

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล โดยแบ่งเนื้อหาออกเป็นสามส่วนหลัก คือ การวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ใหม่ที่ไม่เคยผ่านการใช้มาก่อน การวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำ และการใช้ BSA เพื่อป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะของแอนติเจน

4.1 การวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ใหม่

เนื่องจากการทดลองจำเป็นที่จะต้องควบคุมตัวแปรต่างๆที่อาจมีผลต่อผลการทดลองได้ ดังนั้น การทดลองในส่วนนี้จะวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ใหม่ที่ไม่เคยผ่านการใช้มาก่อนเพื่อตัดผลที่อาจเกิดจากการตกค้างของแอนติเจนหรือแอนติบอดีบนผิว QCM โดยในส่วนนี้จะศึกษาการปรับสภาพผิวของ QCM ด้วยโพลิสไตรีน การตรึงผิว QCM ด้วยแอนติบอดีของไวรัสไข้เลือดออก และการสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานจากการวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM

4.1.1 การปรับสภาพผิวของ QCM ด้วยโพลิสไตรีน

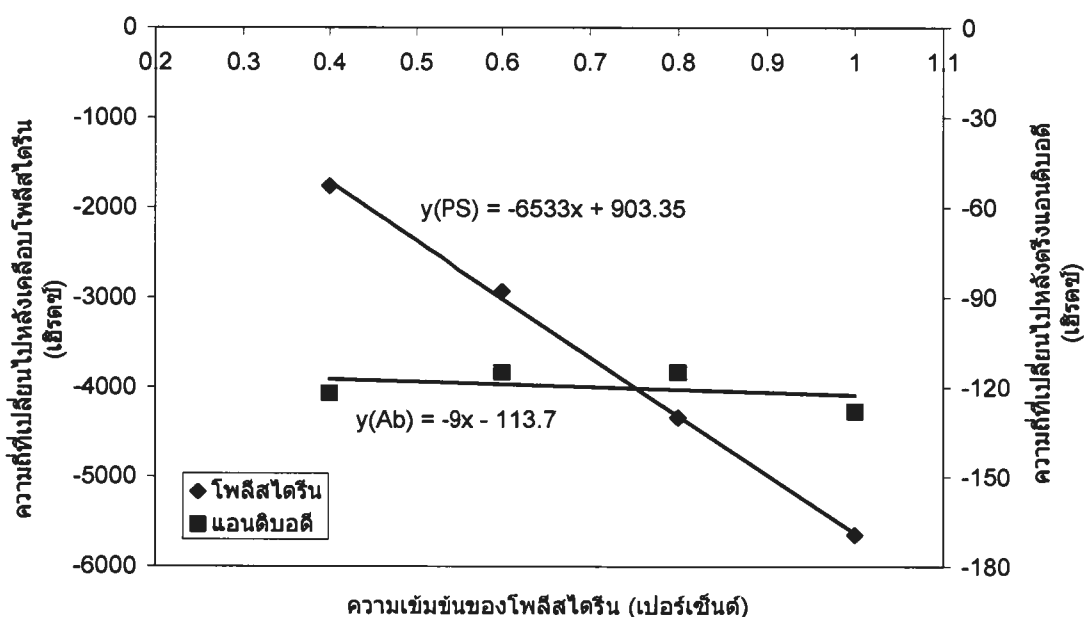
การทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของโพลิสไตรีนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM โดยในการทดลองได้มีการวัดความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เมื่อเคลือบผิว QCM ด้วยสารละลายโพลิสไตรีนในเบนซีนที่มีความเข้มข้นต่างกัน 4 ค่า คือ ความเข้มข้น 0.4% 0.6% 0.8% และ 1.0% นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของโพลิสไตรีนที่มีต่อการตรึงแอนติบอดีลงบนผิวของ QCM โดยการตรึงแอนติบอดีความเข้มข้น 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลงบน QCM ที่เคลือบผิวด้วยโพลิสไตรีนค่าต่างๆกันดังกล่าวข้างต้น

เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และกราฟรูปที่ 4.1 จะพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพลิสไตรีนกับความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังเคลือบโพลิสไตรีนมีลักษณะเป็นเชิงเส้น โดยเมื่อความเข้มข้นของโพลิสไตรีนมีค่าเพิ่มขึ้น การ

เปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะมีค่าเป็นลบมากขึ้นด้วย แสดงว่าโพลีสไตรีนจะเกาะที่ผิว QCM ได้มากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโพลีสไตรีนเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.1 ตารางความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโพลีสไตรีนในเบนซีนกับความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังเคลือบโพลีสไตรีนและหลังตรึงแอนติบอดี

ความเข้มข้นของสารละลาย โพลีสไตรีนในเบนซีน (เปอร์เซ็นต์)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไป หลังเคลือบโพลีสไตรีน (เฮิรตซ์)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไป หลังตรึงแอนติบอดี (เฮิรตซ์)
1.0	-5648	-128
0.8	-4339	-115
0.6	-2932	-115
0.4	-1761	-122
	ความชัน = -6533	ค่าเฉลี่ย = -120 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 6



รูปที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังเคลือบโพลีสไตรีนกับความเข้มข้นของโพลีสไตรีน

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพสิสไดรีนกับความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังตรึงแอนติบอดีจะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM มีค่าใกล้เคียงกัน โดยเมื่อหาค่าเฉลี่ยของความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM จากทุกค่าความเข้มข้นของโพสิสไดรีนจะได้ว่า QCM มีความถี่เรโซแนนซ์เปลี่ยนไปเฉลี่ย -120 เฮิร์ตซ์ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 6 เฮิร์ตซ์ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโพสิสไดรีนไม่ส่งผลต่อการตรึงแอนติบอดีลงบนผิว QCM ซึ่งบ่งชี้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติบอดีและโพสิสไดรีนเกิดขึ้นเฉพาะที่ผิวเท่านั้น เมื่อความเข้มข้นของโพสิสไดรีนที่ใช้เพิ่มขึ้นจะทำให้ความหนาของชั้นโพสิสไดรีนเพิ่มขึ้นแต่พื้นที่ผิวด้านบนยังคงเท่าเดิม ดังนั้น ความเข้มข้นของโพสิสไดรีนจึงไม่มีผลต่อจำนวนแอนติบอดีที่ยึดเกาะลงบนผิว QCM

4.1.2 การตรึงผิว QCM ด้วยแอนติบอดีของไวรัสไข้เลือดออก

ในส่วนนี้แบ่งออกเป็นสองส่วนหลัก คือ การหาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงแอนติบอดี และการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอนติบอดีที่มีต่อความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM โดยในการศึกษาจะตรึงแอนติบอดีลงบน QCM ที่ทำความสะอาดและเคลือบผิวด้วยโพสิสไดรีนตามวิธีที่กล่าวในหัวข้อ 3.3.1 และ 3.3.2

