภาคออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ การคัดแยกอนุภาคโดยใช้ห้องการไหลขนาดเล็กต่อกัน (Inertial sorting) และการคัดแยกอนุภาคโดยใช้การหมุนวนภายในห้องการไหล (Vortex sorting) ซึ่งทั้งสองประเภทนั้นจะมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมีค่ามากกว่า 86% แต่เนื่องจากการคัดแยกอนุภาคโดยใช้การหมุนวนภายในห้องการไหลนั้นจะสามารถคัดแยกอนุภาคได้ออกเป็น 3 ขนาด ด้วยเหตุผลนี้จึงออกแบบอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคโดยใช้หลักการหมุนวนภายในห้องการไหล ซึ่งตัวแปรต่างๆที่ใช้ในการออกแบบอุปกรณ์ เช่น ขนาดพื้นที่ของท่อหน้าตัด, อัตราการไหล และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์โดยตรง ดังนั้นการออกแบบอุปกรณ์นั้นควรที่จะเลือกตัวแปรต่างๆให้เหมาะสมสำหรับการคัดแยกอนุภาคตามขนาดตามที่กลุ่มวิจัยต้องการศึกษา



ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบวิธีการคัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ที่มีช่องทางตัดแบบเอและซายาย

Author	Myung Gwon Lee, Sungyoung Choi and Je-Kyun Parka [10]	Myung Gwon Lee, Joong Ho Shin, Chae Yun Bae, Sungyoung Choi and Je-Kyun Park [11]	Xiao Wang, Jian Zhou, and Ian Papautsky [12]	Xiao Wang and Ian Papautsky [13]	Xiao Wang, Xiaodi Yang and Ian Papautsky [14]	Jae-Sung Park, Suk-Heung Song and Hyo-Il Jung [15]	Zhenlong Wu, Yu Chen, Moran Wang and Aram J. Chung [16]	Soojung Claire Hur, Albert J. Mach, and Dino Di Carlo [17]
Years	2011	2013	2013	2014	2016	2008	2015	2011
Separation principle	inertial sorting	inertial sorting	vortex sorting	vortex sorting	vortex sorting	multi-orifice microfluidic	inertial sorting	inertial sorting
Cross section (μm)	50 x 38	50 x 63	50 x 100	50 x 100	30 x 50	40 x 50	120 x 21	50 x 70
Number of Micro chamber	5	6	1	2	2	80	-	80
Type of particles	fluorescent polystyrene beads	RBC and MCF7	RBC and polystyrene bead	polystyrene beads	RBC and HuSLCs	polystyrene bead	RBC and WBC	HeLa and MCF7
Size (μm)	4, 10 and 15	5 and 20	5, 18.5 and 21	15, 18.5 and 21	18.5 and 23	7	5.5 and 9.9	12.4 and 20
Reynolds number	-	4.0-16.1	110	116	4.0-16.1	0.39-1.94	-	270
Flow rate	3-22 mL/hr.	-	-	525 $\mu\text{L}/\text{min}$.	190 and 90 $\mu\text{L}/\text{min}$.	-	150 $\mu\text{L}/\text{min}$.	-
Resistant ratio	-	-	10	5.6	7	-	-	-
Efficiency	99-100%	88.8-91.1%	86-99%	78-99%	90-98%	-	89.7-91.0%	-

2.4 สรุปผล

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตัดแยกเซลล์มะเร็งออกเป็นกลุ่มที่มีขนาดแตกต่างกัน เพื่อนำเซลล์มะเร็งตามขนาดมาเพาะเลี้ยงและศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ต่อไปในอนาคต ซึ่งอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่สามารถนำไปใช้ในการตัดแยกเซลล์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่ใช้เทคนิคการตัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอก และกลุ่มที่ใช้เทคนิคการตัดแยกขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอก ซึ่งจากการศึกษาหลักการทำงานของอุปกรณ์ตัดแยกขนาดของเซลล์แบบต่างๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เทคนิคการตัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นเหมาะสมสำหรับการใช้ตัดแยกเซลล์มะเร็ง เนื่องจากการที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจะทำให้คุณสมบัติของเซลล์มะเร็งนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้นการที่จะนำเซลล์มะเร็งไปวิเคราะห์ต่อไปในเชิงทางชีววิทยานั้นสามารถทำได้โดยได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ

การตัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นจะอาศัยการไหลภายในท่อขนาดเล็กที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ โดยลักษณะของท่อและหลักการที่ใช้ในการตัดแยกขนาดอนุภาคจะแตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น การตัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็ก การตัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก และการตัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อย เป็นต้น ซึ่งวิธีการตัดแยกขนาดโดยใช้เสาขนาดเล็กและการตัดแยกขนาดโดยใช้ตัวกรองขนาดเล็ก อนุภาคจะต้องเคลื่อนที่ผ่านเสาขนาดเล็กหรือตัวกรองขนาดเล็กที่มีขนาดของช่องว่างให้อนุภาคเคลื่อนที่ในพื้นที่ที่จำกัด ทำให้ไม่สามารถตัดแยกอนุภาคที่มีความหนาแน่นสูงได้ เนื่องจากจะทำให้เกิดการอุดตันภายในอุปกรณ์ได้ง่าย ซึ่งการตัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อยนั้นจะสามารถตัดแยกอนุภาคที่มีความหนาแน่นสูงได้ดีกว่าการตัดแยกแบบอื่นๆ ดังนั้นเพื่อที่จะลดข้อจำกัดต่างๆในการตัดแยกขนาดของอุปกรณ์ ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้การตัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อยในการออกแบบอุปกรณ์

จากการศึกษางานวิจัยในอดีตอุปกรณ์การไหลจุลภาคกลุ่มที่ใช้เทคนิคการตัดแยกขนาดโดยใช้แรงเฉื่อยนั้นสามารถแบ่งประเภทตามลักษณะของอุปกรณ์ได้เป็น 4 ประเภท คือ ท่อหน้าตัดตรง (Straight channel) ท่อหน้าตัดแบบเกลียว (Spiral channel) ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel) และท่อหน้าตัดแบบคดเคี้ยว (Serpentine channel) ซึ่งในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเลือกใช้ท่อหน้าตัดแบบเกลียวจะต้องใช้อัตราการไหลที่สูงในการตัดแยกอนุภาค (มากกว่า 1 มิลลิเมตรต่อวินาที) ซึ่งส่งผลให้เกิดความเค้นเฉือนที่สูงภายในอุปกรณ์ ทำให้เซลล์ตายหลังจากผ่านอุปกรณ์การตัดแยก และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการไหลที่ใช้ในการตัดแยกขนาดของอุปกรณ์แต่ละประเภท พบว่า อุปกรณ์ที่ใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าอุปกรณ์ประเภทอื่นๆ ด้วยเหตุผลนี้จึงเลือกใช้ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายในการออกแบบอุปกรณ์

จากการศึกษาบทความเกี่ยวกับการคัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย สามารถสรุปได้ว่า งานวิจัยส่วนใหญ่จะแบ่งลักษณะการคัดแยกอนุภาคออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ การคัดแยกอนุภาคโดยใช้ห้องการไหลขนาดเล็กต่อกัน (Inertial sorting) และการคัดแยกอนุภาคโดยใช้การหมุนวนภายในห้องการไหล (Vortex sorting) ซึ่งทั้งสองประเภทยังจะมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมีค่ามากกว่า 80% ทั้ง 2 วิธี แต่เนื่องจากการคัดแยกอนุภาคโดยใช้การหมุนวนภายในห้องการไหลนั้นจะสามารถคัดแยกอนุภาคได้ออกเป็น 3 ขนาด ด้วยเหตุผลนี้จึงออกแบบอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคโดยใช้หลักการหมุนวนภายในห้องการไหล

หลักการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 คือ ส่วนย่อหรือที่เรียกว่าท่อหน้าตัดตรงซึ่งเป็นส่วนทางเข้าของอุปกรณ์จะมีหลักการทำงาน คือ ใช้สมดุลแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลที่แตกต่างกันของอนุภาคขนาดต่างๆ ส่วนที่ 2 คือ ส่วนขยายหรือที่เรียกว่าห้องการไหลขนาดเล็ก เป็นส่วนที่ทำให้เกิดแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 3 ทาง คือ กระแสการไหลหลัก (main flow) เป็นส่วนที่อยู่กึ่งกลางท่อของกระแสการไหลทั้งสาม เป็นส่วนที่คัดแยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกของอุปกรณ์ ต่อมาคือกระแสการไหลด้านข้าง (sheath flow) เป็นส่วนที่ใช้คัดแยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (vortex) เป็นส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค ซึ่งอนุภาคที่เข้าไปในส่วนนี้จะเกิดการหมุนวนตามกระแสการไหล

เนื่องจากธรรมชาติของเซลล์ (natural cell) มีความแตกต่างของขนาดที่หลากหลาย โดยทั่วไปจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์อยู่ในช่วง 5 ถึง 25 ไมโครเมตร ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาของอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคโดยใช้หลักการหมุนวนภายในห้องการไหลนั้นจะมุ่งเน้นไปในการคัดแยกอนุภาคที่มีขนาด 15 ไมโครเมตรขึ้นไป ดังนั้นจึงต้องออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถแยกขนาดอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่า 15 ไมโครเมตรได้ รวมทั้งการศึกษาความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) หลังจากผ่านอุปกรณ์ เพื่อศึกษาสาเหตุการตายของเซลล์ระหว่างการคัดแยกด้วยอุปกรณ์

การออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถแยกขนาดอนุภาคตามที่ต้องการนั้นจะต้องคำนึงถึงพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดการคัดแยกอนุภาค คือ ขนาดของอนุภาคจะมีผลต่อตำแหน่งสมดุลที่แตกต่างกันของอนุภาคขนาดต่างๆ โดยอนุภาคขนาดเล็กจะเรียงตัวอยู่ในตำแหน่งติดกับผนัง ส่วนอนุภาคที่ขนาดใหญ่กว่าจะเรียงตัวใกล้กับกึ่งกลางท่อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไฮดรอลิกของท่อส่วนย่อจะส่งผลต่อตำแหน่งสมดุลของอนุภาคเช่นเดียวกับขนาดของอนุภาค อัตราการไหลจะส่งผลต่อตำแหน่งสมดุลของอนุภาค ซึ่งอนุภาคแต่ละขนาดจะต้องใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกันที่จะทำให้อนุภาคนั้นๆ เคลื่อนที่อยู่ในตำแหน่งสมดุล และส่งผลต่อขนาดของกระแสหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก โดยอัตราการไหลที่สูงขึ้นจะทำให้ขนาดของกระแสหมุนวนมีขนาดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และอัตราส่วนความดันทานของท่อทางออกจะส่งผลต่อขนาดของกระแสหมุนวนภายในห้องการไหล

ขนาดเล็ก โดยอัตราส่วนความต้านทานที่เหมาะสมควรมีค่าประมาณ 10 จึงจะทำให้เกิดกระแสการไหลที่เหมาะสมต่อการคัดแยกอนุภาค



บทที่ 3 การออกแบบอุปกรณ์การไหลจุลภาค

ในบทนี้จะกล่าวถึงหลักการการทำงานของอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย การออกแบบอุปกรณ์การไหลจุลภาค โดยการเลือกพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น พื้นที่หน้าตัดต่อขนาดความยาวของท่อทางเข้า และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์ เป็นต้น และการกำหนดอัตราการไหลที่เหมาะสมสำหรับการคัดแยกอนุภาคขนาดต่างๆ

3.1 หลักการทำงานของอุปกรณ์

อุปกรณ์การคัดแยกขนาดอนุภาคโดยใช้แรงเฉื่อย (Inertial microfluidics) ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion channel) จะมีกลไกการแยกขนาดโดยอาศัยการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก เพื่อคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดต่างๆกันไปยังทางออกในแต่ละทิศทาง ซึ่งการที่จะทำให้อนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกันมีเส้นทางการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

3.1.1 แรงที่กระทำกับอนุภาค

เมื่อของไหลที่มีอนุภาคขนาดต่างๆผสมอยู่เคลื่อนที่ภายในท่อที่มีลักษณะเป็นท่อตรง จะเกิดแรงทางกลที่กระทำกับอนุภาคทำให้เกิดการเคลื่อนที่ในทิศทางต่างๆ แบ่งได้ออกเป็น 3 แรง คือ แรงยกเกรเดียนต์ (shear gradient lift force, F_{LS}) จะมีผลทำให้อนุภาคเคลื่อนเข้าสู่ผนังของท่อ แรงลัพท์จากผนัง (wall induced lift force, F_{LW}) จะมีผลทำให้อนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่จุดกึ่งกลางของท่อ (มีทิศทางตรงข้ามกับแรงยกเกรเดียนต์) และแรงลาก (stokes drag force, F_D) จะมีผลทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปตามความยาวท่อ

เมื่อพิจารณาแรงที่กระทำกับอนุภาคทั้ง 3 แรง จะสามารถแบ่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคออกได้เป็น 2 ทิศทาง คือ การเคลื่อนที่ของอนุภาคในแนวแกน x (ตามความยาวท่อ) และการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแกน y (ตั้งฉากกับความยาวท่อ) โดยการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแนวแกน x จะขึ้นอยู่กับขนาดของแรงลากที่กระทำกับอนุภาค จากสมการของแรงลาก (รูปที่ 3.1ก) จะแสดงให้เห็นว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคจะแปรผันตรงกับขนาดของแรงลาก ดังนั้นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าจะสามารถเคลื่อนที่ไปทางแนวแกน x ได้ดีกว่า และเมื่อพิจารณาการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแกน y จะขึ้นอยู่กับสมดุลแรงระหว่างแรงยกเกรเดียนต์และแรงลัพท์จากผนังที่กระทำกับอนุภาค จากสมการของแรงทั้ง 2 จะแสดงให้เห็นว่า แรงลัพท์จากผนังจะแปรผันตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค ยกกำลัง 6 และแรงยกเกรเดียนต์จะแปรผันตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคยกกำลัง 3 สมดุล

ของแรงทั้ง 2 นี้จึงมีทิศทางการเคลื่อนที่เข้าสู่กึ่งกลางของท่อ โดยอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าจะมีตำแหน่งใกล้กับกึ่งกลางท่อมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก

3.1.2 ตำแหน่งสมดุลของอนุภาค (equilibrium position)

เมื่ออนุภาคเคลื่อนที่เข้ามาในท่อทางเข้าที่มีลักษณะท่อน้ำตัดเป็นแบบท่อน้ำตัดตรง เริ่มต้นอนุภาคขนาดต่างๆจะเรียงตัวในลักษณะแบบสุ่ม และเมื่ออนุภาคเคลื่อนที่ไปตามความยาวท่อ และได้รับแรงกระทำกับอนุภาคตั้งที่ได้อธิบายไว้ในหัวข้อก่อนหน้านี้ จะทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาค (equilibrium position, x_{eq}) ดังแสดงในรูปที่ 3.1x ซึ่งตำแหน่งความยาวของท่อน้ำตัดตรงนั้นจะต้องยาวเพียงพอที่อนุภาคจะเรียงตัวสู่ตำแหน่งสมดุล โดยความยาวที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาคสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.3

3.1.3 การแบ่งเส้นทางการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็ก

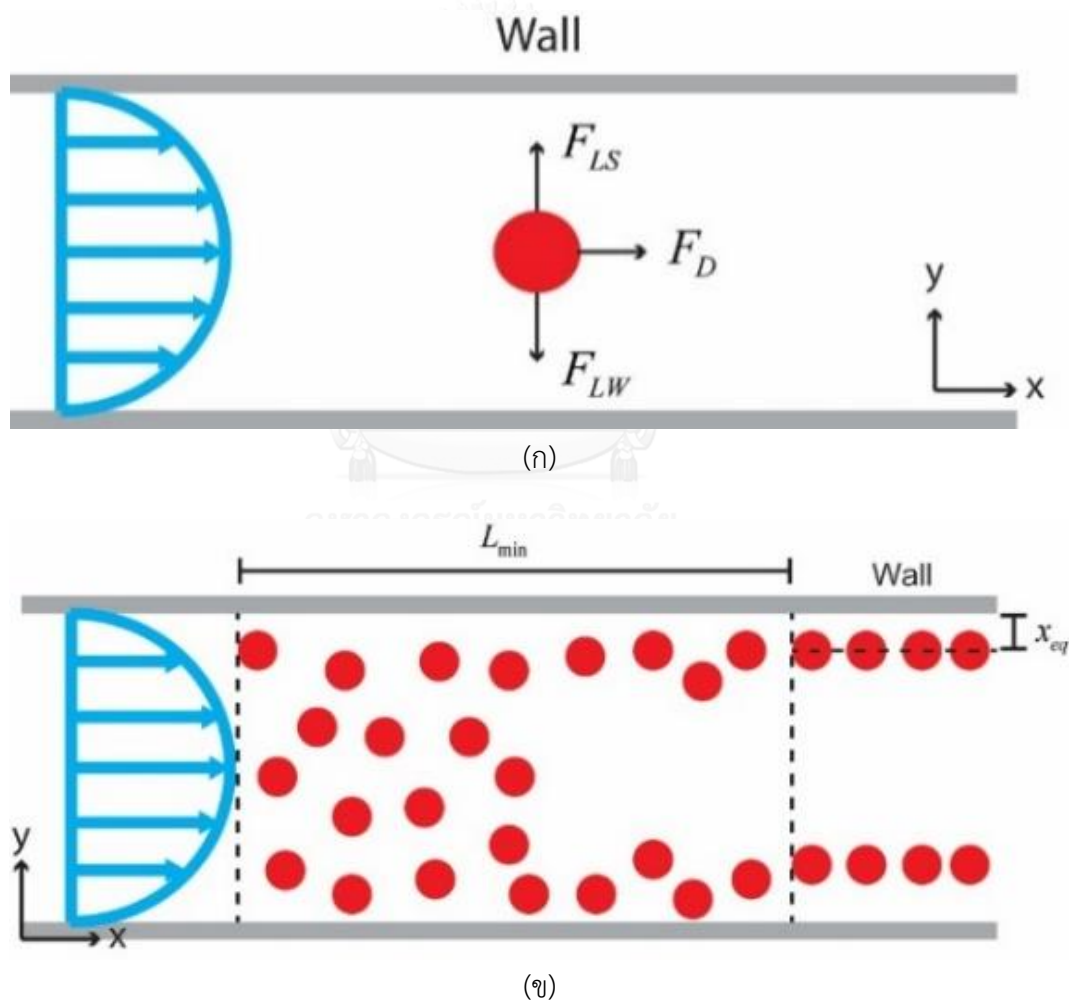
หลังจากที่อนุภาคเกิดการเรียงตัวอยู่ในตำแหน่งสมดุลภายในท่อน้ำตัดตรงแล้ว อนุภาคจะเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนถัดไปของอุปกรณ์ คือ ห้องการไหลขนาดเล็ก ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกันไปที่ทางออกต่างๆ โดยภายในห้องการไหลขนาดเล็กจะเกิดการแบ่งกระแสการไหลออกเป็น 3 ทาง (รูปที่ 3.1ค) คือ กระแสการไหลหลัก (main flow) เป็นส่วนที่อยู่กึ่งกลางของกระแสการไหลทั้งสาม เป็นส่วนที่คัดแยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกหลักของอุปกรณ์ ต่อมาคือ กระแสการไหลด้านข้าง (sheath flow) เป็นส่วนที่ใช้คัดแยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้างของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (vortex) เป็นส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค ซึ่งอนุภาคที่เข้าไปในส่วนนี้จะเกิดการหมุนวนตามกระแสการไหล โดยสัดส่วนของกระแสการไหลทั้ง 3 จะขึ้นอยู่กับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลภายในอุปกรณ์

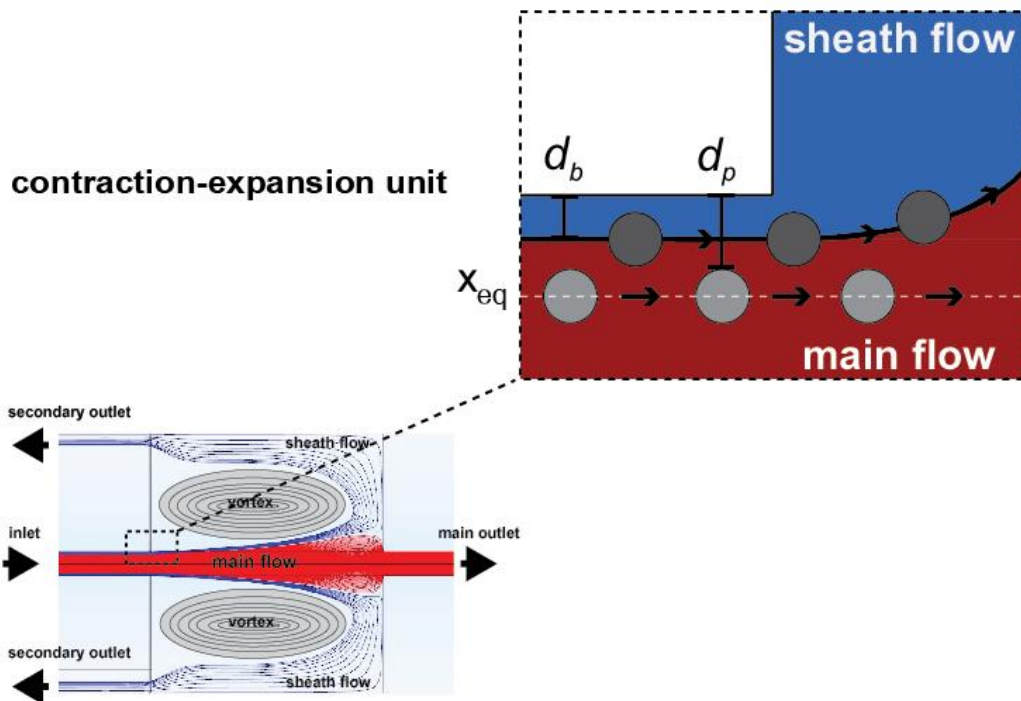
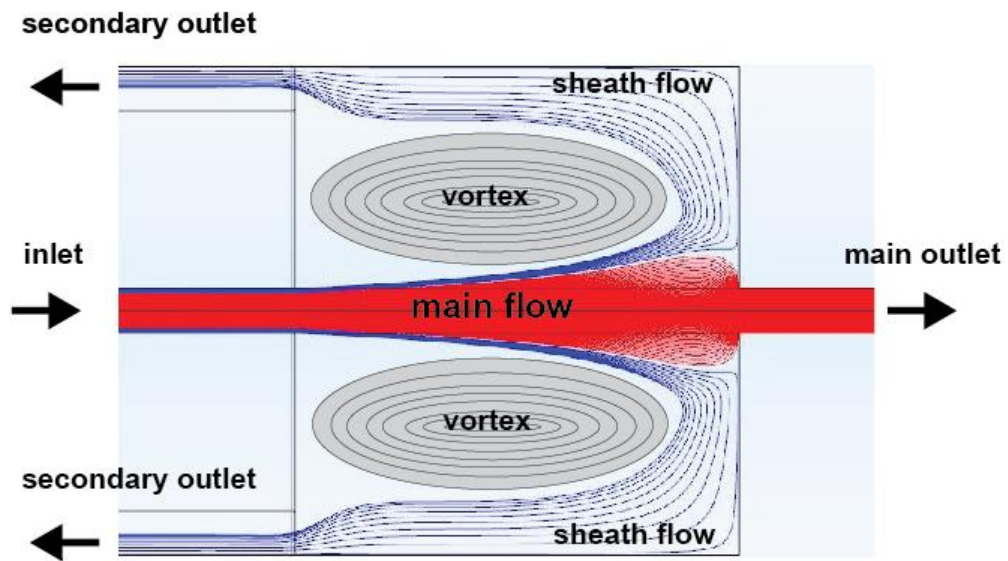
3.1.4 เส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (particles focusing position, d_p) และ เส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (separation boundary, d_b)

เส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (particles focusing position, d_p) คือ ระยะห่างจากผนังท่อถึงเส้นรอบวงของอนุภาคที่เกิดการเรียงตัวในตำแหน่งสมดุล ขนาดของอนุภาคจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคในตำแหน่งต่างๆ โดยอนุภาคขนาดเล็กจะมีตำแหน่งของเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคอยู่ใกล้ขอบผนังมากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่

เส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (separation boundary, d_b) คือ เส้นสตรีมไลน์ที่เป็นเส้นที่แบ่งระหว่างกระแสการไหลหลักและกระแสการไหลด้านข้าง โดยตำแหน่งของเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคนั้นจะขึ้นอยู่กับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในการไหลของอนุภาค

เส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคและเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาคนั้นเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่บ่งบอกว่า การเคลื่อนที่ของอนุภาคที่สนใจนั้นจะถูกตัดแยกออกไปที่กระแสการไหลใด จากรูปที่ 3.1ง เมื่อตำแหน่งของเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคและเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาคมีตำแหน่งที่ซ้อนทับกัน (อนุภาคสีเทาเข้ม) การตัดแยกอนุภาคจะถูกตัดแยกโดยกระแสการไหลด้านข้างออกไปยังทางออกรอง ในทางตรงกันข้ามเมื่อตำแหน่งของเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคและเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาคอยู่ห่างออกจากกัน (อนุภาคสีเทาอ่อน) การตัดแยกอนุภาคนั้นจะถูกตัดแยกโดยการแสการไหลหลัก ออกไปยังทางออกหลัก ดังนั้นการออกแบบอุปกรณ์ตัดแยกอนุภาค และการเลือกอัตราการไหลในการทดลองจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ได้ประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด





(ง)

รูปที่ 3.1 (ก) แรงทางกลที่กระทำกับอนุภาคเนื่องจากการไหลภายในท่อหน้าตัดตรง (ข) การเกิดตำแหน่งสมดุลในการเคลื่อนที่ของอนุภาค (equilibrium position) (ค) การแบ่งกระแสการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็ก (ง) ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (particles focusing position, d_p) และ เส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (separation boundary, d_b)

3.2 การออกแบบอุปกรณ์การไหลจุลภาค

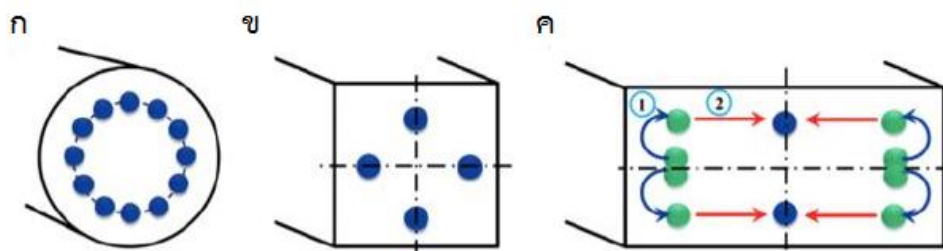
3.2.1 แนวความคิดในการออกแบบ

จากการศึกษาหลักการทำงานของอุปกรณ์คัดแยกขนาดอนุภาคแบบต่างๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกนั้นเหมาะสมสำหรับการใช้คัดแยกเซลล์มะเร็ง เนื่องจากการที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจะทำให้คุณสมบัติของเซลล์มะเร็งนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และเทคนิคการคัดแยกขนาดโดยไม่อาศัยแรงจากภายนอกโดยใช้แรงเฉื่อยที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าแบบอื่นๆ และมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่สูง โดยจะเลือกใช้อุปกรณ์การคัดแยกอนุภาคที่ใช้ห้องการไหลขนาดเล็กเป็นกลไกในการคัดแยกขนาด

จากแนวคิดในงานวิจัยของ Xiao Wang และคณะ ในการคัดแยกอนุภาคโดยอุปกรณ์ที่มีห้องการไหลขนาดเล็กแบบหลายส่วน พบว่าสามารถคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาดได้ แต่เนื่องจากธรรมชาติของเซลล์ (natural cell) มีความแตกต่างของขนาดที่หลากหลาย โดยทั่วไปจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์อยู่ในช่วง 5 ถึง 25 ไมโครเมตร ซึ่งงานวิจัยของ Xiao Wang และคณะนั้นจะมุ่งเน้นไปในการคัดแยกอนุภาคที่มีขนาด 15 ไมโครเมตรขึ้นไป ดังนั้นจึงต้องออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถแยกขนาดอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่า 15 ไมโครเมตรได้ โดยใช้ อุปกรณ์การคัดแยกอนุภาคของ Xiao Wang และคณะเป็นอุปกรณ์ต้นแบบในการออกแบบอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคของกลุ่มวิจัยต่อไป

3.2.2 พื้นที่หน้าตัดท่อ (cross section)

พื้นที่หน้าตัดท่อเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคที่แตกต่างกัน จากรูปที่ 3.2 จะแสดงลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดลักษณะต่างๆ รูปที่ 3.2ก แสดงลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดที่เป็นวงกลม พบว่ามีการเรียงตัวของอนุภาคเป็นวงกลมห่างจากผนังท่อ โดยระยะห่างนั้นขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค และรูปที่ 3.2ข และ 3.2ค แสดงลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัสและสี่เหลี่ยมผืนผ้า การเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดทั้งสองลักษณะนั้น จะเรียงตัวไปตามลักษณะรูปร่างของท่อหน้าตัด และมีระยะห่างจากผนังขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคเช่นเดียวกันกับท่อหน้าตัดวงกลม แต่ท่อหน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัสนั้นจะมีความเสถียรของการเรียงตัวของอนุภาคมากกว่าท่อหน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมผืนผ้า เนื่องจากระยะความกว้างของท่อหน้าตัดอาจจะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ข้ามไปมาของอนุภาคดังรูปที่ 3.2ค ได้ ดังนั้นอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาคที่จะทำการออกแบบจึงเลือกลักษณะท่อหน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัส ที่มีขนาดความกว้างและความลึกเท่ากับ 50x50 ไมโครเมตร



รูปที่ 3.2 ลักษณะการเรียงตัวของอนุภาคภายในท่อหน้าตัดลักษณะต่างๆ^[6]

3.2.3 ขนาดความยาวของท่อทางเข้า (length)

จากหัวข้อที่ 2.2.1 ได้พูดถึงการเรียงตัวของอนุภาคในตำแหน่งสมมูลภายในท่อหน้าตัดตรง ซึ่งจะสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.3 โดยเบื้องต้นได้กำหนดความยาวของท่อทางเข้าให้มีขนาด 5 มิลลิเมตร และทำการคำนวณหาค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่ำสุดที่ทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาคขนาดต่างๆที่ตำแหน่งสมมูล โดยผลการคำนวณนั้นจะแสดงในตารางที่ 3.1

จากตารางที่ 3.1 พบว่าอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตรควรเลือกใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์มากกว่า 100 อนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตรควรเลือกใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์มากกว่า 15 และอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรควรเลือกใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์มากกว่า 5 จึงทำให้อนุภาคเกิดการเรียงตัวในตำแหน่งสมมูลที่ขนาดความยาวท่อหน้าตัดตรงเท่ากับ 5 มิลลิเมตร

ตารางที่ 3.1 ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่ำสุดที่ทำให้เกิดการเรียงตัวของอนุภาคขนาดต่างๆที่ตำแหน่งสมมูล

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (ไมโครเมตร)	อัตราการไหล (ไมโครลิตรต่อนาที)	ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์
5	282.86	94.29
10	35.36	11.79
15	10.48	3.49
20	4.42	1.47

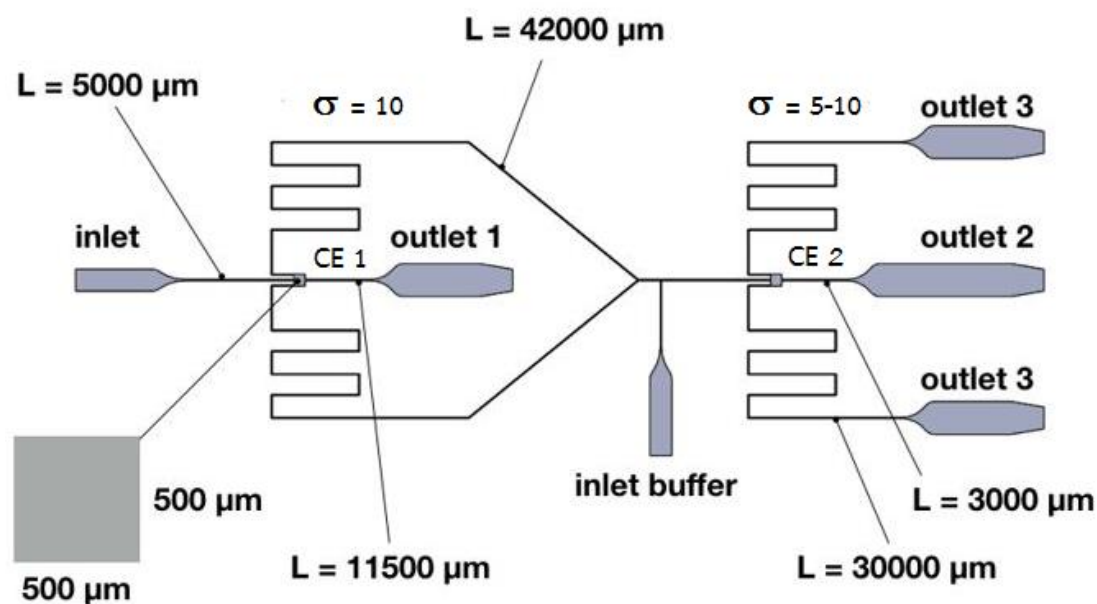
3.2.4 อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์ (resistant ratio, σ)

อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์คือ อัตราส่วนระหว่างความยาวของทางออกหลักและทางออกรอง จากรูปที่ 2.19 Xiao Wang และคณะได้ทำการทดลองเส้นทางการไหลโดยใช้เม็ดพลาสติกแบบฟลูออเลสเซนซ์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 (สีเขียว) และ 15.5 ไมโครเมตร (สีแดง) ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่อัตราส่วนความต้านทานของทางออกเท่ากับ 1, 10 และ 50 พบว่าที่อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์เท่ากับ 10 จะสามารถคัดแยกอนุภาคขนาดออกไปที่ทางออกทั้งสองได้ ดังนั้นจึงออกแบบห้องการไหลในส่วนขยายที่สองโดยใช้อัตราส่วนความ

ด้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์เท่ากับ 10 และห้องการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งจะใช้อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์ประมาณ 5-10 ซึ่งจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลที่ใช้ในการทดลอง

3.2.5 ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค (device dimension)

จากหัวข้อที่ 3.2.1-3.2.4 การออกแบบอุปกรณ์การไหลในการศึกษานี้จึงประกอบไปด้วยท่อที่มีความลึก 50 ไมโครเมตร โดยท่อทางเข้ามีลักษณะเป็นท่อตรงกว้าง 50 ไมโครเมตร และยาว 5 มิลลิเมตร มีส่วนขยายที่มีหน้าตัดใหญ่กว่ามีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสกว้าง 500 ไมโครเมตร และยาว 500 ไมโครเมตร ในส่วนสุดท้ายเป็นท่อทางออกหลักกว้างเท่ากับท่อทางเข้าแต่ยาว 11.5 มิลลิเมตร ด้านในของส่วนขยายจะมีท่อการไหลต่อออกไปทางด้านข้างซึ่งจะนำของไหลไปสู่ส่วนขยายที่สองที่มีส่วนประกอบเหมือนกับส่วนแรก แตกต่างเพียงความยาวของท่อทางออกหลักมีความ 3 มิลลิเมตร โดยมีส่วนของท่อทางเข้าอีกทางหนึ่งต่อเข้ามาก่อนที่ของไหลจะเข้าไปยังส่วนขยายที่สองเพื่อปรับอัตราการไหลให้เหมาะสมอีกครั้ง โดยในส่วนขยายที่สองจะมีค่าอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออก (σ_2) เท่ากับ 10 และในส่วนขยายที่หนึ่ง (σ_1) จะมีค่าประมาณ 5-10 ขึ้นอยู่กับอัตราการไหลที่ทางเข้า และอัตราการไหลเสริมที่ใช้เพื่อเพิ่มอัตราการไหลในส่วนขยายที่สองให้ได้ตามที่ต้องการ ลักษณะของอุปกรณ์แสดงอยู่ในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค

3.3 การกำหนดค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหล

ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดการคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแตกต่างกัน โดยค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ที่แตกต่างกันจะทำให้เส้นทางการ

เคลื่อนที่ของอนุภาคมีความแตกต่างกัน และสามารถคัดแยกอนุภาคไปยังทางออกต่างๆได้ ดังนั้นการเลือกค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ที่เหมาะสมกับอนุภาคขนาดต่างๆ จะทำให้ได้ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ที่ดีที่สุด

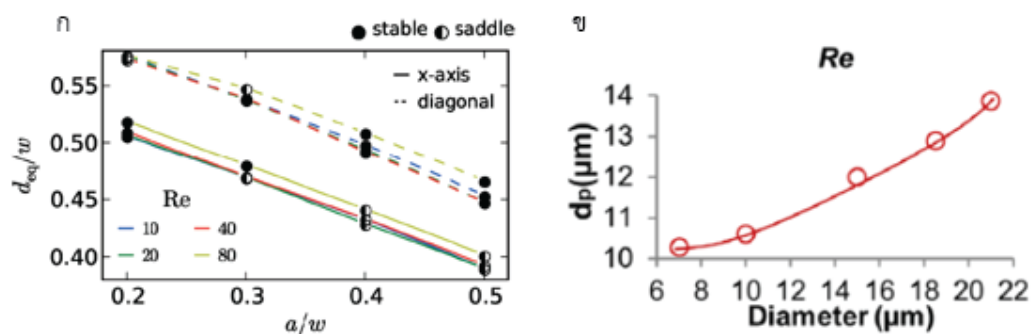
3.3.1 การศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค

จากการศึกษางานวิจัยของ Christopher Prohm และ Holger Stark ในปี ค.ศ.2014^[23] ได้ทำการทดลองหาตำแหน่งสมดุลของอนุภาค (x_{eq}) ภายในท่อหน้าตัดตรงแบบจัตุรัส (จากกึ่งกลางท่อถึงจุดศูนย์กลางของอนุภาค) โดยใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 10, 20, 40 และ 80 ที่ขนาดความกว้างของท่อหน้าตัด และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคขนาดต่างๆ (รูปที่ 3.4ก) พบว่าอนุภาคขนาดใหญ่จะมีตำแหน่งสมดุลของอนุภาคอยู่ต่ำกว่าอนุภาคขนาดเล็ก และค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคมีค่าสูงขึ้นด้วย โดยสามารถเปลี่ยนตำแหน่งสมดุลของอนุภาค (x_{eq}) เป็นตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (d_p) ได้ จากสมการที่ 3.1

$$d_p = \frac{w}{2} - x_{eq} - \frac{a}{2} \quad (3.1)$$

โดย w คือขนาดความกว้างของท่อหน้าตัดตรง (ไมโครเมตร) และ a คือขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (ไมโครเมตร)

จากการศึกษางานวิจัยของ Xiao Wang และคณะในปี ค.ศ.2013^[12] ได้ทำการทดลองหาตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (d_p) โดยใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคขนาดต่างๆ (รูปที่ 3.4ข) และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยของ Christopher Prohm และ Holger Stark รวบรวมเข้าด้วยกันจะได้ข้อมูลของตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 20, 40, 80 และ 110 ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคขนาดต่างๆ ที่ขนาดความกว้างของท่อหน้าตัดเท่ากับ 50 ไมโครเมตร ดังตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.4 (ก) ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 110^[12] (ข)

ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคในท่อหน้าตัดตรงแบบจัตุรัส^[23]

ตารางที่ 3.2 ตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (ไมโครเมตร)

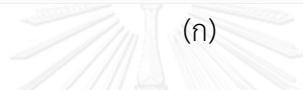
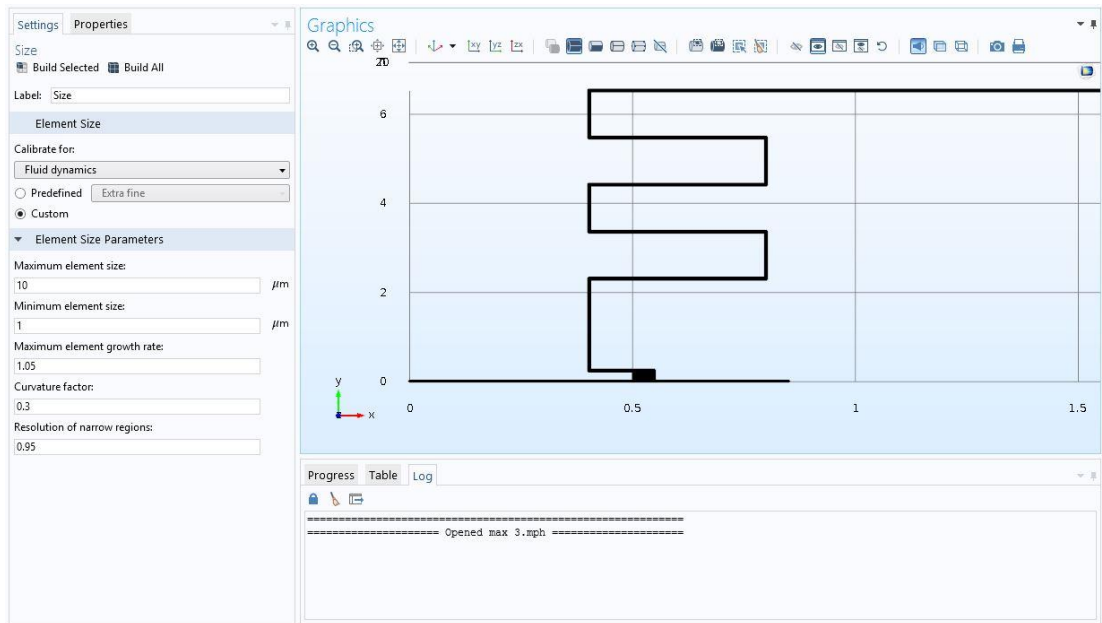
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (ไมโครเมตร)	ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์			
	20	40	80	110
5	8.94	8.79	8.64	7.66
10	7.43	7.28	7.07	5.76
15	5.82	5.75	5.54	4.37
20	4.33	4.20	4.00	3.48

3.3.2 การจำลองการไหลของเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาค

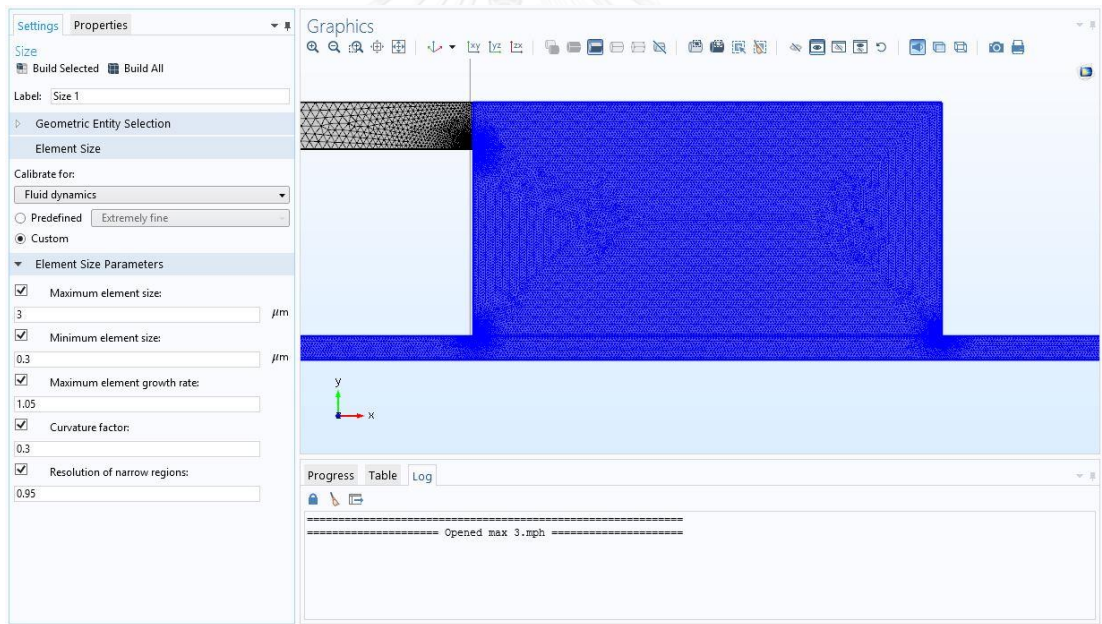
ตำแหน่งเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาค (d_b) สามารถทำนายโดยใช้การจำลองการไหลในคอมพิวเตอร์ เพื่อจำลองลักษณะการไหลภายในอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลต่างๆ โดยใช้ขนาดของท่อหน้าตัดเท่ากับ 50x50 ไมโครเมตร ท่อทางเข้ามีความยาว 5 มิลลิเมตร ท่อทางออกหลักมีความยาว 3 มิลลิเมตร และท่อทางออกรองมีความยาว 30 มิลลิเมตร ขนาดของห้องการไหลขนาดเล็กมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500x500 ไมโครเมตร และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกเท่ากับ 5 และ 10

3.3.2.1 การตรวจสอบผลของจำนวนกริด (Grid independent)

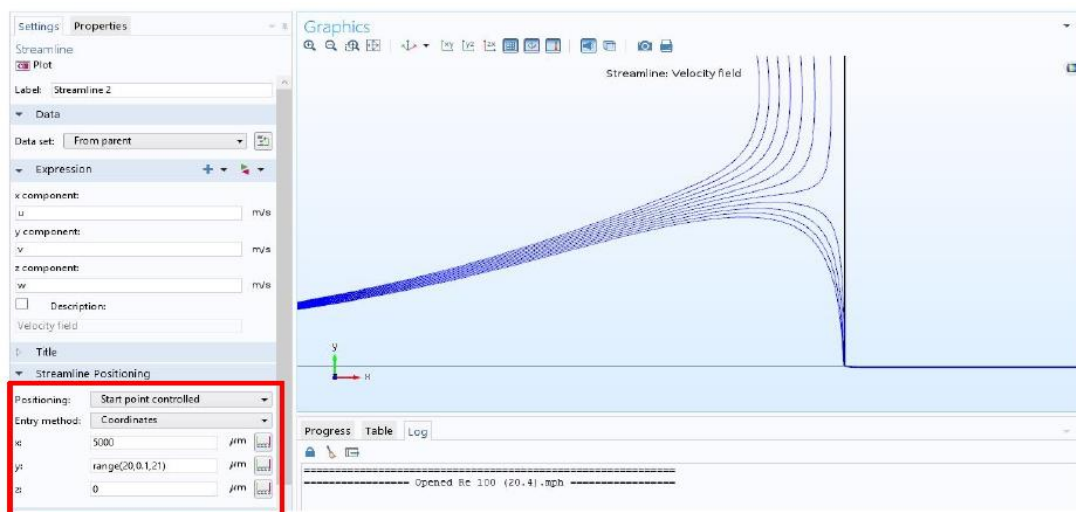
- ขั้นตอนแรกในการจำลองการไหลจะทำการตรวจสอบผลของจำนวนกริด โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 110 และปรับขนาดของกริดทั้งแบบจำลองให้มีขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 10 ไมโครเมตร และขนาดเล็กที่สุดเท่ากับ 1 ไมโครเมตร (ลดลงจากขนาดใหญ่ 10 เท่า) ดังรูปที่ 3.5ก
- จากนั้นปรับขนาดของกริดในส่วนของท่อทางเข้า ห้องการไหลขนาดเล็ก และท่อทางออกให้มีขนาดใหญ่ที่สุดตั้งแต่ 2.5-10 ไมโครเมตร และขนาดเล็กที่สุดตั้งแต่ 0.25-1 ไมโครเมตร ดังรูปที่ 3.5ข
- โดยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบผลของจำนวนกริด คือ ตำแหน่งเส้นขอบเขตการตัดแยกอนุภาค (d_b) โดยจะใช้เส้นสตรีมไลน์เส้นแรกที่เกิดการไหลไปในเส้นทางการไหลด้านข้างในการบอกตำแหน่งเส้นขอบเขตการตัด ดังรูปที่ 3.5ค



(٨)



(٩)



(ค)

รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการจำลองการไหลของเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค การปรับขนาดของกริดทั้ง (ก) แบบจำลอง (ข) เฉพาะส่วน และ (ค) ตำแหน่งเส้นขอบเขต (d_b)

- ตารางที่ 3.3 จะแสดงผลการตรวจสอบผลของจำนวนกริด โดยที่กรณีที่มีการปรับขนาดของกริดในส่วนของการเข้า ห้องการไหลขนาดเล็ก และช่องทางออกให้มีขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 3 ไมโครเมตร และขนาดเล็กสุดเท่ากับ 0.3 ไมโครเมตรขึ้นไปจะให้ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่คงที่ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจำนวนกริดที่ทำให้ผลการจำลองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงจะเท่ากับ 4,329,237 กริด

ตารางที่ 3.3 การแสดงผลการตรวจสอบผลของจำนวนกริด

ขนาดกริดที่ใหญ่ที่สุด (ไมโครเมตร)	ขนาดกริดที่เล็กที่สุด (ไมโครเมตร)	จำนวนกริด	เวลาในการจำลอง (นาท)	ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (ไมโครเมตร)
10.00	0.10	186,027	12	3.6
7.50	0.75	1,737,432	14	4.1
5.00	0.50	2,026,313	18	4.8
3.50	0.35	3,298,444	28	4.9
3.00	0.30	4,329,237	44	5.0
2.50	0.25	6,147,989	88	5.0

3.3.2.2 การจำลองการไหลเพื่อหาตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ

การจำลองการไหลเพื่อหาตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 20-360 โดยใช้จำนวนกริดในกรณีที่มีการปรับขนาดของกริดในส่วนของท่อทางเข้า ห้องการไหลขนาดเล็ก และท่อทางออกให้มีขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 3 ไมโครเมตร และขนาดเล็กสุดเท่ากับ 0.3 ไมโครเมตร และส่วนอื่นๆมีการปรับขนาดของกริดขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 10 ไมโครเมตร และขนาดเล็กสุดเท่ากับ 1 ไมโครเมตร ทำการจำลองที่อัตราส่วนความต้านทานเท่ากับ 5 และ 10 โดยการปรับความยาวของท่อทางออกหลัก (การคำนวณอัตราส่วนความต้านทานสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.4) ผลการจำลองค่า d_b แสดงในตารางที่ 3.4 แสดงให้เห็น ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้น จนถึงค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 160 สำหรับ $\sigma = 5$ และ 180 สำหรับ $\sigma = 10$ จากนั้นตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคจึงจะเริ่มค่อยๆลดลง โดยระยะ d_b ของอัตราส่วนความต้านทานเท่ากับ 5 จะมีค่ามากกว่าอัตราส่วนความต้านทานเท่ากับ 10 ที่ทุกค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์

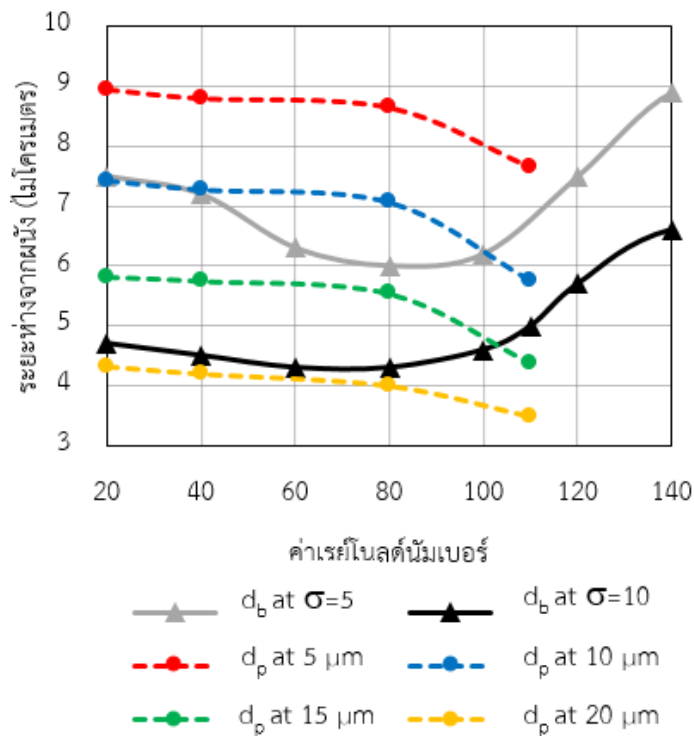
ตารางที่ 3.4 ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ

ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์	ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค (ไมโครเมตร)	
	$\sigma=5$	$\sigma=10$
20	7.5	4.7
40	7.2	4.5
60	6.3	4.3
80	6	4.3
100	6.2	4.6
110	7.5	5
120	8.9	5.7
140	9	6.6
180	8.8	6.9
240	7.2	6.5
360	7.2	6.5

3.3.3 การกำหนดค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลโดยใช้ตำแหน่งตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค และตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค

จากหัวข้อที่ 3.3.1 และ 3.3.2 จะได้ข้อมูล d_p และ d_b ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ในช่วงที่ต่ำกว่า 110 ของอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรที่อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกเท่ากับ 5 และ 10 เมื่อนำตำแหน่งทั้งสองมาเปรียบเทียบกัน จะทำให้สามารถคาดเดาได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลใดจะสามารถคัดแยกอนุภาคขนาดเท่าไรออกจากกันได้

จากรูปที่ 3.6 เมื่อนำตำแหน่ง d_p และ d_b มาพล็อตเปรียบเทียบที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ จะพบว่า เมื่อ d_p มีตำแหน่งอยู่เหนือ d_b แสดงว่าอนุภาคนั้นมีระยะห่างจากเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค อนุภาคนั้นจะได้รับอิทธิพลจากกระแสการไหลหลัก และถูกคัดแยกออกไปที่ทางออกหลัก และเมื่อ d_p มีตำแหน่งอยู่ต่ำกว่า d_b แสดงว่าอนุภาคนั้นมีตำแหน่งอยู่บนเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาค อนุภาคนั้นจะได้รับอิทธิพลจากกระแสการไหลรอง และถูกคัดแยกออกไปที่ทางออกรอง



รูปที่ 3.6 ตำแหน่ง d_p และ d_b ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ

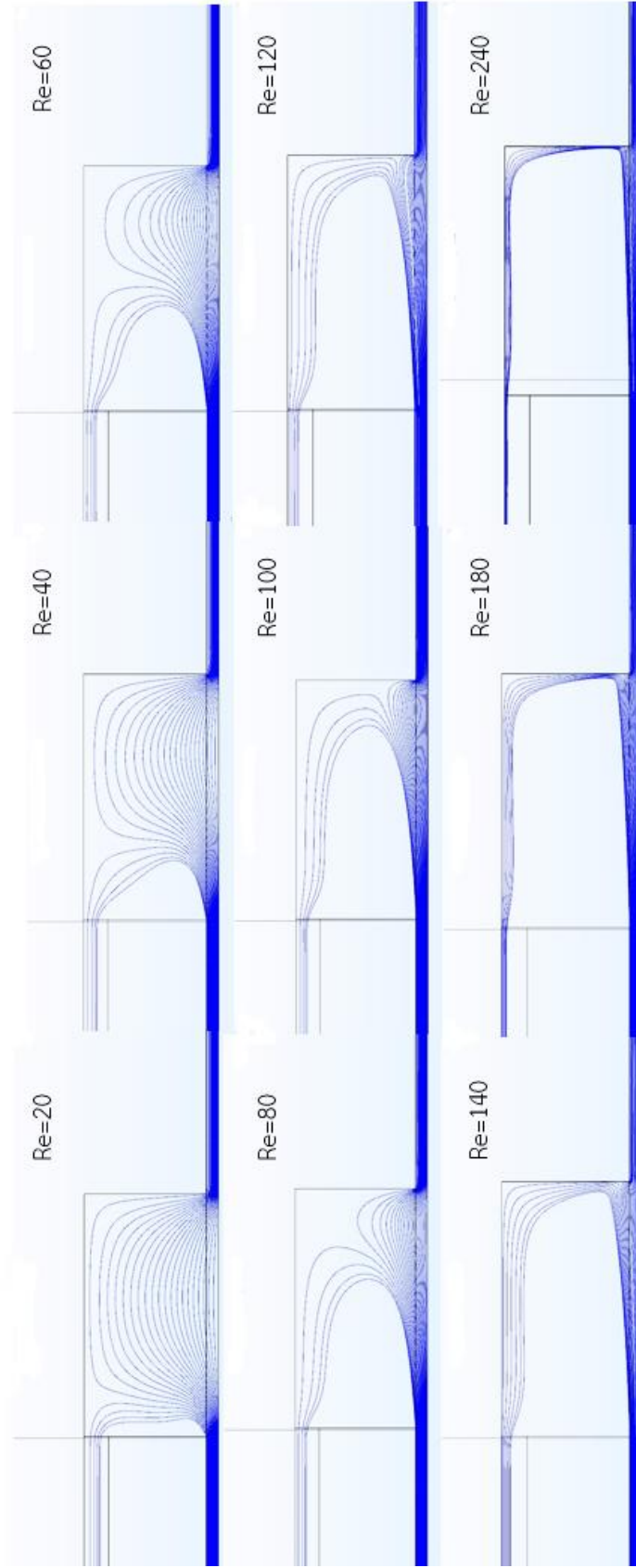
ตัวอย่างเช่น หากต้องการออกแบบค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลและอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกในส่วนขยายที่ 2 (CE2) ของอุปกรณ์นั้น จากรูปที่ 3.6 ที่เรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 80 ที่ $\sigma=10$ พบว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่ต่ำกว่า d_b และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่สูงกว่า d_b ทำให้สามารถคาดเดาได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 80 ที่ $\sigma=10$ จะสามารถคัดแยก

อนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 15 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกหลัก และตัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกรองได้ และในส่วนขยายที่ 1 (CE1) ที่เรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 100 ที่ $\sigma=10$ พบว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่ต่ำกว่า d_b และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่สูงกว่า d_b ทำให้สามารถคาดเดาได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 100 ที่ $\sigma=10$ จะสามารถตัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 15 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกหลัก และตัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกรองได้

ดังนั้นหากออกแบบอุปกรณ์ CE เป็นสองขั้นตอนคือ การออกแบบให้ส่วนขยายทั้งสองมีค่า $\sigma=10$ โดยส่วนขยายที่หนึ่งใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลตั้งแต่ 100 ขึ้นไปน่าจะสามารถทำการแยกอนุภาคขนาด 5 และ 10 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และตัดแยกอนุภาค 15 และ 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองได้ หลังจากนั้นปล่อยให้การไหลจากทางออกรองของท่อขยายส่วนแรกไหลไปที่ท่อขยายที่สอง และใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลตั้งแต่ 60-100 ท่อขยายที่สองนี้น่าจะสามารถทำการแยกอนุภาค 15 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และตัดแยกอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองของส่วนขยายนี้ได้

3.3.4 สตรีมไลน์

การจำลองการไหลโดยใช้จำนวนกริดและค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เดียวกับหัวข้อที่ 3.3.2 เพื่อดูสตรีมไลน์ของการไหลภายในห้องการไหลขนาดเล็ก โดยผลการจำลอง (รูปที่ 3.7) พบว่าขนาดของกระแสหมุนวนจะใหญ่ขึ้นเรื่อยๆเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เพิ่มขึ้น ซึ่งขนาดของกระแสหมุนวนมีส่งผลต่อขนาดของกระแสการไหลรอง กล่าวคือ เมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เพิ่มขึ้นจนมีค่ามากกว่า 100 ขนาดของกระแสหมุนวนจะขยายใหญ่ขึ้นจนเต็มห้องการไหล ทำให้ขนาดของกระแสการไหลรองมีขนาดเล็กลง

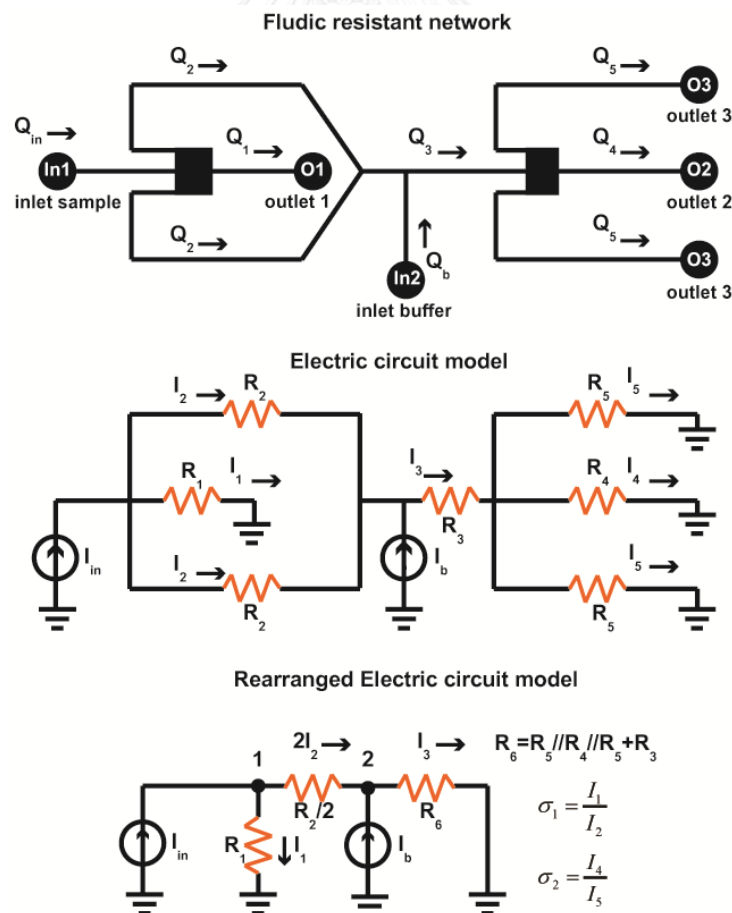


รูปที่ 3.7 สตรีมไลน์ของการไหลภายใต้ค่าเรย์โนลด์ที่แตกต่างกัน

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล และการออกแบบการทดลอง

อัตราการไหลในการทดลอง และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกในแต่ละส่วนนั้นจะส่งผลให้ได้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติ (cut-off diameter) ในการคัดแยกอนุภาคต่างๆ ตามที่ได้กล่าวถึงแล้ว ดังนั้นการเลือกอัตราการไหลและอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกจึงมีความสำคัญในการเลือกพารามิเตอร์ในการทดลองการคัดแยกอนุภาคในงานวิจัยนี้ ซึ่งในการคำนวณค่าอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกนั้นจะใช้รูปแบบวงจรไฟฟ้าช่วยในการวิเคราะห์และออกแบบอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของอุปกรณ์^[24]

เครือข่ายความต้านทานการไหลของอุปกรณ์แสดงในรูปที่ 3.8 โดยอัตราการไหล (Q) จะถูกแบ่งไปตามทิศทางของท่อในตำแหน่งต่างๆ โดยการไหลของของไหลไปตามความยาวของท่อในแต่ละส่วนนั้นจะถูกแทนด้วยความต้านทาน (R) เมื่อทำการแปลงในรูปอย่างง่ายต่อการคำนวณจึงได้ยุบรวมความต้านทานในส่วนขยายที่สองเข้าด้วยกันดัง ทำให้วงจรเหลือเพียงแหล่งกำเนิดกระแสไฟฟ้า 2 แหล่ง คือ การไหลหลัก (I_{in}) และการไหลเสริม (I_b) และความต้านทาน 3 ตัว คือ R_1 , $R_{2/2}$ และ R_6



รูปที่ 3.8 การวิเคราะห์ความต้านทานการไหลแสดงเครือข่ายความต้านทานการไหลของอุปกรณ์ และความต้านทานการไหลของอุปกรณ์ในรูปแบบวงจรไฟฟ้าอย่างง่าย

ในส่วนขยายที่หนึ่งประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลหลัก (Q_{in}) และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกที่ 1 (σ_1) และในส่วนขยายที่สองประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลที่ตำแหน่งที่ 3 (Q_3) และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกที่ 2 (σ_2) ซึ่งในการคำนวณอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่หนึ่งนั้นจะไม่ขึ้นอยู่กับความต้านทานที่ทางออกหลัก (R_1) และทางอกรอง (R_2) เท่านั้น ยังเป็นผลมาจากการต่อเข้ากับส่วนขยายที่สองอีกด้วย โดยจะใช้กฎของเคอร์ชอฟฟ์ข้อที่หนึ่งในการคำนวณอัตราการไหลที่ไหลผ่านส่วนขยายแต่ละส่วน ได้ดังสมการที่ 3.2 และ 3.3

$$I_{in} = I_1 + 2I_2 \quad (3.2)$$

$$I_3 = I_b + 2I_2 \quad (3.3)$$

เมื่อรวมสมการที่ 3.2 และ 3.3 เข้ากับความต้านทาน R_1 , $R_{2/2}$ และ R_6 จะได้สมการคำนวณอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่หนึ่งและสอง ได้ดังสมการที่ 3.4 และ 3.5 ตามลำดับ

$$\sigma_1 = \frac{I_1}{I_2} = \frac{R_2 Q_{in} + 2R_6 Q_{in} + 2R_6 Q_b}{R_1 Q_{in} - R_6 Q_b} \quad (3.4)$$

$$\sigma_2 = \frac{I_4}{I_5} = \frac{R_5}{R_4} \quad (3.5)$$

เมื่อพิจารณาสมการที่ 3.4 และ 3.5 พบว่าอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่หนึ่งจะเป็นฟังก์ชันของอัตราการไหลเสริม (Q_b) ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามอัตราการไหลที่ทางเข้า (Q_{in}) และอัตราการไหลที่ทางเข้าในส่วนขยายที่ 2 (Q_3) ดังนั้นจึงได้ออกแบบการทดลองเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนั้นจะกำหนดค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งเป็นค่าคงที่ค่าหนึ่ง และปรับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 60, 80 และ 100 โดยใช้ค่าอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกเท่ากับ 10 เพื่อหาค่าประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุดในส่วนขยายที่สอง

หลังจากนั้นทำการทดลองถัดไปโดยกำหนดค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่สองเป็นค่าคงที่ซึ่งได้มาจากการทดลองในส่วนแรก และทำการปรับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งตั้งแต่ 100-180 เพื่อหาประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุดของทั้งสองส่วนขยายด้วยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการทดลองนี้

