

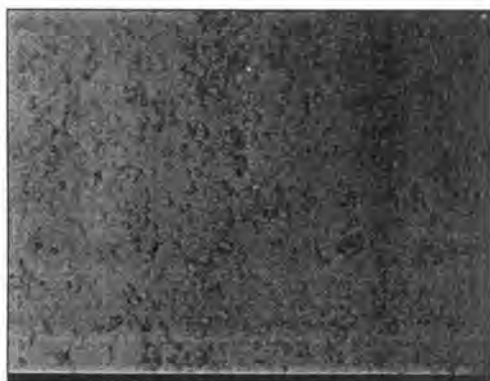
บทที่ 4

การใช้ QCM ตรวจวัดปริมาณ เซลล์

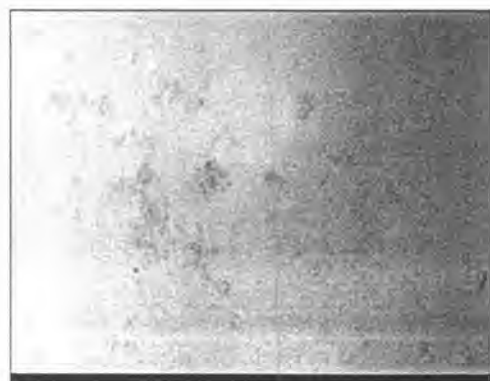
จากการทดลองและทฤษฎีที่กล่าวผ่านมาในบทที่ 2 และ 3 ทำให้สามารถเข้าใจ และ ออกแบบระบบการทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับบทนี้จะกล่าวถึงการนำ QCM ตรวจวัด ปริมาณเซลล์ โดยแบ่งเป็น 3 การศึกษา คือ การทดสอบการเกาะติดของเซลล์ที่ผิวทอง การ เปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ต่อเซลล์ในแต่ละวันที่ทำการทดลอง และ การ เปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM กับ ปริมาณเซลล์

4.1 การศึกษาการเกาะติดของเซลล์ที่ผิวทอง

เนื่องจากทั้งสมการ Sauerbrey และ สมการของ Kanazawa ต่างก็มีเงื่อนไขที่สอดคล้องกัน กล่าวคือ ฟิล์ม หรือ ของเหลวที่นำมาตรวจต้องไม่เกิดการลื่นไถล (slip) ดังนั้นจึงทำการศึกษา เพื่อ ดูว่าการนำ เซลล์ RAW 246.7 มาตรวจวัดปริมาณว่าสามารถได้ผลตรงตามเงื่อนไขสมการหรือไม่ โดยทำการทดสอบตามขั้นตอนต่างๆดังนี้ วาง QCM ลงในถาดหลุมแล้วเตรียมเซลล์ ให้ได้จำนวน เซลล์ประมาณ 10^6 Cells/ml แบ่งใส่ลงในถาดหลุมปริมาตร 0.5 ml แล้วนำไปใส่ในตู้เลี้ยงเซลล์ที่ อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้บรรยากาศ CO_2 เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาดูการเกาะของเซลล์บน ผิวทองของ QCM และ นำ QCM ไปล้างในสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) แล้วดู ปริมาณของเซลล์ที่เหลืออยู่บนผิวทอง



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.1 การกระจายตัวของเซลล์บนผิวทองของ QCM ก่อน (ก) และหลังล้าง (ข) ด้วย PBS

จากการทดลองเห็นได้ว่า เซลล์ RAW 246.7 มีการเกาะที่ผิวทองของ QCM ได้ไม่ค่อยดี โดยมีการหลุดจากผิวทองหลังจากการล้างผิวด้วย PBS ทั้งนี้การที่เซลล์มีการยึดเกาะกับผิวทองได้ไม่ดี จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ให้ไม่เป็นไปตามทฤษฎีของ Kanazawa นอกจากนี้เซลล์ยังมีลักษณะไม่เป็นของแข็ง และมีลักษณะไม่เป็นฟิล์มบาง (เซลล์ RAW246.7 มีขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตร) ดังนั้นจากลักษณะของเซลล์ที่กล่าวมาแล้วนี้ อาจจะทำให้ไม่สามารถใช้สมการของ Kanazawa และ Sauerbrey อ้างอิงผลการทดลองได้อย่างแน่ชัด อาจมีความจำเป็นที่จะต้องสร้างกราฟเปรียบเทียบจากผลการทดลองของเซลล์ในแต่ละชนิดซึ่งอาจมีรูปแบบการเกาะไม่เหมือนกัน

4.2 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ต่อเซลล์ในแต่ละวันที่ทำการทดลอง

เพื่อศึกษาว่าตัวตรวจวัด QCM มีการตอบสนองในแต่ละวันต่อเซลล์เหมือนกันหรือไม่ การศึกษานี้ใช้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz ทำการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ ที่อุณหภูมิ $37.25 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ทำการทดลอง 3 ครั้ง

ครั้งที่ 1 ใช้เซลล์ความเข้มข้น 6.5×10^5 Cells/ml ใช้ QCM ในการทดลอง 2 ตัว

หมายเหตุ เซลล์ในครั้งนี้นี้อาจมีส่วนมีการเกาะรวมกัน

ครั้งที่ 2 ใช้เซลล์ความเข้มข้น 1.6×10^6 Cells/ml ใช้ QCM ในการทดลอง 3 ตัว

หมายเหตุ เซลล์ในครั้งนี้นี้อาจมีส่วนมีการเกาะรวมกัน

ครั้งที่ 3 ใช้เซลล์ความเข้มข้น 1.5×10^6 Cells/ml ใช้ QCM ในการทดลอง 3 ตัว

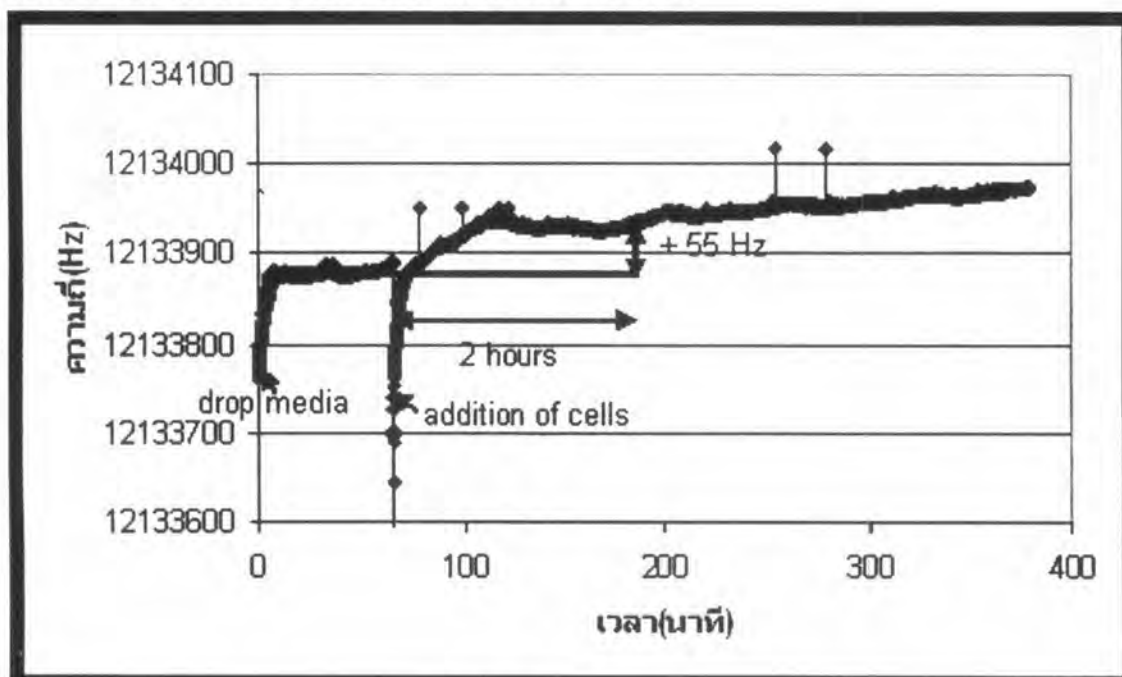
โดย การทดลองในครั้งที่ 2 และ 3 จะมี QCM อีก 1 ตัวเป็นตัวควบคุมการทดลอง ในการทดลองแต่ละครั้งมีขั้นตอนดังนี้

1) นำสารละลายเลี้ยงเซลล์มาอุ่นให้มีอุณหภูมิ 37°C แล้วนำสารละลายมาใส่ลงใน ห้อง (chamber) โดยใส่ห้องละ $150\ \mu\text{l}$ จากนั้นรีบปิดฝาครอบเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง วัดความถี่เรโซแนนซ์ เพื่อดูว่า QCM มีผลตอบสนองต่อสารละลายเลี้ยงเซลล์อย่างไร

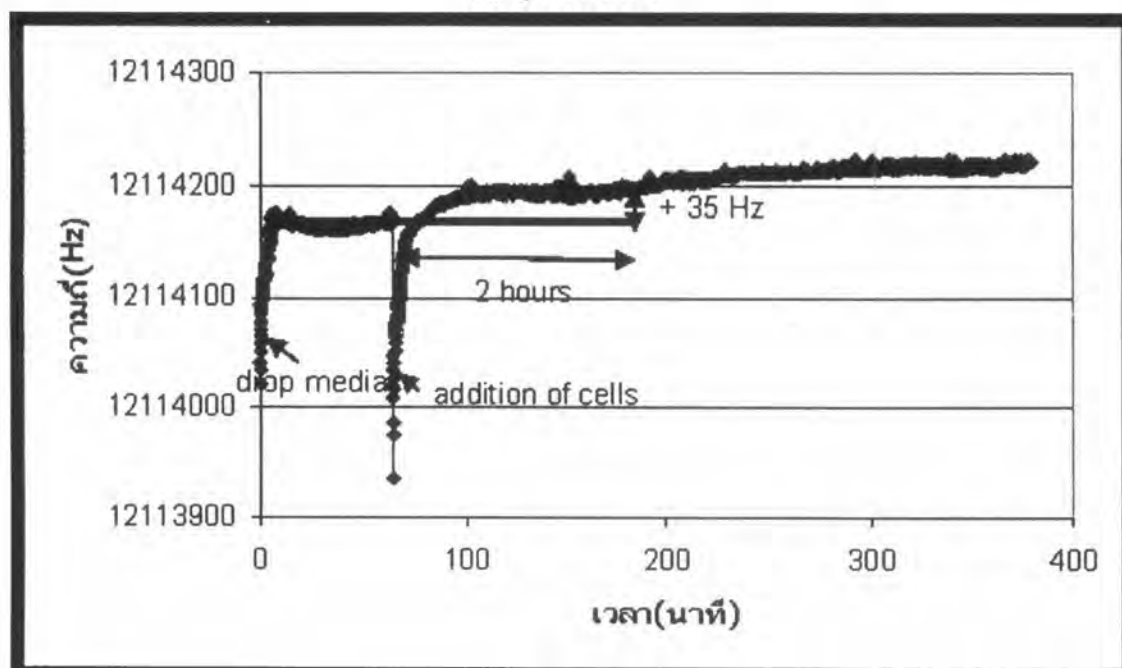
2) เตรียมเซลล์ตามความเข้มข้นในแต่ละครั้ง แล้วนำเซลล์ปริมาตร $300\ \mu\text{l}$ มาใส่ลงใน ห้อง แต่ละห้อง จากนั้นปิดฝาครอบห้อง ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ วัดความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณเซลล์ กับ ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนแปลง โดยใช้เวลาทดลองในขั้นนี้ประมาณ 5 ชั่วโมง สำหรับ QCM ที่ใช้ในการควบคุมการทดลองจะทำเหมือนกัน แต่เปลี่ยนการใส่เซลล์เป็นใส่ สารละลายเลี้ยงเซลล์ปริมาตร $300\ \mu\text{l}$ แทน