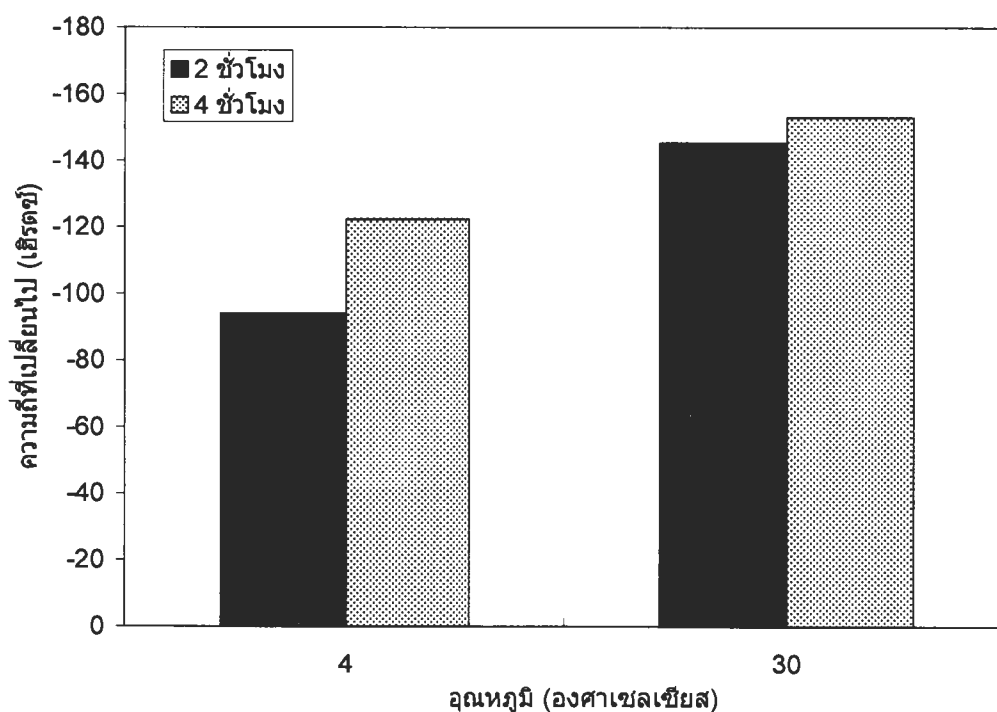
4.1.2.1 การหาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงแอนติบอดี

การศึกษานี้ได้ตรึงแอนติบอดีความเข้มข้น 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงบนผิวของ QCM ที่เคลือบผิวด้วยโพสิสไดรีนแล้ว โดยใช้เวลาในการตรึงแอนติบอดีนาน 2 ชั่วโมงและ 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส การทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีจะมีผลต่อความสามารถในการลงเกาะของแอนติบอดีบนผิว QCM อย่างไร ทั้งนี้ความสามารถในการลงเกาะของแอนติบอดีจะพิจารณาได้จากความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM เนื่องจากความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM จะสอดคล้องโดยตรงกับมวลของแอนติบอดีที่เกาะบนผิว QCM โดยเมื่อความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM มีค่าลดลงมากขึ้นหมายความว่าแอนติบอดีลงเกาะที่ผิว QCM ได้มากขึ้น

ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี

ตารางที่ 4.2 ตารางความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี

เวลาที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี (ชั่วโมง)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไป (Δf) [เฮิรตซ์]		$ \Delta f /^{\circ}\text{C}$ [Hz/ $^{\circ}\text{C}$]
	อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	
2	-94	-145	~2
4	-122	-153	~1
$ \Delta f /hr.$ [Hz/hr.]	14	4	



รูปที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี

เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีมีค่า 4 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีจาก 2 ชั่วโมงเป็น 4 ชั่วโมง จะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ลดลงมากขึ้นประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์

เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีมีค่า 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีจาก 2 ชั่วโมงเป็น 4 ชั่วโมง จะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ลดลงมากขึ้นประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์

พิจารณาการลงเกาะของแอนติบอดีเมื่อใช้เวลาในการตรึงแอนติบอดีนาน 2 ชั่วโมง แล้วเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีจาก 4 องศาเซลเซียสเป็น 30 องศาเซลเซียส พบว่าการลดลงของความถี่เรโซแนนซ์จะเพิ่มขึ้นประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อใช้เวลาในการตรึงแอนติบอดีนาน 4 ชั่วโมง พบว่าการลดลงของความถี่เรโซแนนซ์จะเพิ่มขึ้นประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลที่ได้จะพบว่าการใช้เวลาในการตรึงเพิ่มขึ้นจะทำให้แอนติบอดีเกาะที่ผิว QCM เพิ่มขึ้น และการเพิ่มขึ้นของแอนติบอดีเนื่องจากการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการตรึงจะมีค่ามากกว่าอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแอนติบอดีจะเกาะเพิ่มขึ้นอีกไม่มากนัก ถึงแม้ว่าเวลาที่ใช้ในการตรึงจะเพิ่มเป็นสองเท่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการลงเกาะของแอนติบอดีถึงจุดอิ่มตัวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแล้ว

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีมีผลต่อการลงเกาะของแอนติบอดีบนผิว QCM โดยเมื่อใช้เวลาในการตรึงเท่ากัน แอนติบอดีจะลงเกาะบนผิว QCM ได้มากกว่าเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงมีค่า 30 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่าเมื่ออุณหภูมิของระบบมีค่าสูงขึ้นจะส่งผลให้พลังงานของระบบมีค่าเพิ่มขึ้นทำให้การจับกันระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีเกิดได้เร็วขึ้น

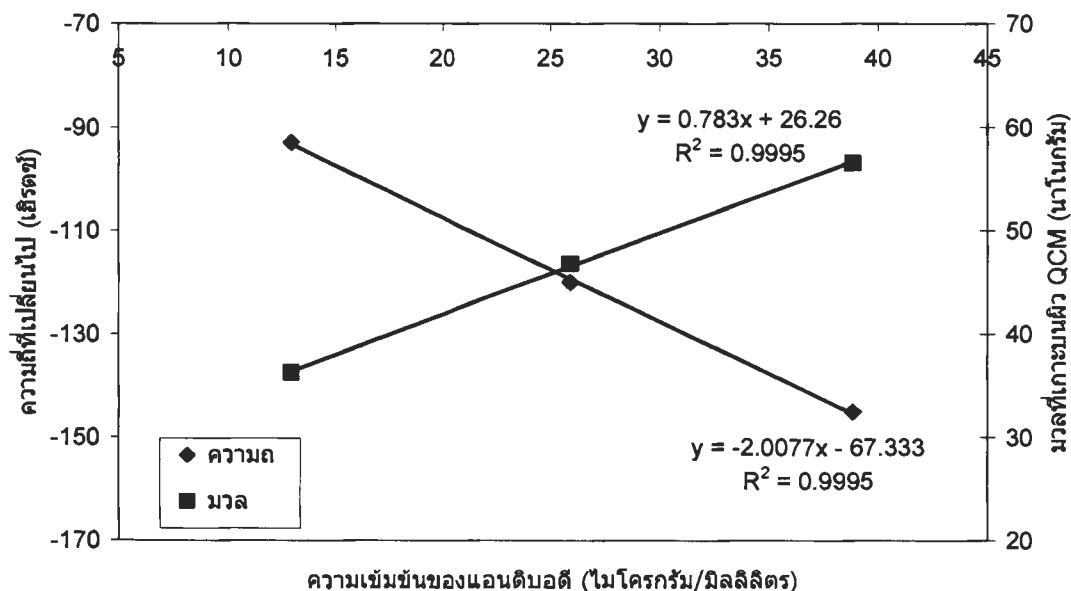
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างผลของการเพิ่มอุณหภูมิและการเพิ่มเวลาที่มีต่อการลงเกาะของแอนติบอดี จะพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีมีผลต่อการลงเกาะของแอนติบอดีบนผิวของ QCM มากกว่าเวลาที่ใช้ในการตรึง ดังจะเห็นได้จาก QCM ที่ถูกตรึงแอนติบอดีด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการตรึง 2 ชั่วโมง จะมีความถี่เรโซแนนซ์ลดลง 145 เฮิร์ตซ์ ในขณะที่ QCM ที่ถูกตรึงแอนติบอดีด้วยอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 4 ชั่วโมง จะมีความถี่เรโซแนนซ์ลดลงเพียง 122 เฮิร์ตซ์ จะเห็นได้ว่า QCM ที่ถูกตรึงแอนติบอดีด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีความถี่เรโซแนนซ์ลดลงมากกว่าแม้จะใช้เวลาในการตรึงน้อยกว่า ดังนั้น จึงควรตรึงแอนติบอดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเพราะจะทำให้แอนติบอดีลงเกาะได้มากกว่าและช่วยลดเวลาที่ใช้ในการตรึงลงได้เหลือเพียงครึ่งหนึ่งของเวลาที่ใช้ในการตรึงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อันจะทำให้สามารถลดเวลาในกระบวนการตรวจวัดได้