3.5 สรุปผล

จากการจำลองทางคอมพิวเตอร์สามารถคาดเดาได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลประมาณ 60-100 และ $\sigma=10$ ในส่วนขยายที่ 1 และค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 100 ขึ้นไป และ $\sigma=10$ จะสามารถตัดแยกอนุภาคขนาดต่างๆ ไปยังทางออกที่คาดหวังไว้ได้ ดังนั้นจึงได้ทำการออกแบบอุปกรณ์ออกเป็นสองส่วน คือ การออกแบบให้ส่วนขยายทั้งสองมีค่า $\sigma=10$ โดยส่วนขยายที่ 1 ใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลตั้งแต่ 100 ขึ้นไปน่าจะสามารถทำการแยกอนุภาคขนาด 5 และ 10 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาค 15 และ 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองได้ หลังจากนั้นปล่อยให้การไหลจากทางออกรองของท่อขยายส่วนแรกไหลไปที่ท่อขยายที่สอง และใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหลตั้งแต่ 60-100 ท่อขยายที่สองนี้ก็น่าจะสามารถทำการแยกอนุภาค 15 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองของส่วนขยายนี้ได้

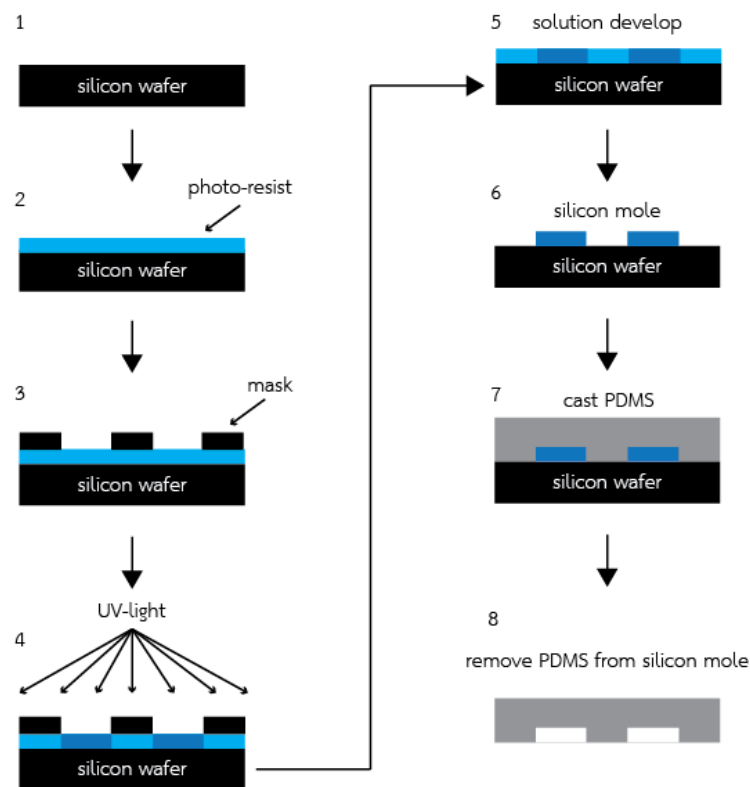


บทที่ 4 วิธีการทดลอง และการวิเคราะห์ผล

ในบทนี้จะกล่าวถึงการสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาค การเตรียมสารละลาย วิธีการทดลอง การวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยการนับความหนาแน่นของอนุภาค และการคำนวณประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์

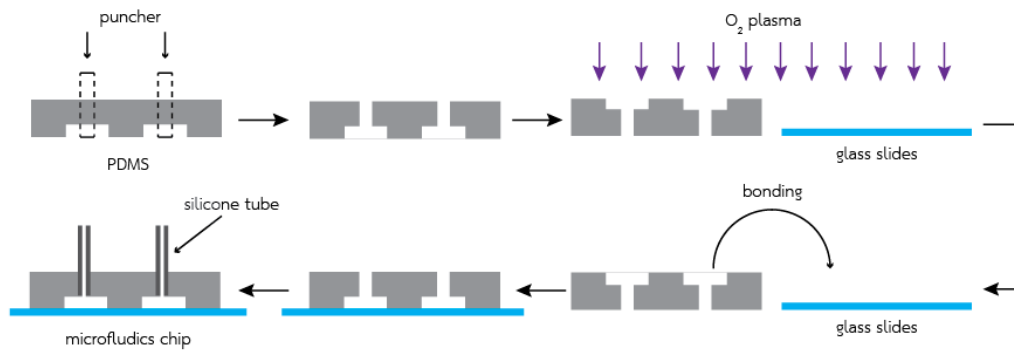
4.1 การสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาค

กระบวนการสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาคจะอาศัยเทคโนโลยี Soft lithography ในการสร้างแม่พิมพ์ซิลิกอนตามขนาดและรูปร่างที่ต้องการ จากนั้นนำพอลิเมอร์ Polydimethylsiloxane (PDMS) เทลงบนแบบแม่พิมพ์ รอจนกว่าพอลิเมอร์เย็นตัวแล้วแกะออกจากแม่พิมพ์ แสดงดังรูปที่ 4.1

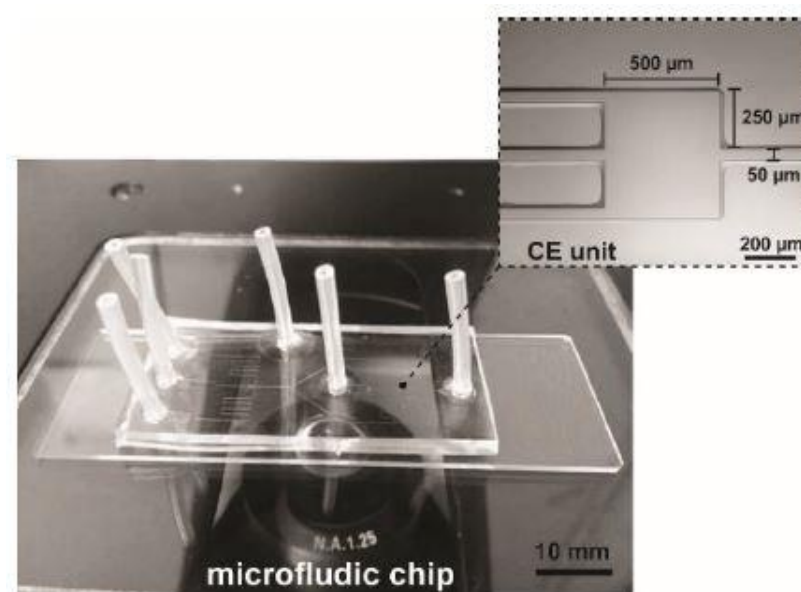


รูปที่ 4.1 การขึ้นรูปชิ้นงานด้วยเทคโนโลยี Soft lithography

หลังจากนั้นจะนำกระจกสไลด์มาประกบกับชิ้นงานด้วยเทคนิคออกซิเจนพลาสมา (รูปที่ 4.2) และนำไปไว้บนเครื่องให้ความร้อน (hot plate) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อทำให้เกิดการประสานกันของชิ้นงานทั้งสอง แล้วจึงต่อท่อสายยางทางเข้าและทางออกกับชิ้นงาน จากนั้นจะได้ อุปกรณ์การไหลจุลภาค (รูปที่ 4.3) ที่ใช้สำหรับการคัดแยกอนุภาคไปใช้การทดลองต่อไป



รูปที่ 4.2 การประสานชิ้นงานด้วยเทคนิคออกซิเจนพลาสมา



รูปที่ 4.3 อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่ใช้ในการทดลอง

4.2 ชุดทดลอง

4.2.1 อุปกรณ์การทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองการคัดแยกอนุภาค รวมทั้งการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลองแสดงในรูปที่ 4.4 มีดังต่อไปนี้

1. หลอดฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร
2. หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร
3. อุปกรณ์กรองเซลล์ (cell strainer)
4. อุปกรณ์กรองฝุ่นละอองขนาดเล็ก (micro filter)
5. เม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร
6. น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water)
7. สารลดแรงตึงผิว (tween 20)

8. ป้อนหลอดฉีดยา
9. เครื่องเขย่าสาร (bio-shaker)
10. ไมโครปิเปตต์
11. ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer)



(1)



(2)



(3)



(4)



(5)



(6)



(7)



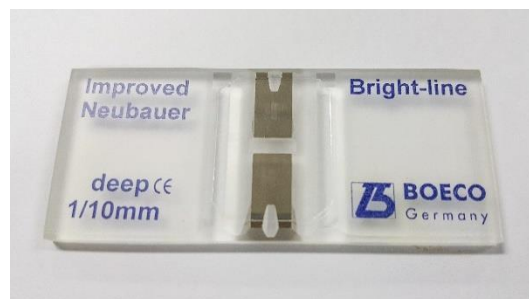
(8)



(9)



(10)

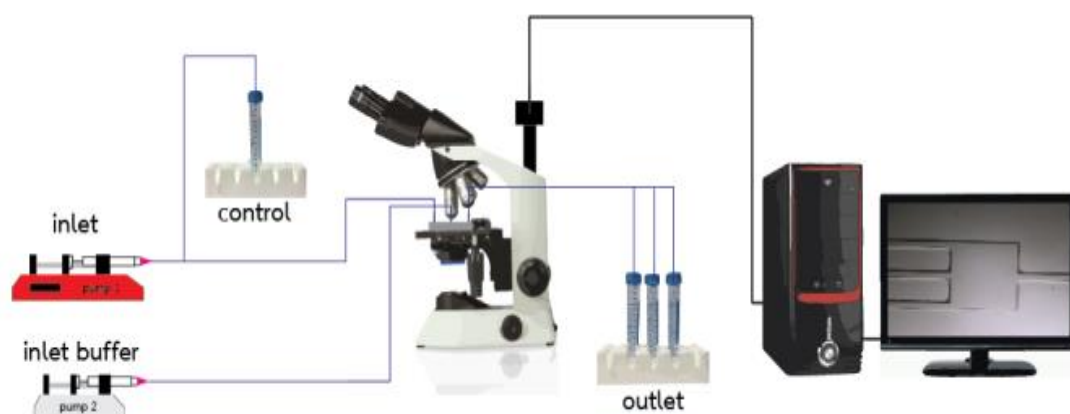


(11)

รูปที่ 4.4 อุปกรณ์การทดลอง

4.2.2 การติดตั้งอุปกรณ์การทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยคอมพิวเตอร์และกล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพและบันทึกภาพ อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายพร้อมสายยางต่อท่อทางเข้าและท่อทางออกต่างๆ ชุดอุปกรณ์หลอดฉีดยาและเข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร และหลอดทดลองสำหรับเก็บสารตัวอย่างที่ทางออกต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 การติดตั้งอุปกรณ์การทดลอง

4.3 การเตรียมสารละลาย

4.3.1 สารละลายผสมเม็ดพลาสติก

สารละลายประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออน และเม็ดพลาสติก ซึ่งเม็ดพลาสติกที่ใช้ในการทดลองนั้นมีความเข้มข้นต่างกัน โดยเม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.12×10^6 , 4.45×10^5 , 1.65×10^5 และ 8.08×10^4 อนุภาคต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เนื่องจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมีขนาดที่แตกต่างกัน จึงทำให้การเลือกใช้ความเข้มข้นของอนุภาคแตกต่างกันไป โดยอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กจะมีความเข้มข้นสูงสุด และความเข้มข้นของอนุภาคจะลดลงเมื่ออนุภาคมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากขึ้น โดยเม็ดพอลิเมอร์ที่ใช้ในการทดลองมีความหนาแน่น 1.05 g/cm^3 ซึ่งใกล้เคียงกับความหนาแน่นของเซลล์ นอกจากนี้มีการผสมสารลดแรงตึงผิว (Tween 20) ในอัตราส่วน 0.1% v/v เพื่อลดการยึดติดเป็นกลุ่มของเม็ดพอลิเมอร์และการเกิดฟองอากาศลงได้ ก่อนการผสมจะกรองน้ำปราศจากไอออนด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันในอุปกรณ์ และหลังจากผสมสารละลายกับเม็ดพลาสติกจะทำการกรองอีกครั้งด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 40 ไมโครเมตร

4.3.2 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์จะประกอบด้วยน้ำปราศจากอิออนมาผสมกับสารลดแรงตึงผิวที่อัตราส่วนเช่นเดียวกับกับสารละลายผสมเม็ดพลาสติก นอกจากนี้ก่อนการทดลองจะผสมสารละลายที่ใช้กับสึผสมอาหารเพื่อช่วยทำให้สามารถเห็นการแบ่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของสารละลายผสมเม็ดพลาสติกและสารละลายบัฟเฟอร์ได้อย่างชัดเจน

4.4 ขั้นตอนการทดลอง

ในระหว่างทำการทดลองจะบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านซึ่งได้ติดตั้งกล้องบันทึกภาพร่วมกับคอมพิวเตอร์ ในการทดลองใช้กล้องที่มีความละเอียด 3 ล้านพิกเซลและความไว 30 เฟรมต่อวินาที หลังจากนั้นปรับระยะโฟกัสของภาพและกำลังขยายให้เหมาะสมเพื่อให้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในชิ้นงานได้อย่างชัดเจน ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลในแต่ละครั้งจำเป็นต้องรอให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่สภาวะสมดุลเสียก่อนจึงจะสามารถบันทึกภาพและเก็บตัวอย่างอนุภาคที่ทางออกได้ ซึ่งจะได้ผลการทดลองที่มีคลาดเคลื่อนน้อย โดยขั้นตอนในการทดลองมีดังต่อไปนี้

- ฉีดน้ำปราศจากอิออนเข้าไปในอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก และไล่ฟองอากาศภายในอุปกรณ์
- ใช้หลอดฉีดยาหลอดตัวอย่างเม็ดพลาสติกที่ได้เตรียมไว้จำนวน 2 หลอด และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 1 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้ โดยหลอดที่ 1 จะฉีดเข้าสู่อุปกรณ์คัดแยกอนุภาค และหลอดที่ 2 จะฉีดเข้าสู่หลอดทดลองควบคุม (control)
- ใช้หลอดฉีดยาหลอดน้ำปราศจากอิออนที่มีการผสมสี และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 2 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้
- ต่อท่อซิลิโคนจากหลอดฉีดยาทั้งสองเข้ากับทางเข้าของอุปกรณ์คัดแยกอนุภาค และต่อท่อซิลิโคนที่ทางออกทั้ง 3 ทางไปยังหลอดทดลองทั้ง 3 หลอดเพื่อเก็บตัวอย่างการคัดแยกอนุภาคที่ทางออกนั้นๆ
- เปิดปั๊มทั้งสองเพื่อเริ่มทำการคัดแยกอนุภาค และปิดปั๊มเมื่อตัวอย่างเม็ดพลาสติกเหลือน้อยกว่า 1 มิลลิลิตร โดยระหว่างการทดลองควรตรวจสอบภายในห้องการไหลขนาดเล็กอย่างสม่ำเสมอเพื่อป้องกันการอุดตันของอนุภาคอื่นๆที่อาจจะเข้ามาภายในอุปกรณ์ได้
- นำตัวอย่างเม็ดพลาสติกที่ได้จากการทดลองทั้ง 4 หลอดไปวิเคราะห์ผลในขั้นตอนต่อไป
- ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง และนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

4.5 การวิเคราะห์ผล

4.5.1 ความหนาแน่นของอนุภาค (concentration, c)

หลังจากที่ได้ตัวอย่างเม็ดพลาสติกจากการทดลองแล้ว จากนั้นจะนำตัวอย่างเม็ดพลาสติกมาคำนวณหาความหนาแน่นของอนุภาคจากสมการที่ 4.1 โดยจะใช้ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ในการนับอนุภาค ซึ่งจะใช้การถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ส่องดูอนุภาคจากฮีโมไซโตมิเตอร์ และนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อหาจำนวนอนุภาคขนาดต่างๆ โดยการนับอนุภาค 1 ครั้งจะใช้ภาพที่ได้จากฮีโมไซโตมิเตอร์ จำนวน 4 ภาพ ซึ่งในการนับจำนวนอนุภาคนั้นจะทำการนับทั้งหมด 3 ครั้ง และนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

$$c = \frac{n}{4} \times 10^4 \quad (\text{particles} / \text{ml}) \quad (4.1)$$

โดย n คือผลรวมของจำนวนอนุภาคที่ได้จากการนับอนุภาค 1 ครั้ง (4 ภาพ)

4.5.2 จำนวนอนุภาค (number of particles, N)

จำนวนอนุภาค คือ จำนวนอนุภาคทั้งหมดของตัวอย่างที่อยู่ภายในหลอดทดลองที่สนใจ คำนวณได้จากสมการที่ 4.2

$$N = cv \quad (\text{particles}) \quad (4.2)$$

โดย c คือ ความหนาแน่นของอนุภาค (อนุภาคต่อมิลลิลิตร) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 4.1 และ v คือ ปริมาตรของตัวอย่างที่อยู่ภายในหลอดทดลอง (มิลลิลิตร)

4.5.3 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ (separation efficiency, η)

ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ คือ อัตราส่วนของจำนวนอนุภาคที่ทางออกที่สนใจ เทียบกับผลรวมของจำนวนอนุภาคที่ทางออกของอุปกรณ์ทั้งหมด คำนวณได้จากสมการที่ 4.5

$$\eta = \frac{N_{O_i}}{N_{O_{total}}} \times 100 \quad (4.3)$$

โดย N_{O_i} คือ จำนวนอนุภาคที่ทางออกที่สนใจ (อนุภาค) และ $N_{O_{total}}$ คือ ผลรวมของจำนวนอนุภาคที่ทางออกของอุปกรณ์ทั้งหมด (อนุภาค)

4.5.4 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายแต่ละส่วน (separation ratio, s)

ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายแต่ละส่วน คือ ค่าที่บ่งบอกถึงลักษณะการคัดแยกอนุภาคภายในส่วนขยาย ซึ่งจะมีค่าตั้งแต่ 0-1 เมื่อค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายนั้นมีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่าอนุภาคนั้นจะถูกคัดแยกด้วยกระแสการไหลหลักทั้งหมด ในทางตรงกันข้ามเมื่อค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายนั้นมีค่าเท่ากับ 0 แสดงว่าอนุภาคนั้น

จะถูกตัดแยกด้วยกระแสการไหลของทั้งหมด ดังนั้นหากค่าความสามารถในการตัดแยกภายในส่วนขยายนั้นมีค่าเท่ากับ 0.5 แสดงว่าอนุภาคนั้นจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกหลักและทางออกรองในอัตราส่วนที่เท่ากัน ค่าความสามารถในการตัดแยกภายในส่วนขยายที่ 1 และ 2 สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ

$$s_{CE1} = \frac{N_{O1}}{N_{O1} + N_{O2} + N_{O3}} \quad (4.4)$$

$$s_{CE2} = \frac{N_{O2}}{N_{O2} + N_{O3}} \quad (4.5)$$

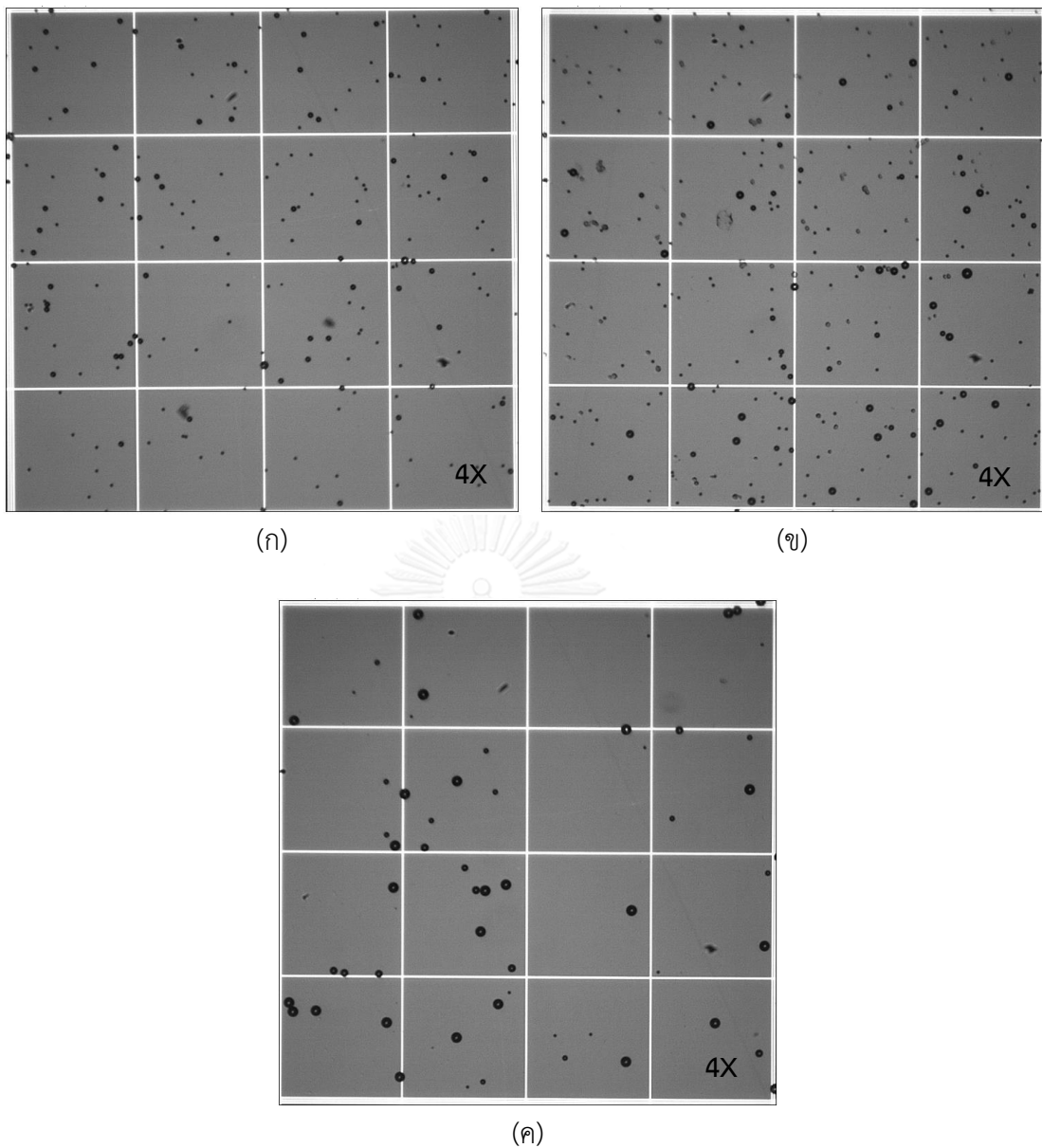
โดย N_{O1} คือ จำนวนอนุภาคที่ทางออกที่ 1 (อนุภาค), N_{O2} คือ จำนวนอนุภาคที่ทางออกที่ 2 (อนุภาค) และ N_{O3} คือ จำนวนอนุภาคที่ทางออกที่ 3 (อนุภาค)

4.6 การสอบเทียบ และการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการนับอนุภาค

เนื่องจากจำนวนของการนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองนั้นมีจำนวนมาก ดังนั้นการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการนับจะช่วยให้สามารถลดเวลาในการทำงานได้ โดยโปรแกรมที่ใช้ได้แก่โปรแกรม Imagej ซึ่งเป็นโปรแกรมที่สามารถนับจำนวนอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกันได้ การทำงานเบื้องต้นของโปรแกรม Imagej คือการแปลงรูปภาพของการตัดแยกอนุภาคขนาดต่างๆที่ได้จากการทดลองให้เป็นภาพขาว-ดำที่มีรายละเอียดของภาพเท่ากับ 8 บิต และใช้คำสั่งของโปรแกรมในการนับจำนวนอนุภาค โดยการนับอนุภาคขนาดต่างๆนั้นจำเป็นต้องกำหนดค่าพื้นที่ของอนุภาคนั้นๆ ซึ่งจำเป็นต้องมีการสอบเทียบโปรแกรมให้มีความแม่นยำในการนับอนุภาค

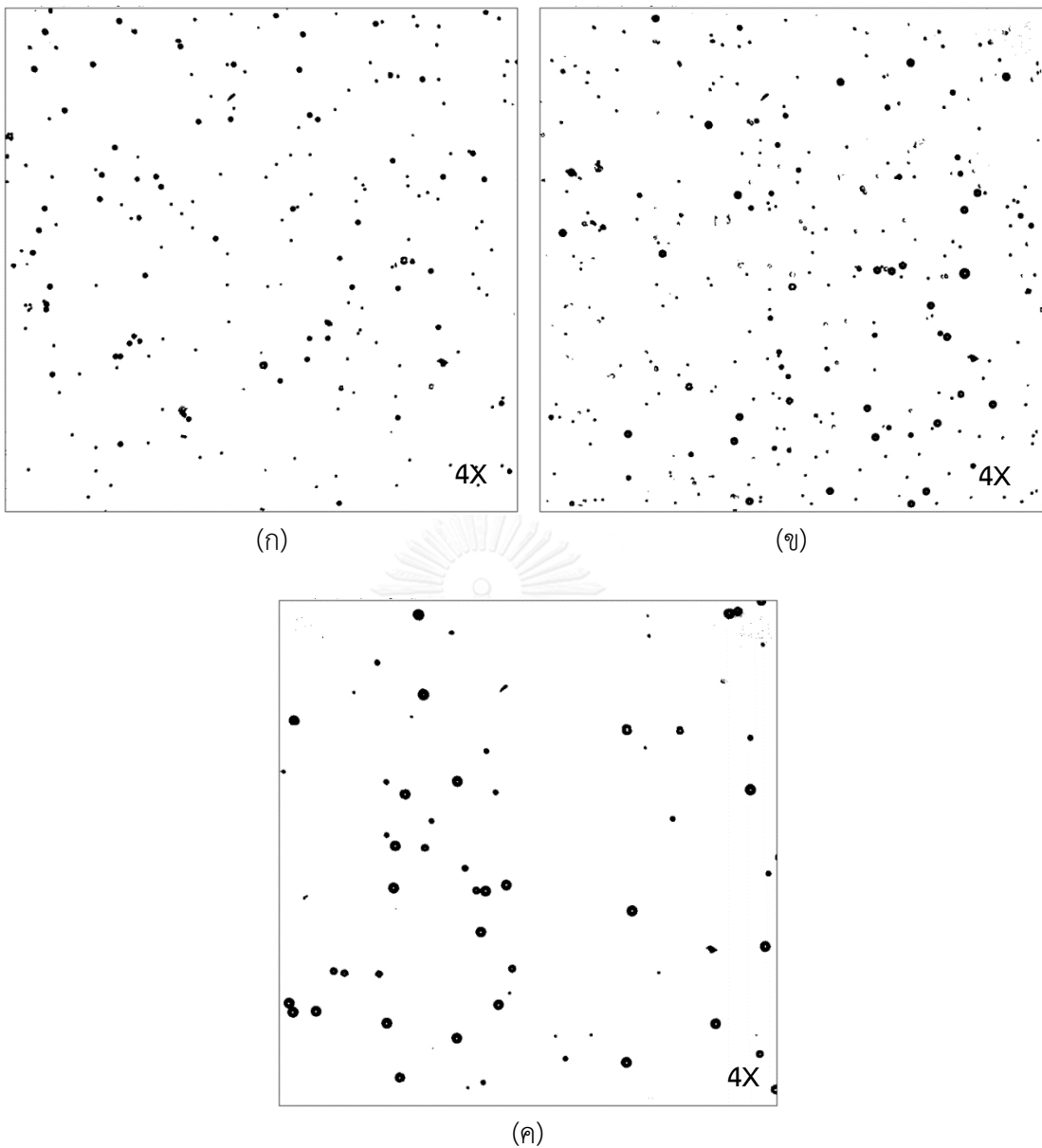
4.6.1 ขั้นตอนการใช้งานโปรแกรม Imagej

- ถ่ายภาพอนุภาคที่ต้องการจะนับ โดยในงานวิจัยนี้จะถ่ายภาพจากฮีโมไซโตมิเตอร์โดยใช้กล้องไมโครสโคป (รูปที่ 4.6ก-ค) โดยขนาดของอนุภาคที่ต้องการนับจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร



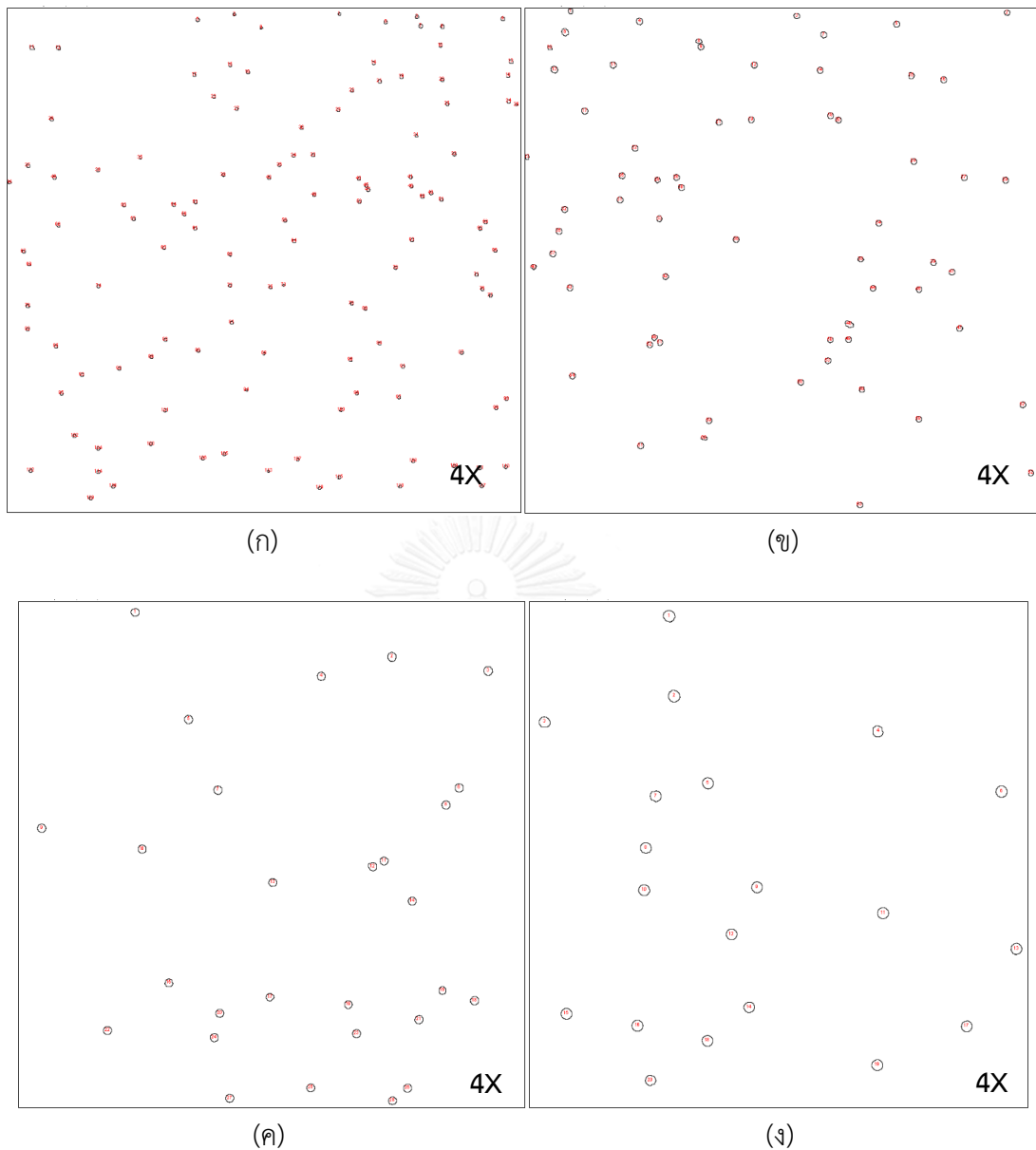
รูปที่ 4.6 ภาพตัวอย่าง (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร (ข) 15 ไมโครเมตร และ (ค) 20 ไมโครเมตร

- ปรับภาพให้เป็น 8 บิต โดยใช้คำสั่ง Image → Type → 8 bits จากนั้นทำการปรับภาพให้เป็นภาพขาว-ดำ โดยใช้คำสั่ง Image → Adjust → Threshold จะได้ภาพที่ใช้ในการสังับจำนวนอนุภาค (รูปที่ 4.7ก-ค)



รูปที่ 4.7 ภาพที่ใช้ในการสังับจำนวนอนุภาค (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร (ข) 15 ไมโครเมตร และ (ค) 20 ไมโครเมตร

- ทำการสั่งงานโปรแกรมให้ทำการนับจำนวนอนุภาคขนาดต่างๆ โดยใช้คำสั่ง Analyze → Analyze particles ในการนับอนุภาคขนาดต่างๆนั้นจำเป็นต้องมีการใส่ค่าพื้นที่ของอนุภาค (Size, pixel²) และค่าความกลมของอนุภาค (Circularity) ซึ่งค่าพื้นที่ของอนุภาคขนาดต่างๆนั้นจะมีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค โดยค่าพื้นที่ของอนุภาคจะได้รับการสอบเทียบโปรแกรมให้หวัข้อถัดไป และค่าความกลมของอนุภาคจะกำหนดให้มีค่าเท่ากับ 0.75-1 โดยการนับจำนวนของอนุภาคขนาดต่างๆจะแสดงในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ภาพการนับจำนวนอนุภาค (ก) อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร (ข) 10 ไมโครเมตร (ค) 15 ไมโครเมตร และ (ง) 20 ไมโครเมตร