3) นำ QCM แต่ละตัว ไปดูผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูว่า QCM แต่ละการทดลองมี ปริมาณเซลล์ที่เกาะผิวเท่าไร

1) ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 6.5×10^5 Cells/ml



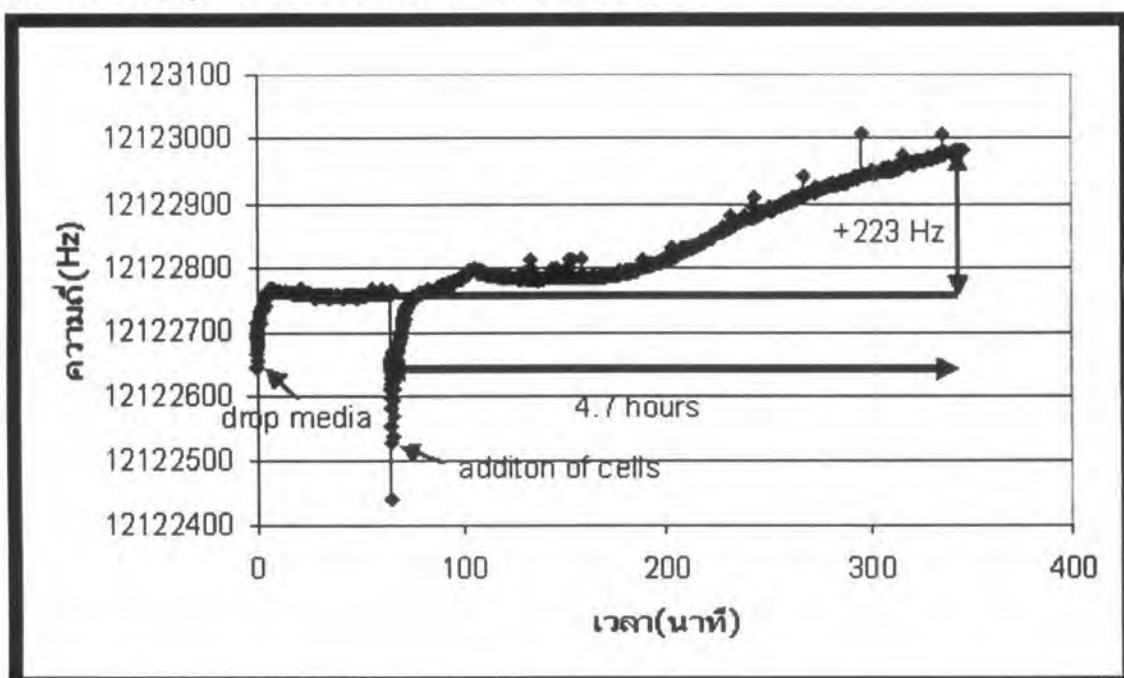
(ก) QCM ตัวแรก



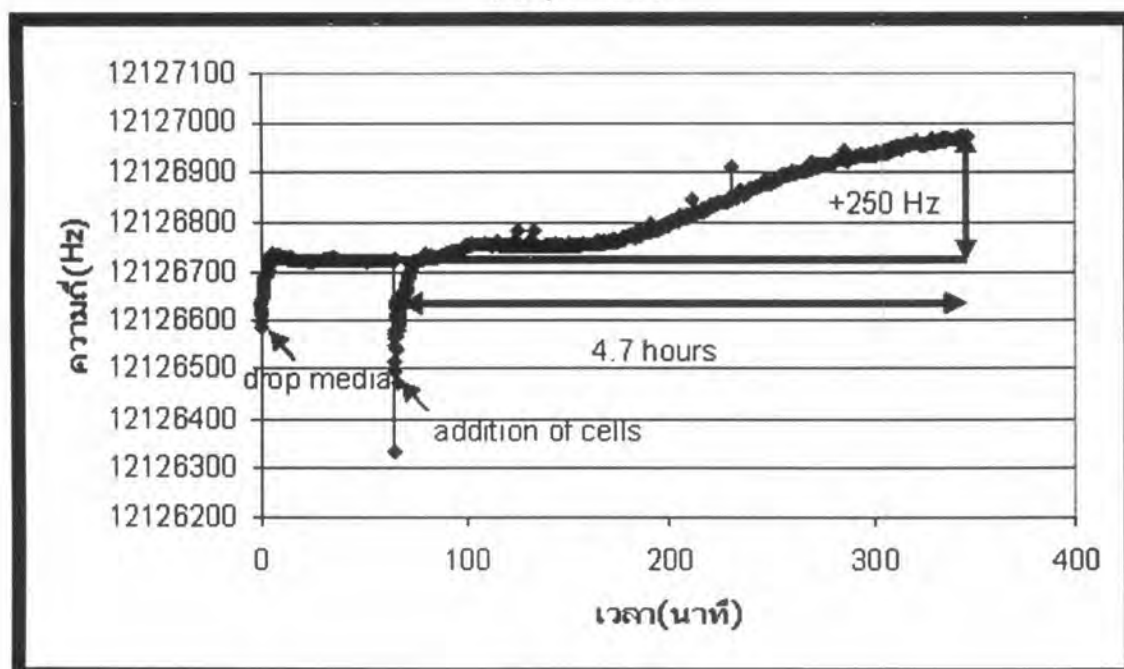
(ข) QCM ตัวที่สอง

รูปที่ 4.2 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 6.5×10^5 Cells/ml

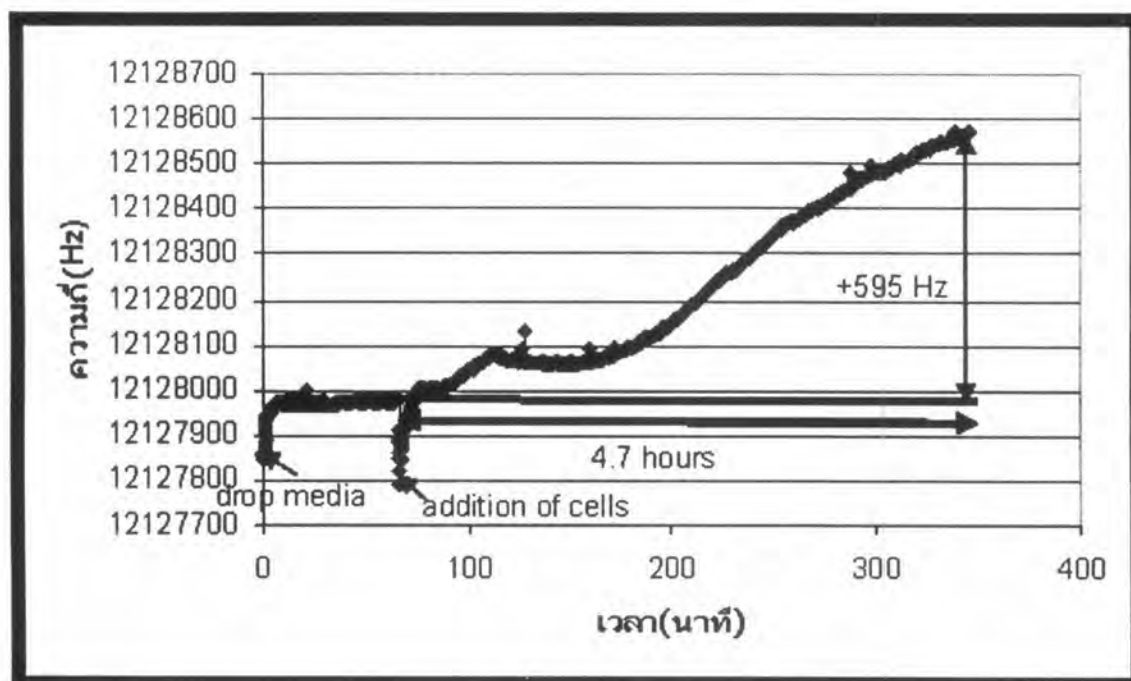
2) ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 1.6×10^6 Cells/ml



(ก) QCM ตัวแรก



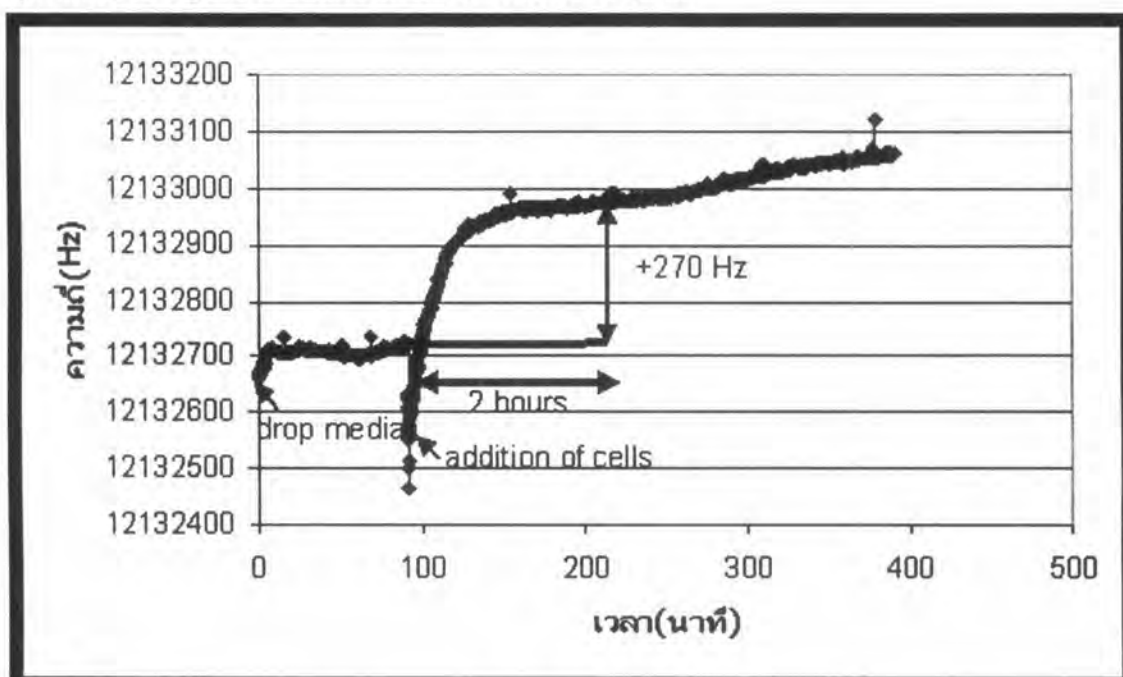
(ข) QCM ตัวที่สอง



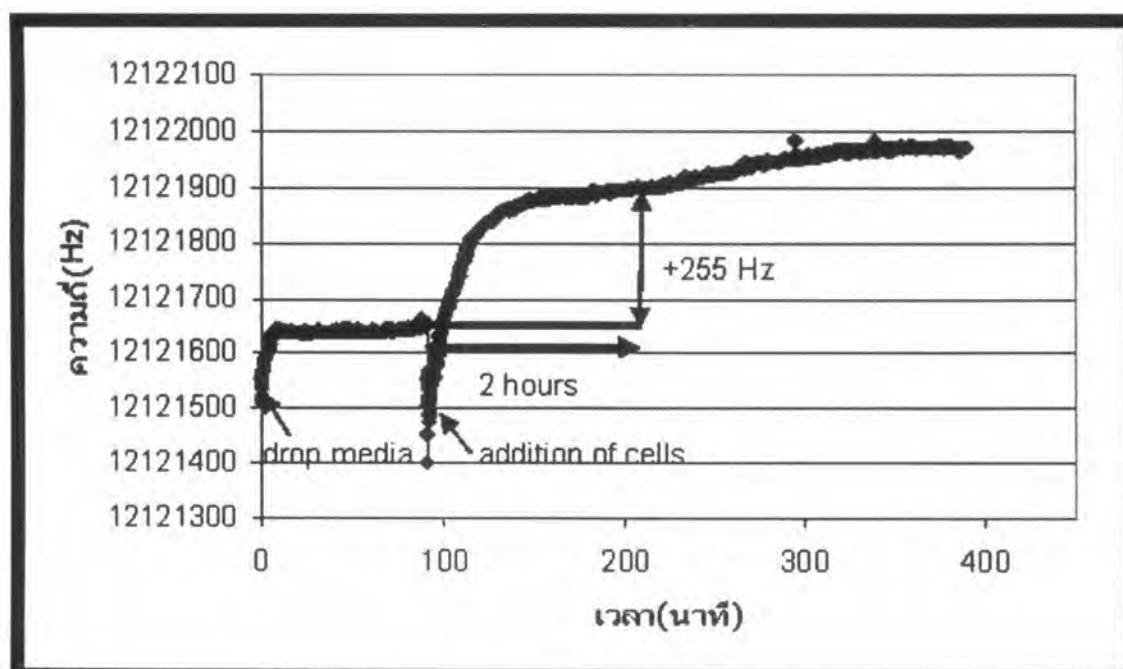
(ค) QCM ตัวที่สาม

รูปที่ 4.3 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 1.6×10^6 Cells/ml