4.1.2.2 การแปรค่าความเข้มข้นของแอนติบอดี

ในหัวข้อนี้กล่าวถึงการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติบอดี โดยในการศึกษาจะแปรค่าความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้ 3 ค่า คือ 38.85, 25.9, และ 12.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ 20 ไมโครลิตร และใช้เวลาในการตรึงแอนติบอดี 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.3 จากผลการทดลองพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะเปลี่ยนไป -145, -120 และ -93 เฮิรตซ์ เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้มีค่า 38.85, 25.9, และ 12.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ได้พบว่า เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้มีค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ลดลงมากขึ้นตามไปด้วย โดยเมื่อพิจารณาจากกราฟรูปที่ 4.3 จะเห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปกับความเข้มข้นของแอนติบอดีมีลักษณะเป็นเชิงเส้น อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้ จะเห็นว่าความเข้มข้นมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 1 เท่า 2 เท่า และ 3 เท่าของความเข้มข้นต่ำสุด แต่ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปไม่ได้ลดลงเป็นจำนวนเท่าตามความเข้มข้น



รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปและมวลที่เกาะบนผิวของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติบอดี

จากการคำนวณในบทที่ 3 พบว่า QCM ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความไวเท่ากับ -2.56 เฮิร์ตซ์ต่อนาโนกรัม ดังนั้น จึงสามารถคำนวณหามวลของแอนติบอดีที่เกาะบนผิว QCM จากค่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปได้เป็น 56.6, 46.8 และ 36.3 นาโนกรัม เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่า 38.85, 25.9, และ 12.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

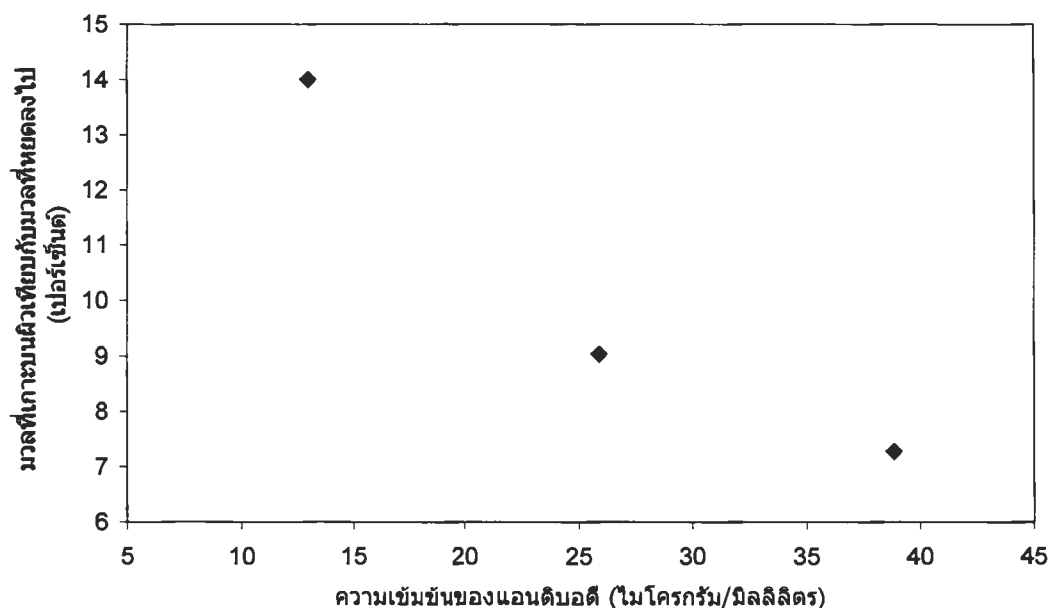
ตารางที่ 4.3 ตารางความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM มวลที่หดยดมวลที่เกาะ และเปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะกับความเข้มข้นของแอนติบอดี

ความเข้มข้นของแอนติบอดี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	มวลที่หดยด (นาโนกรัม)	ความถี่ที่เปลี่ยนไป (เฮิร์ตซ์)	มวลที่เกาะ (นาโนกรัม)	เปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะ
38.85	777	-145	56.6	7
25.9	518	-120	46.8	9
12.95	259	-93	36.3	14

จากตารางที่ 4.3 ถ้าพิจารณาความเข้มข้นค่าต่ำสุด คือ 12.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะเห็นว่ามวลของแอนติบอดีที่ลงเกาะบนผิว QCM นั้นมีค่าประมาณ 14% ของมวลที่หดยดลงไป แสดงว่ามวลอีก 86% ที่เหลือนั้นเป็นมวลส่วนเกินซึ่งไม่ได้เกาะอยู่บนผิว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอนติบอดีเป็น 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นต่ำสุด พบว่าแอนติบอดีเกาะบนผิว QCM ได้มากขึ้น เพียงแต่ไม่ได้เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าตามไปด้วย เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะบนผิวเทียบกับมวลที่หดยดลงไปพบว่ามีค่าประมาณ 9% และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอนติบอดีเป็น 38.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าเป็น 3 เท่าของความเข้มข้นต่ำสุด พบว่าแอนติบอดีเกาะบนผิว QCM ได้มากขึ้นอีก แต่เมื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะบนผิวเทียบกับมวลที่หดยดลงไปพบว่ามีค่าเพียง 7% เท่านั้น

เมื่อพิจารณาจากกราฟในรูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้มีค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้มวลที่เกาะบนผิวเพิ่มขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะบนผิวเทียบกับมวลที่หดยดลงไปจะมีค่าลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นนั้นจะมีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่ลงเกาะบนผิว QCM มากขึ้น แต่ส่วนที่เหลือจะถูกล้างออกไป โดยยิ่งความเข้มข้นที่ใช้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นก็จะทำให้แอนติบอดีส่วนเกินที่ถูกล้างออกไปมีจำนวนมากขึ้นด้วย ดังนั้น การใช้แอนติบอดีที่มีความเข้มข้นสูงในการทดลอง แม้จะทำให้สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลง

ความถี่เรโซแนนซ์ได้มากขึ้นแต่ก็หมายถึงการที่จะต้องสิ้นเปลืองแอนติบอดีส่วนเกินที่ถูกล้างออกมากขึ้นด้วยเช่นกัน



รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างมวลที่เกาะบนผิว QCM กับความเข้มข้นของแอนติบอดี

4.1.3 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานจากการใช้ QCM วัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก

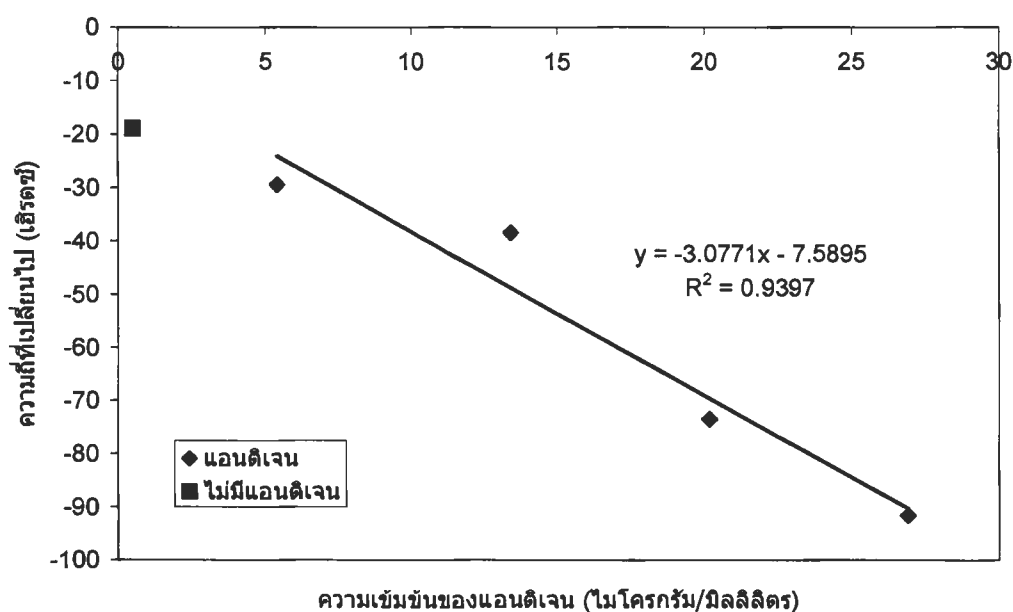
ในการศึกษาจะใช้ QCM ที่ตรึงแอนติบอดีซึ่งมีความจำเพาะกับแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกมาวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก โดยจะตรึงแอนติบอดีโดยใช้ความเข้มข้นค่าเดียวกันทั้งหมด คือ 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้เวลาในการตรึงแอนติบอดี 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำ QCM ที่ตรึงแอนติบอดีแล้วมาวัดแอนติเจน โดยในการทดลองจะแปรค่าความเข้มข้นของแอนติเจนที่จะนำมาวัด 4 ค่า ดังนี้ คือ 5.38, 13.45, 20.18 และ 26.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจะใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นตัวเทียบเพื่อให้มั่นใจว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ที่เปลี่ยนไปเป็นผลจากการเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของแอนติเจนจริงๆ ผลการทดลองที่ได้จากการทดลองนี้จะถูกนำมาสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้กับความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM

จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะเปลี่ยนไป -30, -39, -74 และ -92 เฮิร์ตซ์ เมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่า 5.38, 13.45, 20.18

และ 26.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ จะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะเปลี่ยนไป -19 เฮิร์ตซ์ เมื่อทดลองวัดสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่ไม่มีแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM แสดงไว้ ดังรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.4 ตารางความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM มวลที่หัดมวลที่เกาะ และเปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะกับความเข้มข้นของแอนติเจน

ความเข้มข้นของแอนติเจน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	มวลที่หัด (นาโนกรัม)	ความถี่ที่เปลี่ยนไป (เฮิร์ตซ์)	มวลที่เกาะ (นาโนกรัม)	เปอร์เซ็นต์ของมวลที่เกาะ
5.38	107.6	-30	11.51	10.7
13.45	269	-39	15.02	5.6
20.18	403.6	-74	28.67	7.1
26.9	538	-92	35.75	6.6



รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติเจน

จากรูป จะเห็นว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่วัดได้จาก QCM มีค่าแตกต่างกันระหว่างการวัดสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์กับการวัดตัวอย่างที่มีแอนติเจนอยู่ การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า QCM สามารถนำไปใช้วัดแอนติเจนได้ โดยความเข้มข้นของแอนติเจนต่ำสุดที่สามารถวัดได้ในงานวิจัยนี้คือ 5.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ถ้าความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้มีค่าต่ำกว่านี้ อาจทำให้แยกแยะผลการทดลองไม่ได้ว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปเป็นผลจากสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์หรือเป็นผลจากแอนติเจน นอกจากนี้ ผลการทดลองที่ได้ยังแสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติเจนมีลักษณะเป็นเชิงเส้น โดยเมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM มีค่าลดลงมากขึ้น จากความชันของกราฟในรูปที่ 4.5 สามารถคำนวณความไวของ QCM ได้ 0.15 เฮิร์ตซ์ต่อนาโนกรัม ดังแสดงไว้ในสมการที่ 4.1

$$\text{ความไว} = \frac{3\text{Hz}}{\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 0.02\text{ml}} = 0.15 \text{ Hz/ng} \quad (4.1)$$

จากความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ในกราฟรูปที่ 4.5 สามารถคำนวณมวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีได้ดังตารางที่ 4.4 เป็น 11.51, 15.02, 28.67 และ 35.75 นาโนกรัม และเมื่อคำนวณมวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีเทียบกับมวลทั้งหมดที่หยดลงไป พบว่ามวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีมีค่า 10.7%, 5.6%, 7.1% และ 6.6% ของมวลที่หยดลงไป เมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่า 5.38, 13.45, 20.18 และ 26.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ของมวลที่จับกับแอนติบอดีเทียบกับมวลที่หยดลงไปมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่าเพิ่มขึ้น

4.2 การวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำ

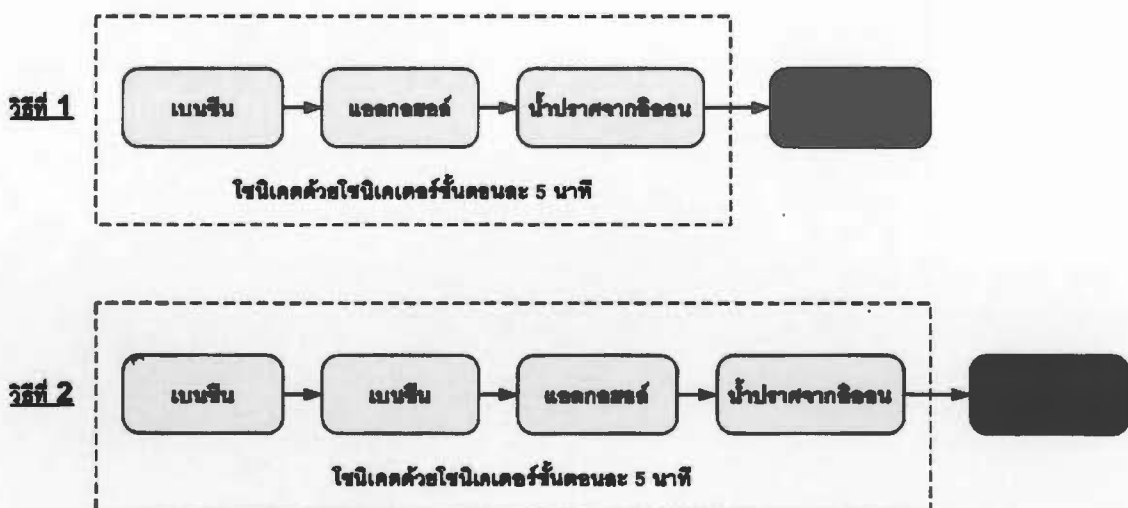
ในหัวข้อ 4.1 การศึกษาทั้งหมดจะทดลองกับ QCM ใหม่ที่ไม่เคยใช้มาก่อนเพื่อศึกษาผลการทดลองโดยตัดตัวแปรอื่นอาจเกิดจากการนำ QCM มาใช้ซ้ำออกไป แต่ในทางปฏิบัตินั้น การใช้ QCM เพียงครั้งเดียวแล้วทิ้งนับว่าเป็นการสิ้นเปลืองมาก ถ้าหาก QCM สามารถนำมาใช้ซ้ำได้อีกแม้เพียงหนึ่งครั้งก็จะทำให้ตัดค่าใช้จ่ายในส่วนของทรานสดิวเซอร์ลงไปได้ถึงครึ่งหนึ่ง ดังนั้นวิทยานิพนธ์ในส่วนนี้จึงศึกษาการนำ QCM ที่ใช้แล้วกลับมาใช้ซ้ำ โดยแบ่งเป็นการศึกษาการทำ ความสะอาดผิว QCM เพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ การทดลองตรึงแอนติบอดีลงบนผิว QCM ที่นำ