4.6.2 การสอบเทียบโปรแกรม Imagej

การสอบเทียบโปรแกรม Imagej คือ การหาขนาดพื้นที่ของอนุภาค (ตารางพิกเซล) ขนาดต่างๆ เพื่อใช้ในการกำหนดขนาดอนุภาคที่ต้องการนับ โดยอนุภาคที่ใช้ในการทดลองนั้นจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ซึ่งแต่ละขนาดจะมีพื้นที่ที่แตกต่างกัน

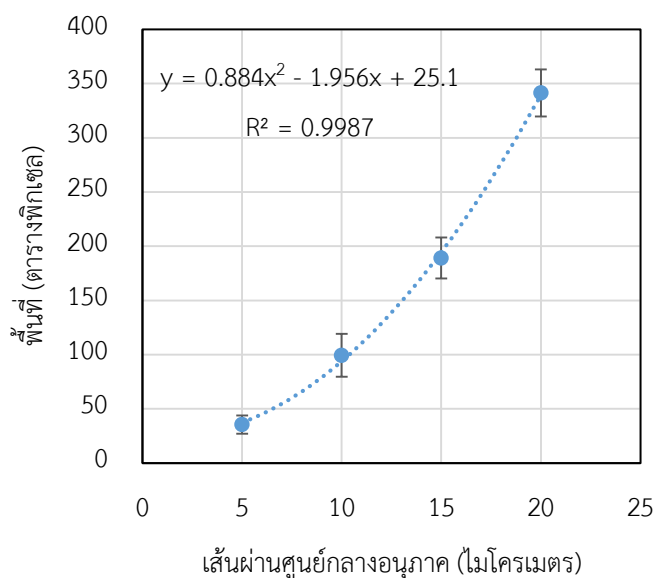
ขั้นตอนการสอบเทียบโปรแกรม

- เลือกรูปภาพของอนุภาคขนาดต่างๆ (รูปที่ 4.6ก-ค) และทำการนับโดยใช้โปรแกรม imagej ตามขั้นตอนในหัวข้อที่ 4.6.1 จะได้ข้อมูลของจำนวนอนุภาค และขนาดพื้นที่ของแต่ละอนุภาค แสดงในตารางที่ 4.1
- หาค่าเฉลี่ยของขนาดพื้นที่ของอนุภาคแต่ละขนาด และนำค่าที่ได้พล็อตลงบนกราฟ (รูปที่ 4.9) เพื่อหาสมการในการทำนายค่าพื้นที่ของอนุภาคที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอื่นๆ
- แทนค่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลงในสมการจากรูปที่ 4.9 จะได้ค่าพื้นที่ของอนุภาคขนาดต่างๆที่ใช้กำหนดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างๆในการนับจำนวนอนุภาคดังตารางที่ 4.2
- จากข้อมูลที่ได้จากการสอบเทียบโปรแกรม เมื่อต้องการนับจำนวนของอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร จะต้องใส่ขนาดพื้นที่ของอนุภาคดังตารางที่ 4.1



ตารางที่ 4.1 ขนาดพื้นที่ของอนุภาค

จำนวน	ขนาดพื้นที่ของอนุภาค (ตารางพิกเซล)			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	21	69	188	386
2	23	83	219	392
3	36	91	225	333
4	44	116	190	315
5	37	106	201	349
6	35	136	198	368
7	42	105	201	334
8	43	75	197	332
9	17	104	205	333
10	38	50	194	346
11	50	113	184	357
12	48	103	200	329
13	41	130	161	337
14	33	105	184	319
15	34	97	166	338
16	33	106	154	350
17	30	111	160	333
18	35	99	199	335
19	35	97	175	341
20	37	92	183	301
ค่าเฉลี่ย	35.60	99.40	189.20	341.40
ความคลาดเคลื่อน	± 8.38	± 19.76	± 18.91	± 21.84
พื้นที่การนับอนุภาค	27.22-43.98	79.64-119.16	170.29-208.11	319.56-363.24



รูปที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยของขนาดพื้นที่ของอนุภาคแต่ละขนาด

ตารางที่ 4.2 ขนาดพื้นที่ของอนุภาคจากการทำนาย

ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางอนุภาค (μm)	พื้นที่ (pixel^2)	ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางอนุภาค (μm)	พื้นที่ (pixel^2)
5	37.42	18	276.31
6	45.19	19	307.06
7	54.72	20	339.58
8	66.03	21	373.87
9	79.10	22	409.92
10	93.94	23	447.75
11	110.55	24	487.34
12	128.92	25	528.70
13	149.07	26	571.83
14	170.98	27	616.72
15	194.66	28	663.39
16	220.11	29	711.82
17	247.32	30	762.02

4.7 สรุปผล

การเตรียมอุปกรณ์ในการทดลองจะเริ่มต้นจากการสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาคโดยใช้เทคโนโลยี Soft lithography ในการสร้างแม่พิมพ์ซิลิกอน และขึ้นรูปชิ้นงานด้วยเทคโนโลยี Soft lithography จากนั้นจึงเตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและทำการติดตั้ง โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองจะประกอบด้วยคอมพิวเตอร์และกล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพและบันทึกภาพ อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายพร้อมสายยางต่อท่อทางเข้าและท่อทางออกต่างๆ ชุดอุปกรณ์หลอดฉีดยาและเข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร และหลอดทดลองสำหรับเก็บสารตัวอย่างที่ทางออกต่างๆ

วิธีการทดลองจะเริ่มจากการเตรียมสารละลายผสมเม็ดพลาสติก และสารละลายบัพเฟออร์ จากนั้นจึงเริ่มทำการทดลองโดยการไหลสารละลายด้วยเข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตรที่ต่อเข้ากับอุปกรณ์คัดแยกอนุภาค หลังจากทำการคัดแยกเสร็จสิ้น จึงนำตัวอย่างของสารละลายที่ได้จากทางออกต่างๆไปวิเคราะห์ผลด้วยการนับความหนาแน่นของอนุภาคโดยใช้โปรแกรม imagej และคำนวณประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ต่อไป

บทที่ 5 ผลการทดลอง

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงการตัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดพลาสติกซึ่งเป็นอนุภาคตัวอย่างแทนเซลล์มะเร็งจริง ด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย เพื่อทดสอบหาค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลที่จะส่งผลให้เกิดประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด โดยเม็ดพลาสติกที่ใช้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร

5.1 การทดลองที่ 1 (อัตราการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งคงที่)

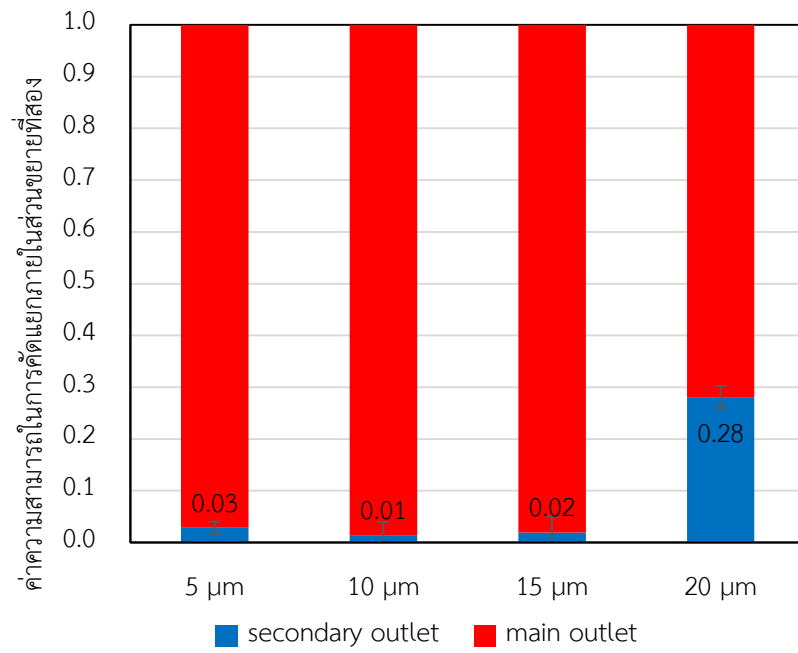
การทดลองในส่วนแรกในส่วนขยายที่หนึ่งจะใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 180 (อัตราการไหลคงที่เท่ากับ 540 ไมโครลิตรต่อนาที) และส่วนขยายที่สองจะเปลี่ยนแปลงค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 60, 80 และ 100 (อัตราการไหลเท่ากับ 180, 240 และ 300 ไมโครลิตรต่อนาที) ทำให้ σ_1 มีค่าเท่ากับ 6.65, 5.86 และ 5.20 ตามลำดับ ในขณะที่ σ_2 มีค่าคงที่เท่ากับ 10

ผลการทดลองที่ 1 จากรูปที่ 5.1ก แสดงค่าความสามารถในการตัดแยกภายในส่วนขยายที่สอง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 60 แสดงให้เห็นว่าการตัดแยกอนุภาคในทุกๆ ขนาดจะถูกตัดแยกด้วยกระแสการไหลหลักออกไปสู่ทางออกหลักเป็นส่วนใหญ่ โดยที่อนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรถูกตัดแยกไปที่ทางออกรองเพียง 28% เท่านั้น

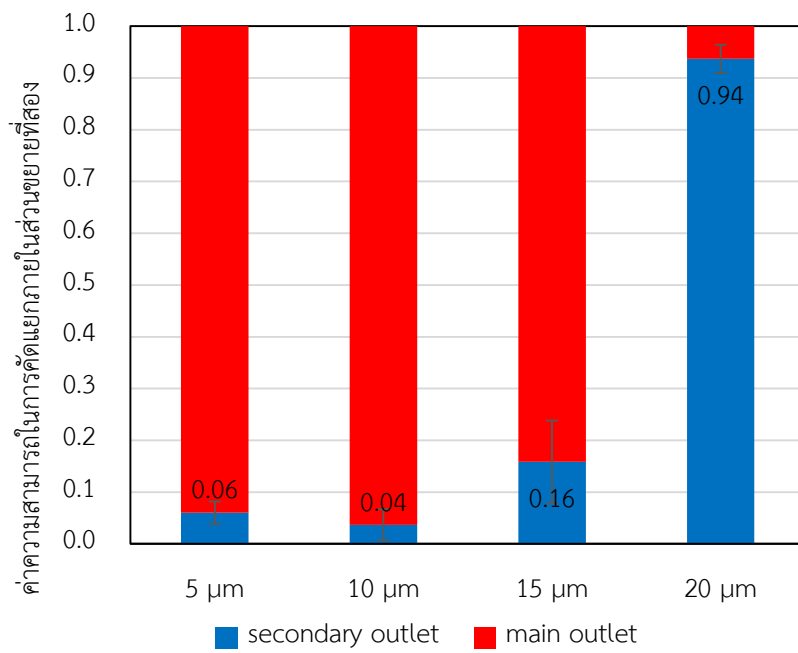
จากรูปที่ 5.1ข แสดงค่าความสามารถในการตัดแยกภายในส่วนขยายที่สอง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าการตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10 และ 15 ไมโครเมตรถูกตัดแยกไปยังทางออกหลักเป็นส่วนใหญ่ ส่วนอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกออกไปที่ทางออกรองเกือบทั้งหมดคิดเป็น 94%

จากรูปที่ 5.1ค แสดงค่าความสามารถในการตัดแยกภายในส่วนขยายที่สอง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าการตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตรถูกตัดแยกไปยังทางออกหลักเป็นส่วนใหญ่ การตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกรอง 67% ส่วนที่เหลือนั้นจะถูกตัดแยกไปยังทางออกหลัก และการตัดแยกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตร จะถูกตัดแยกออกไปที่ทางออกรองเกือบทั้งหมดคิดเป็น 90%

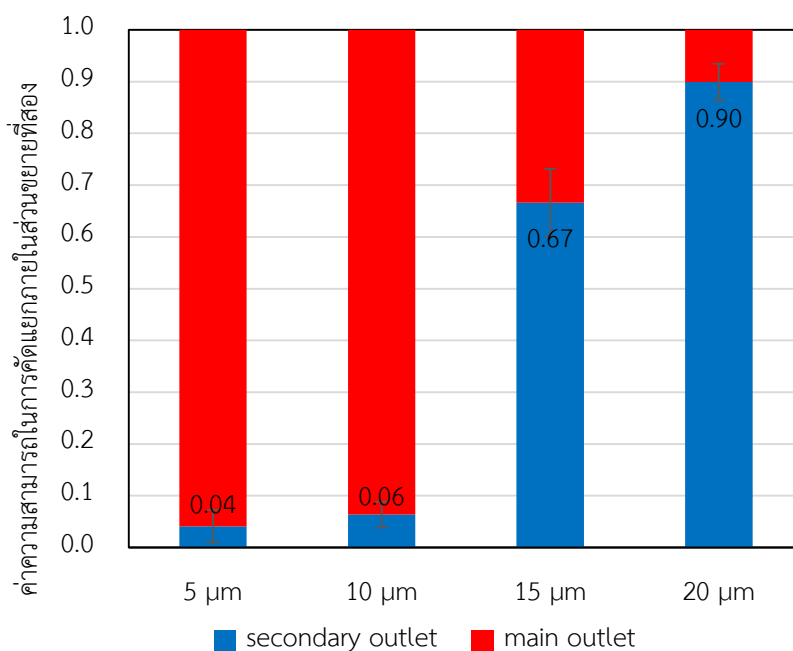
จากผลการทดลองที่ 1 สามารถสรุปได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของส่วนขยายที่สองเท่ากับ 80 จะให้ผลการตัดแยกอนุภาคดีกว่ากรณีอื่น โดยอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรในส่วนขยายที่สองจะไหลไปที่ท่อทางออกหลักและทางออกรองของ CE2 ตามลำดับ และประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 84% และ 94% ตามลำดับ



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 5.1 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่สองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 และ (ค) 100

5.2 การทดลองที่ 2 (อัตราการไหลในส่วนขยายที่สองคงที่)

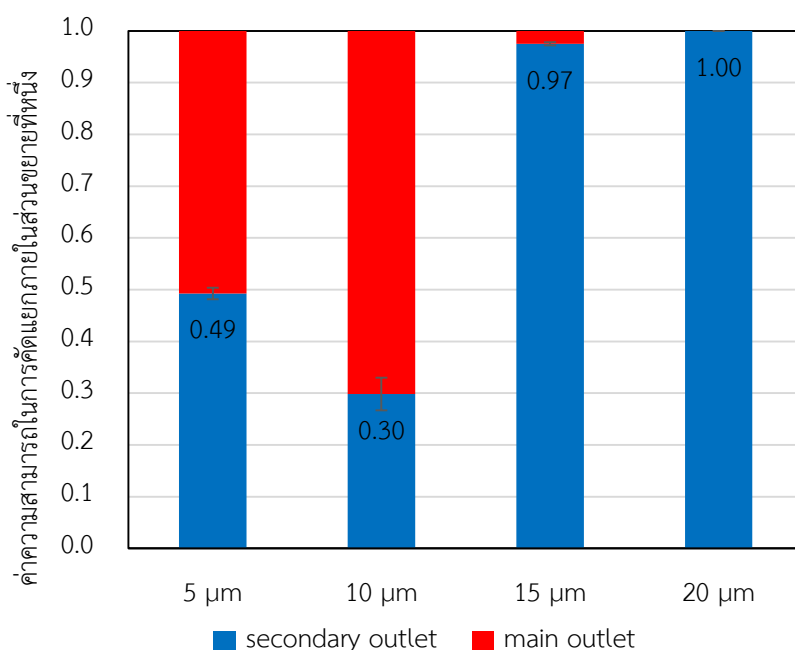
จากผลการทดลองที่ 1 สรุปได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของส่วนขยายที่สองเท่ากับ 80 จะให้ผลการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด ดังนั้นในการทดลองที่ 2 จึงได้ใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของส่วนขยายที่สองเท่ากับ 80 เป็นค่าคงที่ และปรับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100, 120, 140, 160 และ 180 (อัตราการไหลของส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 300, 360, 420, 480 และ 540 ไมโครลิตรต่อวินาที) ทำให้มีค่า σ_1 เท่ากับ 8.97, 7.58, 6.77, 6.24 และ 5.86 ตามลำดับ

ผลการทดลองที่ 2 จากรูปที่ 5.2ก แสดงค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่ง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100 แสดงให้เห็นว่าการคัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลักและทางออกรองในอัตราส่วนที่เท่าๆกัน เนื่องจากค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 นั้นยังไม่ทำให้อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรเรียงตัวในตำแหน่งที่สมดุลได้ จึงส่งผลให้การคัดแยกนั้นกระจายไปที่แต่ละทางออก ในขณะที่อนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรนั้นจะถูกคัดออกไปที่ทางออกหลัก 70% และในทางกลับกันอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 และ 20 ไมโครเมตรเกือบทั้งหมดจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกรอง

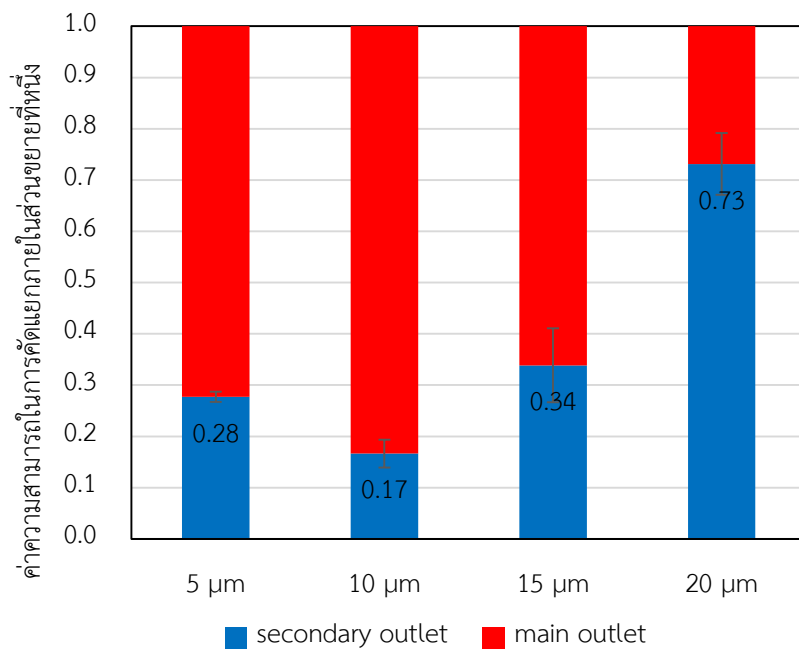
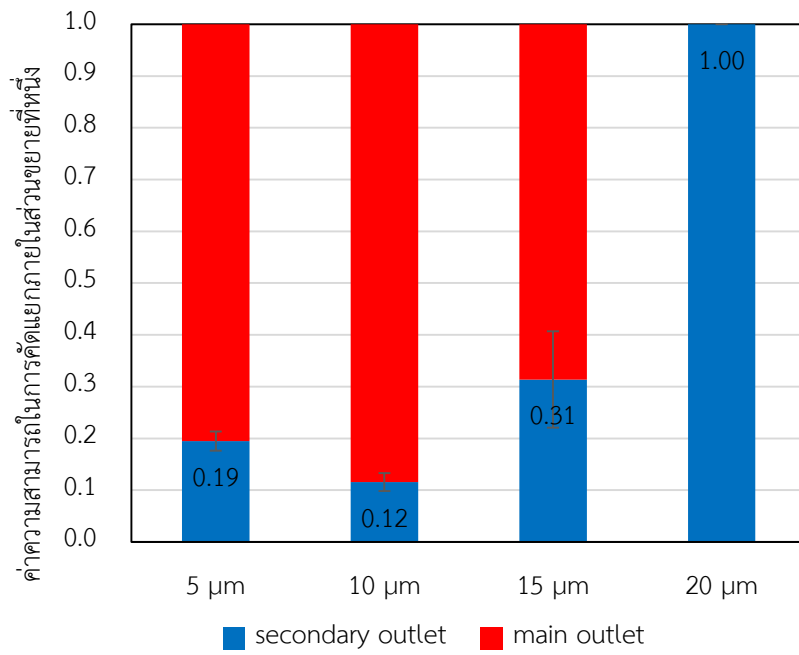
จากรูปที่ 5.2ข แสดงค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่ง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 120 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์จาก 100 เป็น 120 การคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลักเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรเรียงตัวเข้าสู่ตำแหน่งสมดุลแล้ว และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 และ 15 ไมโครเมตรส่วนมากจะถูกคัดแยกออกไปยังทางออกรอง ในขณะที่อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรยังคงถูกคัดแยกไปที่ทางออกรองทั้งหมด

จากรูปที่ 5.2ค แสดงค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่ง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 140 แสดงให้เห็นว่าการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10 และ 15 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะถูกคัดแยกออกไปที่ทางออกหลัก ในขณะที่อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรยังคงถูกคัดแยกไปที่ทางออกรองคิดเป็น 73%

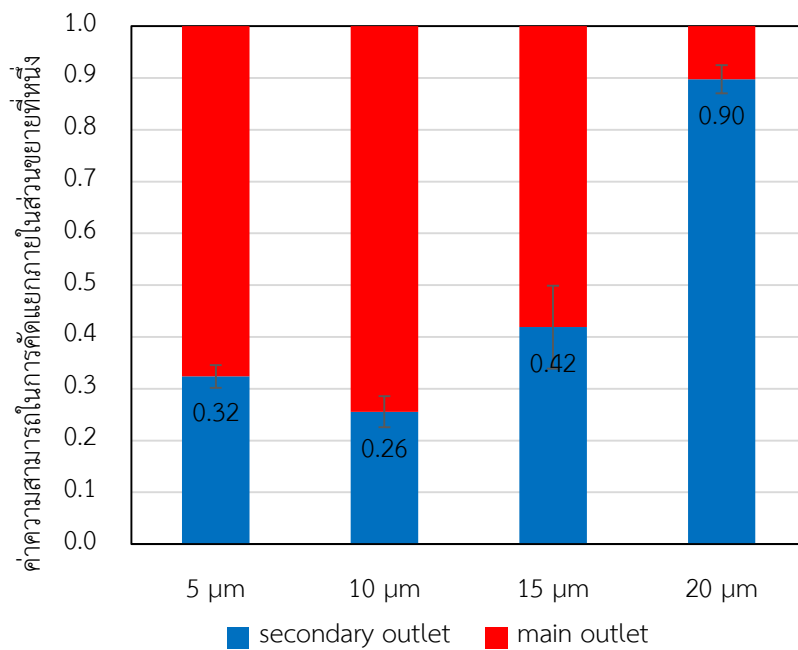
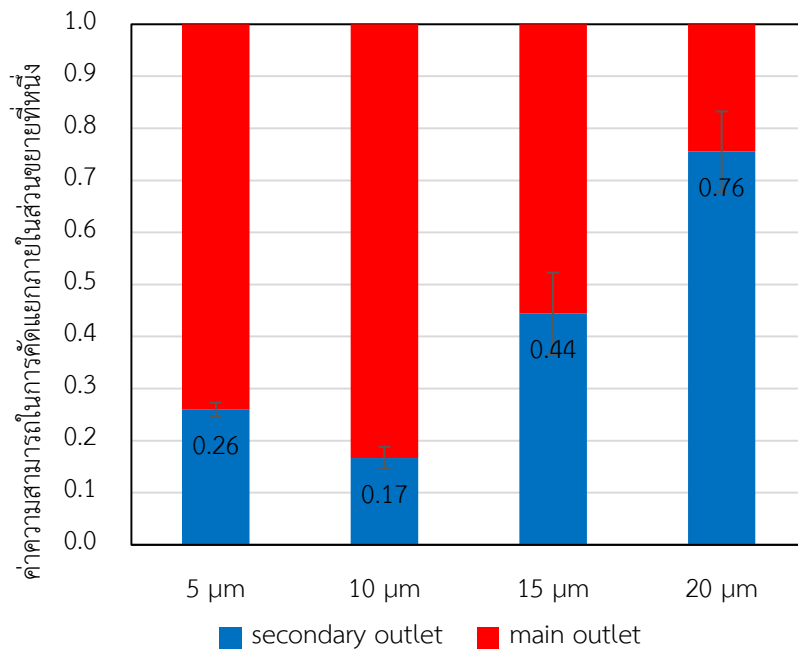
จากรูปที่ 5.ง-จ แสดงค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่ง ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเท่ากับ 160 และ 180 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตรส่วนใหญ่จะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลัก อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรถูกคัดแยกออกไปที่ทางออกทั้งสองในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน และสุดท้ายอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรส่วนใหญ่ถูกคัดแยกไปที่ทางออกรองคิดเป็น 76% และ 90% ตามลำดับ



(ก)



(ค)



(จ)

รูปที่ 5.2 ค่าความสามารถในการคัดแยกภายในส่วนขยายที่หนึ่งที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 100 (ข) 120 (ค) 140 (ง) 160 และ (จ) 180

จากผลการทดลองที่ 1 และ 2 ในการหาค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคภายในส่วนขยายที่หนึ่ง และสอง ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าในส่วนขยายที่ 1 ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 มีค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด โดยสามารถตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร ไปยังทางออกหลักได้ 70% และตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 และ 20 ไมโครเมตรไปยังทางออกรองได้ 97% และ 100% ตามลำดับ และในส่วนขยายที่สอง ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 80 มีค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด โดยสามารถตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตร ไปยังทางออกหลักได้ 84% และตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรไปยังทางออกรองได้ 94%

5.3 ประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์

จากสมการที่ 4.3 เมื่อคำนวณประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100, 140, 180 และส่วนขยายที่สองมีค่าคงที่เท่ากับ 80 ดังรูปที่ 5.3 ก-ค จะได้ประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ที่ทางออกต่างๆ

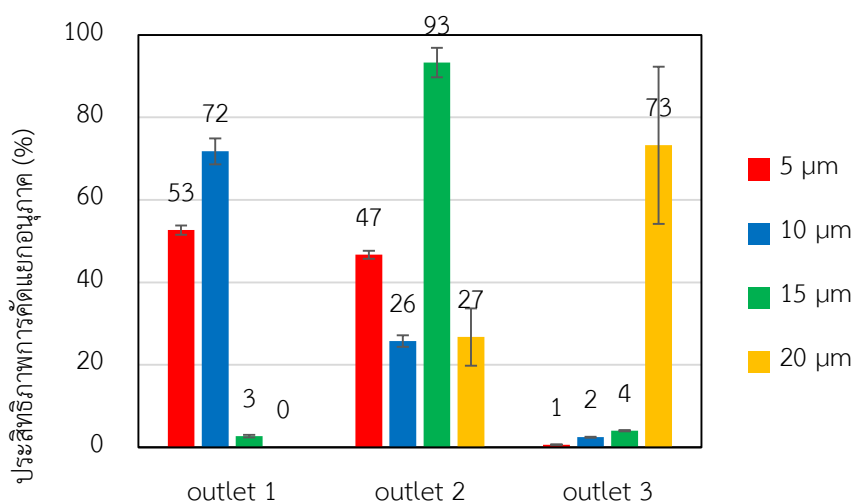
จากรูปที่ 5.3ก ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 และ 2 ในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 53% และ 47% ที่ทางออกที่ 1 และ 2 ตามลำดับ อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 72% อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 2 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 93% และอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 73%

จากรูปที่ 5.3ข ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 140 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 72% อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 เช่นเดียวกับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร มีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเท่ากับ 83% อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งในงานวิจัยนี้มีความต้องการที่จะตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรไปที่ทางออกที่ 2 ดังนั้นการตัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจึงมีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคเพียง 31% เท่านั้น และอนุภาคขนาดเส้นผ่าน

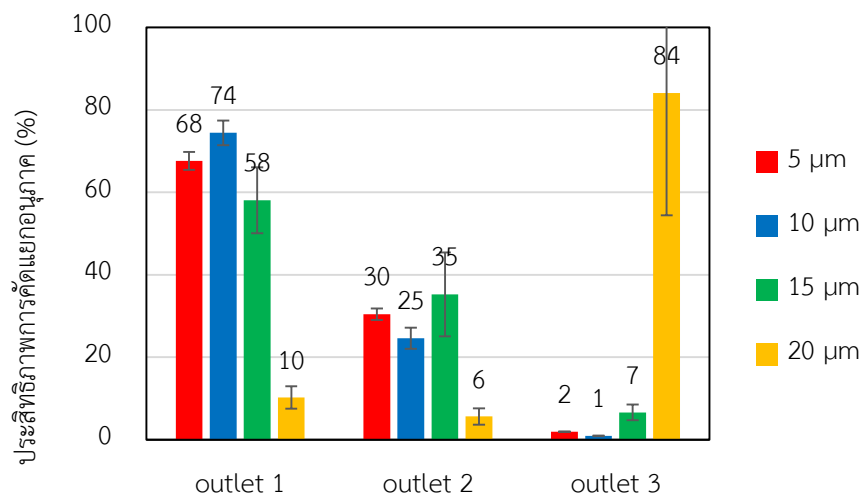
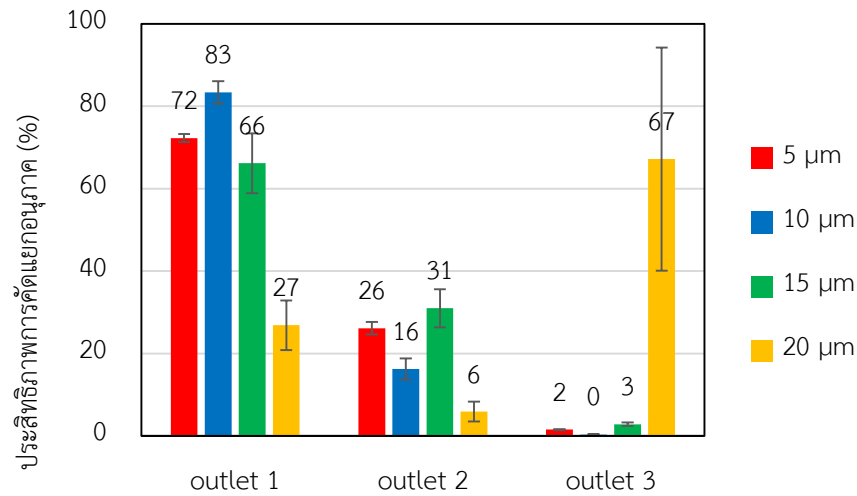
ศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคเท่ากับ 67%

จากรูปที่ 5.3ค ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 180 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดต่างๆใกล้เคียงกับการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 140 โดยประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตรจะมีค่าลดลงเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งสูงขึ้น ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 และ 20 ไมโครเมตรจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งสูงขึ้น โดยประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรมีค่าเท่ากับ 68, 74, 35 และ 84% ตามลำดับ

จากรูปที่ 5.3ก-ค จะสามารถสรุปได้ว่าหากต้องการที่จะคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 และ 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกที่แตกต่างกัน ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 180 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 จะมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 74% สำหรับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร และ 84% สำหรับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตร และหากต้องการที่จะคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกที่แตกต่างกัน ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 จะมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 72% สำหรับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร 93% สำหรับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตร และ 73% สำหรับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตร



(ก)



(ค)

รูปที่ 5.3 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่สองเป็นค่าคงที่เท่ากับ 80 และ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ (ก) 100 (ข) 140 และ (ค) 180