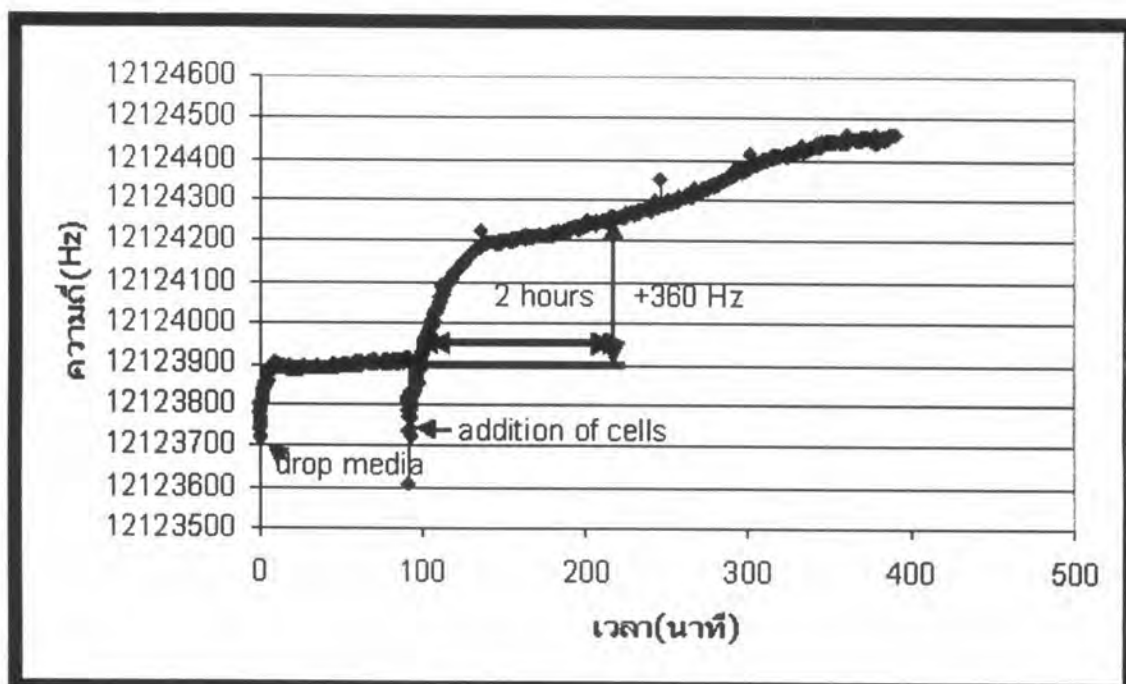
3) ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 1.5×10^6 Cells/ml



(ก) QCM ตัวแรก

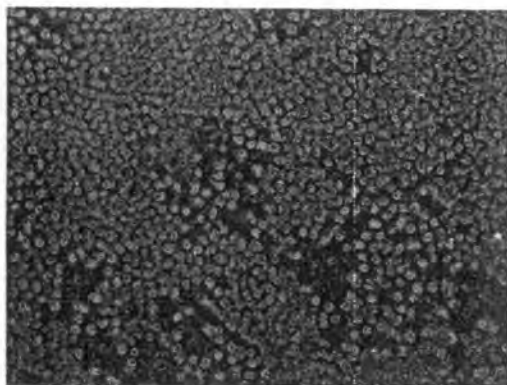


(ข) QCM ตัวที่สอง

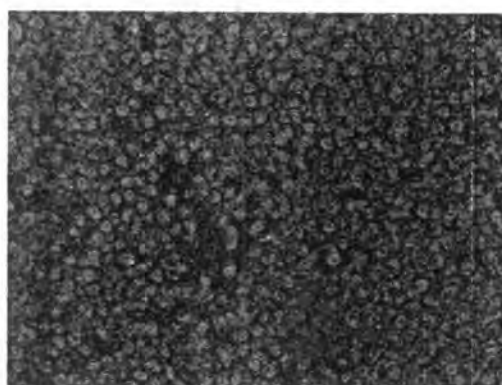


(ค) QCM ตัวที่สาม

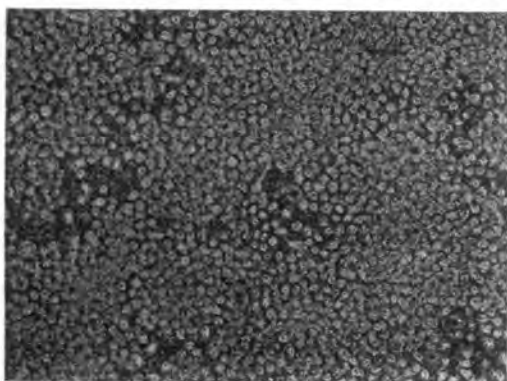
รูปที่ 4.4 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้น 1.5×10^6 Cells/ml



รูป(ก) เซลล์ที่เกาะบนผิวทองของQCM ตัวที่1

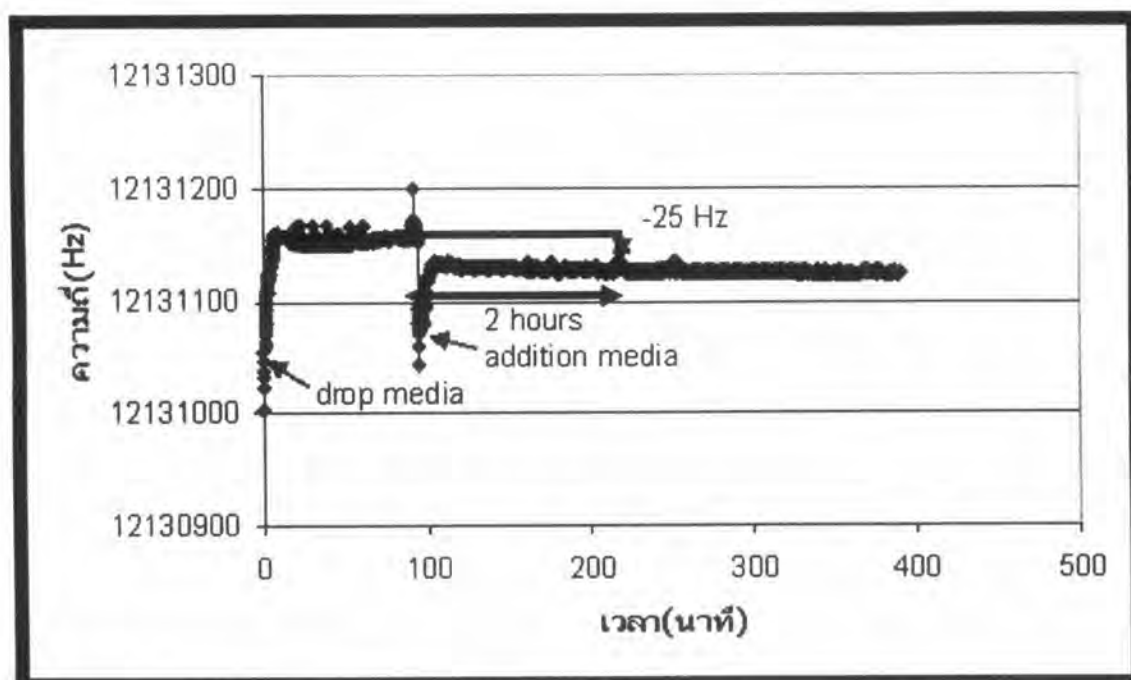


รูป(ข) เซลล์ที่เกาะบนผิวทองของQCMตัวที่2



รูป(ค) เซลล์ที่เกาะบนผิวทองของQCMตัวที่3

รูปที่ 4.5 เซลล์ที่เกาะบนผิวทองของ QCM แต่ละตัวที่ความเข้มข้น 1.5×10^6 Cells/ml



รูปที่ 4.6 ผลตอบของ QCM เมื่อใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์โดยปราศจากเซลล์

ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/ml)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่หลังจากหยุด สารละลายเลี้ยงเซลล์ (Hz)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่หลังจากใส่ เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง (Hz)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่หลังจากใส่ เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป ประมาณ 5 ชั่วโมง (Hz)
6.5×10^5	$-3,060 \pm 14$	45 ± 14.1	74.5 ± 27.6
1.6×10^6	$-2,920 \pm 300$	51.7 ± 31.7	356 ± 270.4
1.5×10^6	$-2,826 \pm 240$	295 ± 56.8	413 ± 127.4

ตารางที่ 4.1 สรุปการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังจากหยุดสารละลายเลี้ยงเซลล์หลังจากใส่เซลล์ลงไปในห้อง 2 ชั่วโมง และ 5 ชั่วโมง

จากผลการทดลองที่ผ่านมาเห็นได้ว่าเมื่อหยดสารละลายเชิงเซลล์ลงไปในห้อง (chamber) จะมีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ลดลงทันที จากนั้นความถี่จะเพิ่มขึ้นประมาณ 50-200 Hz และเข้าสู่จุดสมดุลโดยใช้เวลาไม่เกิน 10 นาที โดยมีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในช่วง 2,610-3,230 Hz เมื่อเข้าสู่ภาวะสมดุล จากตารางที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในน้ำ ที่อุณหภูมิ 37 °C ได้เท่ากับ -2,237 Hz สาเหตุของการเปลี่ยนความถี่เรโซแนนซ์ที่ไม่เท่ากันนี้เกิดจากความขรุขระที่ผิวของ QCM ทำให้โมเลกุลของเหลวเข้าไปแทรกอยู่บริเวณที่ว่างนี้ [21] หลังจากนั้นเมื่อใส่เซลล์ลงไปในห้องจะเกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในลักษณะที่ลดลง และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกโดยในช่วงนี้จะกินเวลาไม่เกิน 10 นาที และหลังจากนั้นจะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่น้อยลงเนื่องจากการเกาะของเซลล์ พบว่าการทดลองคนละครั้งมีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่เกิดจากการใส่เซลล์ลงไปนี้มีค่าไม่เท่ากัน และมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงไม่เหมือนกัน แม้ว่าจะใช้เซลล์ที่มีปริมาณใกล้เคียงกัน สำหรับในการทดลองครั้งเดียวกันจะมีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เป็นไปในแนวโน้มเดียวกัน แม้บางการทดลองอาจมีค่าแตกต่างกันบ้าง โดยสังเกตได้จากการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3 โดยเปรียบเทียบกับ QCM ที่ใส่เพียงสารละลายเชิงเซลล์เพียงอย่างเดียว

การทดลองนี้สามารถแบ่งหัวข้อต่างๆในการวิเคราะห์ได้ดังนี้

1.การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในเชิงบวกซึ่งมีค่าตรงข้ามกับทฤษฎีของทั้ง Kanazawa และ Sauerbrey