กลับมาใช้ซ้ำเปรียบเทียบกับเครื่องลงบนผิว QCM ใหม่ และการทดลองเพื่อสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานจากการใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำไปวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก

4.2.1 การทำความสะอาดผิว QCM เพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ

การทดลองส่วนนี้จะนำ QCM ที่เคยผ่านการเคลือบโพลีสไตรีน ตรึงแอนติบอดี และใช้วัดแอนติเจนมาแล้วหนึ่งครั้งมาทำความสะอาดโดยการล้างโพลีสไตรีนที่เคลือบไว้ออกไป จากนั้นจะนำ QCM ที่ทำความสะอาดแล้วกลับมาใช้ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

เนื่องจากการจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดีเกิดขึ้นเฉพาะที่ผิวของโพลีสไตรีนเท่านั้น ดังนั้น แนวคิดในการทำความสะอาดผิวของ QCM เพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำจึงเป็นการทำความสะอาดเพื่อล้างโพลีสไตรีนที่เคลือบผิว QCM ออกจากไป เมื่อโพลีสไตรีนหลุดออกไปแล้วก็จะทำให้แอนติบอดีและแอนติเจนที่จับกันอยู่บนผิวโพลีสไตรีนหลุดออกไปด้วยเช่นกัน และเนื่องจากโพลีสไตรีนที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสารละลายโพลีสไตรีนในเบนซีน ดังนั้น ในการทำความสะอาดผิวของ QCM จึงใช้เบนซีนเป็นตัวละลายโพลีสไตรีนที่เคลือบผิว QCM จากนั้นจึงล้างซ้ำด้วยแอลกอฮอล์และน้ำ แล้วเป่าให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน โดยในการทดลองจะเปรียบเทียบความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ที่แต่ละขั้นตอนของการทดลองตั้งแต่ความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก ความถี่เรโซแนนซ์หลังใช้ครั้งแรก และความถี่เรโซแนนซ์หลังทำความสะอาดเพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ



รูปที่ 4.6 วิธีทำความสะอาดผิว QCM เพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ

ตารางที่ 4.5 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกเมื่อ
ทำความสะอาดผิวด้วยวิธีที่ 1

QCM	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับ ความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก (เฮิร์ตซ์)
1	-496
2	91
3	19
4	-254
5	-243
6	-232
<u>ค่าเฉลี่ย</u>	-186
<u>ค่าเบี่ยงเบน</u> <u>มาตรฐาน</u>	212

ตารางที่ 4.6 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกเมื่อ
ทำความสะอาดผิวด้วยวิธีที่ 2

QCM	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับ ความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก (เฮิร์ตซ์)
1	-130
2	-100
3	-129
4	-78
5	125
6	-83
<u>ค่าเฉลี่ย</u>	-66
<u>ค่าเบี่ยงเบน</u> <u>มาตรฐาน</u>	96

ในการทดลองเพื่อหาความสะอาดผิว QCM ได้ทดลองโดยการโซนิเคต QCM ในเบนซีน แอลกอฮอล์ และน้ำโดยใช้โซนิเคเตอร์เปรียบเทียบกัน 2 วิธี ดังแสดงในรูปที่ 4.6 จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าการทำความสะอาดด้วยวิธีที่ 1 จะทำให้ค่าเฉลี่ยของความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกมีค่า -186 เฮิร์ตซ์ ในขณะที่ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าการทำความสะอาดด้วยวิธีที่ 2 จะทำให้ค่าเฉลี่ยของความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังล้างเทียบกับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกมีค่าประมาณ -66 เฮิร์ตซ์ จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่าการล้างด้วยวิธีที่ 2 ซึ่งล้างด้วยเบนซีนสองรอบจะทำให้ได้ QCM ที่สะอาดกว่า

จากทฤษฎีและจากการทดลองพบว่าความถี่เรโซแนนซ์หลังใช้ครั้งแรกจะมีค่าต่ำกว่าความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก เนื่องจากมีมวลมาเกาะที่ผิว QCM เพิ่มขึ้น และตามหลักการแล้ว เมื่อนำ QCM มาทำความสะอาดผิวจะทำให้มวลที่เกาะอยู่บนผิว QCM หลุดออกไป ดังนั้นความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังทำความสะอาดผิวควรจะมีค่าสูงกว่าหรือเท่ากับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกซึ่งหมายความว่ามวลที่เกาะอยู่บนผิวทั้งหมดได้ถูกล้างออกไปและ QCM สะอาดจริง แต่ผลจากการทดลองพบว่า QCM เพียงบางตัวเท่านั้นที่หลังจากทำความสะอาดผิวแล้วจะมีค่าความถี่เรโซแนนซ์สูงขึ้นมากกว่าความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก ในขณะที่ QCM ตัวอื่นๆโดยส่วนมากจะมีความถี่เรโซแนนซ์เพิ่มสูงขึ้นจากความถี่เรโซแนนซ์หลังใช้ครั้งแรกแต่ก็ยังมีค่าความถี่เรโซแนนซ์ต่ำกว่าความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกอยู่ การที่ความถี่เรโซแนนซ์หลังล้างของ QCM มีค่าต่ำกว่าความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรกแสดงว่าอาจมีสารบางส่วนตกค้างอยู่บนผิว QCM

4.2.2 การตรึงแอนติบอดีลงบนผิว QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำเปรียบเทียบกับการตรึงลงบนผิว QCM ใหม่

การทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ภายหลังจากการตรึงแอนติบอดีเปรียบเทียบระหว่างการใช้ QCM ใหม่ที่ไม่เคยผ่านการใช้มาก่อนและ QCM ที่ผ่านการใช้มาแล้วหนึ่งครั้ง สำหรับ QCM ที่เคยใช้มาแล้วหนึ่งครั้งจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดย QCM ในกลุ่มที่ 1 จะถูกนำมาล้างทำความสะอาดผิวด้วยวิธีที่ 1 ในรูปที่ 4.6 ส่วน QCM ในกลุ่มที่ 2 จะถูกนำมาล้างทำความสะอาดผิวด้วยวิธีที่ 2 ในรูปที่ 4.6 หลังจากทำความสะอาดผิวเรียบร้อยแล้ว QCM ทั้งหมดจะถูกเคลือบผิวด้วยโพลีสไตรีนความเข้มข้น 0.55% และถูกตรึงด้วยแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นค่าเดียวกันทั้งหมด คือ 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้เวลา

ในการตรึงแอนติบอดี 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ดังตารางที่ 4.7 เมื่อ QCM เก่า 1 และเก่า 2 คือ QCM ที่ถูกล้างด้วยวิธีที่ 1 ในรูปที่ 4.6 ส่วน QCM เก่า 3 และเก่า 4 คือ QCM ที่ถูกล้างด้วยวิธีที่ 2 ในรูปที่ 4.6 ส่วน QCM ใหม่ 1 และใหม่ 2 คือ QCM ใหม่ที่ไม่เคยผ่านการใช้มาก่อน

ตารางที่ 4.7 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM หลังเคลือบโพลีสไตรีนและหลังตรึงแอนติบอดีเปรียบเทียบระหว่าง QCM ใหม่กับ QCM ที่ผ่านการใช้แล้ว 1 ครั้ง

QCM	วิธีการล้าง	ความถี่เรโซแนนซ์ ที่เปลี่ยนไป หลังเคลือบโพลีสไตรีน (เฮิร์ตซ์)	ความถี่เรโซแนนซ์ ที่เปลี่ยนไป หลังตรึงแอนติบอดี (เฮิร์ตซ์)
เก่า 1	วิธีที่ 1	-2325	-153
เก่า 2	วิธีที่ 1	-2388	-138
เก่า 3	วิธีที่ 2	-2250	-163
เก่า 4	วิธีที่ 2	-2336	-153
ใหม่ 1	-	-2216	-145
ใหม่ 2	-	-2321	-135
	<u>ค่าเฉลี่ย</u>	-2306	-148
	<u>ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน</u>	62	11

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปภายหลังการเคลือบโพลีสไตรีนของ QCM เก่าที่ผ่านการล้างด้วยวิธีที่แตกต่างกันและของ QCM ใหม่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น -2,306 เฮิร์ตซ์ เมื่อพิจารณาความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปภายหลังการตรึงแอนติบอดี จะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM แต่ละตัวทั้ง QCM เก่าและใหม่มีค่าใกล้เคียงกันอีกเช่นกัน โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น -148 เฮิร์ตซ์ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า QCM เก่าที่เคยใช้มาแล้วเมื่อนำมาล้างทำความสะอาดผิวจะสามารถนำกลับมาใช้ตรึงแอนติบอดีใหม่ได้ โดยผลการทดลองที่ได้จะมีค่าใกล้เคียงกับการใช้ QCM ใหม่

เมื่อคำนวณหามวลของแอนติบอดีที่เกาะบนผิว QCM จากความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไป จะได้ว่ามวลของแอนติบอดีที่เกาะบน QCM มีค่าประมาณ 57.7 นาโนกรัม ซึ่งเมื่อคำนวณเปรียบเทียบกับมวลที่หยดลงไปทั้งหมด คือ 518 นาโนกรัม นั้น จะพบว่ามวลของแอนติบอดีที่เกาะบนผิว QCM มีค่าประมาณ 11% ของมวลที่หยดลงไป

4.2.3 การสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานจากการใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำไปวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก

การศึกษานี้เป็นการวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกเพื่อนำมาสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานซึ่งคล้ายกับการทดลองในหัวข้อ 4.1.3 แต่จะแตกต่างกันตรงที่การทดลองในหัวข้อนี้จะเป็นการทดลองโดยใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำโดยผ่านกระบวนการที่กล่าวในหัวข้อ 4.2.2 ในการทดลองนี้จะตรึงแอนติบอดีที่มีความเข้มข้น 25.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนผิว QCM โดยใช้เวลาในการตรึง 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำ QCM ที่ตรึงแอนติบอดีเรียบร้อยแล้วมาวัดแอนติเจนโดยแปรค่าความเข้มข้นของแอนติเจน 3 ค่า คือ 13.45, 20.18 และ 26.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

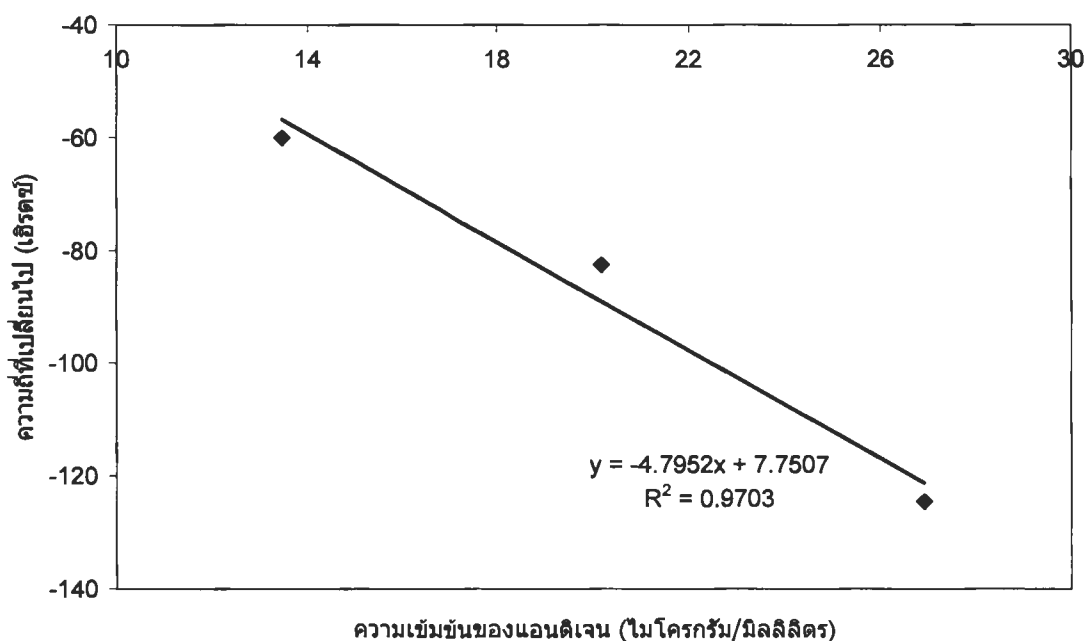
ตารางที่ 4.8 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำหลังวัดแอนติเจนและมวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดี

ความเข้มข้นของแอนติเจน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	มวลที่หยด (นาโนกรัม)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังวัดแอนติเจน (เฮิร์ตซ์)	มวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดี (นาโนกรัม)
13.45	269	-60	23.40
20.18	403.6	-83	32.18
26.90	538	-125	48.56

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดลองที่ได้จากการนำ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำไปวัดแอนติเจนที่มีความเข้มข้นค่าต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM มีค่าลดลงมากขึ้น ทั้งนี้ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติเจนที่ได้จะมีลักษณะเป็นเชิงเส้น โดยเมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่า 13.45, 20.18 และ 26.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะทำให้ความถี่เร