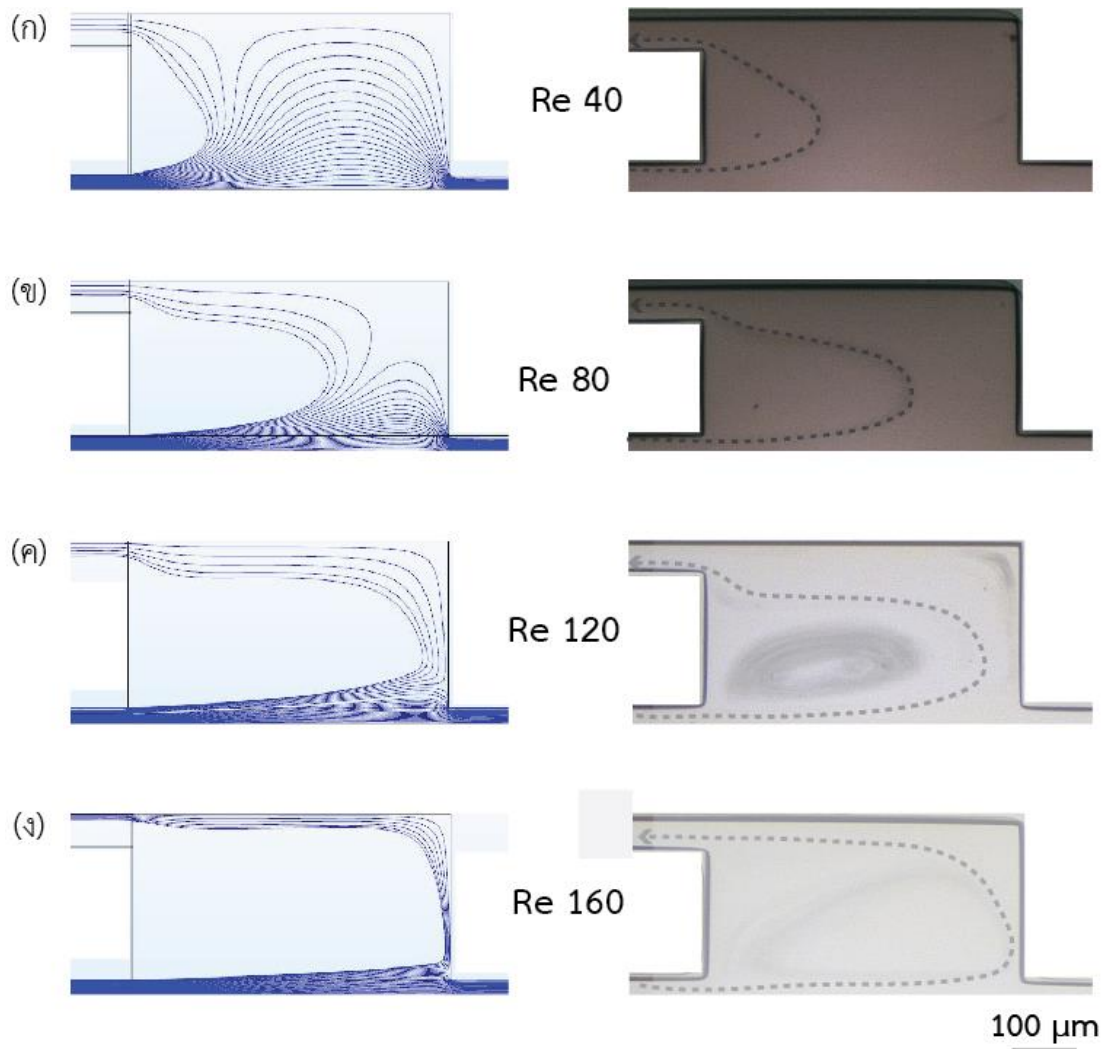
180

5.4 การอภิปรายผลการทดลอง

5.4.1 ขนาดของกระแสม้วนวน

เมื่อนำลักษณะการเคลื่อนที่ของอนุภาคจากการทดลองมาเปรียบเทียบกับลักษณะของสตรีมไลน์ที่ได้จากการจำลองทางคอมพิวเตอร์ ตัวอย่างเช่น การคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 40, 80, 120 และ 160 (รูปที่ 5.4ก-ง) แสดงให้เห็นว่าขนาดของกระแสม้วนวนจากการทดลอง

และจากการจำลองทางคอมพิวเตอร์มีขนาดของกระแสหมุนวนที่ใกล้เคียงกัน โดยขนาดของกระแสหมุนวนนั้นจะขยายใหญ่ขึ้นเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์สูงขึ้น

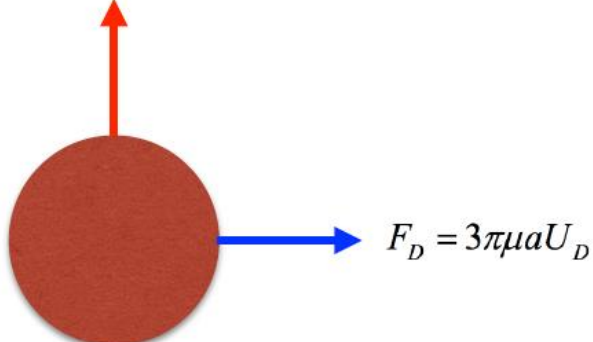


รูปที่ 5.4 การเปรียบเทียบเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคที่ได้จากการจำลองทางคอมพิวเตอร์ (ซ้าย) และการเคลื่อนที่ของอนุภาคจากการทดลอง (ขวา) ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 40 (ข) 80 (ค) 120 และ (ง) 160

5.4.2 แรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก

เมื่อพิจารณาแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก จะพบแรง 2 แรงที่กระทำกับอนุภาค คือ แรงยกเกรเดียนต์ (shear gradient lift force, F_{LS}) และแรงดริน (Dean drag force, F_D) (รูปที่ 5.5) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.1 และ 2.6 ตามลำดับ โดยแรงดรินจะส่งผลให้อนุภาคถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลัก และแรงยกเกรเดียนต์จะส่งผลให้อนุภาคถูกคัดแยกไปที่ทางออก

รอง ซึ่งแรงที่กระทำกับอนุภาคทั้ง 2 แรงนั้นจะมีขนาดเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ของการไหล และเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค

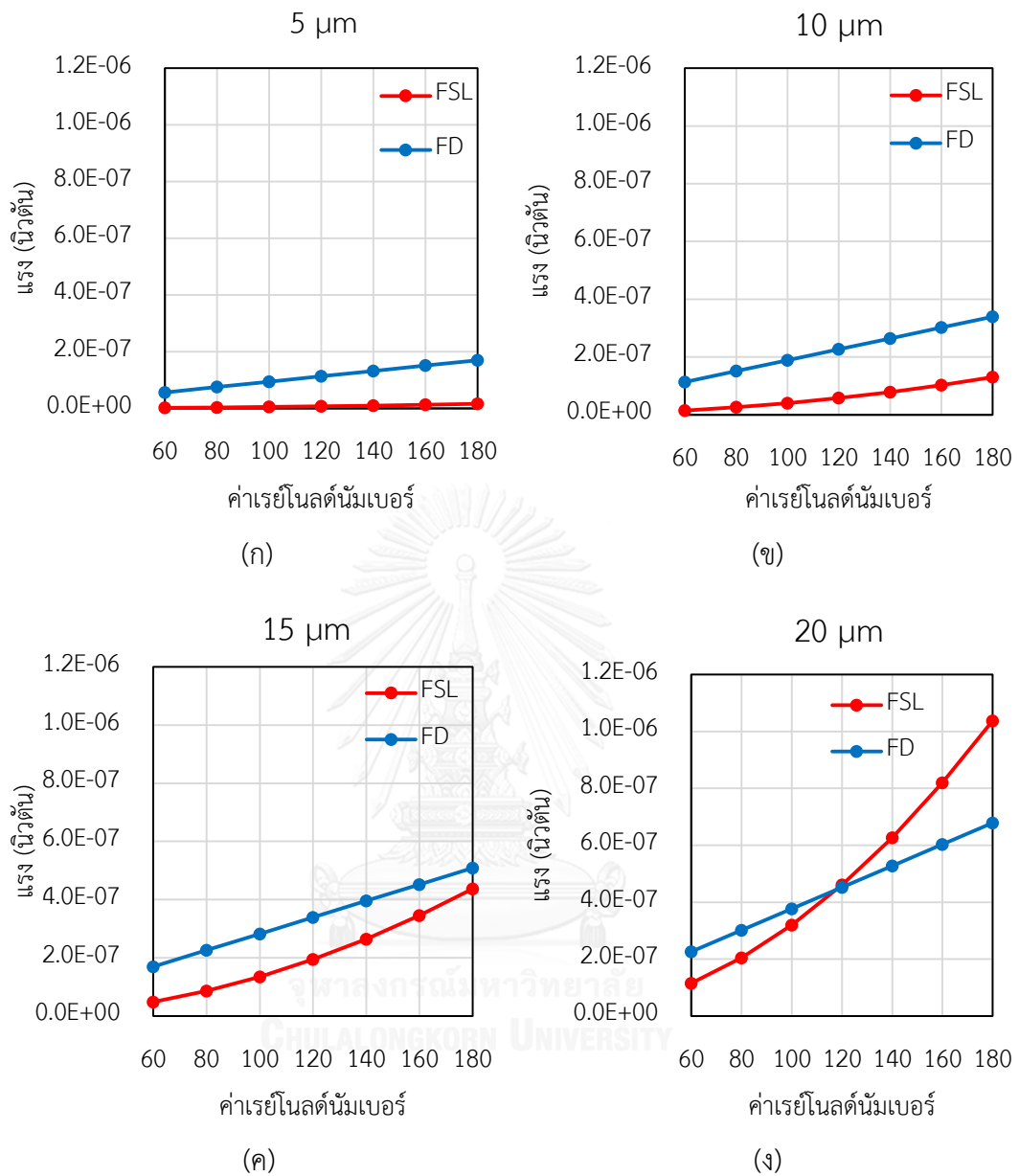
$$F_{SL} = \frac{f_L \rho_f u_m^2 a^3}{W}$$


รูปที่ 5.5 ทิศทางของแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก

การคำนวณแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็กที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ต่างๆ แสดงให้เห็นว่า แรงที่กระทำกับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 และ 10 ไมโครเมตร (รูปที่ 5.6-ข) แรงคืนจะมีค่าสูงกว่าแรงยกเกรเดียนต์ที่ทุกๆค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ และเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เพิ่มสูงขึ้น ค่าความแตกต่างของแรงทั้ง 2 จะมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

แรงที่กระทำกับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตร แรงคืนจะมีค่าสูงกว่าแรงยกเกรเดียนต์ที่ทุกๆค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ และเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เพิ่มสูงขึ้น ค่าความแตกต่างของแรงทั้ง 2 จะมีค่าลดลง และมีค่าใกล้เคียงกันเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 180

แรงที่กระทำกับอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตร แรงคืนจะมีค่าสูงกว่าแรงยกเกรเดียนต์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ตั้งแต่ 60-100 หลังจากนั้นเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 120 แรงทั้งสองจะมีขนาดที่เท่ากัน และเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 120 แรงยกเกรเดียนต์จะมีค่าสูงกว่าแรงคืน และค่าความแตกต่างของแรงทั้ง 2 จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์สูงขึ้น

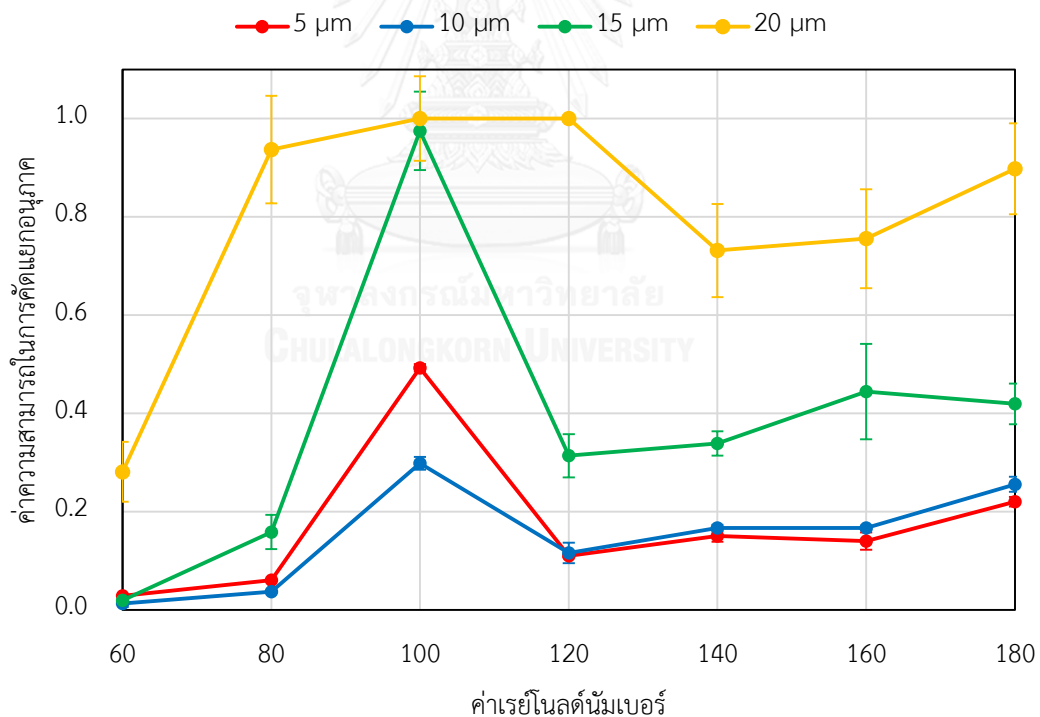


รูปที่ 5.6 การคำนวณแรงที่กระทำกับอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็กที่อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 20 ไมโครเมตร

5.4.3 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ

จากการทดลองที่ 1 และ 2 จะได้ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ (รูปที่ 5.7) ผลการทดลองพบว่าค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคจะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 จะเป็นจุดที่ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคในทุกๆ ขนาดมีค่าสูงที่สุด (อนุภาคถูกคัดแยกไปที่ทางออกทรงมากที่สุด) และจะเริ่มลดลงเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้น

จากหัวข้อที่ 5.4.1 และ 5.4.2 สามารถอธิบายได้ว่า ช่วงของการคัดแยกอนุภาคที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 60-100 ขนาดของกระแสการหมุนวนยังเกิดไม่เต็มห้องการไหล ส่งผลทำให้อนุภาคขนาดต่างๆนั้นสามารถเคลื่อนที่ไปยังทางออกกรองโดยอาศัยกระแสการไหลรองได้ หลังจากนั้นเมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เพิ่มขึ้นจาก 100 เป็น 120 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคขนาด 5-15 ไมโครเมตรจะมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว จะมีค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคต่ำกว่า 0.4 เนื่องจากขนาดของกระแสการหมุนวนจะขยายใหญ่ขึ้นจนเกือบเต็มห้องการไหล ประกอบกับขนาดของแรงดันที่มีค่ามากกว่าแรงยกเกรเดียนต์ทำให้การคัดแยกอนุภาค 5-15 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลัก แต่สำหรับอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรแรงทั้ง 2 ที่กระทำกับอนุภาคจะมีขนาดที่ใกล้เคียงกันทำให้อนุภาคยังสามารถคัดแยกไปที่ทางออกกรองได้ ทำให้ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรจะมีค่าคงที่เท่ากับ 1.0 และจากนั้นเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้นจาก 120 จนถึง 180 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคทุกๆขนาดจะมีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในการเคลื่อนที่ของอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดแรงยกเกรเดียนต์มีค่าสูงขึ้น



รูปที่ 5.7 ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ

ในทางกลับกันเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคแต่ละขนาดที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เดียวกัน พบว่าในทุกๆค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคจะแปรผันตรงกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค กล่าวคือ อนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่จะมีค่า

ความสามารถในการตัดแยกอนุภาคสูงกว่าอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก (อนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่จะถูกตัดแยกไปยังทางออกรองได้ดีกว่าอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก) ยกเว้นเพียงอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่ำกว่า 120 จะมีความสามารถในการตัดแยกอนุภาคสูงกว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร เนื่องจากที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่ำกว่า 120 อนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรจะยังไม่เกิดการเรียงตัวในสภาวะสมดุล ส่งผลให้อนุภาคไม่สามารถเคลื่อนที่ตามกระแสการไหลหลักได้ จึงมีบางส่วนที่กระจายออกไปยังกระแสการไหลรอง ทำให้ค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคเพิ่มขึ้น

5.5 สรุปผลการทดลอง

การทดลองการตัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ พบว่าที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 60-100 ค่าความสามารถจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 จะเป็นจุดที่ค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคในทุกๆขนาดมีค่าสูง จากนั้นค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคจะมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว และจะสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์จนถึง 180 และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคแต่ละขนาดที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เดียวกัน พบว่าในทุกๆค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ ค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคจะแปรผันตรงกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค กล่าวคือ อนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่จะมีค่าความสามารถในการตัดแยกอนุภาคสูงกว่าอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก โดยผลการทดลองที่ให้ผลการตัดแยกที่ดีกว่ากรณีอื่นจะมีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในสภาวะที่หนึ่งและสองเท่ากับ 100 และ 80 ตามลำดับ (อัตราการไหลในสภาวะที่หนึ่งและสองเท่ากับ 300 และ 240 ไมโครลิตรต่อนาทีตามลำดับ) ผลการทดลองที่สภาวะนี้พบว่าอนุภาคทั้งหมด (เม็ดพลาสติก) ถูกตัดแยกไปที่ทางออกต่างๆตามที่คาดหวังไว้ โดยมีประสิทธิภาพการตัดแยกอนุภาคมากกว่า 70% ยกเว้นอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรที่ถูกตัดแยกไปที่ทางออกที่คาดหวังไว้ได้เพียง 53% เท่านั้น เนื่องจากอนุภาคยังไม่เกิดการเรียงตัวอย่างสมบูรณ์ที่ตำแหน่งสมดุล

บทที่ 6 การคัดแยกเซลล์ การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงการคัดแยกเซลล์จริงด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ตามขนาด โดยเซลล์ที่จะนำมาใช้ในการทดลองนั้นจะประกอบด้วยเซลล์ชนิดต่างๆ 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cells; RBC), เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia cells; Jurkat) และ เซลล์ไตมาดิงดาร์บี้ (Madin-Darby kidney cells ; MDCK) นำมาผสมกันเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกัน

จากผลการทดลองในบทที่ 5 พบว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 ที่ส่วนขยายที่ 1 และ 80 ที่ส่วนขยายที่ 2 จะมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่สูงที่สุด ดังนั้นสำหรับการคัดแยกเซลล์จริงจะใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์นี้ในการทดลอง และนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคโดยใช้เม็ดพลาสติกต่อไป

6.1 การคัดแยกเซลล์ (Cell separation)

6.1.1 การเตรียมเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง

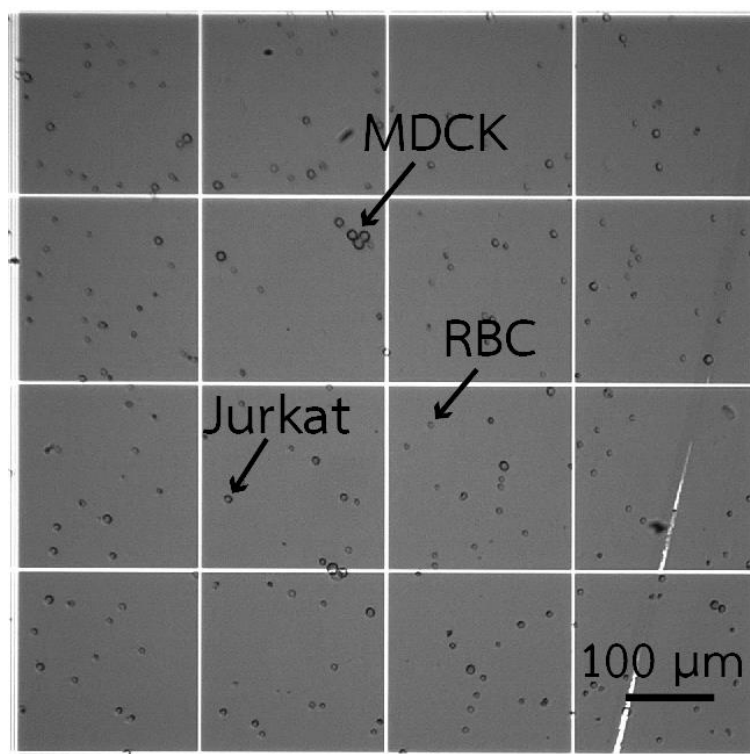
6.1.1.1 สารละลายผสมเซลล์

สารละลายประกอบด้วยสารละลาย Phosphate buffered saline (PBS) และเซลล์ชนิดต่างๆ 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC), เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) และ Madin-Darby kidney cells (MDCK) ซึ่งเซลล์แต่ละชนิดจะมีขนาดที่แตกต่างกัน (รูปที่ 6.1) โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6-7 ไมโครเมตร เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9-10 ไมโครเมตร และ MDCK ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15-20 ไมโครเมตร

เซลล์ที่ใช้ในการทดลองนั้นจะมีความเข้มข้นต่างกัน โดยเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และ MDCK จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.2×10^6 , 4.4×10^5 , 8.7×10^4 และ 2.5×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนั้นมีการผสม EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic) ลงไปเล็กน้อยเพื่อป้องกันการติดกันเป็นกลุ่มของเซลล์ โดยก่อนการผสมจะกรองสารละลาย PBS ด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันในอุปกรณ์ และหลังจากผสมสารละลาย PBS กับเซลล์เรียบร้อยแล้วจะทำการกรองอีกครั้งด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 40 ไมโครเมตร

6.1.1.2 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์จะใช้สารละลาย PBS ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในสารละลายผสมเซลล์ โดยก่อนนำสารละลาย PBS ไปใช้ในการทดลองจะทำการกรองด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันในอุปกรณ์



รูปที่ 6.1 ตัวอย่างสารละลายผสมเซลล์

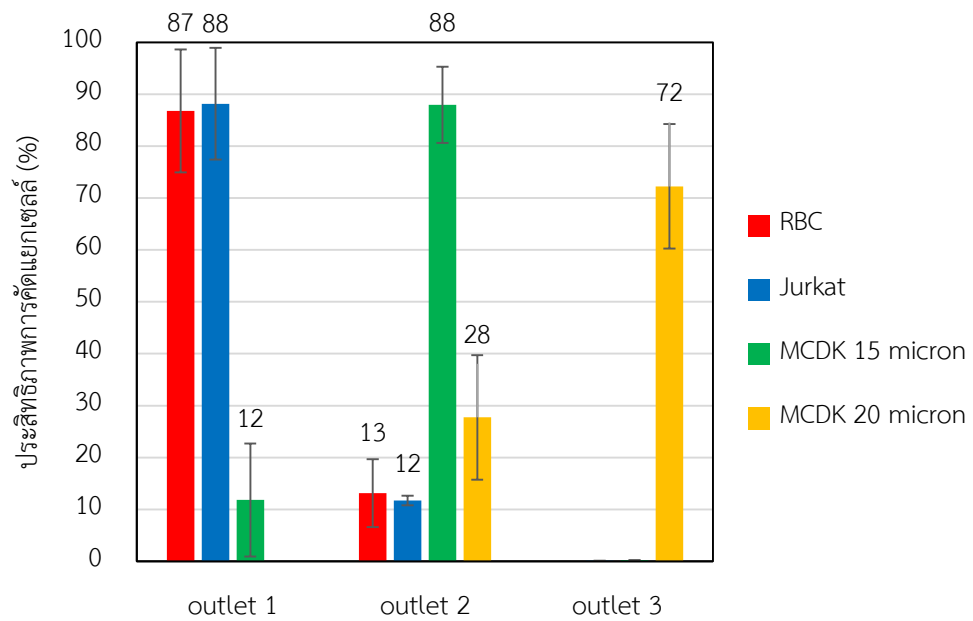
6.1.2 ขั้นตอนการทดลอง

ในระหว่างทำการทดลองจะบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านซึ่งได้ติดตั้งกล้องบันทึกภาพร่วมกับคอมพิวเตอร์ ในการทดลองใช้กล้องที่มีความละเอียด 3 ล้านพิกเซลและความไว 30 เฟรมต่อวินาที หลังจากนั้นปรับระยะโฟกัสของภาพและกำลังขยายให้เหมาะสมเพื่อให้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในชิ้นงานได้อย่างชัดเจน ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลในแต่ละครั้งจำเป็นต้องรอให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่สถานะสมดุลเสียก่อนจึงจะสามารถบันทึกภาพและเก็บตัวอย่างอนุภาคที่ทางออกได้ ซึ่งจะได้ผลการทดลองที่มีคลาดเคลื่อนน้อย โดยขั้นตอนในการทดลองมีดังต่อไปนี้

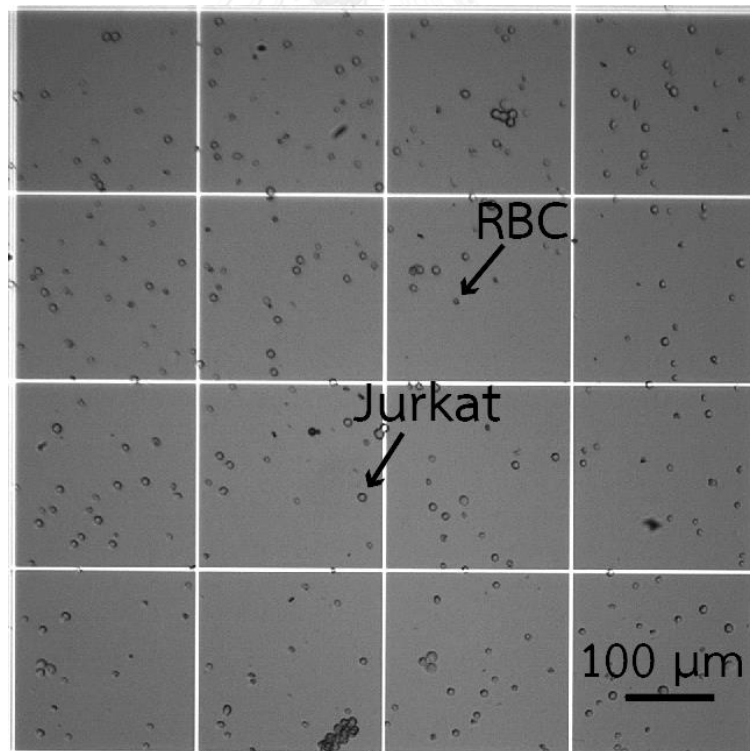
- ฉีดสารละลาย PBS เข้าไปในอุปกรณ์คัดแยกเซลล์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรก และไล่ฟองอากาศภายในอุปกรณ์
- ใช้หลอดฉีดยาไหลดตัวอย่างสารละลายผสมเซลล์ที่ได้เตรียมไว้จำนวน 2 หลอด และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 1 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้ โดยหลอดที่ 1 จะฉีดเข้าสู่อุปกรณ์คัดแยกเซลล์ และหลอดที่ 2 จะฉีดเข้าสู่หลอดทดลองควบคุม (control)
- ใช้หลอดฉีดยาไหลดสารละลาย PBS และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 2 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้
- ต่อท่อซิลิโคนจากหลอดฉีดยาทั้งสองเข้ากับทางเข้าของอุปกรณ์คัดแยกเซลล์ และต่อท่อซิลิโคนที่ทางออกทั้ง 3 ทางไปยังหลอดทดลองทั้ง 3 หลอดเพื่อเก็บตัวอย่างการคัดแยกเซลล์ที่ทางออกนั้นๆ
- เปิดปั๊มทั้งสองเพื่อเริ่มทำการคัดแยกเซลล์ และปิดปั๊มเมื่อสารละลายผสมเซลล์เหลือน้อยกว่า 1 มิลลิลิตร โดยระหว่างการทดลองควรตรวจสอบภายในห้องการไหลขนาดเล็กอย่างสม่ำเสมอเพื่อป้องกันการอุดตันของอนุภาคอื่นๆที่อาจจะเข้ามาภายในอุปกรณ์ได้
- นำตัวอย่างเซลล์ที่ได้จากการทดลองทั้ง 4 หลอดไปวิเคราะห์ผลโดยใช้วิธีการเดียวกับการทดลองด้วยเม็ดพลาสติกในหัวข้อที่ 4.5
- ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง และนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

6.1.3 ผลการทดลอง

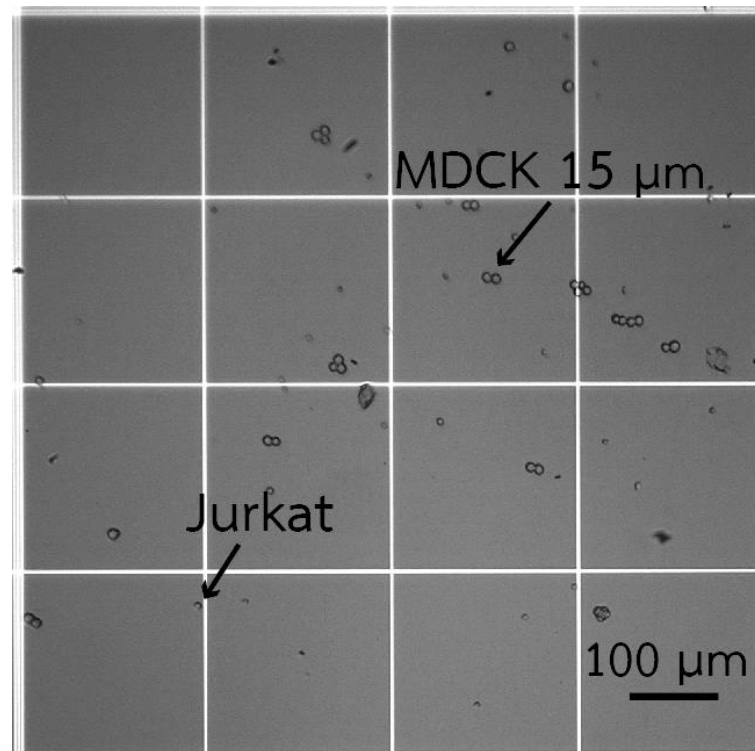
จากรูปที่ 6.2 ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ในส่วนขยายที่หนึ่งเท่ากับ 100 และส่วนขยายที่สองมีค่าเท่ากับ 80 แสดงให้เห็นว่าเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกที่ 1 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เท่ากับ 87 และ 88% ตามลำดับ สำหรับเซลล์ MDCK ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกที่ 2 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เท่ากับ 88% และเซลล์ MDCK ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะถูกคัดแยกไปที่ทางออกที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคเท่ากับ 72% (ตัวอย่างเซลล์ที่ทางออกต่างๆของอุปกรณ์แสดงในรูปที่ 6.3)



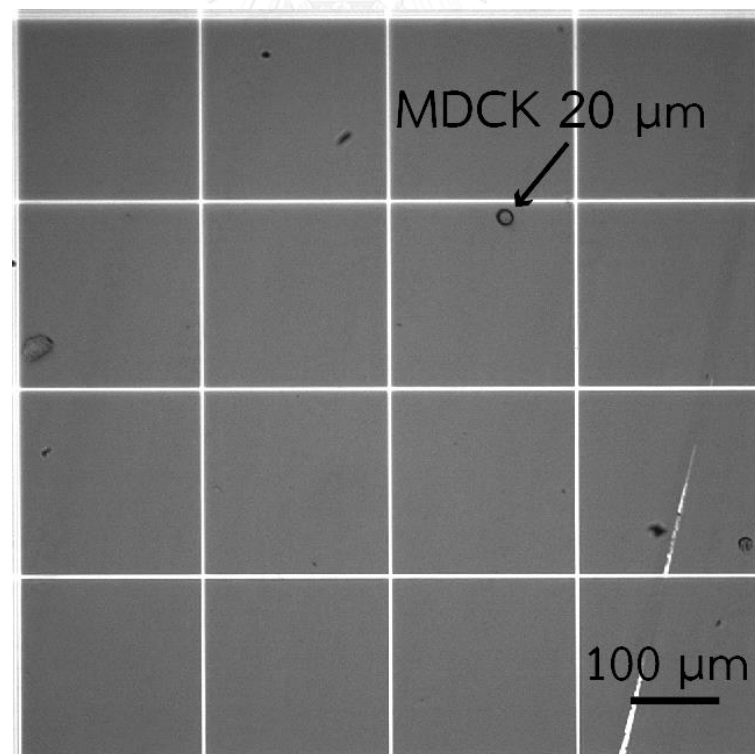
รูปที่ 6.2 ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 (ส่วนขยายที่ 1) และ 80 (ส่วนขยายที่ 2)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 6.3 ตัวอย่างเซลล์ที่ทางออกต่างๆของอุปกรณ์ (ก) ทางออกที่ 1 (ข) ทางออกที่ 2 (ค) ทางออกที่

6.1.4 การอภิปรายผลการทดลอง

จากตารางที่ 4.1 เมื่อนำผลการทดลองที่ได้จากการคัดแยกเซลล์ไปเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้จากการคัดแยกอนุภาค พบว่า สำหรับอนุภาคขนาดเล็ก ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ (RBC และ Jurkat) จะมีค่ามากกว่าประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (5-10 ไมโครเมตร) ในทางตรงกันข้ามสำหรับอนุภาคขนาดกลาง และขนาดใหญ่ ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ (MCDK) จะมีค่าน้อยกว่าประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (15 และ 20 ไมโครเมตร) เนื่องจากเม็ดพลาสติกและเซลล์จริงนั้นมีคุณสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกัน โดยเซลล์จริงนั้นจะมีความหนาแน่นของอนุภาค (density) ประมาณ 1.02 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในขณะที่เม็ดพลาสติกมีความหนาแน่นของอนุภาคประมาณ 1.05 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรที่สูงกว่า ทำให้เซลล์นั้นสามารถเคลื่อนที่ไปตามกระแสการไหลหลักได้ดีกว่าเม็ดพลาสติก ส่งผลให้การคัดแยกที่ทางออกหลักนั้นทำได้ดีกว่าการคัดแยกที่ทางออกรอง

เมื่อพิจารณาที่ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคของเม็ดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร กับเซลล์เม็ดเลือดแดงพบว่าประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีค่ามากกว่าการคัดแยกเม็ดพลาสติกถึง 44% เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6-7 ไมโครเมตร ซึ่งจะเกิดการเรียงตัวในตำแหน่งสมดุลได้ดีกว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร ที่ค่าเรย์โนลด์ส์นัมเบอร์เท่ากับ 100 ส่งผลให้สามารถทำการคัดแยกอนุภาคได้ดีกว่า