ในรายงานหลายฉบับ [22], [23], [24] พบว่ามีการเกิดการเปลี่ยนความถี่เรโซแนนซ์ไปในทางบวก แม้มีการเคลือบผิวด้วยพลาสติกชนิดโพลีสไตรีนเพื่อช่วยให้เซลล์เกาะได้ดีขึ้น สำหรับสาเหตุที่เกิดการเปลี่ยนค่าความถี่เป็นบวกนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะการเกาะของเซลล์ หรือ อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงค่าโมดูลัส (stiffness) ของเซลล์ สำหรับในวิทยานิพนธ์นี้เสนอข้อสันนิษฐานการเพิ่มขึ้นของความถี่เรโซแนนซ์ เนื่องจากการเกาะของผิวทองเป็นดังนี้

1.การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ไม่เป็นไปตามสมการของ Sauerby และ Kanazawa

จากการทดลองแรกจะเห็นว่าเซลล์ จะมีลักษณะกลม และยึดติดกับผิวของ QCM ได้ไม่ค่อยดี การที่เซลล์มีลักษณะการเกาะที่ไม่แน่น และอาจเกิดการลื่นไถล (slip) ขึ้นเมื่อ QCM เกิดการสั่นตามรายงานของ Joachim Wegner [25] นอกจากนี้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์สูงขึ้นจะมีการเคลื่อนที่ของคลื่นเลื่อนไปได้สั้นลงเรื่อยๆ (QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 5 MHz คลื่นเลื่อนสามารถแพร่ไปในน้ำได้ $0.25 \mu m$ ในขณะที่ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz คลื่นเลื่อนสามารถแพร่ไปในน้ำได้ $0.16 \mu m$) ดังนั้นอาจทำให้การตอบสนองของ QCM ต่อ ปริมาณเซลล์ได้น้อยลงจากรายงาน 2 ฉบับ [26],[23] ที่ใช้เซลล์ชนิดเดียวกัน โดยฉบับแรก David และ คณะ[26] รายงาน

ผลการใช้ QCM ความถี่เรโซแนนซ์ 5 MHz ว่ามีการลดลงของความถี่เรโซแนนซ์ตั้งแต่ 280-460 Hz เมื่อใช้เซลล์ที่มีความเข้มข้น 4×10^5 Cells/ml ในขณะที่ Marxer และ คณะ [23] พบว่าใช้เซลล์ความเข้มข้น 1.02×10^5 Cells/ml โดยเซลล์มีการครอบคลุมผิวทอง 60% โดยความถี่เรโซแนนซ์ลดลง 30 Hz ดังนั้นหากพิจารณาเซลล์ครอบคลุมผิว 100% จะให้ความถี่ลดลงไม่เกิน 100 Hz แต่หากพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM ต่อปริมาณเซลล์โดยใช้สมการ Kanazawa จะพบว่า QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 10 MHz จะมีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ลดลงมากกว่า QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 5 MHz 2.82 เท่า ซึ่งข้อสันนิษฐานเหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในแนวโน้มน้อยลงไม่มากตามที่ควรเป็น

2. การเพิ่มความถี่เรโซแนนซ์เนื่องจากแรงกดที่ผิวของ QCM

จากการทดลองเบื้องต้นที่ผ่านมาพบว่า เมื่อไม่ทำการปิดฝาครอบ QCM จะทำให้ QCM เกิดการสั่นเป็นคาบตามการระเหยของน้ำเนื่องจากการเกิดคลื่นตามยาวที่ผิวน้ำ และตกกระทบที่ผิวของ QCM คลื่นที่สะท้อนกลับมายังผิวของ QCM นี้จะทำให้แรงกดที่ผิวของ QCM มีค่าเปลี่ยนแปลง โดยความถี่เรโซแนนซ์จะมีการเปลี่ยนแปลงตามสมการที่ 4.1 [21] ดังนี้

$$\Delta f = A(p_0 - p)^2 \quad (4.1)$$

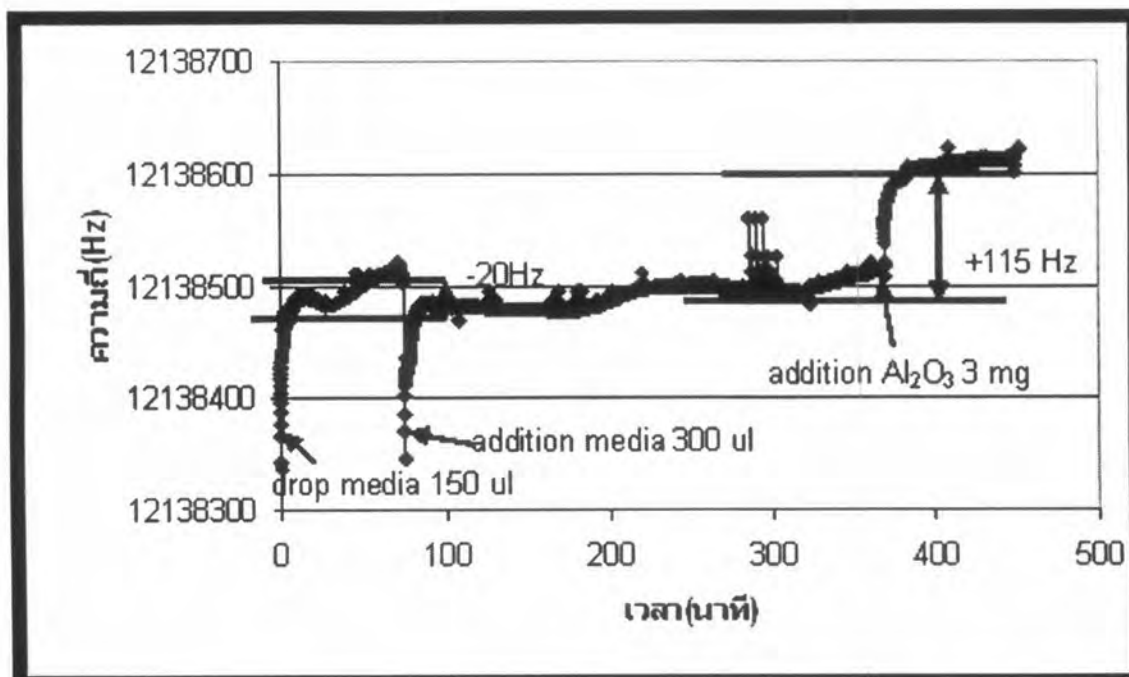
เมื่อ Δf คือ ความถี่ที่เปลี่ยนแปลงเมื่อความดันเพิ่ม

A คือ ค่าคงที่

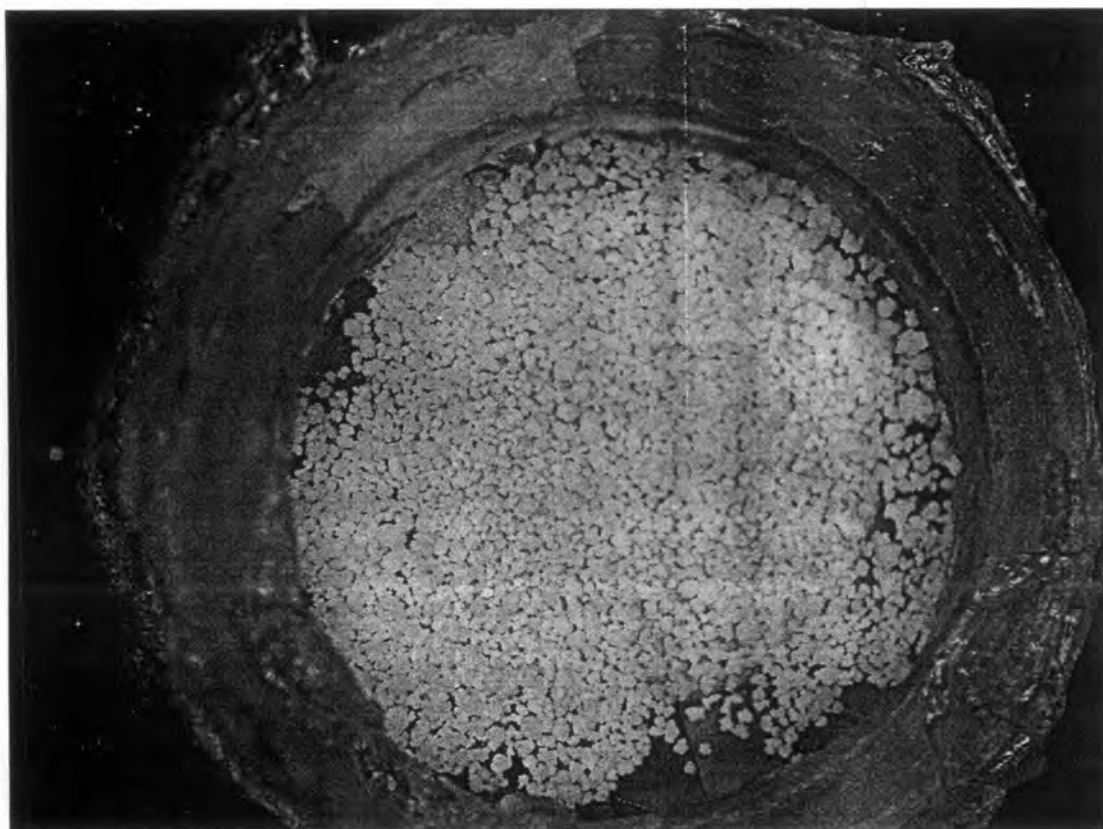
p_0 คือ แรงดันดั้งเดิม

p คือ ค่าแรงดันที่เพิ่มขึ้น

สำหรับการทดลองที่บ่งชี้ได้คือได้ทำการทดลองใส่ผงอะลูมินาลงใน chamber แทนเซลล์โดยจากการใส่ผงอะลูมินา 3 mg ได้ผลการทดลองดังรูป



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เป็นบวก เมื่อใส่ผงอะลูมินาลงใน chamber



รูปที่ 4.8 ลักษณะการกระจายตัวของผงอะลูมินาบนผิวของ QCM

2. การเปลี่ยนแปลงความถี่ที่ไม่เท่ากันแม้ว่าจะใช้จำนวนเซลล์ที่ไม่ต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงความถี่ไม่เท่ากันในแต่ละวันเกิดจากคุณลักษณะที่ไม่เหมือน โดยลักษณะการเกาะที่ต่างกันส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่ต่างกัน อ้างอิงจากการทดลองของ David [26] พบว่าแม้จะใช้เซลล์ชนิดเดียวกัน ความเข้มข้นเท่ากัน แต่มีการเปลี่ยนแปลงค่าความถี่เรโซแนนซ์อยู่ระหว่าง 280 ถึง 460 Hz

4.3 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM กับ ปริมาณเซลล์

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงการหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ โดยในการทดลองนี้ใช้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz มีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่อุณหภูมิ 37.25 ± 0.1 °C ทำการทดลอง 4 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งมีการแปรค่าความเข้มข้นของเซลล์ 3 ค่า โดยในแต่ละครั้งจะมีใช้ QCM ที่มีแค่สารละลายเลี้ยงเซลล์เป็นตัวควบคุมการทดลอง