โซแนนซ์ของ QCM เปลี่ยนไป -60, -83 และ -125 เฮิร์ตซ์ ตามลำดับ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM กับความเข้มข้นของแอนติเจนแสดงไว้ดังรูปที่ 4.7 จากความชันของกราฟสามารถคำนวณหาความไวของ QCM ได้เป็น 0.24 เฮิร์ตซ์ต่อนาโนกรัม ดังแสดงไว้ในสมการที่ 4.2

$$\text{ความไว} = \frac{4.8 \text{ Hz}}{\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 0.02 \text{ ml}} = 0.24 \text{ Hz/ng} \quad (4.2)$$



รูปที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำกับความเข้มข้นของแอนติเจน

จากความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM สามารถคำนวณมวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีได้เป็น 23.40, 32.18 และ 48.56 นาโนกรัม เมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่า 13.45, 20.18 และ 26.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบมวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีเทียบกับมวลทั้งหมดของแอนติเจนที่หยดลงไปพบว่ามวลของแอนติเจนที่จับกับแอนติบอดีมีค่าประมาณ 8.7%, 8.0% และ 9.0% ของมวลแอนติเจนทั้งหมดที่หยดลงไป เมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่า 13.45, 20.18 และ 26.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองในหัวข้อ 4.2 นี้แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองที่ได้จากการใช้ QCM ที่นำกลับมาใช้ซ้ำมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้ QCM ใหม่ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า

QCM ที่ใช้ในงานวิจัยนี้สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อีกโดยการล้างโพสิสไดรินที่เคลือบผิว QCM ออกไป ถึงแม้ว่าการล้าง QCM ที่ผ่านการใช้แล้วจะไม่ได้ทำให้ความถี่เรโซแนนซ์หลังล้างเพิ่มขึ้นจนมีค่าเท่ากับความถี่เรโซแนนซ์ก่อนใช้ครั้งแรก แต่จากผลการทดลองก็แสดงให้เห็นว่าโพสิสไดรินที่ตกค้างอยู่นั้นไม่ส่งผลกระทบต่อผลการทดลองเมื่อนำ QCM กลับมาใช้ซ้ำเป็นครั้งที่สอง

4.3 การใช้ BSA เพื่อป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะของแอนติเจน

การศึกษานี้ทำเพื่อศึกษาผลของการใช้และไม่ใช้ BSA ป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะ (non-specific binding) ในการวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก โดยในการทดลองจะแปรความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ตรึงลงบน QCM 3 ค่า ดังนี้ คือ 38.85, 25.90, และ 12.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับการทดลองที่ใช้ BSA จะหยด BSA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บน QCM ที่ตรึงแอนติบอดีแล้ว จากนั้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ล้างส่วนเกินออกด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ก่อนจะนำ QCM มาวัดแอนติเจน สำหรับการทดลองที่ไม่ใช้ BSA จะนำ QCM ที่ตรึงแอนติบอดีเรียบร้อยแล้วไปวัดแอนติเจนได้ทันที ความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ในการทดลองนี้จะใช้ค่าเดียวกันทั้งหมด คือ 40.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดลองที่ได้เมื่อไม่ใช้ BSA แสดงไว้ดังตารางที่ 4.9 และกราฟรูปที่ 4.8 ส่วนผลการทดลองที่ได้เมื่อใช้ BSA แสดงไว้ดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.9 จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอนติบอดีจะทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ลดลงมากขึ้น โดยความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปจะมีค่า -93, -120 และ -145 เฮิร์ตซ์ เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่า 12.95, 25.90 และ 38.85 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังวัดแอนติเจนจะเห็นว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปมีค่าค่อนข้างคงที่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้ โดยมีค่าเฉลี่ยของความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปเป็น -115 เฮิร์ตซ์

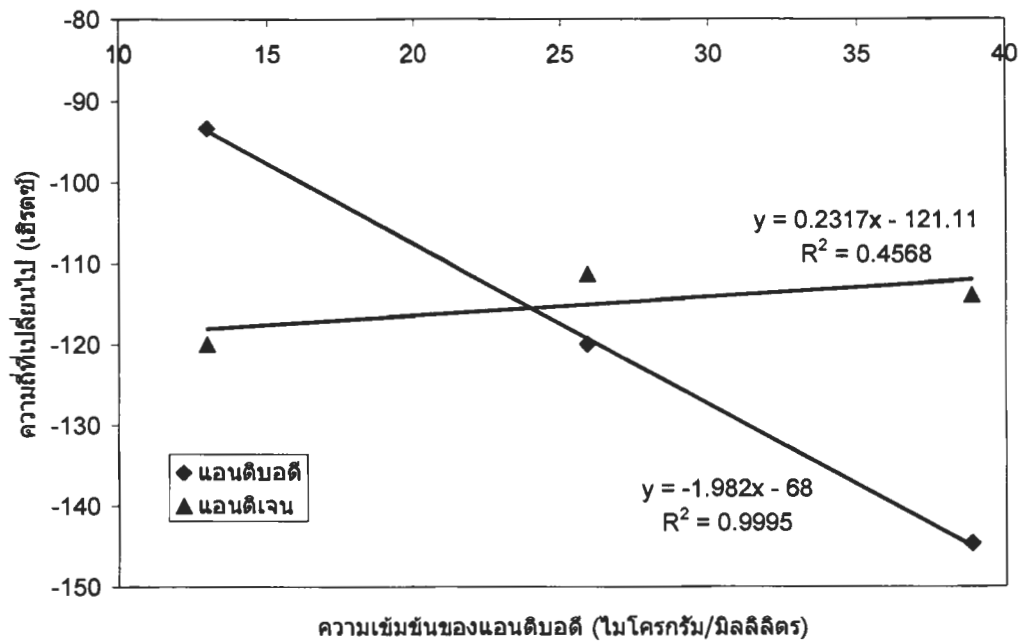
เนื่องจากในการศึกษานี้ได้แปรค่าความเข้มข้นของแอนติบอดีให้แตกต่างกันแต่กำหนดให้ความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้มีค่าคงที่ซึ่งเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้จะเห็นว่าความเข้มข้นของแอนติเจนมีค่ามากกว่าความเข้มข้นของแอนติบอดีทุกค่าที่ใช้ในการทดลอง จากผลการทดลองที่ได้ จึงอธิบายได้ว่าการที่ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ภายหลังจากวัดแอนติเจนมีค่าคงที่นั้นเป็นเพราะแอนติเจนที่ใช้มีปริมาณมากเกินไปจึงทำให้แอนติเจนบางส่วนเกิดการจับแบบไม่จำเพาะกับโพสิสไดรินที่เคลือบผิว QCM อยู่ แบบจำลองของการจับแบบไม่จำเพาะระหว่างแอนติเจนกับโพสิสไดรินแสดงได้ดังรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.9 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM หลังวัดแอนติเจนเมื่อไม่ใช้ BSA