ตารางที่ 6.1 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคระหว่างเม็ดพลาสติกกับเซลล์จริง

ทางออก ของ อุปกรณ์	เม็ดพลาสติก		เซลล์จริง	
	ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง (μm)	ประสิทธิภาพการ คัดแยกอนุภาค (%)	ชนิดของเซลล์	ประสิทธิภาพการ คัดแยกเซลล์ (%)
1	5	53	RBC	87
1	10	72	Jurkat	88
2	15	93	MCDK 15 μm	88
3	20	73	MCDK 20 μm	72

6.2 การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability testing)

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์หลังจากที่ผ่านการคัดแยกด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย โดยเซลล์ที่จะนำมาใช้ในการทดลองนั้นจะ

ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cells; WBC) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia cells; Jurkat) ซึ่งค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์เท่ากับ 100 ที่ส่วนขยายที่ 1 และ 80 ที่ส่วนขยายที่ 2

6.2.1 การเตรียมเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง

6.2.1.1 สารละลายผสมเซลล์

สารละลายประกอบด้วยสารละลาย Phosphate buffered saline (PBS) และเซลล์แต่ละชนิดที่ใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิต ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.6×10^6 และ 1.3×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการผสม EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic) ลงไปเล็กน้อยเพื่อป้องกันการติดกันเป็นกลุ่มของเซลล์ โดยก่อนการผสมจะกรองสารละลาย PBS ด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันในอุปกรณ์ และหลังจากผสมสารละลาย PBS กับเซลล์เรียบร้อยแล้วจะทำการกรองอีกครั้งด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 40 ไมโครเมตร

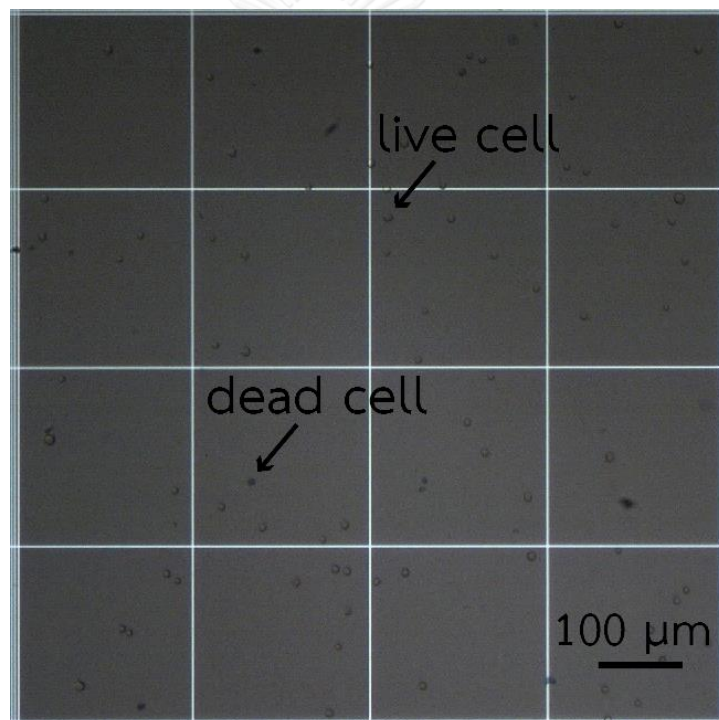
6.2.1.2 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์จะใช้สารละลาย PBS ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในสารละลายผสมเซลล์ โดยก่อนนำสารละลาย PBS ไปใช้ในการทดลองจะทำการกรองด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันในอุปกรณ์

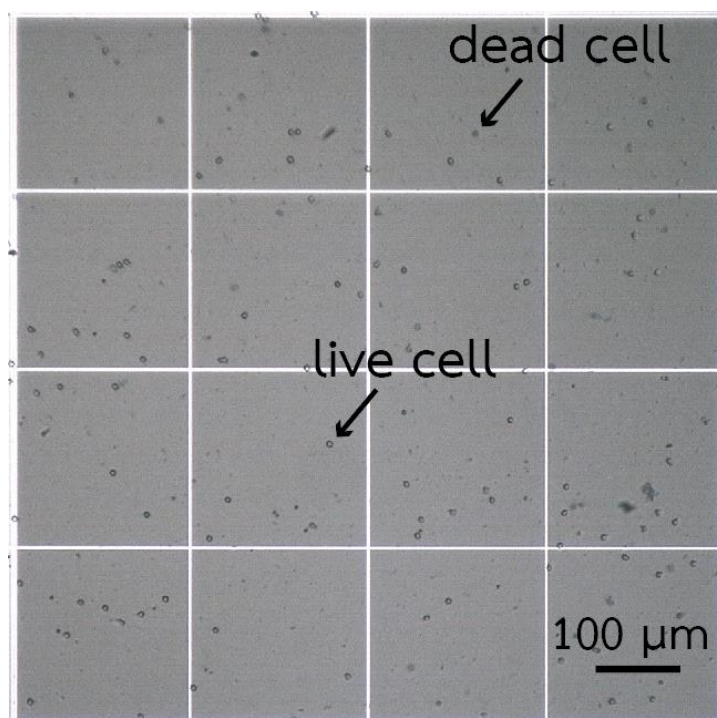
6.2.2 ขั้นตอนการทดลอง

- ฉีดสารละลาย PBS เข้าไปในอุปกรณ์คัดแยกเซลล์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรก และไล่ฟองอากาศภายในอุปกรณ์
- ใช้หลอดฉีดยาหลอดตัวอย่างสารละลายผสมเซลล์ที่ได้เตรียมไว้จำนวน 2 หลอด และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 1 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้ โดยหลอดที่ 1 จะฉีดเข้าสู่อุปกรณ์คัดแยกเซลล์ และหลอดที่ 2 จะฉีดเข้าสู่หลอดทดลองควบคุม (control)
- ใช้หลอดฉีดยาหลอดสารละลาย PBS และติดตั้งหลอดฉีดยากับปั๊มตัวที่ 2 พร้อมทั้งปรับอัตราการไหลตามที่กำหนดไว้
- ต่อท่อซิลิโคนจากหลอดฉีดยาทั้งสองเข้ากับทางเข้าของอุปกรณ์คัดแยกเซลล์ และต่อท่อซิลิโคนที่ทางออกทั้ง 3 ทางไปยังหลอดทดลองทั้ง 3 หลอดเพื่อเก็บตัวอย่างการคัดแยกเซลล์ที่ทางออกนั้นๆ

- เปิดปั๊มทั้งสองเพื่อเริ่มทำการคัดแยกเซลล์ และปิดปั๊มเมื่อสารละลายผสมเซลล์เหลือน้อยกว่า 1 มิลลิลิตร โดยระหว่างการทดลองควรตรวจสอบภายในห้องการไหลขนาดเล็กอย่างสม่ำเสมอเพื่อป้องกันการอุดตันของอนุภาคอื่น ๆ ที่อาจจะเข้ามาภายในอุปกรณ์ได้
- นำตัวอย่างเซลล์ที่ได้จากการทดลองทั้ง 4 หลอดผสมกับ Trypan blue ในอัตราส่วน 1:1 แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
- นำตัวอย่างเซลล์ที่ย้อม Trypan blue เรียบร้อยแล้วไปนับความหนาแน่นของเซลล์โดยใช้ฮีโมไซโตมิเตอร์ และถ่ายภาพเก็บไว้
- นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ โดยเซลล์ที่มีชีวิตนั้นจะไม่ติดสีของ Trypan blue ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วจะติดสีม่วงของ Trypan blue ดังรูปที่ 6.4
- ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง และนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย



(ก)

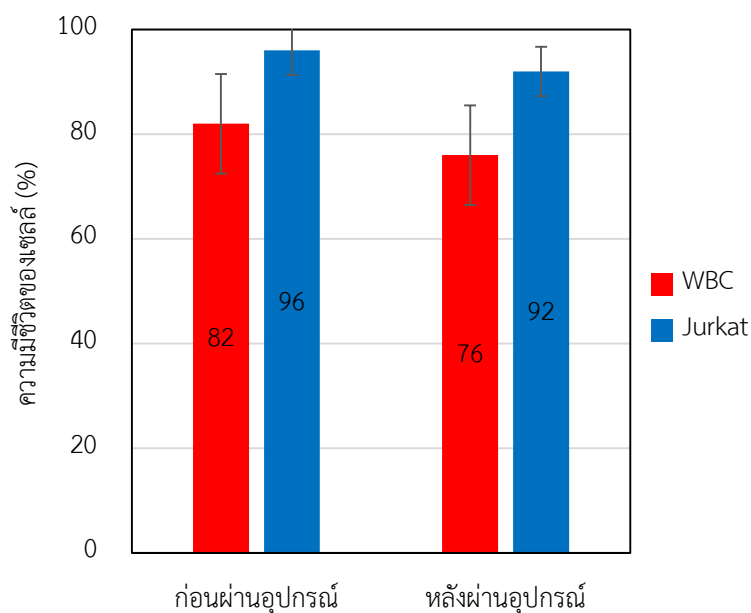


(ข)

รูปที่ 6.4 ตัวอย่างภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ (ก) เซลล์เม็ดเลือดขาว (ข)
เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

6.2.3 ผลการทดลอง

จากผลการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ (รูปที่ 6.5) พบว่า ความมีชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวก่อนผ่านอุปกรณ์นั้นมีค่าเท่ากับ 82 และ 96% ตามลำดับ และเมื่อผ่านการคัดแยกขนาดด้วยอุปกรณ์การไหลจุลภาคแล้วนั้น ค่าความมีชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีค่าเท่ากับ 76 และ 92% ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า อุปกรณ์การคัดแยกเซลล์นั้นจะทำให้เกิดการตายของเซลล์เล็กน้อย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเกิดการตายภายในอุปกรณ์ 6% และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจะเกิดการตายภายในอุปกรณ์ 4%

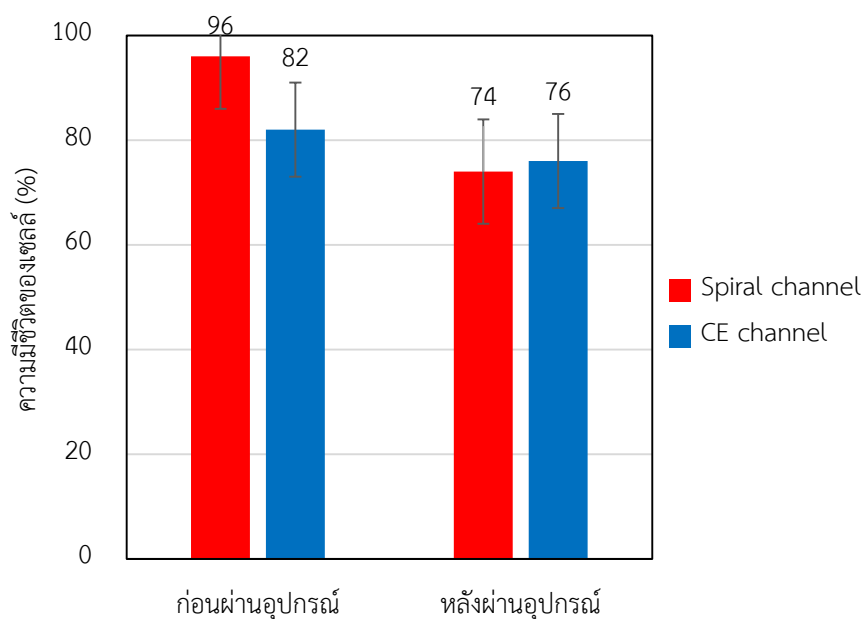


รูปที่ 6.5 ความมีชีวิตของเซลล์ก่อน และหลังผ่านอุปกรณ์

6.2.4 การเปรียบเทียบความมีชีวิตของเซลล์ของอุปกรณ์ที่มีท่อน้ำตัดแตกต่างกัน

เมื่อนำผลการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดขาวของอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อน้ำตัดแบบขดเกลียว^[22] มีความกว้าง 500 ไมโครเมตร ความสูง 130 ไมโครเมตร ใช้อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที มาเปรียบเทียบกับอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อน้ำตัดแบบย่อและขยาย มีความกว้าง 50 ไมโครเมตร ความสูง 50 ไมโครเมตร ใช้อัตราการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งและสองเท่ากับ 300 และ 240 ไมโครลิตรต่อนาทีตามลำดับ โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ที่ใช้ในการทดลองทั้งสองอุปกรณ์

ผลที่ได้พบว่าก่อนที่เซลล์จะถูกคัดแยกผ่านอุปกรณ์ท่อน้ำตัดแบบเกลียว และแบบย่อขยาย จะมีค่าความมีชีวิตของเซลล์เท่ากับ 96 และ 82% ตามลำดับ และหลังจากที่ผ่านอุปกรณ์คัดแยกเซลล์แล้ว จะมีค่าความมีชีวิตของเซลล์เท่ากับ 74 และ 76% ตามลำดับ ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเกิดการตายภายในอุปกรณ์ท่อน้ำตัดแบบเกลียว 22% ในขณะที่อุปกรณ์ท่อน้ำตัดแบบย่อและขยายเกิดการตายเท่ากับ 6%



รูปที่ 6.6 การเปรียบเทียบความมีชีวิตของเซลล์ของอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแตกต่างกัน

6.2.5 การอภิปรายผลการทดลอง

การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจะเกิดการตายภายในอุปกรณ์ 6 และ 4% ตามลำดับ โดยสาเหตุที่เซลล์เกิดการตายภายในอุปกรณ์นั้น เนื่องจากความเร็วของการไหลภายในอุปกรณ์จะทำให้เกิดความเค้นเฉือน (shear stress) และการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่หน้าตัดที่จะทำให้เกิดความเค้นยืด (extensional stress) ซึ่งความเค้นทั้งสองนี้จะทำให้เซลล์เกิดความเสียหายหากได้ได้รับความเค้นในขนาดที่สูงเกินไป จากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ในหัวข้อที่ 3.3.2 จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมในการจำลองหาความเค้นเฉือนที่ตำแหน่งท่อทางเข้าอุปกรณ์ก่อนที่จะเข้าสู่ห้องการไหลขนาดเล็ก และจำลองหาความเค้นยืดภายในอุปกรณ์บริเวณรอยต่อระหว่างท่อทางเข้า ห้องการไหลขนาดเล็ก และท่อทางออก ซึ่งเป็นจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดท่อหน้าตัดที่สูงที่สุด โดยการจำลองความเค้นทั้งสองจะใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 60-160 เพื่อศึกษาขนาดของความเค้นทั้งสองที่จะส่งผลกระทบต่อเซลล์ที่ถูกคัดแยกผ่านอุปกรณ์

6.2.5.1 การจำลองค่าความเค้นเฉือน

การจำลองหาความเค้นเฉือน จะใช้การคำนวณที่ตำแหน่งท่อทางเข้าอุปกรณ์ก่อนที่จะเข้าสู่ห้องการไหลขนาดเล็ก ทำการจำลองแบบสมมาตร ตัดระนาบที่จุดกึ่งกลางท่อหน้าตัดทั้งในแกน y และแกน z แสดงผลเป็น 1 ใน 4 ส่วนของท่อหน้าตัด ผลการจำลองที่ได้พบว่า ความเค้นเฉือนจะมีค่าสูงที่บริเวณใกล้กับผนังทั้งด้านบนและด้านล่าง ซึ่งเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ให้สูงขึ้นจะส่งผลให้

ความเค้นเฉือนมีค่าสูงขึ้นเช่นกัน โดยค่าความเค้นเฉือนสูงสุดของแต่ละค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์จะแสดงในตารางที่ 6.2 การคัดแยกขนาดของอุปกรณ์จะใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 100 และ 80 ที่ส่วนขยาย 1 และ 2 มีค่าความเค้นเฉือนสูงสุดเท่ากับ 391.47 และ 309.58 ปาสคาลตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าความเค้นที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย โดยเซลล์จะเกิดความเสียหายเมื่อมีค่าความเค้นสูงกว่า 1 กิโลปาสคาล^[25]

ตารางที่ 6.2 ค่าความเค้นเฉือนสูงสุดจากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์

ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์	ความเค้นเฉือน (ปาสคาล)
60	230.64
80	309.58
100	391.47
120	475.74
140	562.46
160	742.14
180	742.14

6.2.5.2 การจำลองความเค้นยึด

การจำลองหาความเค้นยึดภายในอุปกรณ์บริเวณรอยต่อระหว่างท่อทางเข้า ห้องการไหลขนาดเล็ก และท่อทางออก ซึ่งเป็นจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดท่อหน้าตัดที่สูงที่สุด จากผลการจำลองพบว่า ความเค้นยึดจะมีค่าสูงที่บริเวณรอยต่อระหว่างห้องการไหลขนาดเล็กและท่อทางออกหลัก ซึ่งเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ให้สูงขึ้นจะส่งผลให้ขนาดของความเค้นยึด (magnitude) และค่าความเค้นยึดมีค่าสูงขึ้นเช่นกัน โดยค่าความเค้นยึดสูงสุดของแต่ละค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์จะแสดงในตารางที่ 6.3 การคัดแยกขนาดของอุปกรณ์จะใช้ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 100 และ 80 ที่ส่วนขยาย 1 และ 2 มีค่าความเค้นยึดสูงสุดเท่ากับ 9.09 และ 7.27 กิโลปาสคาลตามลำดับ ซึ่งจะมีค่าสูงกว่าค่าความเค้นเฉือนที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย แต่เนื่องจากขนาดของความเค้นยึดที่เกิดขึ้นภายในอุปกรณ์มีขนาดเล็กมาก ประกอบกับช่วงเวลาของเซลล์ที่เคลื่อนที่ผ่านบริเวณที่มีค่าความเค้นยึดสูงนั้นเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ความเค้นยึดส่งผลกระทบต่อเซลล์เล็กน้อยในช่วงของค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ดังกล่าว

ตารางที่ 6.3 ค่าความเค้นเฉือนสูงสุดจากการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์

ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์	ความเค้นเฉือน (กิโลปาสกาล)
60	5.45
80	7.27
100	9.09
120	10.91
140	12.72
160	16.36
180	16.36

6.3 สรุปผลการทดลอง

การทดลองกับเซลล์จริงที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 100 ที่ส่วนขยายที่ 1 และ 80 ในส่วนขยายที่ 2 เซลล์ชนิดต่างๆถูกคัดแยกไปที่ทางออกต่างๆตามที่คาดหวังไว้ โดยมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมากกว่า 70% และผลการทดลองของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์พบว่า อุปกรณ์การคัดแยกเซลล์นั้นจะทำให้เกิดการตายของเซลล์เล็กน้อย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) จะเกิดการตายภายในอุปกรณ์เท่ากับ 6 และ 4% ตามลำดับ เมื่อนำค่าความมีชีวิตที่ผ่านอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ไปเปรียบเทียบกับอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบขดเกลียว โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า เกิดการตายของเซลล์ภายในอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบขดเกลียวมากกว่าอุปกรณ์การคัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย 16% เนื่องจากอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบเกลียว ซึ่งอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะเกิดความเค้นเฉือนซึ่งจะมีค่าต่ำกว่าค่าความเค้นเฉือนที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย และความเค้นยึดซึ่งจะมีค่าสูงกว่าค่าความเค้นเฉือนที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย แต่เนื่องจากขอบเขตของความเค้นยึดที่เกิดขึ้นภายในอุปกรณ์มีขนาดเล็กมาก ประกอบกับช่วงเวลาของเซลล์ที่เคลื่อนที่ผ่านบริเวณที่มีค่าความเค้นยึดสูงนั้นเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ความเค้นยึดส่งผลกระทบต่อเซลล์เล็กน้อย

บทที่ 7 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

7.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการทำการทดลองเพื่อนำข้อมูลไปใช้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคที่สามารถคัดแยกเซลล์มะเร็ง โดยเริ่มต้นจำลองเซลล์ด้วยเม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ซึ่งการทดลองได้เลือกใช้เม็ดพลาสติกที่มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งมาใช้เพื่อหาค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลที่ให้ประสิทธิภาพการคัดแยกเซลล์ที่สูงที่สุด จากนั้นจึงทำการทดลองอีกครั้งด้วยเซลล์จริง ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ชนิดต่างๆ 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cells; RBC), เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia cells; Jurkat) และ เซลล์ไตมาดิงดาร์บี้ (Madin-Darby kidney cells ; MDCK) นำมาผสมกันเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกัน อุปกรณ์อาศัยเทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายเนื่องจากไม่ต้องอาศัยแรงภายนอกในการทำงาน และใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าเทคนิคอื่นๆ

ผลจากการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ พบว่าที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 60-100 ค่าความสามารถจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100 จะเป็นจุดที่ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคในทุกๆขนาดมีค่าสูงที่สุด (อนุภาคถูกคัดแยกไปที่ทางออกรอบนอกที่สุด) จากนั้นค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคจะมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากขนาดของกระแสนวนจะขยายใหญ่ขึ้นจนเต็มห้องการไหล ทำให้การคัดแยกอนุภาคส่วนใหญ่จะถูกคัดแยกไปที่ทางออกหลัก และจะสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์จนถึง 180 และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคแต่ละขนาดที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เดียวกัน พบว่าในทุกๆค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ ค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคจะแปรผันตรงกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค กล่าวคือ อนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่จะมีค่าความสามารถในการคัดแยกอนุภาคสูงกว่าอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก

ผลการทดลองที่ให้ผลดีกว่ากรณีอื่นจะต้องมีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งและสองเท่ากับ 100 และ 80 ตามลำดับ (อัตราการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งและสองเท่ากับ 300 และ 240 ไมโครลิตรต่อนาที่ตามลำดับ) ผลการทดลองที่สภาวะนี้พบว่าอนุภาคทั้งหมด (เม็ดพลาสติก) ถูกคัดแยกไปที่ทางออกต่างๆตามที่คาดหวังไว้ โดยมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมากกว่า 70% ยกเว้นอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรที่ถูกคัดแยกไปที่ทางออกที่คาดหวังไว้ได้เพียง 53% เท่านั้น ในขณะที่การทดลองกับเซลล์จริงที่สภาวะเดียวกันนี้ เซลล์ชนิดต่างๆถูกคัดแยกไปที่ทางออกต่างๆตามที่คาดหวังไว้ โดยมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมากกว่า 70% แต่ประสิทธิภาพการคัดแยกสำหรับเซลล์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 ไมโครเมตร (RBC และ Jurkat) จะมีประสิทธิภาพสูง

กว่าการตัดแยกโดยใช้เม็ดพลาสติก แต่ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพการตัดแยกสำหรับเซลล์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15-20 ไมโครเมตร (MCDK) จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการตัดแยกโดยใช้เม็ดพลาสติกเล็กน้อย เนื่องจากเม็ดพลาสติกและเซลล์จริงนั้นมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ต่างกัน โดยเซลล์จริงนั้นจะความหนาแน่นของอนุภาคที่ต่ำกว่าเม็ดพลาสติก ทำให้เซลล์นั้นสามารถเคลื่อนที่ไปตามกระแสการไหลหลักได้ดีกว่าเม็ดพลาสติก ส่งผลให้การตัดแยกที่ทางออกหลักนั้นทำได้ดีกว่าการตัดแยกที่ทางออกรอง

ผลการทดลองของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์พบว่า อุปกรณ์การตัดแยกเซลล์นั้นจะทำให้เกิดการตายของเซลล์เล็กน้อย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat) จะเกิดการตายภายในอุปกรณ์เท่ากับ 6 และ 4% ตามลำดับ เมื่อนำค่าความมีชีวิตที่ผ่านอุปกรณ์การตัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ไปเปรียบเทียบกับอุปกรณ์การตัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบขดเกลียว โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า เกิดการตายของเซลล์ภายในอุปกรณ์การตัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบขดเกลียวมากกว่าอุปกรณ์การตัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย 16% เนื่องจากอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายจะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบเกลียว ส่งผลให้เกิดความเค้นเฉือนภายในอุปกรณ์น้อยกว่า ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์การตัดแยกเซลล์ที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายสามารถตัดแยกเซลล์ตามขนาดได้มีประสิทธิภาพสูงกว่า 70% และเกิดการตายภายในอุปกรณ์น้อยกว่าอุปกรณ์ที่มีท่อหน้าตัดแบบเกลียว

7.2 ข้อเสนอแนะ

- เนื่องจากอุปกรณ์การตัดแยกอนุภาคนั้นมีพื้นที่ท่อหน้าที่ขนาดเล็ก (50x50 ไมโครเมตร) ดังนั้นมักจะเกิดการอุดตันของสิ่งแปลกปลอมที่ปะปนเข้ามาภายในอุปกรณ์ ดังนั้นในแต่ละขั้นตอนของการทดลองควรทำด้วยความระมัดระวัง และการใช้สารละลายในการทดลองต้องผ่านการกรองทุกครั้ง
- การทดลองโดยใช้เม็ดพลาสติกมักจะเกิดการตกตะกอนของเม็ดพลาสติกที่มีขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 และ 20 ไมโครเมตร) ดังนั้นหลังจากทำการไหลดสารละลายผสมเม็ดพลาสติกเข้าไปสู่หลอดฉีดยาแล้ว ควรนำไปทำการทดลองทันที และไม่ควรวางทิ้งไว้เป็นเวลานาน
- การใช้โปรแกรม Imagej ในการนับอนุภาคนั้นควรตั้งค่าความสว่างกล้องให้เหมาะสม ไม่มีดเกินไปหรือสว่างเกินไป และภาพที่ทำการบันทึกควรมีการกระจายของแสงที่สม่ำเสมอ เพื่อที่จะสามารถปรับภาพด้วยโปรแกรม Imagej ได้ง่าย

- การใช้คำสั่ง Threshold ในโปรแกรม Imagej ควรปรับค่าในเท่ากันในทุกๆรูป จะทำให้การนับจำนวนอนุภาคมีความแม่นยำ ซึ่งถ้าหากใช้ค่าที่ไม่เท่ากัน ขนาดพื้นที่ของอนุภาคหลังจากการปรับภาพให้เป็นขาว-ดำจะแตกต่างกัน อาจทำให้ผลของการนับจำนวนอนุภาคเกิดความคลาดเคลื่อนได้

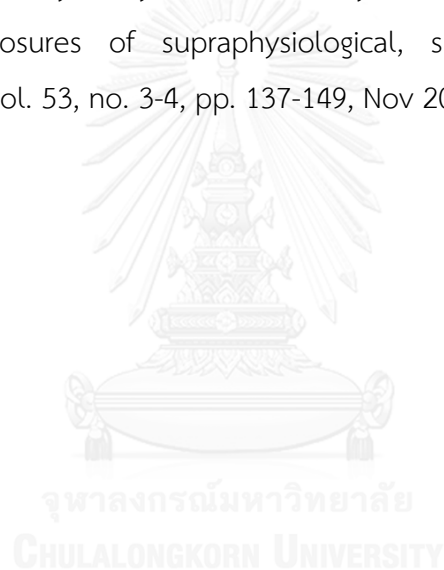


รายการอ้างอิง

- [1] A. Grunberger, W. Wiechert, and D. Kohlheyer, "Single-cell microfluidics: opportunity for bioprocess development," *Curr Opin Biotechnol*, vol. 29, pp. 15-23, Oct 2014.
- [2] C. Rivet, H. Lee, A. Hirsch, S. Hamilton, and H. Lu, "Microfluidics for medical diagnostics and biosensors," *Chemical Engineering Science*, vol. 66, no. 7, pp. 1490-1507, 2011.
- [3] G. Velve-Casquillas, M. Le Berre, M. Piel, and P.T. Tran, "Microfluidic tools for cell biological research," *Nano Today*, vol. 5, no. 1, pp. 28-47, Feb 2010.
- [4] K.K. Zeming, S. Ranjan, and Y. Zhang, "Rotational separation of non-spherical bioparticles using I-shaped pillar arrays in a microfluidic device," *Nat Commun*, vol. 4, 2013.
- [5] D.R. Gossett, W.M. Weaver, A.J. Mach, S.C. Hur, H.T. Kwong, W. Lee, H. Amini, and D.D. Carlo, "Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems," *Anal Bioanal Chem*, vol. 397, no. 8, pp. 32-49, Aug 2010.
- [6] J. Zhang, S. Yan, D. Yuan, G. Alici, N. Nguyen, M.E. Warkianic, and W. Li, "Fundamentals and applications of inertial microfluidics: a review," *Lab Chip*, vol. 16, no. 1, pp. 10-34, Jan 016.
- [7] X. Wang, M. Zandi, C.C. Ho, N. Kaval, and I. Papautsky, "Single stream inertial focusing in a straight microchannel," *Lab Chip*, vol. 15, no. 8, pp. 12-21, Apr 2015.
- [8] A.A. Bhagat, S.S. Kuntaegowdanahalli, and I. Papautsky, "Continuous particle separation in spiral microchannels using Dean flows and differential migration," *Lab Chip*, vol. 8, no. 11, pp. 06-14, Nov 2008.
- [9] C.L.J. Sun, M. Li, J. Wang, Y. Xianyu, G. Hu and X. Jiang, "Size-based hydrodynamic rare tumor cell separation in curved microfluidic channels," *BIOMICROFLUIDICS*, vol. 7, no. 011802, 2013.
- [10] M.G. Lee, S. Choi, and J.K. Park, "Inertial separation in a contraction-expansion array microchannel," *J Chromatogr A*, vol. 1218, no. 27, pp. 38-43, Jul 2011.

- [11] M.G. Lee, J.H. Shin, C.Y. Bae, S. Choi, and J.K. Park, "Label-free cancer cell separation from human whole blood using inertial microfluidics at low shear stress," *Anal Chem*, vol. 85, no. 13, Jul 2013.
- [12] X. Wang, and I. Papautsky, "Vortex-aided inertial microfluidic device for continuous particle separation with high size-selectivity, efficiency, and purity," *BIOMICROFLUIDICS*, vol. 7, no. 044119, 2013.
- [13] X. Wang and I. Papautsky, "Size-based microfluidic multimodal microparticle sorter," *Lab Chip*, vol. 15, no. 5, Mar 2015.
- [14] X. Wang, X. Yang, and I. Papautsky, "An integrated inertial microfluidic vortex sorter for tunable sorting and purification of cells," *Technology*, vol. 04, no. 02, pp. 88-97, 2016.
- [15] J.S. Park, S.H. Song, and H.I. Jung, "Continuous focusing of microparticles using inertial lift force and vorticity via multi-orifice microfluidic channels," *Lab Chip*, vol. 9, no. 7, pp. 939-948, 2009.
- [16] Z. Wu, Y. Chen, M. Wang, and A.J. Chung, "Continuous inertial microparticle and blood cell separation in straight channels with local microstructures," *Lab Chip*, vol. 16, no. 3, pp. 32-42, Feb 2016.
- [17] S.C. Hur, A.J. Mach, and D.D. Carlo, "High-throughput size-based rare cell enrichment using microscale vortices," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 2, Jun 2011.
- [18] J. Zhang, S. Yan, R. Sluyter, W. Li, G. Alici, and N.T. Nguyen, "Inertial particle separation by differential equilibrium positions in a symmetrical serpentine micro-channel," *Sci Rep*, vol. 4, Mar 2014.
- [19] E.D. Pratt, C. Huang, B.G. Hawkins, J.P. Gleghorn, and B.J. Kirby, "Rare Cell Capture in Microfluidic Devices," *Chem Eng Sci*, vol. 66, no. 7, pp. 1508-1522, Apr 2011.
- [20] T.P. Forbes and S.P. Forry, "Microfluidic magnetophoretic separations of immunomagnetically labeled rare mammalian cells," *Lab Chip*, vol. 12, no. 8, Apr 2012.
- [21] A. Thanormsridetchai, "Size-Based Cell Sorting using Spiral Microchannels," Master's Thesis, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, 2014.

- [22] T. Suwannaphan, "Application For A Single Cell Study: Improving Cell Viability In Experimental Setups And Designing of A Single Cell Releasing Device," Master's Thesis, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, 2015.
- [23] C. Prohm and H. Stark, "Feedback control of inertial microfluidics using axial control forces," *Lab Chip*, vol. 14, no. 12, pp. 15-23, Jun 2014.
- [24] K. W. Oh, K. Lee, B. Ahn, and E.P. Furlani, "Design of pressure-driven microfluidic networks using electric circuit analogy," *Lab Chip*, vol. 12, no. 3, Feb 2012.
- [25] A.P. McNamee, G.D. Tansley, S. Sabapathy, and M.J. Simmonds, "Biphasic impairment of erythrocyte deformability in response to repeated, short duration exposures of supraphysiological, subhaemolytic shear stress," *Biorheology*, vol. 53, no. 3-4, pp. 137-149, Nov 2016.