การทดลองครั้งที่ 1

QCM	ปริมาณเซลล์(Cells/ml)
1	1.2×10^6
2	0.4×10^6
3	0.2×10^6

การทดลองครั้งที่ 2

QCM	ปริมาณเซลล์(Cells/ml)
1	1×10^6
2	0.4×10^6
3	0.2×10^6

การทดลองครั้งที่ 3

QCM	ปริมาณเซลล์(Cells/ml)
1	1×10^6
2	0.4×10^6
3	0.2×10^6

การทดลองครั้งที่ 4

QCM	ปริมาณเซลล์(Cells/ml)
1	0.9×10^6
2	0.4×10^6
3	0.2×10^6

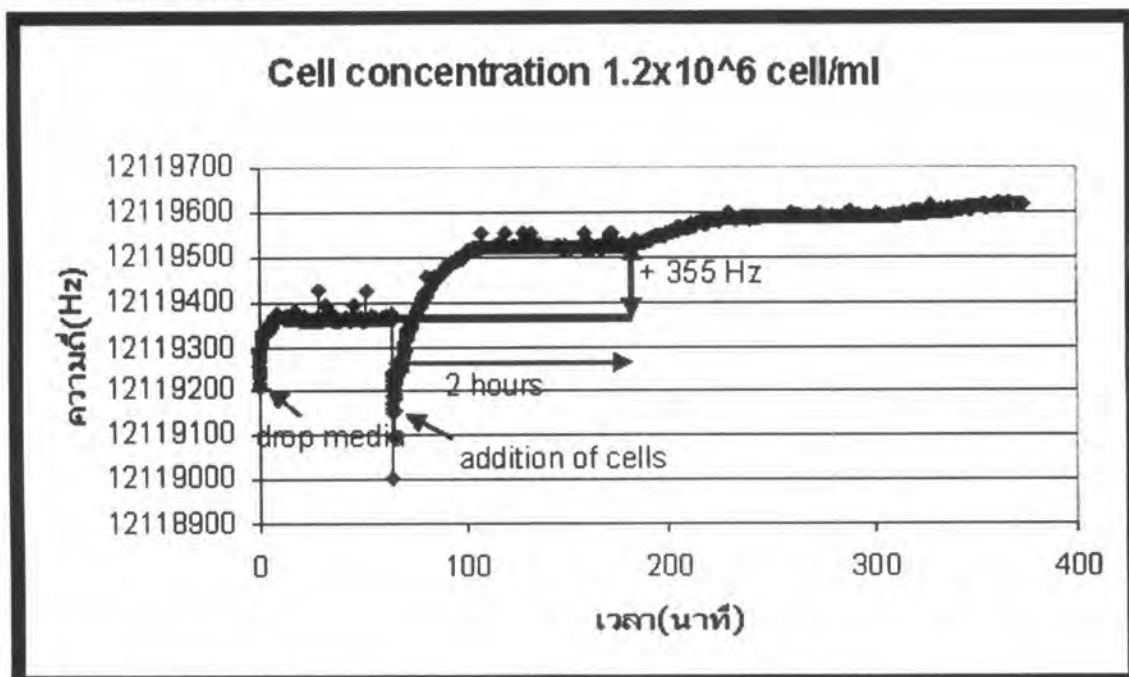
เนื่องจากการเตรียมเซลล์เริ่มแรก อาจมีความผิดพลาดไปเล็กน้อย แต่จากการทดลองในหลายครั้ง พบว่าการใช้เซลล์ที่มีความเข้มข้นที่มากกว่า 0.8×10^6 Cells/ml ทำให้เซลล์มีการกระจายทั่วผิวของ QCM มากกว่า 90 % ดังนั้นจึงเลือกเซลล์ตั้งต้นประมาณ 1×10^6 Cells/ml ขึ้นตอนในการทดลองต่างๆ เป็นดังนี้

1) นำสารละลายเลี้ยงเซลล์มาอุ่นให้มียูณหภูมิ 37°C แล้วนำมาใส่ลงในห้อง (chamber) โดยใส่ห้องละ $150\ \mu\text{l}$ จากนั้นรีบปิดฝาครอบเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง วัดความถี่เรโซแนนซ์เพื่อดูว่า QCM มีผลตอบสนองต่อสารละลายเลี้ยงเซลล์อย่างไร

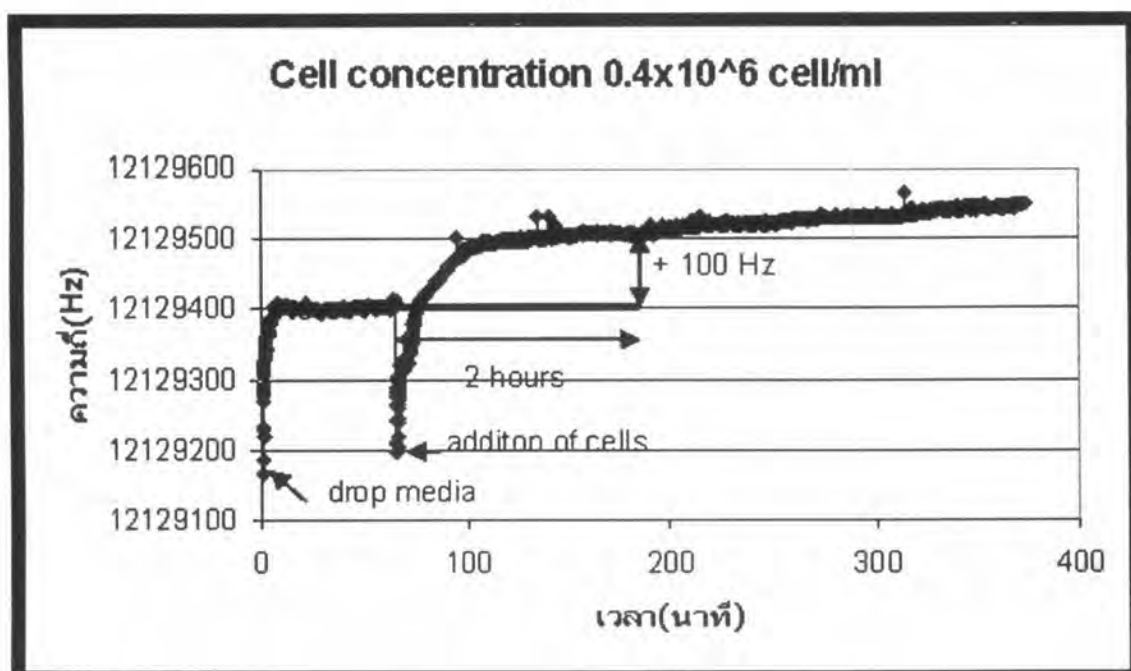
2) เตรียมเซลล์ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 1×10^6 Cells/ml ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml และ 0.2×10^6 Cells/ml ตามลำดับ นำเซลล์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร $300\ \mu\text{l}$ มาใส่ลงในห้องแต่ละห้อง จากนั้นปิดฝาครอบห้องให้สนิท เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลายเลี้ยงเซลล์ วัดความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณเซลล์ กับ ความถี่เรโซแนนซ์ที่เปลี่ยนแปลง โดยใช้เวลาทดลองในขั้นนี้ประมาณ 5 ชั่วโมง สำหรับ QCM ที่ใช้ในการควบคุมการทดลองจะทำเหมือนกัน แต่เปลี่ยนการใส่เซลล์เป็นใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์ปริมาตร $300\ \mu\text{l}$ แทน จากนั้นนำ QCM แต่ละตัวไปดูปริมาณเซลล์ที่เกาะผิว QCM ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ในการทดลองครั้งสุดท้ายนั้นหลังจากเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง จะใช้ micropipet ฉีดฟันทบนผิว QCM หลายรอบเพื่อให้เซลล์หลุดจากผิวของ QCM แล้วดูการลงเกาะที่ผิวของเซลล์อีกครั้ง

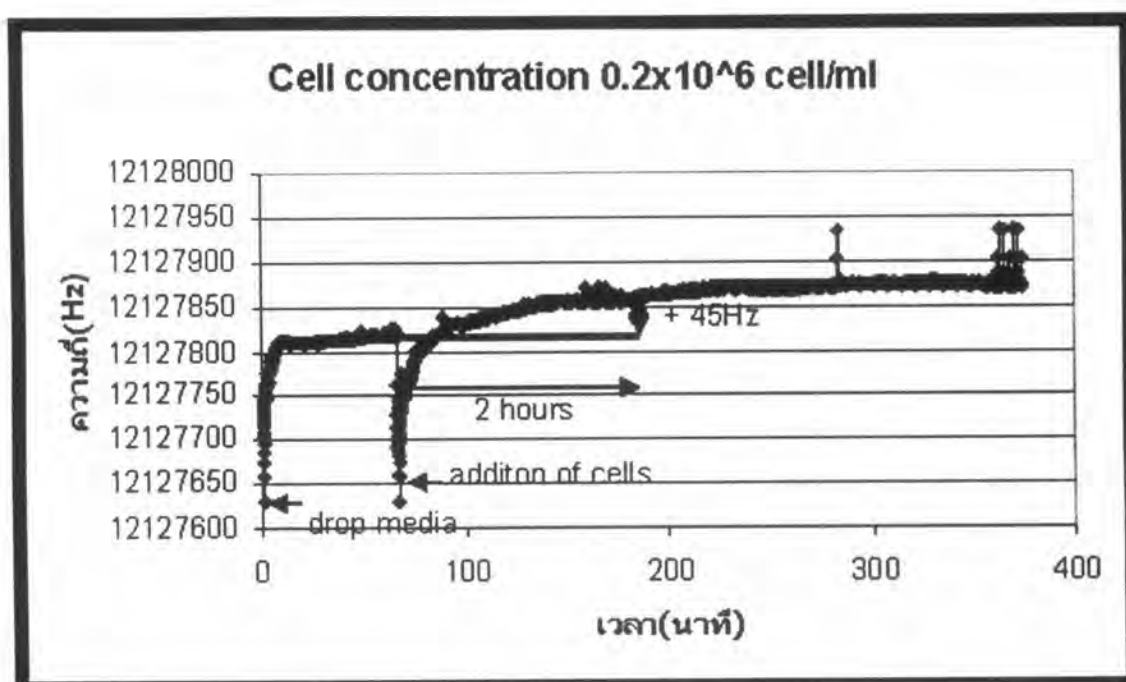
ผลการทดลองครั้งที่ 1



(ก)



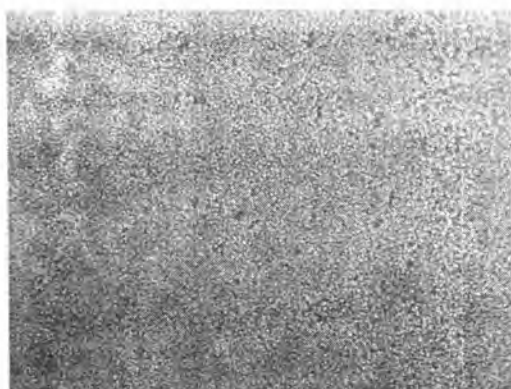
(ข)



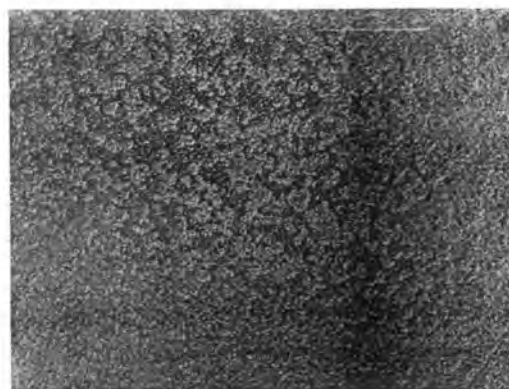
รูปที่ 4.9 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้นต่างๆ (ก) เซลล์ความเข้มข้น 1.2×10^6 Cells/ml (ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/ml)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากหยดสารละลายเลี้ยง เซลล์(Hz)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากใส่เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง (Hz)
1.2×10^6	-3,005	+355
0.4×10^6	-3,000	+100
0.2×10^6	-2,870	+45

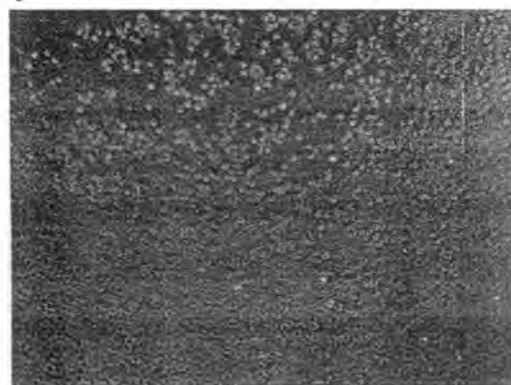
ตารางที่ 4.2 สรุปการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังจากหยดสารละลายเลี้ยงเซลล์ หลังจากใส่เซลล์ลงไปในห้อง 2 ชั่วโมง