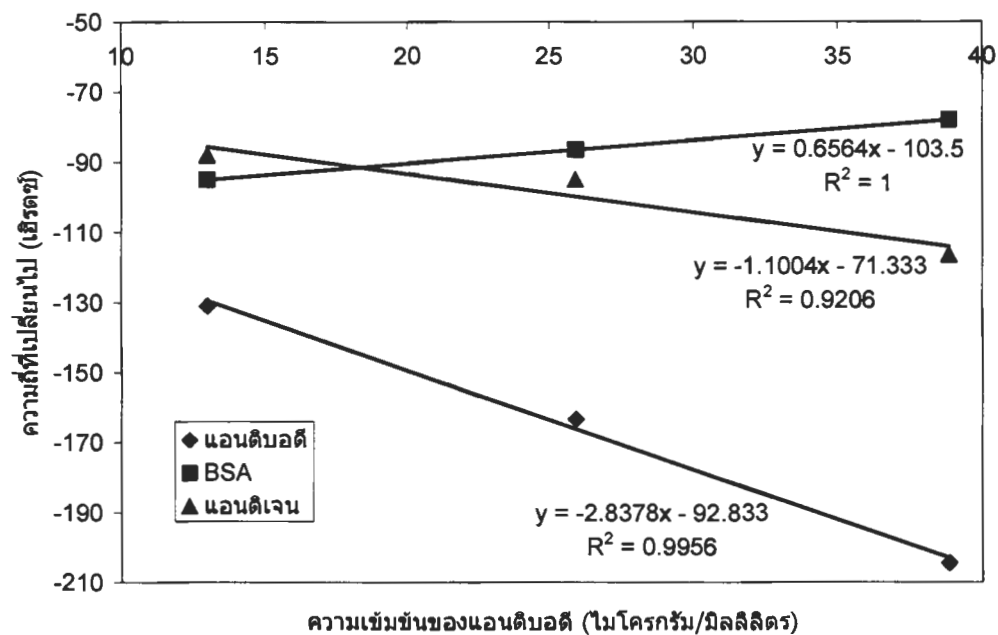
ความเข้มข้นของแอนติบอดี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังการตรึงแอนติบอดี (เฮิรตซ์)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังการวัดแอนติเจน (เฮิรตซ์)
12.95	-93	-120
25.90	-120	-111
38.85	-145	-114

ตารางที่ 4.10 ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM หลังวัดแอนติเจนเมื่อใช้ BSA

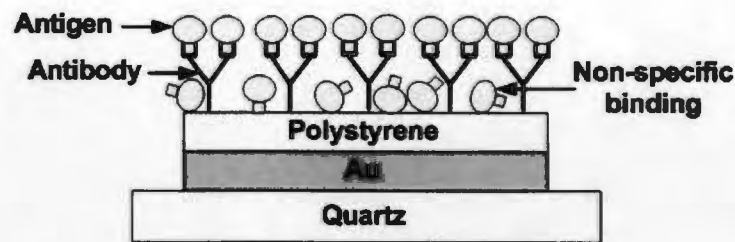
ความเข้มข้นของแอนติบอดี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังการตรึงแอนติบอดี (เฮิรตซ์)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังหยด BSA (เฮิรตซ์)	ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปหลังการวัดแอนติเจน (เฮิรตซ์)
12.95	-131	-95	-88
25.90	-164	-87	-95
38.85	-205	-78	-117



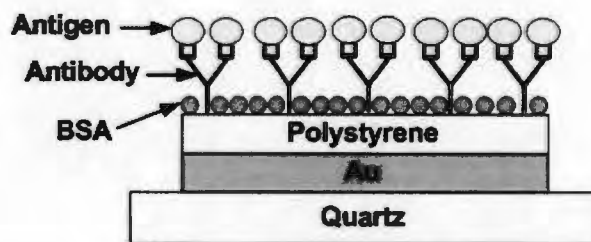
รูปที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ภายหลังจากการตรึงแอนติบอดีและภายหลังจากการวัดแอนติเจนกับความเข้มข้นของแอนติบอดี เมื่อไม่ใช้ BSA



รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ภายหลังจากการตรึงแอนติบอดี ภายหลังจากการใช้ BSA และภายหลังจากการวัดแอนติเจนกับความเข้มข้นของแอนติบอดี เมื่อใช้ BSA



รูปที่ 4.10 แบบจำลองการจับกันของแอนติบอดีกับแอนติเจนเมื่อมีการจับแบบไม่จำเพาะระหว่างแอนติเจนกับโพลีสไตรีน



รูปที่ 4.11 แบบจำลองการจับกันของแอนติบอดีกับแอนติเจนเมื่อใช้ BSA เป็นตัวป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะระหว่างแอนติเจนกับโพลีสไตรีน

เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ได้จากการใช้ BSA ป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะจะเห็นว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะลดลงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่าสูงขึ้น เช่นเดียวกับในการทดลองที่ไม่ใช้ BSA โดยความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปจะมีค่า -131, -164 และ -205 เฮิรตซ์ เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่า 12.95, 25.90 และ 38.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ภายหลังจากการหยด BSA จะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะลดลงมากกว่าเมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่าต่ำกว่า และเมื่อพิจารณาความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปของ QCM ภายหลังจากวัดแอนติเจนจะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปมีค่าลดลงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่าสูงขึ้น จะเห็นว่าผลการทดลองในส่วนนี้จะแตกต่างจากการทดลองเมื่อไม่ใช้ BSA ซึ่งความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปภายหลังจากวัดแอนติเจนมีค่าคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอนติบอดี

ในการทดลองที่ใช้ BSA นั้น BSA จะถูกหยดลงไปภายหลังจากตรึงแอนติบอดี เพื่อให้ BSA ลงไปเกาะกับผิวโพลีสไตรีนในบริเวณที่เป็นที่ว่างซึ่งไม่มีแอนติบอดีเกาะอยู่ BSA ที่เกาะอยู่นี้จะสามารถป้องกันการจับของแอนติเจนกับผิวโพลีสไตรีนได้ โดยแบบจำลองการจับกันของ

แอนติบอดีกับแอนติเจนเมื่อใช้ BSA เป็นตัวป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะระหว่างแอนติเจนกับโพลีสไตรีนแสดงไว้ดังรูปที่ 4.11 เนื่องจาก QCM ที่ถูกตรึงด้วยแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าจะมีจำนวนของแอนติบอดีที่เกาะอยู่บนผิว QCM น้อยกว่าจึงมีพื้นที่ว่างที่เป็นผิวโพลีสไตรีนมากกว่าเมื่อหยด BSA ลงไป BSA จะลงไปจับกับโพลีสไตรีนในส่วนที่เป็นที่ว่างได้มากกว่า จากการทดลองจึงพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความถี่เรโซแนนซ์ภายหลังการหยด BSA จะมีค่ามากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่าน้อยลง นอกจากนี้ จากการทดลองยังพบว่า ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปภายหลังการวัดแอนติเจนของการทดลองที่ใช้ BSA นั้นจะมีค่าเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของแอนติบอดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่า BSA สามารถป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะระหว่างแอนติเจนกับโพลีสไตรีนได้ เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ใช้มีค่าสูงขึ้นจะทำให้จำนวนแอนติบอดีที่เกาะบนผิว QCM มีค่าเพิ่มขึ้น เป็นผลให้แอนติเจนที่หยดลงไปสามารถจับกับแอนติบอดีได้มากขึ้น และทำให้ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนไปภายหลังการวัดแอนติเจนของ QCM มีค่าลดลงมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของแอนติบอดีมีค่าสูงขึ้น

จากผลการทดลองในหัวข้อนี้แสดงให้เห็นว่าแอนติเจนสามารถเกิดการจับแบบไม่จำเพาะกับผิวโพลีสไตรีนได้ โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้มีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของแอนติบอดีอย่างมาก อย่างไรก็ตาม การจับแบบไม่จำเพาะของแอนติเจนนี้สามารถป้องกันได้ด้วยการใช้ BSA บล็อกภายหลังการตรึงแอนติบอดี