ภาคผนวก ก ข้อมูลการนับจำนวนอนุภาคจากการทดลอง

การคัดแยกเม็ดพลาสติก

การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ 1 (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 คงที่เท่ากับ 180)

ตารางที่ ก.1 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 60

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	204	57	10	3	223	69	10	5	238	64	10	5
2	202	61	8	4	208	67	11	6	240	67	11	2
3	204	64	10	5	225	60	9	4	227	62	9	3
4	220	67	9	3	210	58	13	5	237	60	8	4
Average	207.5	62.25	9.25	3.75	216.5	63.5	10.75	5	235.5	63.25	9.5	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	242	86	9	0	248	71	6	0	223	71	9	0
2	259	77	4	0	232	78	4	0	215	80	6	0
3	218	63	1	1	220	101	5	0	252	74	3	0
4	226	89	5	0	232	75	7	0	224	83	5	1
Average	236.25	78.75	4.75	0.25	233	81.25	5.5	0	228.5	77	5.75	0.25

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	309	127	29	2	353	155	25	2	322	117	18	5
2	300	140	20	3	334	156	21	2	341	145	20	4
3	309	163	22	2	320	134	26	3	328	156	29	1
4	315	128	23	6	312	130	27	4	335	161	25	6
Average	308.25	139.5	23.5	3.25	329.75	143.75	24.75	2.75	331.5	144.75	23	4

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	47	6	3	10	48	17	0	5	41	4	5	8
2	53	8	4	5	44	11	6	6	55	7	3	3
3	51	13	2	6	55	17	2	10	55	3	2	8
4	40	13	0	5	44	11	1	8	35	1	0	4
Average	47.75	10	2.25	6.5	47.75	14	2.25	7.25	46.5	3.75	2.5	5.75

ตารางที่ ก.2 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80

Inlet	#1				#2				#3			
	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm
1	204	57	10	3	223	69	10	5	238	64	10	5
2	202	61	8	4	208	67	11	6	240	67	11	2
3	204	64	10	5	225	60	9	4	227	62	9	3
4	220	67	9	3	210	58	13	5	237	60	8	4
Average	207.5	62.25	9.25	3.75	216.5	63.5	10.75	5	235.5	63.25	9.5	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm
1	222	114	5	0	242	99	6	0	246	110	4	0
2	255	112	4	0	246	65	1	0	223	114	3	1
3	241	88	5	0	239	104	9	2	203	113	8	0
4	213	104	8	0	219	93	3	0	243	103	3	0
Average	232.75	104.5	5.5	0	236.5	90.25	4.75	0.5	228.75	110	4.5	0.25

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm
1	196	72	2	0	170	64	6	0	214	69	5	1
2	194	56	5	0	164	59	6	0	204	69	4	0
3	165	56	6	0	229	69	8	0	196	72	5	1
4	186	56	8	0	189	47	2	0	172	42	8	1
Average	185.25	60	5.25	0	188	59.75	5.5	0	196.5	63	5.5	0.75

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm
1	54	14	4	28	66	13	7	22	52	9	3	16
2	58	14	3	19	72	9	7	28	88	12	8	20
3	51	11	3	20	61	10	7	15	57	12	7	12
4	66	11	4	12	48	9	1	15	56	16	7	16
Average	57.25	12.5	3.5	19.75	61.75	10.25	5.5	20	63.25	12.25	6.25	16

ตารางที่ ก.3 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 100

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	204	57	10	3	223	69	10	5	238	64	10	5
2	202	61	8	4	208	67	11	6	240	67	11	2
3	204	64	10	5	225	60	9	4	227	62	9	3
4	220	67	9	3	210	58	13	5	237	60	8	4
Average	207.5	62.25	9.25	3.75	216.5	63.5	10.75	5	235.5	63.25	9.5	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	222	114	5	0	242	99	6	0	246	110	4	0
2	255	112	4	0	246	65	1	0	223	114	3	1
3	241	88	5	0	239	104	9	2	203	113	8	0
4	213	104	8	0	219	93	3	0	243	103	3	0
Average	232.75	104.5	5.5	0	236.5	90.25	4.75	0.5	228.75	110	4.5	0.25

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	69	12	3	0	82	12	3	1	83	15	7	0
2	66	9	2	0	93	22	3	0	110	24	2	1
3	106	16	0	0	104	18	4	0	119	22	3	0
4	113	16	1	0	92	17	1	1	121	23	3	1
Average	88.5	13.25	1.5	0	92.75	17.25	2.75	0.5	108.25	21	3.75	0.5

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	22	4	27	13	18	4	27	17	15	11	36	19
2	25	7	31	13	18	5	19	11	27	5	26	25
3	16	7	22	11	16	4	25	9	27	3	36	26
4	30	5	19	12	18	10	24	12	15	5	27	10
Average	23.25	5.75	24.75	12.25	17.5	5.75	23.75	12.25	21	6	31.25	20

การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ 2 (ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 คงที่เท่ากับ 80)

ตารางที่ ก.4 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	180	60	14	3	157	71	11	1	180	73	9	4
2	139	60	8	1	173	63	9	1	172	60	9	5
3	173	63	4	4	145	59	8	6	186	79	13	2
4	174	71	8	1	171	53	6	0	176	64	6	3
Average	166.5	63.5	8.5	2.25	161.5	61.5	8.5	2	178.5	69	9.25	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	158	72	3	0	173	75	0	0	166	67	0	0
2	167	74	1	0	165	68	1	0	168	72	1	0
3	182	79	1	0	175	78	0	0	166	68	1	0
4	161	65	1	0	164	62	0	0	169	67	0	0
Average	167	72.5	1.5	0	169.25	70.75	0.25	0	167.25	68.5	0.5	0

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	172	35	28	1	172	41	28	1	177	31	26	0
2	180	26	27	0	156	33	30	2	180	27	33	1
3	188	25	30	1	181	32	32	1	167	23	34	2
4	175	31	31	2	177	28	27	0	177	26	38	1
Average	178.75	29.25	29	1	171.5	33.5	29.25	1	175.25	26.75	32.75	1

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	13	13	8	19	5	10	8	6	13	17	4	9
2	15	18	7	15	10	11	4	10	14	15	6	21
3	14	17	14	20	12	12	3	15	15	13	3	10
4	10	19	12	17	12	9	6	11	9	16	3	11
Average	13	16.75	10.25	17.75	9.75	10.5	5.25	10.5	12.75	15.25	4	12.75

ตารางที่ ก.5 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 120

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	180	60	14	3	157	71	11	1	180	73	9	4
2	139	60	8	1	173	63	9	1	172	60	9	5
3	173	63	4	4	145	59	8	6	186	79	13	2
4	174	71	8	1	171	53	6	0	176	64	6	3
Average	166.5	63.5	8.5	2.25	161.5	61.5	8.5	2	178.5	69	9.25	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	258	70	1	0	272	88	7	0	264	120	9	0
2	273	88	8	0	238	100	8	0	296	126	8	0
3	279	101	3	0	270	109	5	0	327	131	7	0
4	287	93	9	0	255	92	3	0	310	121	9	0
Average	274.25	88	5.25	0	258.75	97.25	5.75	0	299.25	124.5	8.25	0

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	84	15	7	0	66	20	2	0	94	13	4	0
2	74	20	4	0	96	21	3	0	67	19	5	0
3	76	15	1	0	70	23	2	0	92	18	5	0
4	85	19	3	0	76	14	5	0	89	19	5	0
Average	79.75	17.25	3.75	0	77	19.5	3	0	85.5	17.25	4.75	0

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	44	0	0	4	46	1	0	1	51	0	0	4
2	35	0	1	1	49	2	0	5	67	1	0	1
3	45	0	3	4	43	4	0	0	43	1	0	0
4	46	1	2	1	49	1	0	2	56	1	1	2
Average	42.5	0.25	1.5	2.5	46.75	2	0	2	54.25	0.75	0.25	1.75

ตารางที่ ก.6 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 140

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	225	69	6	4	241	86	11	4	248	37	8	2
2	253	74	11	4	260	78	11	2	257	65	8	3
3	230	69	9	4	229	63	11	4	245	71	9	0
4	240	43	5	3	248	54	4	5	246	66	13	0
Average	237	63.75	7.75	3.75	244.5	70.25	9.25	3.75	249	59.75	9.5	1.25

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	195	108	8	0	234	74	5	0	263	87	8	1
2	257	103	7	1	263	109	6	0	252	106	7	1
3	259	71	8	0	249	116	8	1	251	108	9	0
4	231	79	7	2	246	116	12	0	262	69	7	0
Average	235.5	90.25	7.5	0.75	248	103.75	7.75	0.25	257	92.5	7.75	0.5

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	128	28	5	1	136	43	5	0	122	32	5	0
2	148	31	8	0	138	29	8	0	139	21	3	0
3	140	23	6	0	130	27	3	0	131	25	3	0
4	133	25	5	0	132	28	6	1	140	25	8	0
Average	137.25	26.75	6	0.25	134	31.75	5.5	0.25	133	25.75	4.75	0

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	35	0	4	11	41	4	3	5	35	3	2	10
2	36	4	0	10	29	4	3	9	43	2	5	9
3	42	2	0	13	48	6	4	14	34	4	2	8
4	42	2	4	8	44	5	1	9	53	4	2	7
Average	38.75	2	2	10.5	40.5	4.75	2.75	9.25	41.25	3.25	2.75	8.5

ตารางที่ ก.7 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 160

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	202	54	13	4	224	68	12	4	246	68	13	0
2	254	46	8	0	239	69	9	3	202	69	12	3
3	227	69	10	2	229	53	9	2	207	55	6	2
4	208	62	14	2	265	67	12	5	239	59	8	2
Average	222.75	57.75	11.25	2	239.25	64.25	10.5	3.5	223.5	62.75	9.75	1.75

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	224	97	4	0	255	87	3	1	240	90	3	0
2	241	101	4	0	251	90	5	0	218	108	7	0
3	253	86	2	0	263	104	4	0	213	92	7	0
4	224	94	2	2	241	95	5	0	217	66	3	0
Average	235.5	94.5	3	0.5	252.5	94	4.25	0.25	222	89	5	0

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	129	25	4	0	126	34	5	0	128	25	7	0
2	127	29	7	0	119	38	8	0	143	32	3	0
3	147	34	7	0	126	25	3	0	142	27	5	0
4	135	32	6	0	132	27	4	0	117	37	4	1
Average	134.5	30	6	0	125.75	31	5	0	132.5	30.25	4.75	0.25

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	43	3	1	8	30	0	1	6	35	2	1	5
2	34	2	4	5	31	1	0	2	32	2	1	7
3	41	1	1	8	39	1	1	5	32	2	0	4
4	37	6	0	8	40	2	0	4	37	2	1	10
Average	38.75	3	1.5	7.25	35	1	0.5	4.25	34	2	0.75	6.5

ตารางที่ ก.8 การนับจำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 180

Inlet	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	204	57	10	3	223	69	10	5	238	64	10	5
2	202	61	8	4	208	67	11	6	240	67	11	2
3	204	64	10	5	225	60	9	4	227	62	9	3
4	220	67	9	3	210	58	13	5	237	60	8	4
Average	207.5	62.25	9.25	3.75	216.5	63.5	10.75	5	235.5	63.25	9.5	3.5

Outlet 1	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	222	114	5	0	242	99	6	0	246	110	4	0
2	255	112	4	0	246	65	1	0	223	114	3	1
3	241	88	5	0	239	104	9	2	203	113	8	0
4	213	104	8	0	219	93	3	0	243	103	3	0
Average	232.7	104.5	5.5	0	236.5	90.25	4.75	0.5	228.7 5	110	4.5	0.25

Outlet 2	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	196	72	2	0	170	64	6	0	214	69	5	1
2	194	56	5	0	164	59	6	0	204	69	4	0
3	165	56	6	0	229	69	8	0	196	72	5	1
4	186	56	8	0	189	47	2	0	172	42	8	1
Average	185.2	60	5.25	0	188	59.75	5.5	0	196.5	63	5.5	0.75

Outlet 3	#1				#2				#3			
	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
1	54	14	4	28	66	13	7	22	52	9	3	16
2	58	14	3	19	72	9	7	28	88	12	8	20
3	51	11	3	20	61	10	7	15	57	12	7	12
4	66	11	4	12	48	9	1	15	56	16	7	16
Average	57.25	12.5	3.5	19.75	61.75	10.25	5.5	20	63.25	12.25	6.25	16

การคัดแยกเซลล์

ตารางที่ ก.9 การนับจำนวนเซลล์จากการคัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100 และส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80

Inlet	#1				#2				#3			
	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm
1	140	56	7	0	120	54	7	0	145	42	9	0
2	169	44	9	1	118	40	7	0	135	42	13	1
3	135	52	8	0	87	30	9	1	128	49	9	0
4	115	49	7	0	100	23	7	0	109	47	12	0
Average	139.7	50.25	7.75	0.25	106.2	36.75	7.5	0.25	129.2	45	10.75	0.25

Outlet 1	#1				#2				#3			
	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm
1	161	43	3	0	156	49	2	0	152	51	2	0
2	148	41	0	0	177	50	2	0	139	55	0	0
3	130	50	2	0	157	49	1	0	140	48	1	0
4	163	41	2	0	147	48	0	0	138	51	2	0
Average	150.5	43.75	1.75	0	159.2	49	1.25	0	142.2	51.25	1.25	0

Outlet 2	#1				#2				#3			
	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm
1	23	14	8	0	34	9	7	1	28	10	7	0
2	31	8	16	0	34	8	15	0	31	4	14	0
3	21	7	20	0	21	8	20	0	31	8	6	0
4	28	5	12	0	17	5	11	0	23	4	13	0
Average	25.75	8.5	14	0	26.5	7.5	13.25	0.25	28.25	6.5	10	0

Outlet 3	#1				#2				#3			
	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm	RBC	Jurkat	MDCK 15µm	MDCK 20µm
1	1	0	1	2	0	0	0	1	2	0	0	2
2	2	0	0	0	0	1	0	1	1	2	0	0
3	0	2	0	2	0	0	0	2	2	0	1	1
4	0	0	0	2	1	0	0	0	1	0	0	0
Average	0.75	0.5	0.25	1.5	0.25	0.25	0	1	1.5	0.5	0.25	0.75

การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

ตารางที่ ก.10 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

Inlet	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	61	12	73	51	10	61	75	8	83
2	58	19	77	87	19	106	68	19	87
3	73	14	87	71	20	91	71	15	86
4	46	11	57	49	15	64	74	13	87
Average	59.5	14	73.5	64.5	16	80.5	72	13.75	85.75

Outlet 1	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	38	9	47	37	11	48	42	8	50
2	57	14	71	49	11	60	37	17	54
3	36	13	49	43	14	57	41	12	53
4	40	18	58	35	11	46	48	21	69
Average	42.75	13.5	56.25	41	11.75	52.75	42	14.5	56.5

Outlet 2	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	33	8	41	35	12	47	28	7	35
2	32	6	38	33	13	46	29	11	40
3	26	7	33	24	8	32	32	9	41
4	20	8	28	16	3	19	24	9	33
Average	27.75	7.25	35	27	9	36	28.25	9	37.25

Outlet 3	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	1	1	0	1	1	0	1	1
3	1	1	2	1	1	2	1	1	2
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Average	0.25	0.5	0.75	0.25	0.5	0.75	0.25	0.5	0.75

ตารางที่ ก.11 การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

Inlet	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	61	2	63	43	0	43	67	5	72
2	65	0	65	71	4	75	44	3	47
3	64	6	70	71	2	73	63	3	66
4	57	3	60	61	2	63	67	4	71
Average	61.75	2.75	64.5	61.5	2	63.5	60.25	3.75	64

Outlet 1	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	58	3	61	80	9	89	93	5	98
2	70	9	79	71	3	74	73	6	79
3	74	9	83	68	6	74	84	9	93
4	78	4	82	56	3	59	54	2	56
Average	70	6.25	76.25	68.75	5.25	74	76	5.5	81.5

Outlet 2	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	11	4	15	12	3	15	14	1	15
2	20	0	20	6	1	7	6	4	10
3	11	2	13	11	1	12	15	2	17
4	14	0	14	17	1	18	20	1	21
Average	14	1.5	15.5	11.5	1.5	13	13.75	2	15.75

Outlet 3	#1			#2			#3		
	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total	live cell	dead cell	total
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	1	0	1
3	1	0	1	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Average	0.25	0	0.25	0.25	0	0.25	0.25	0	0.25

ภาคผนวก ข จำนวนอนุภาคจากการทดลอง

การคัดแยกเม็ดพลาสติก

จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ 1 (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 คงที่เท่ากับ 180)

ตารางที่ ข.1 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 60

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	5,602,500	1,680,750	249,750	101,250
#2	5,845,500	1,714,500	290,250	135,000
#3	6,358,500	1,707,750	256,500	94,500

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,778,922	1,592,974	96,084	5,057
#2	4,713,180	1,643,545	111,255	0
#3	4,622,153	1,557,575	116,312	5,057

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	3,531,395	1,598,150	269,222	37,233
#2	3,777,705	1,646,839	283,543	31,505
#3	3,797,753	1,658,295	263,494	45,825

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	109,577	22,948	5,163	14,916
#2	109,577	32,127	5,163	16,637
#3	106,708	8,606	5,737	13,195

ตารางที่ ข.2 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	5,602,500	1,680,750	249,750	101,250
#2	5,845,500	1,714,500	290,250	135,000
#3	6,358,500	1,707,750	256,500	94,500

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,852,484	2,178,666	114,667	0
#2	4,930,666	1,881,575	99,030	10,424
#3	4,769,090	2,293,333	93,818	5,212

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	2,563,125	830,162	72,639	0
#2	2,601,174	826,703	76,098	0
#3	2,718,780	871,670	76,098	10,377

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	158,668	34,644	9,700	54,737
#2	171,140	28,408	15,243	55,430
#3	175,297	33,951	17,322	44,344

ตารางที่ ข.3 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 100

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	5,602,500	1,680,750	249,750	101,250
#2	5,845,500	1,714,500	290,250	135,000
#3	6,358,500	1,707,750	256,500	94,500

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,993,753	2,242,093	118,005	0
#2	5,074,211	1,936,353	101,913	10,728
#3	4,907,932	2,360,098	96,549	5,364

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	1,436,273	215,035	24,344	0
#2	1,505,246	279,951	44,630	8,115
#3	1,756,797	340,811	60,859	8,115

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	75,582	18,692	80,458	39,823
#2	56,890	18,692	77,207	39,823
#3	68,268	19,505	101,589	65,017

จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ 2 (ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 2 คงที่เท่ากับ 80)

ตารางที่ ข.4 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	2,497,500	952,500	127,500	33,750
#2	2,422,500	922,500	127,500	30,000
#3	2,677,500	1,035,000	138,750	52,500

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	2,048,389	889,271	18,399	0
#2	2,075,987	867,805	3,066	0
#3	2,051,455	840,207	6,133	0

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	1,862,344	304,747	302,143	10,419
#2	1,786,809	349,027	304,747	10,419
#3	1,825,879	278,700	341,213	10,419

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	27,131	34,957	21,391	37,044
#2	20,348	21,913	10,957	21,913
#3	26,609	31,826	8,348	26,609

ตารางที่ ข.5 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 120

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	2,997,000	1,143,000	153,000	40,500
#2	2,907,000	1,107,000	153,000	36,000
#3	3,213,000	1,242,000	166,500	63,000

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	3,906,187	1,253,398	74,777	0
#2	3,685,418	1,385,148	81,898	0
#3	4,262,266	1,773,274	117,506	0

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	843,615	182,475	39,668	0
#2	814,525	206,276	31,735	0
#3	904,440	182,475	50,247	0

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	90,054	530	3,178	5,297
#2	99,060	4,238	0	4,238
#3	114,952	1,589	530	3,708

ตารางที่ ข.6 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 140

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,977,000	1,338,750	162,750	78,750
#2	5,134,500	1,475,250	194,250	78,750
#3	5,229,000	1,254,750	199,500	26,250

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	3,817,854	1,463,106	121,588	12,159
#2	4,020,500	1,681,963	125,641	4,053
#3	4,166,406	1,499,582	125,641	8,106

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	1,474,973	287,472	64,480	2,687
#2	1,440,047	341,205	59,106	2,687
#3	1,429,300	276,725	51,046	0

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	83,415	4,305	4,305	22,603
#2	87,182	10,225	5,920	19,912
#3	88,797	6,996	5,920	18,298

ตารางที่ ข.7 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 160

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	5,346,000	1,386,000	270,000	48,000
#2	5,742,000	1,542,000	252,000	84,000
#3	5,364,000	1,506,000	234,000	42,000

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,280,106	1,717,495	54,524	9,087
#2	4,589,073	1,708,408	77,242	4,544
#3	4,034,750	1,617,535	90,873	0

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	1,468,830	327,620	65,524	0
#2	1,373,274	338,541	54,603	0
#3	1,446,989	330,350	51,873	2,730

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	84,766	6,563	3,281	15,859
#2	76,563	2,188	1,094	9,297
#3	74,376	4,375	1,641	14,219

ตารางที่ ข.8 จำนวนอนุภาคจากการทดลองที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 180

inlet	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	5,602,500	1,680,750	249,750	101,250
#2	5,845,500	1,714,500	290,250	135,000
#3	6,358,500	1,707,750	256,500	94,500

outlet 1	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	4,686,079	2,103,954	110,734	-
#2	4,761,580	1,817,051	95,634	10,067
#3	4,605,545	2,214,688	90,601	5,033

outlet 2	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	2,056,013	665,915	58,268	0
#2	2,086,535	663,141	61,042	0
#3	2,180,873	699,211	61,042	8,324

outlet 3	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm
#1	127,276	27,789	7,781	43,907
#2	137,280	22,787	12,227	44,463
#3	140,615	27,234	13,895	35,570

การคัดแยกเซลล์

ตารางที่ ข.9 จำนวนเซลล์จากการคัดแยกเซลล์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์ส่วนขยายที่ 1 เท่ากับ 100 และส่วนขยายที่ 2 เท่ากับ 80

inlet	RBC	Jurkat	MDCK 15 μm	MDCK 20 μm
#1	2,096,250	753,750	116,250	3,750
#2	1,593,750	551,250	112,500	3,750
#3	1,938,750	675,000	161,250	3,750

outlet 1	RBC	Jurkat	MDCK 15 μm	MDCK 20 μm
#1	1,846,003	536,629	21,465	-
#2	1,953,329	601,024	15,332	-
#3	1,744,810	628,622	15,332	-

outlet 2	RBC	Jurkat	MDCK 15 μm	MDCK 20 μm
#1	268,282	88,559	145,862	-
#2	276,096	78,140	138,048	2,605
#3	294,329	67,722	104,187	-

outlet 3	RBC	Jurkat	MDCK 15 μm	MDCK 20 μm
#1	1,565	1,043	522	3,130
#2	522	522	0	2,087
#3	3,130	1,043	522	1,565

การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

ตารางที่ ข.10 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

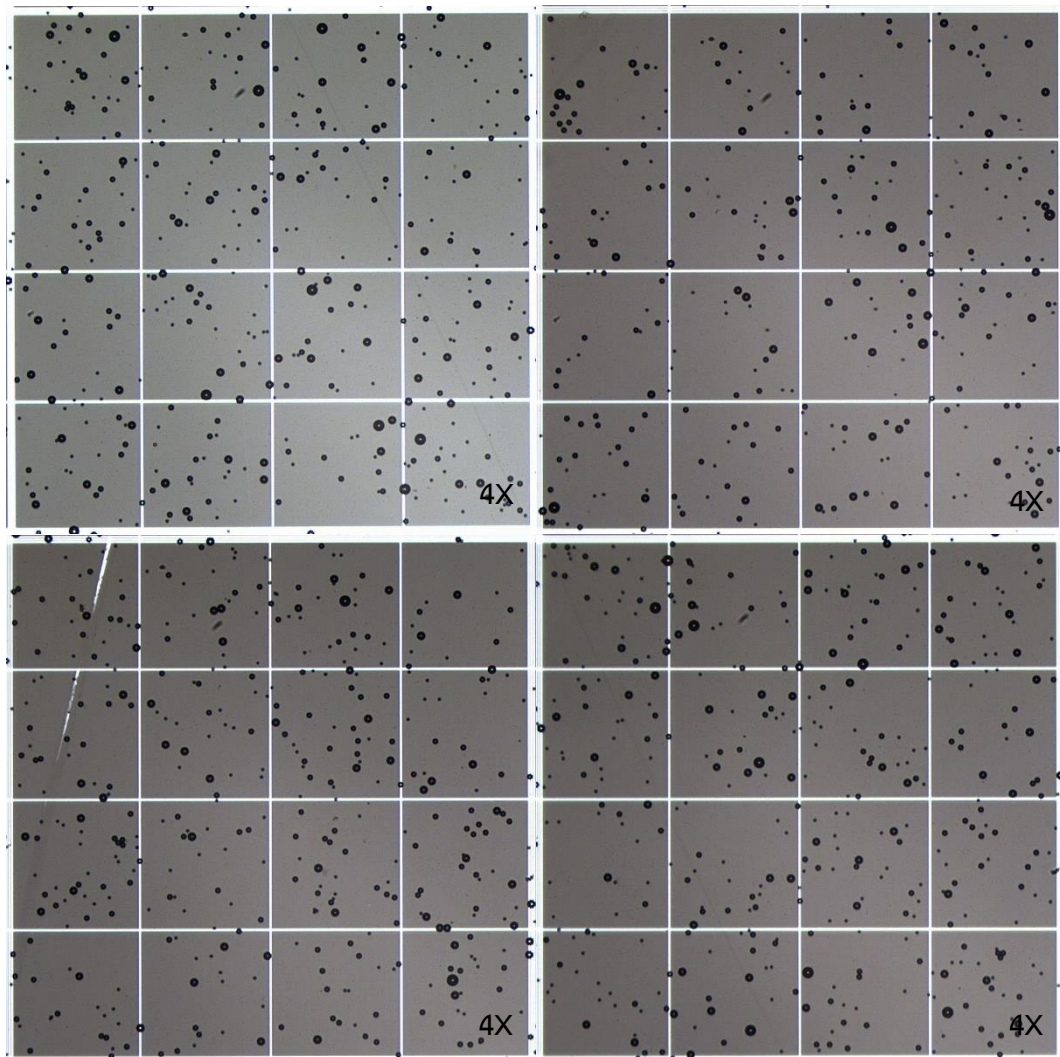
	number of WBC		
	live cell	dead cell	total cell
inlet	1,960,000	437,500	2,397,500
outlet 1	1,028,283	325,044	1,353,327
outlet 2	576,502	175,382	751,883
outlet 3	1,043	2,087	3,130
total of outlet	1,605,828	502,512	2,108,341

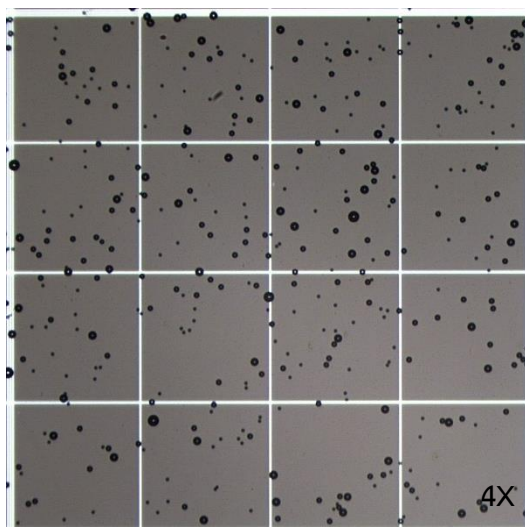
ตารางที่ ข.11 จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์

	number of Jurkat		
	live cell	dead cell	total cell
inlet	2,936,000	136,000	3,072,000
outlet 1	2,601,989	205,978	2,807,968
outlet 2	285,757	36,402	322,160
outlet 3	1,094	0	1,094
total of outlet	2,888,841	242,380	3,131,221

ภาคผนวก ค การเปรียบเทียบการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมและการนับด้วยสายตา

การเปรียบเทียบการนับอนุภาคด้วยโปรแกรม imagej เพื่อหาค่าความคลาดเคลื่อนของการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมเมื่อเปรียบเทียบกับการนับด้วยสายตาของมนุษย์ โดยใช้ตัวอย่างรูปของอนุภาคขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรที่นับโดยฮีโมไซโตมิเตอร์ จำนวน 5 รูป (รูปที่ ค.1) และนำผลที่ได้จากการนับด้วยวิธีการทั้ง 2 วิธีมาเปรียบเทียบกัน โดยใช้วิธีการนับด้วยสายตาในการอ้างอิงความแม่นยำของวิธีการนับโดยใช้โปรแกรม



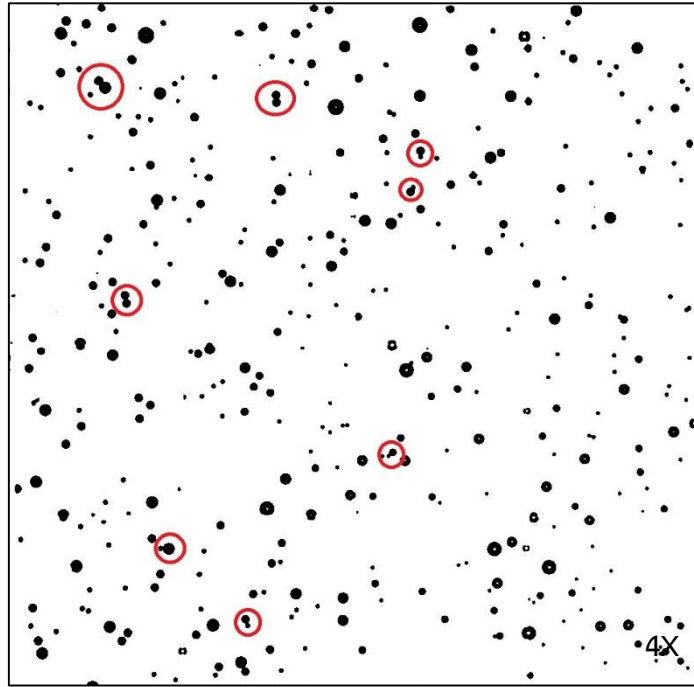


รูปที่ ค.1 ตัวอย่างรูปของอนุภาคที่ใช้ในการเปรียบเทียบการนับอนุภาค

ผลของการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมและการนับด้วยสายตาแสดงในตารางที่ ข.1 แสดงให้เห็นว่า การนับอนุภาคโดยใช้โปรแกรม imagej จะให้ผลที่ใกล้เคียงกับการนับด้วยสายตา โดยมีความคลาดเคลื่อนสูงสุดเท่ากับ 5% และความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยเท่ากับ 2 % สำหรับอนุภาคขนาด 5-15 ไมโครเมตร และสำหรับอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรไม่มีความคลาดเคลื่อนของการนับด้วยโปรแกรม imagej โดยสาเหตุของความคลาดเคลื่อนนั้นเกิดจากอนุภาคที่ติดกันดังแสดงในรูปที่ ค.2

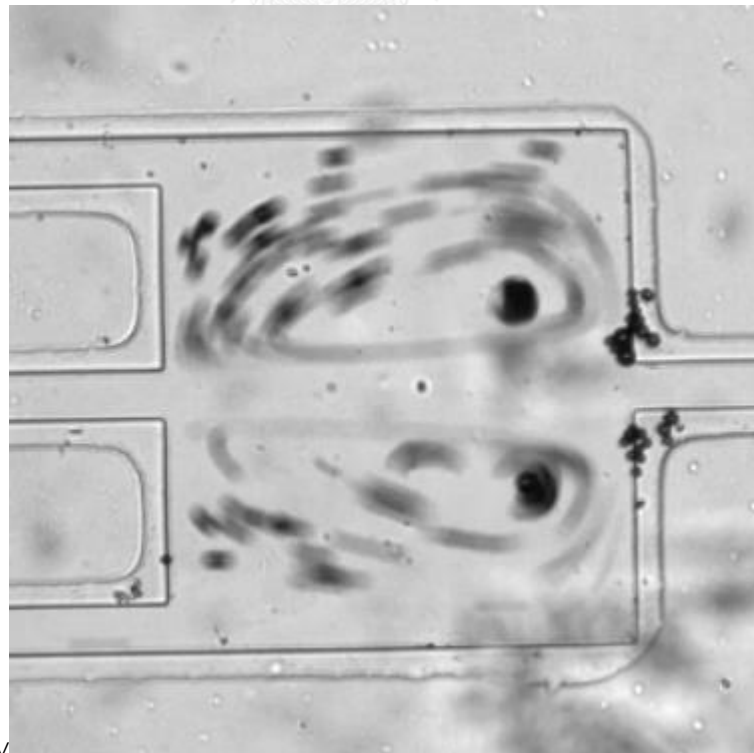
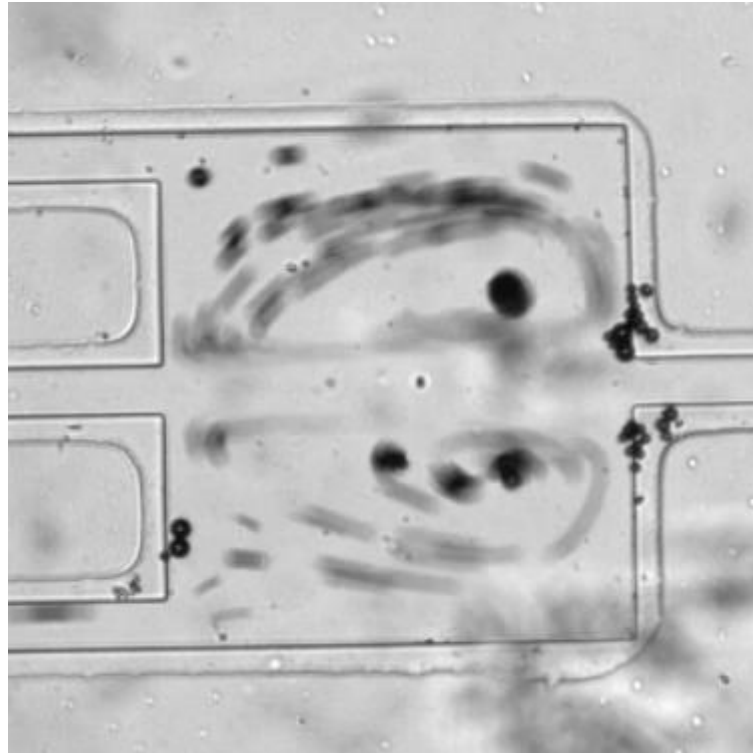
ตารางที่ ค.1 การเปรียบเทียบการนับอนุภาคด้วยโปรแกรมและการนับด้วยสายตา

รูปที่	จำนวนอนุภาค (อนุภาค)								ความคลาดเคลื่อน (%)			
	นับด้วยสายตา				นับด้วยโปรแกรม ImageJ							
	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm	5 µm	10 µm	15 µm	20 µm
1	175	112	55	8	166	112	52	8	5	0	5	0
2	120	125	37	5	120	126	37	5	0	1	0	0
3	164	133	44	2	161	138	44	2	2	4	0	0
4	173	113	53	8	172	116	55	8	1	3	4	0
5	158	132	46	3	152	134	47	3	4	2	2	0
เฉลี่ย	158	123	47	5.2	154.2	125.2	47	5.2	2	2	2	0

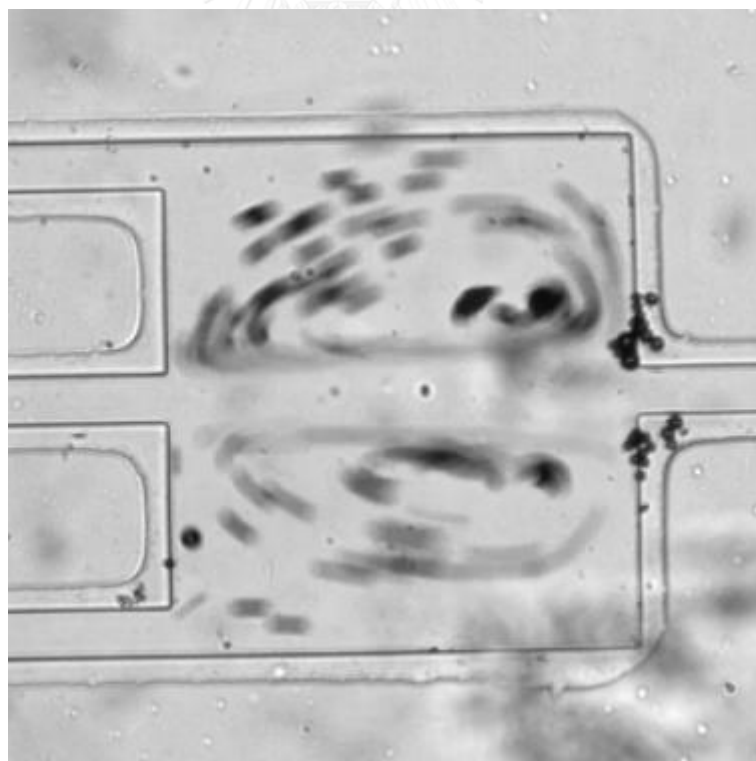
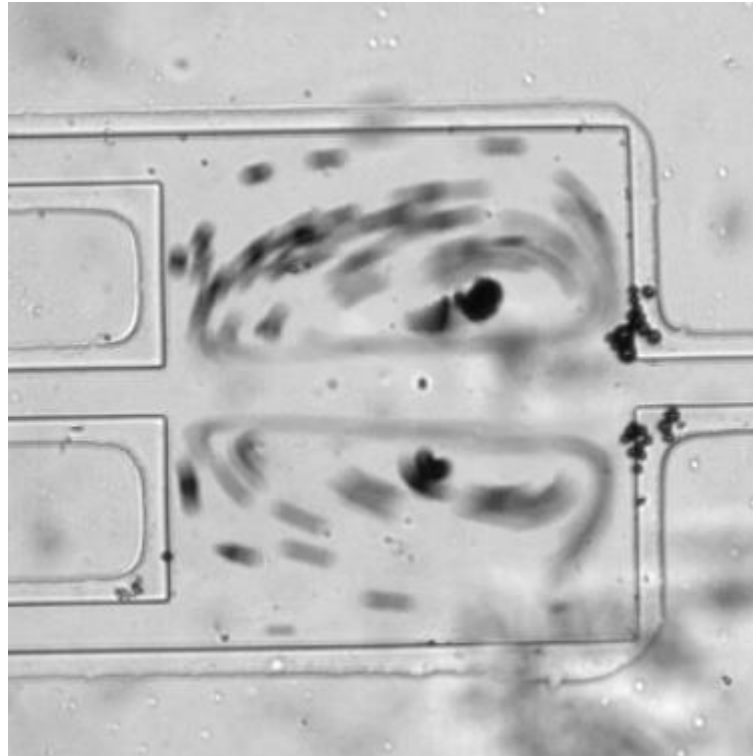


รูปที่ ค.2 สาเหตุของความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการติดกันอนุภาค

ภาคผนวก ง การหมยวนของอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก

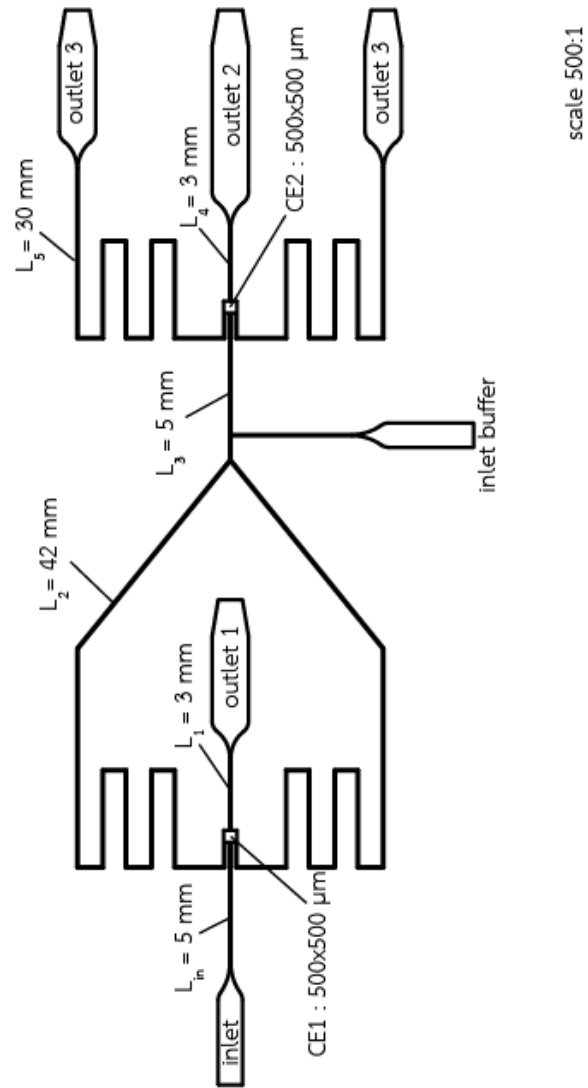


v



รูปที่ ง.1 การหมุ่ของอนุภาคภายในห้องการไหลขนาดเล็ก

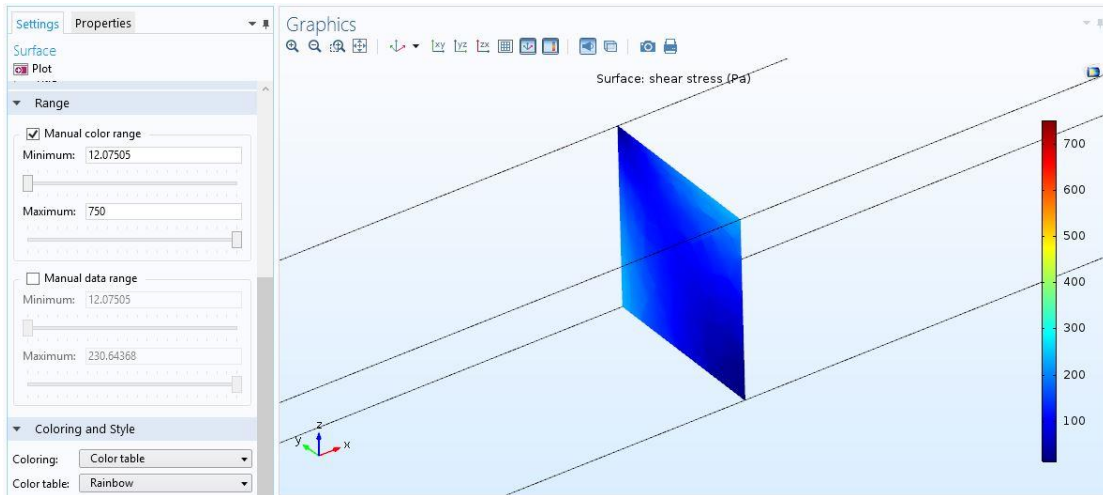
ภาคผนวก จ ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค



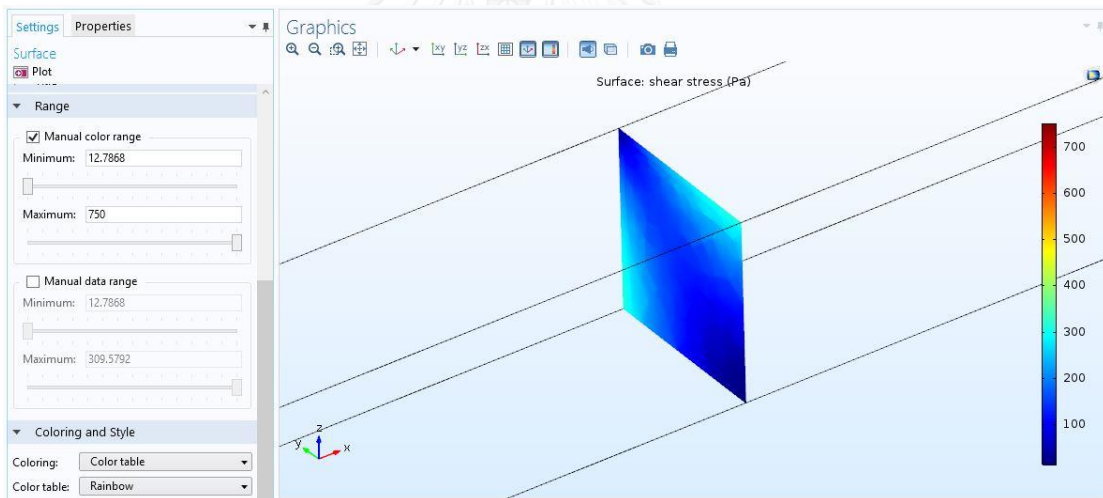
รูปที่ จ.1 ขนาดของอุปกรณ์การคัดแยกอนุภาค

ภาคผนวก ฉ การจำลองความเค้นฉีก และความเค้นยึดภายในอุปกรณ์

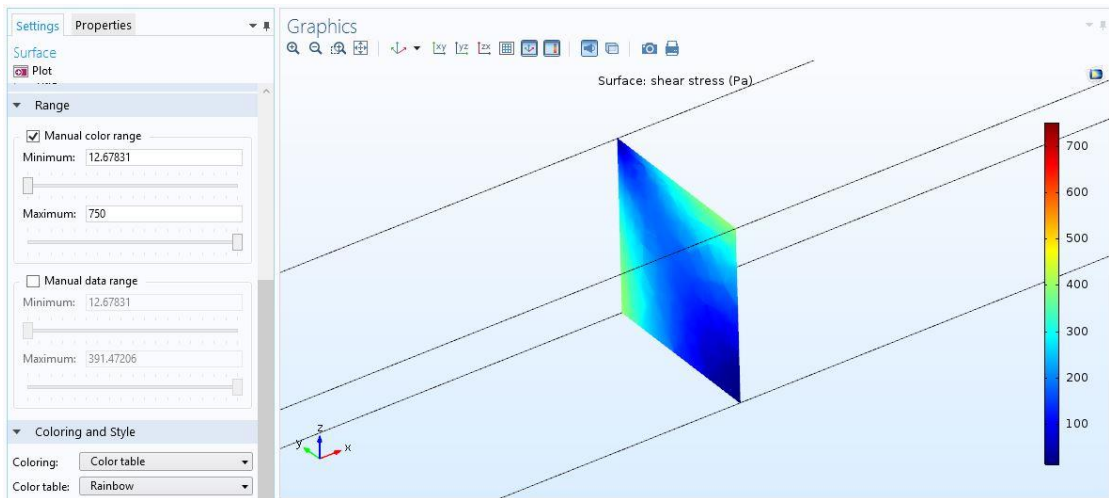
การจำลองค่าความเค้นฉีก



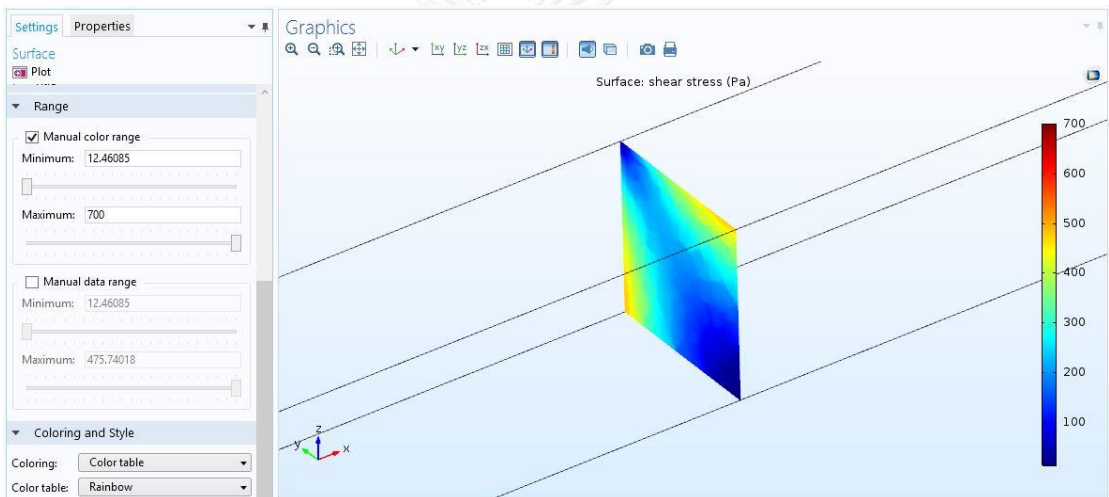
(ก) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 60



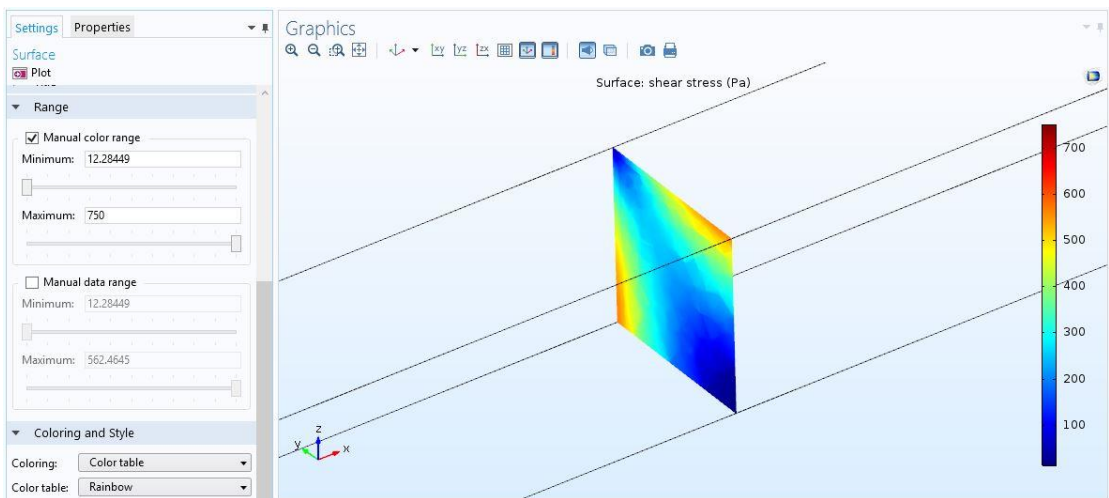
(ข) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 80



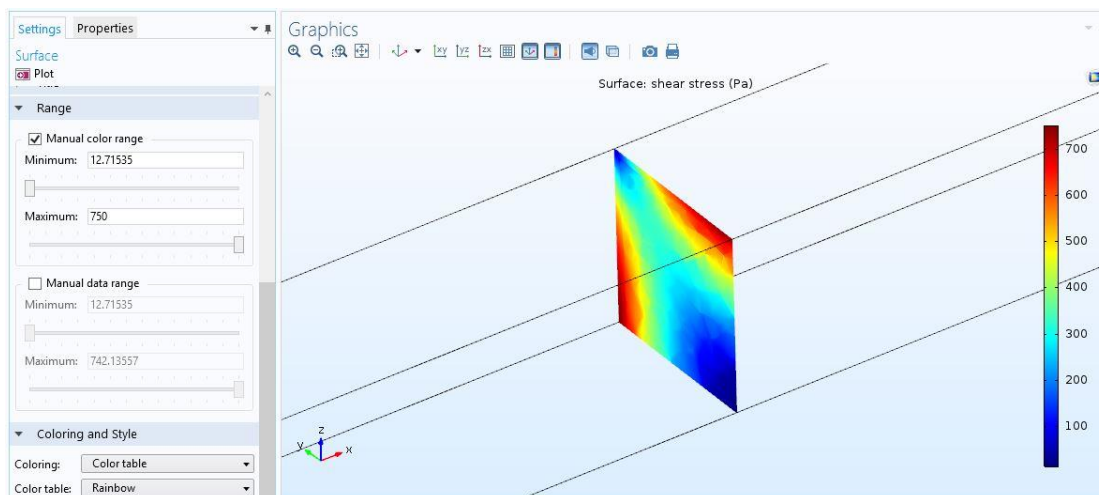
(ค) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100



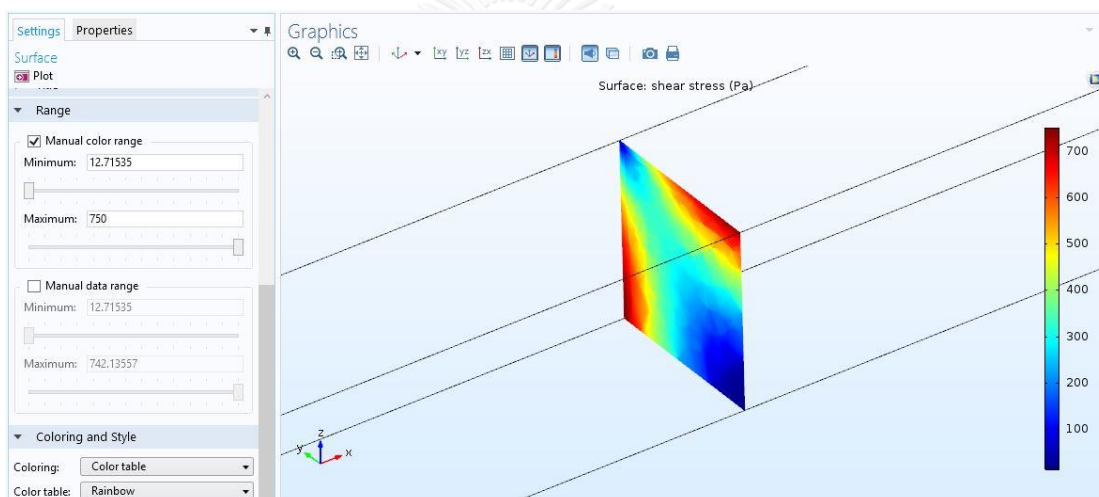
CHU (ง) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 120



(จ) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 140



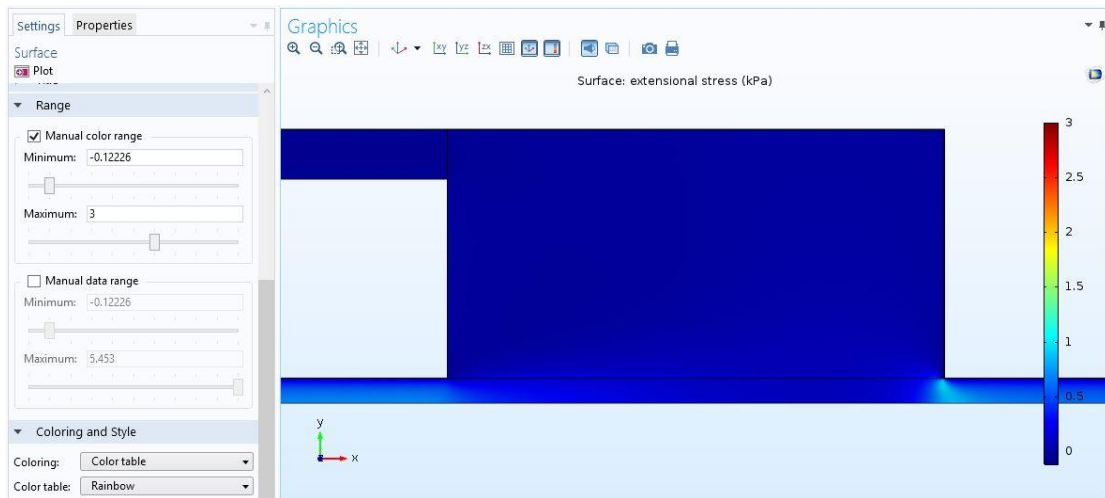
(ฉ) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 160



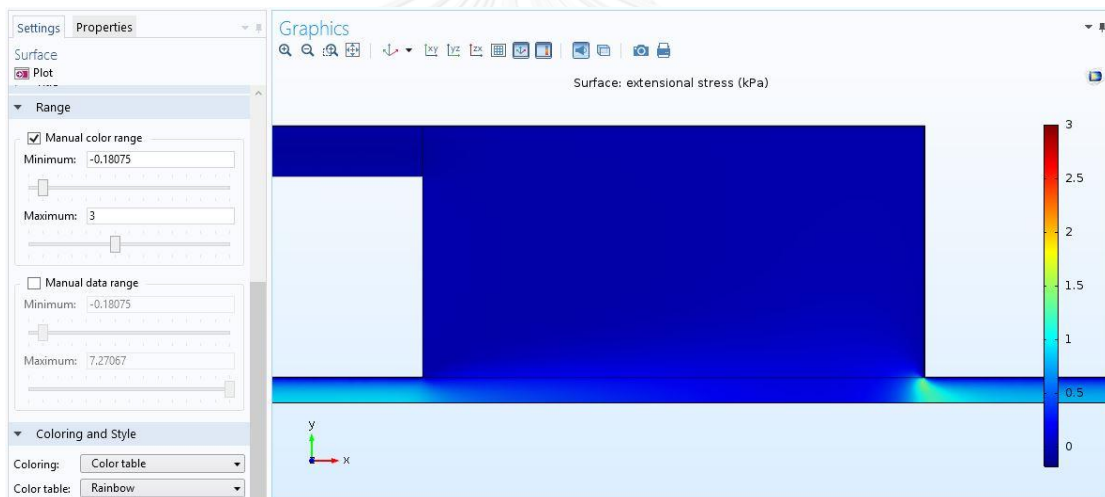
CHU (ช) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 180

รูปที่ ฉ.1 การจำลองความเค้นเฉือนภายในอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 (ค) 100 (ง) 120 (จ) 140 (ฉ) 160 (ช) 180

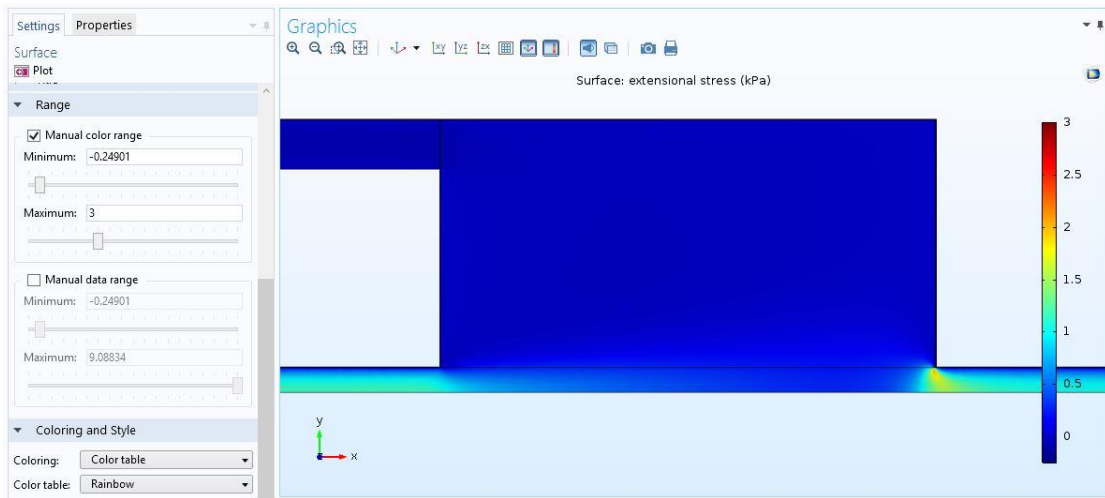
การจำลองค่าความเค้นยืด



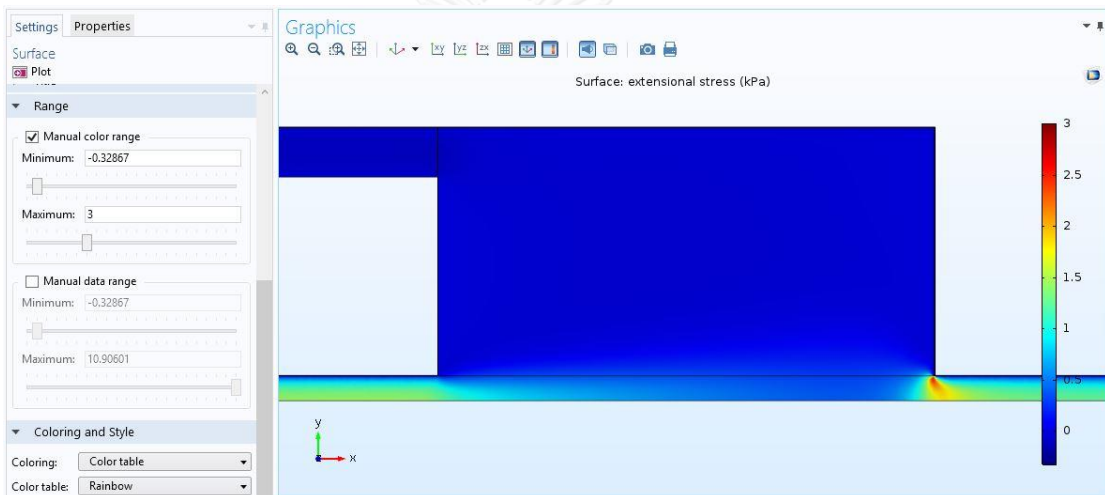
(ก) ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 60



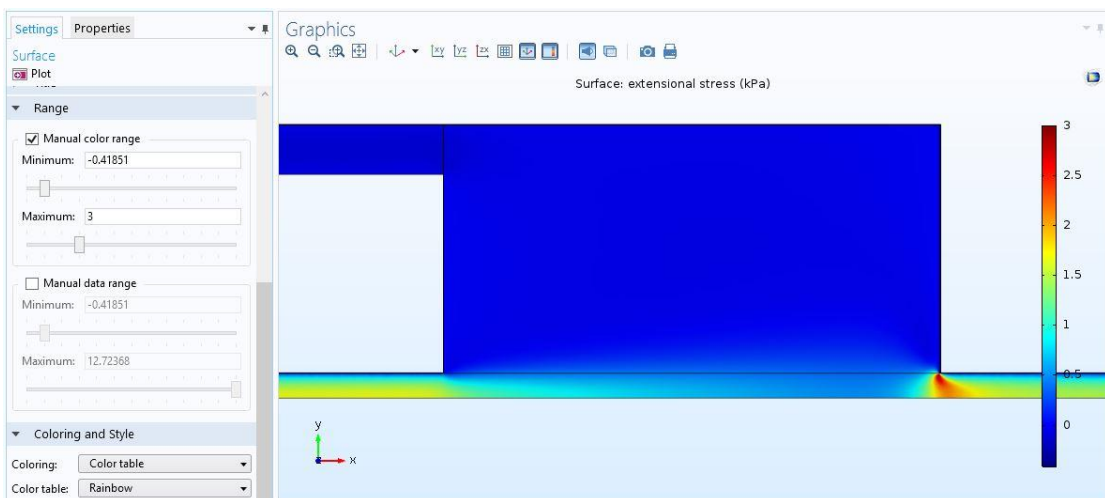
(ข) ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 80



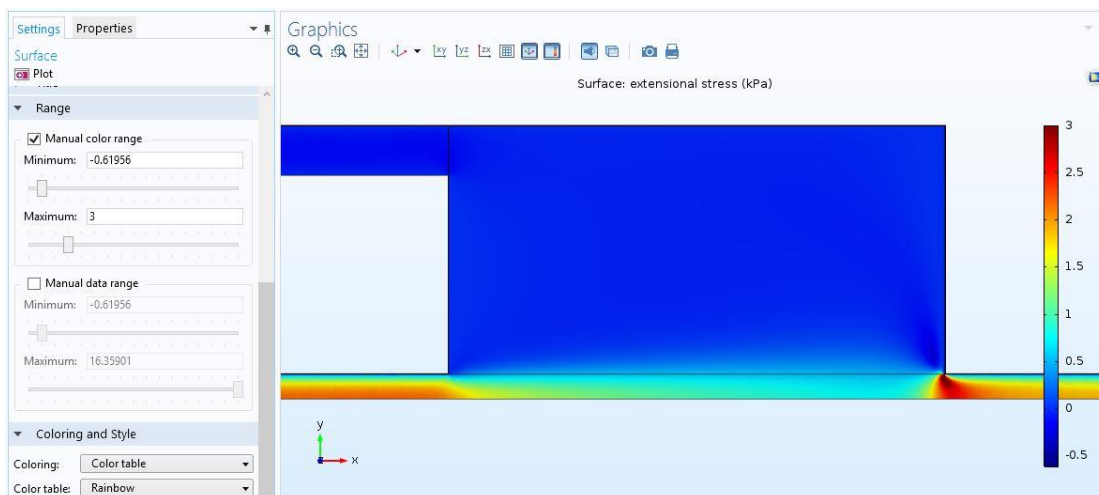
(ค) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100



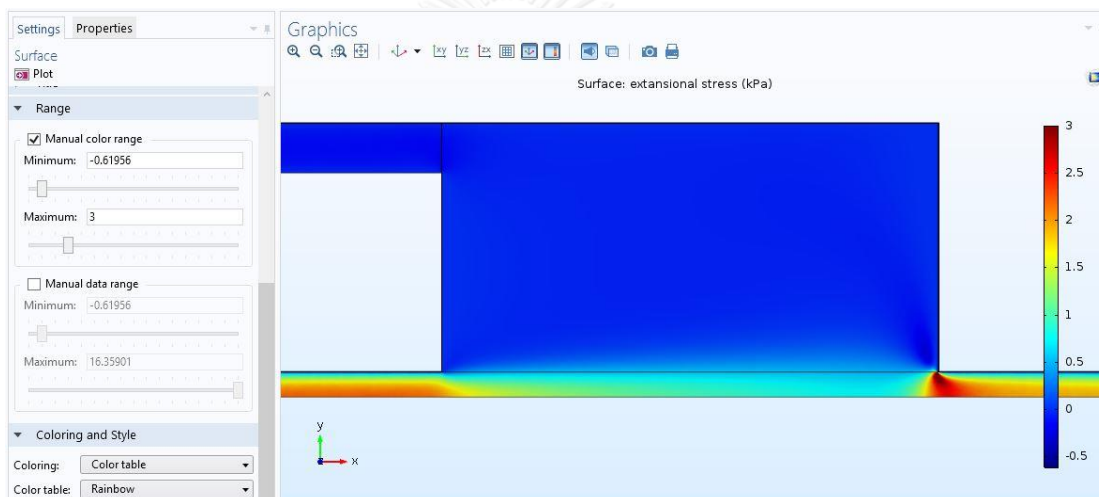
CHU (ง) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 120



(จ) ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 140



(ฉ) ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 160



CHU (ช) ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ 180

รูปที่ ฉ.2 การจำลองความเค้นยืดภายในอุปกรณ์ที่ค่าเรย์โนลด์์นัมเบอร์เท่ากับ (ก) 60 (ข) 80 (ค) 100
(ง) 120 (จ) 140 (ฉ) 160 (ช) 180

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอำพล กำเหนิดสุข เกิดเมื่อวันที่ 17 สิงหาคม พ.ศ.2535 ที่จังหวัดนครปฐม อายุ 25 ปี เป็นบุตรชายคนโตของนายอำพัน กำเหนิดสุข และนางลาวัลย์ กำเหนิดสุข สำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2558 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