รูป(ก) เซลล์ความเข้มข้น 1.2×10^6 Cells/ml



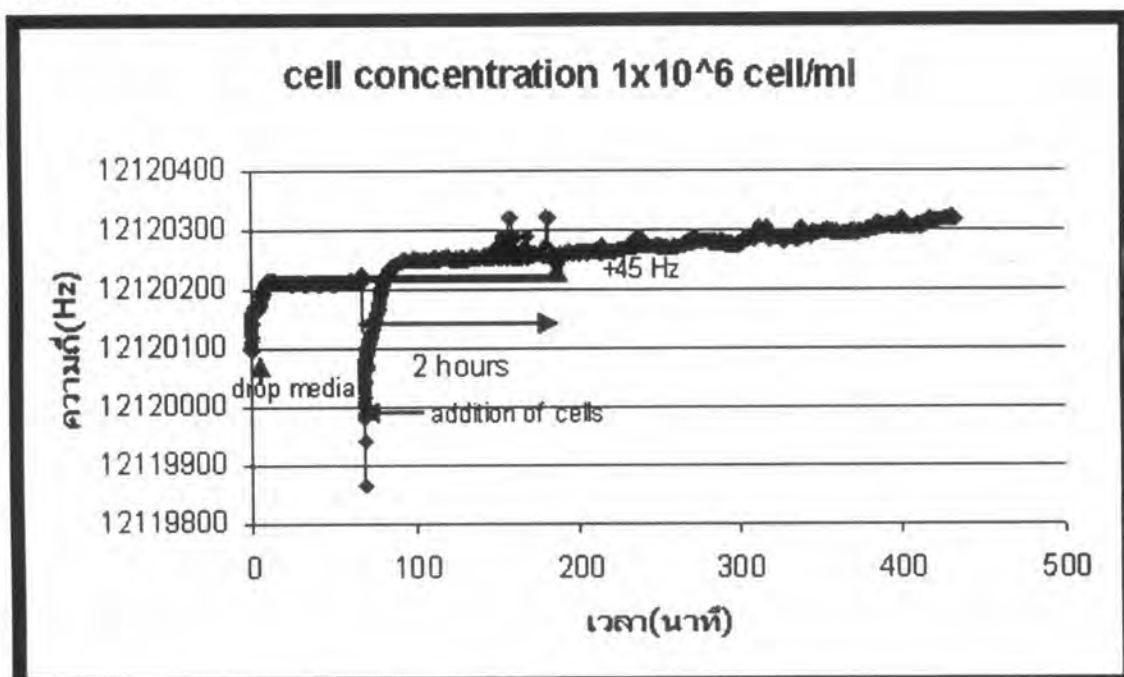
รูป (ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml



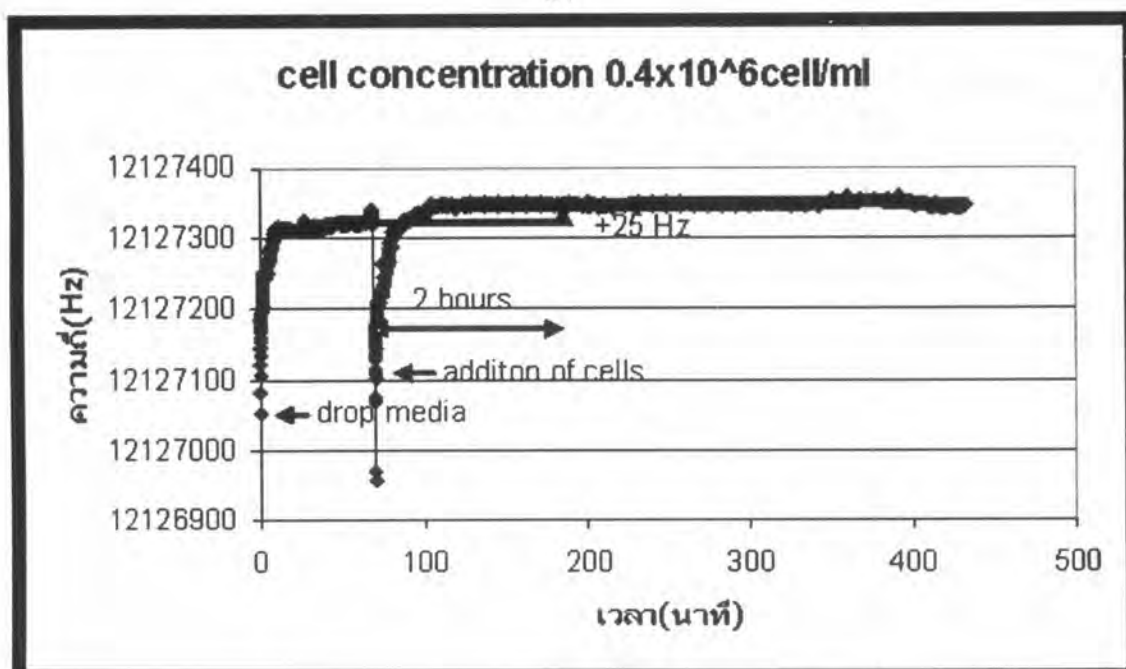
รูป (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

รูปที่ 4.10 ปริมาณเซลล์ที่เกาะบนผิวทองของ QCM เมื่อแปรค่าความเข้มข้นเซลล์ต่างๆ

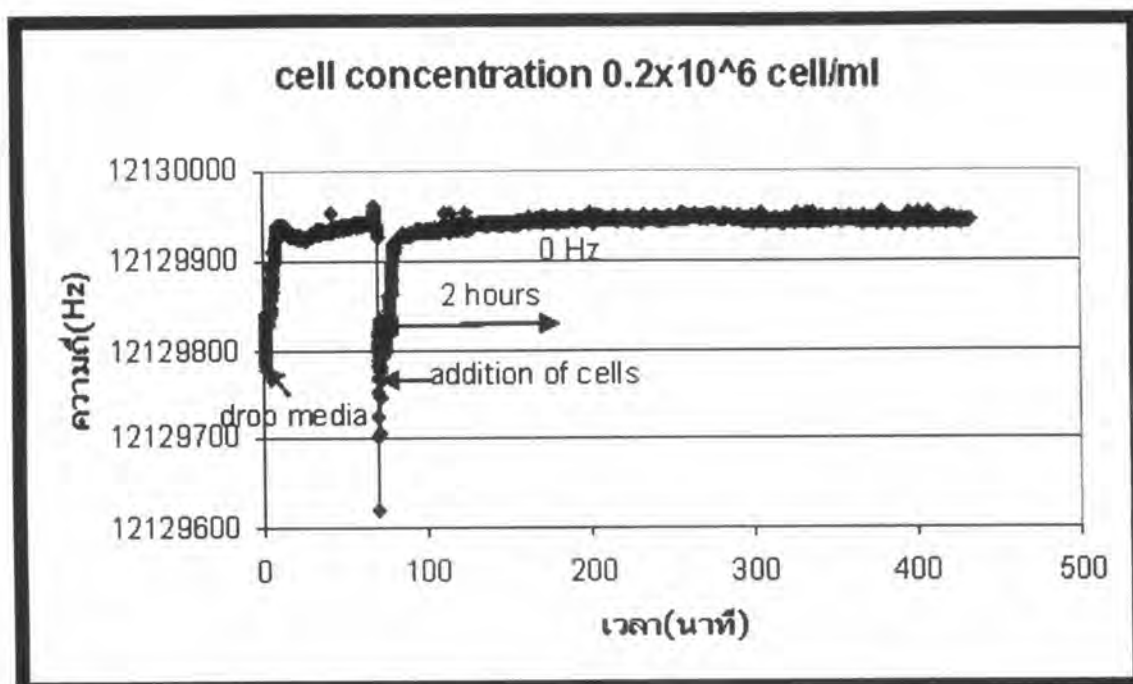
ผลการทดลองครั้งที่ 2



(ก)



(ข)



(ค)

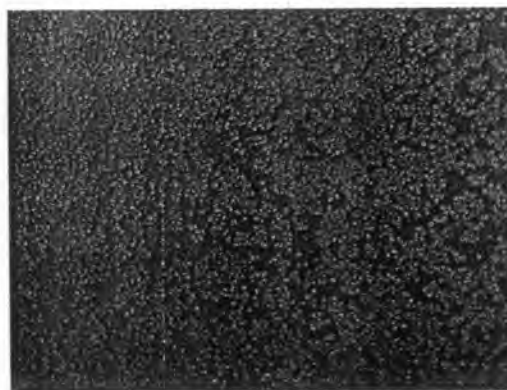
รูปที่ 4.11 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้นต่างๆ (ก) เซลล์ความเข้มข้น 1×10^6 Cells/ml
(ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/ml)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากหยดสารละลายเลี้ยง เซลล์ (Hz)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากใส่เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง (Hz)
1×10^6	-2,920	+45
0.4×10^6	-3,010	+25
0.2×10^6	-2,750	+0

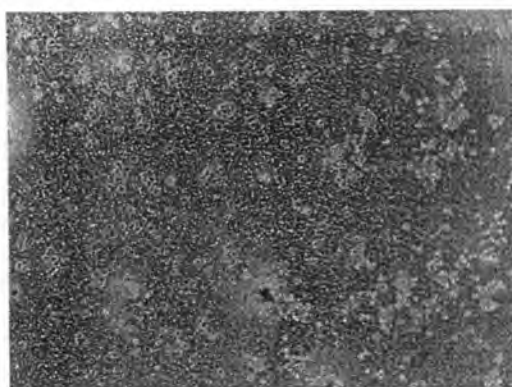
ตารางที่ 4.3 สรุปการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังจากหยดสารละลายเลี้ยงเซลล์
หลังจากใส่เซลล์ลงไปในห้อง 2 ชั่วโมง



รูป(ก) เซลล์ความเข้มข้น 1×10^6 Cells/ml



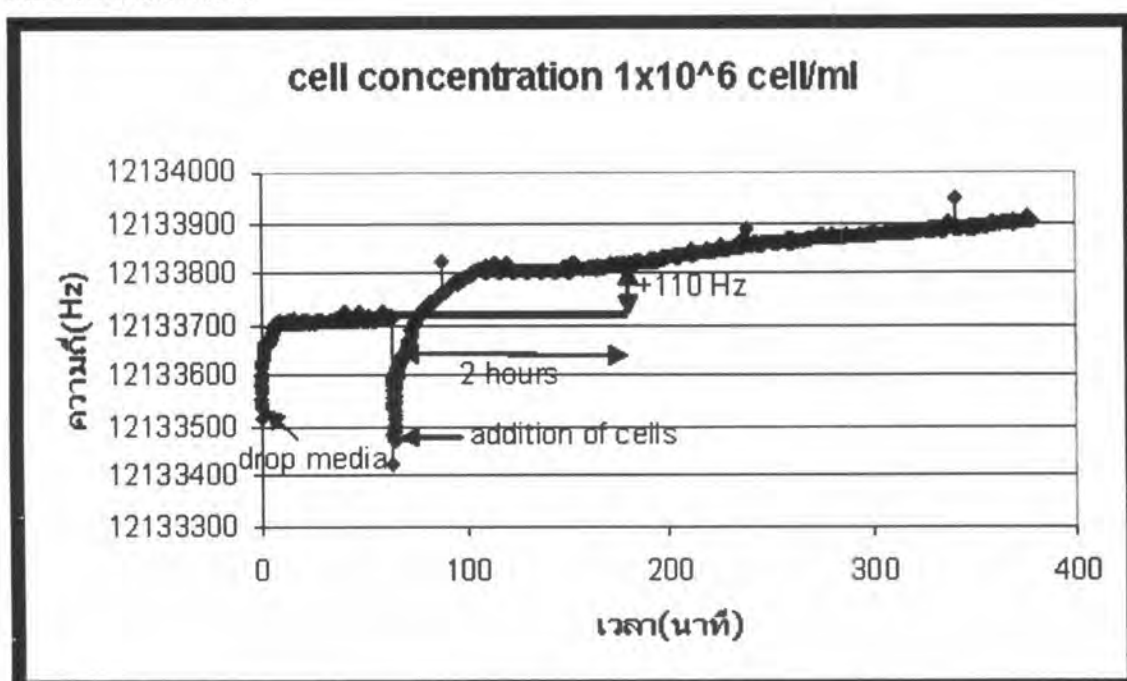
รูป (ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml



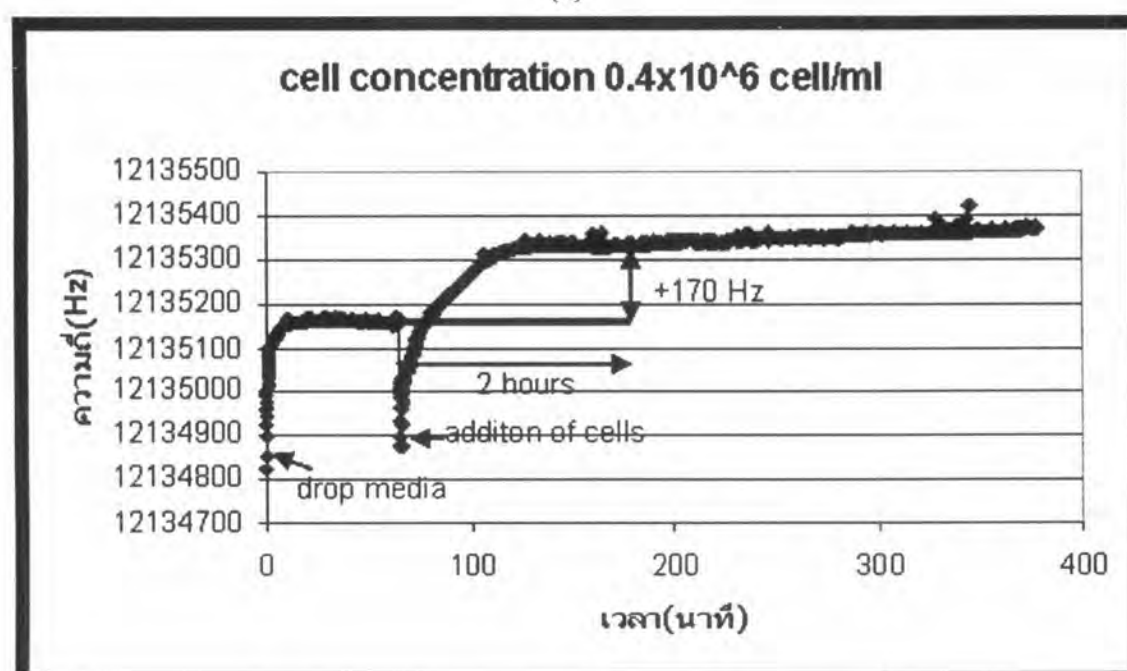
รูป (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

รูปที่ 4.12 ปริมาณ เซลล์ ที่เกาะบนผิวทองของ QCM เมื่อแปรค่าความเข้มข้นเซลล์ต่างๆ

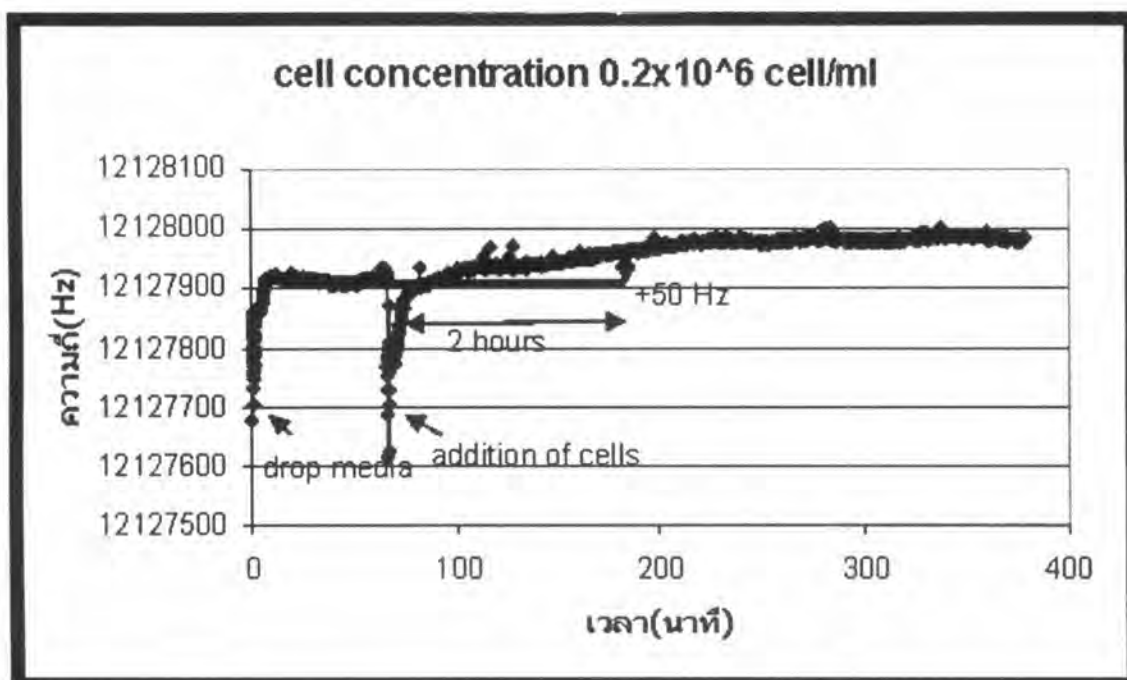
ผลการทดลองครั้งที่ 3



(ก)



(ข)



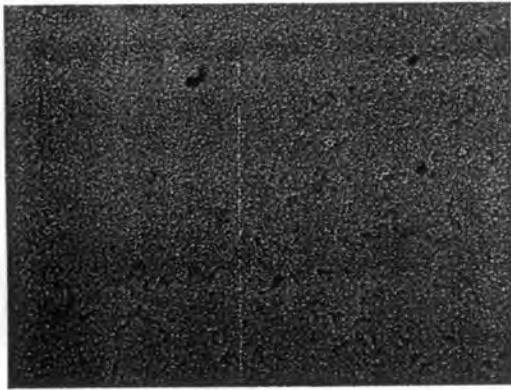
(ค)

รูปที่ 4.13 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้นต่างๆ (ก) เซลล์ความเข้มข้น 1×10^6 Cells/ml

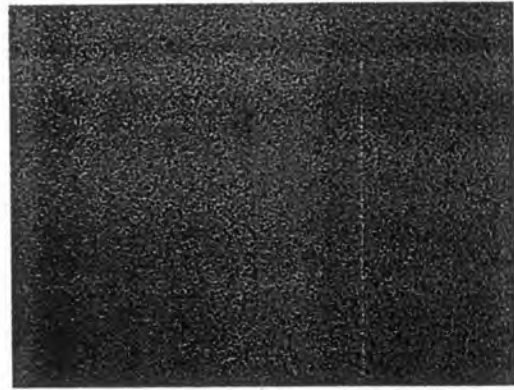
(ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/ml)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากหยดสารละลายเลี้ยง เซลล์(Hz)	การเปลี่ยนแปลงความถี่ หลังจากใส่เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง (Hz)
1×10^6	-3,347	+110
0.4×10^6	-3,625	+170
0.2×10^6	-2,785	+50

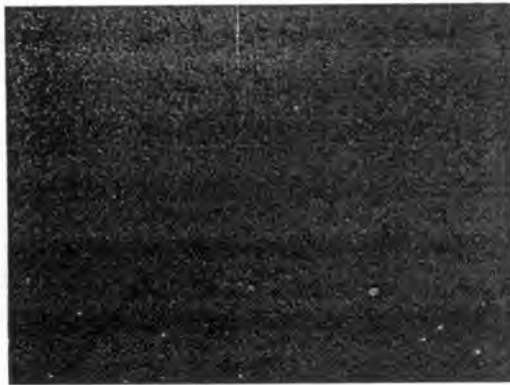
ตารางที่ 4.4 สรุปการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังจากหยดสารละลายเลี้ยงเซลล์
หลังจากใส่เซลล์ลงไปในห้อง 2 ชั่วโมง



รูป(ก) เซลล์ความเข้มข้น 1×10^6 Cells/ml



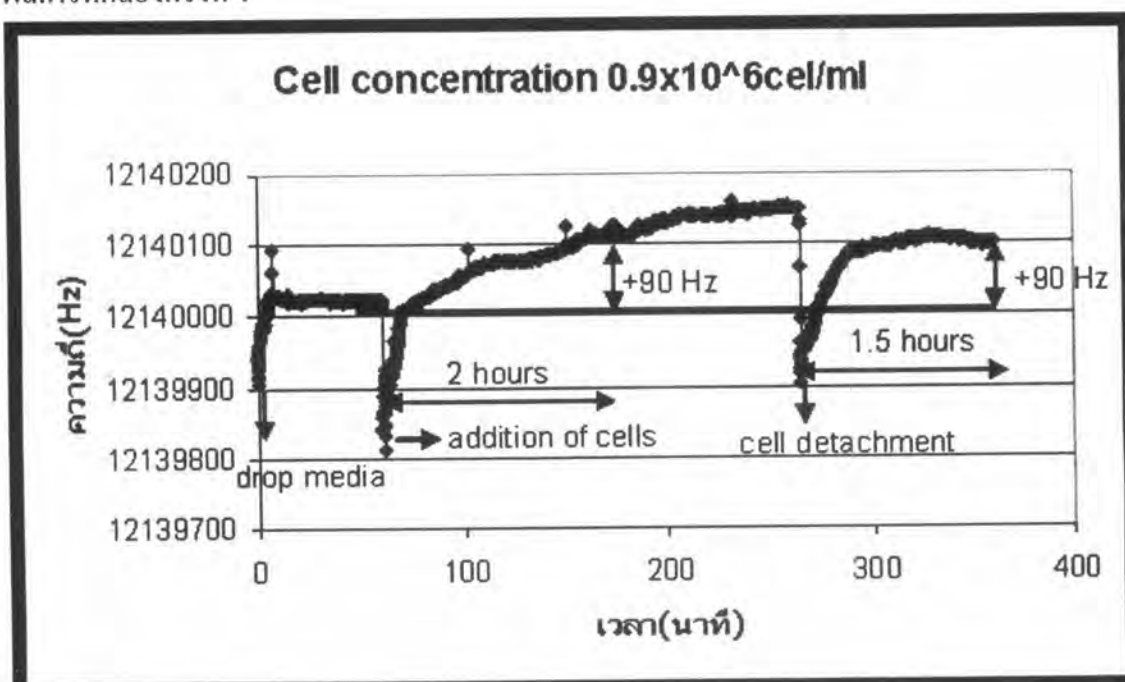
รูป(ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml



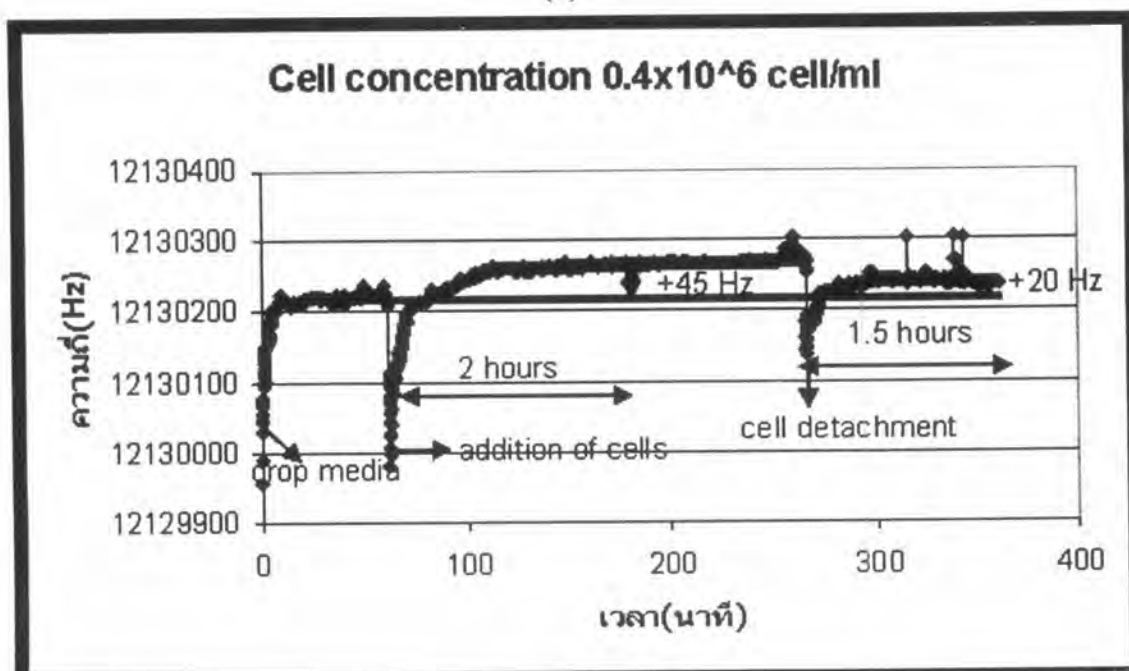
รูป(ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

รูปที่ 4.14 ปริมาณเซลล์ที่เกาะบนผิวทองของ QCM เมื่อแปรค่าความเข้มข้นเซลล์ต่างๆ

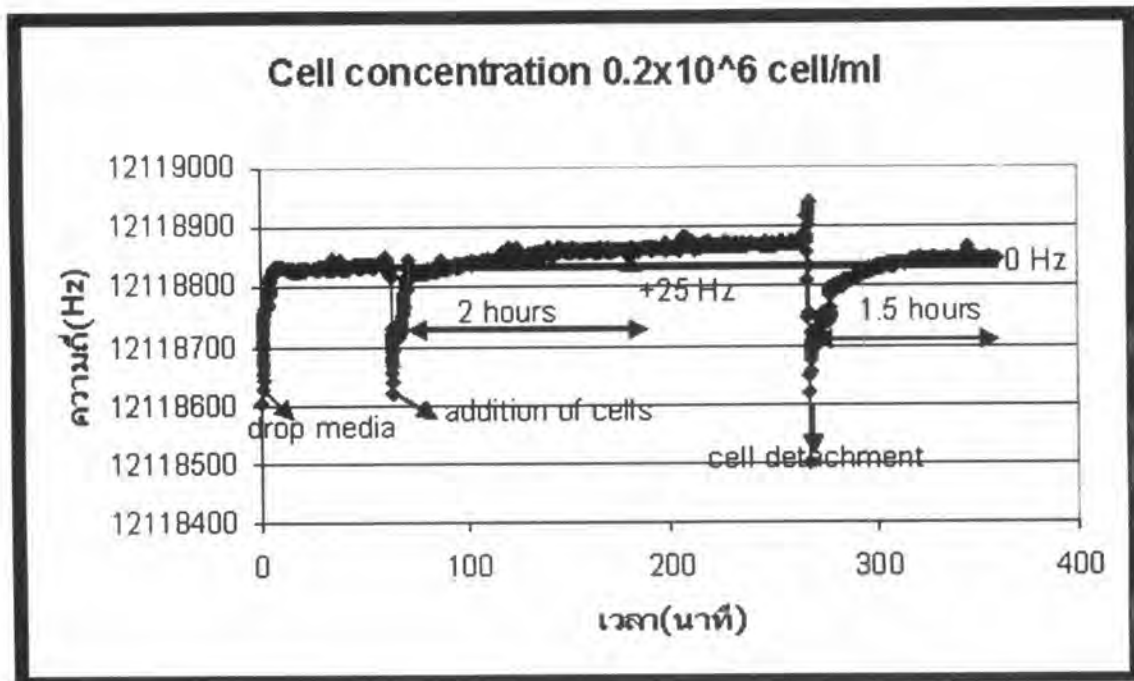
ผลการทดลองครั้งที่ 4



(ก)



(ข)

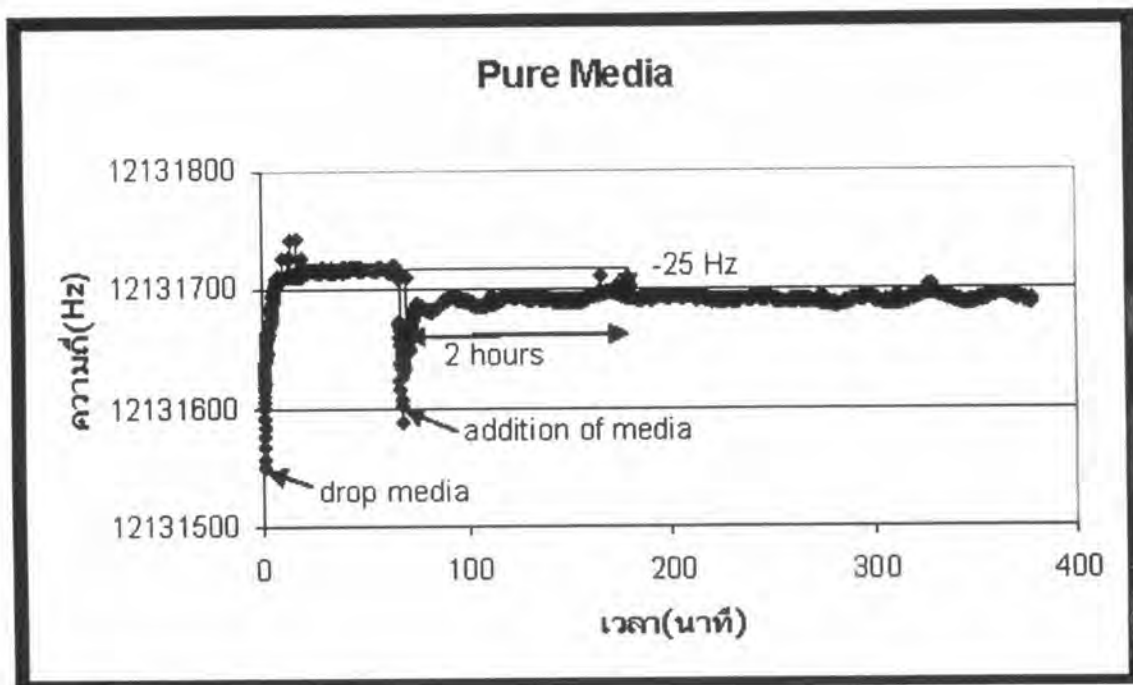


(ก)

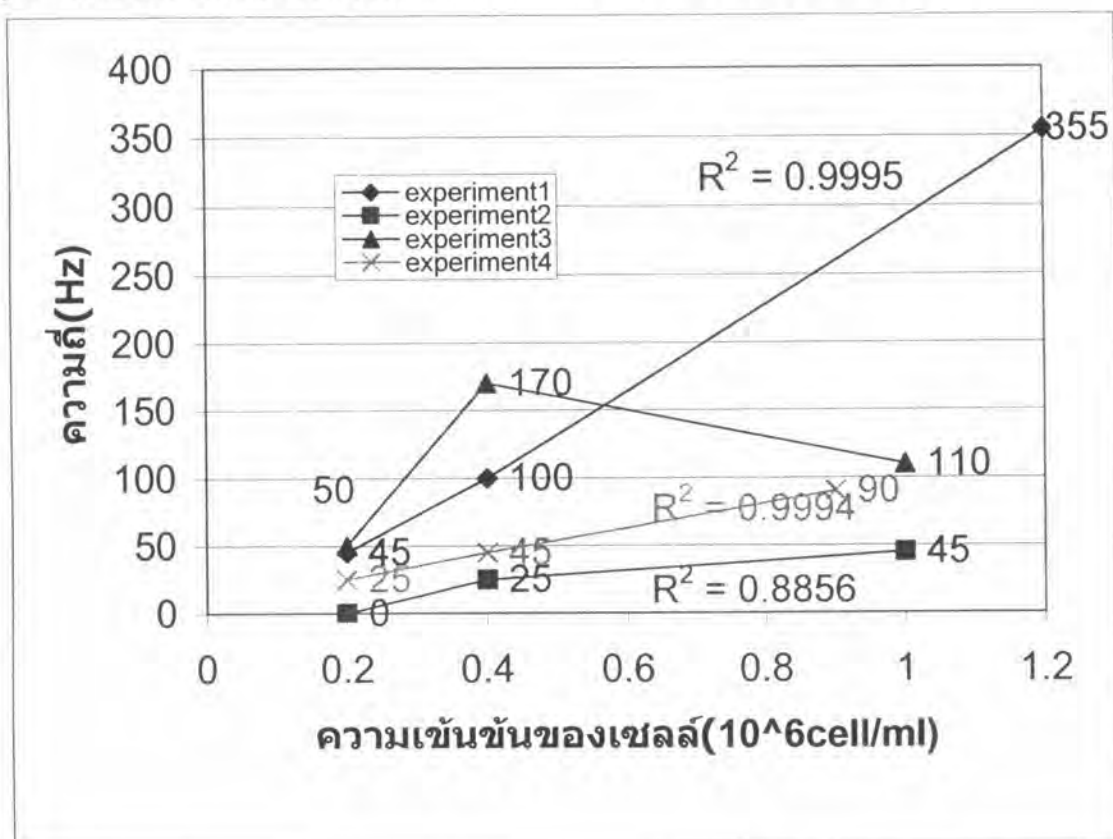
รูปที่ 4.15 ผลตอบของ QCM ที่เซลล์ความเข้มข้นต่างๆ (ก) เซลล์ความเข้มข้น 0.9×10^6 Cells/ml
(ข) เซลล์ความเข้มข้น 0.4×10^6 Cells/ml (ค) เซลล์ความเข้มข้น 0.2×10^6 Cells/ml

ความเข้มข้นของเซลล์ (cells/ml)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่หลังจากหยด สารละลายเลี้ยงเซลล์ (Hz)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่หลังจากใส่ เซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง (Hz)	การเปลี่ยนแปลง ความถี่ที่เวลา 1.5 ชั่วโมงหลังจากใช้ micropipet ดูดขึ้นลง จนเซลล์หลุดจากผิว (Hz)
1.2×10^6	-3,395	+90	+90
0.4×10^6	-3,095	+45	+20
0.2×10^6	-2,995	+25	+0

ตารางที่ 4.5 สรุปการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM หลังจากหยดสารละลายเลี้ยงเซลล์
หลังจากใส่เซลล์ลงไปในห้อง 2 ชั่วโมง และ หลังจากหลังจากใช้ micropipet ดูดขึ้นลงจนเซลล์หลุด
จากผิว



รูปที่ 4.16 ลักษณะผลตอบของ QCM เมื่อใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์โดยปราศจากเซลล์



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความถี่กับความเข้มข้นของเซลล์ในการทดลองครั้งที่ 1 2 3 และ 4 เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ในแต่ละครั้งมีการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์อย่างชัดเจน และมีความสัมพันธ์ค่อนข้างเป็นเชิงเส้น ยกเว้นการทดลองครั้งที่ 3 ซึ่งมีความแตกต่าง โดยพบว่า เซลล์ที่มีความหนาแน่น 0.4×10^6 Cells/ml จะมีการเปลี่ยนแปลงความถี่มากกว่าเซลล์ที่มีความหนาแน่น 1×10^6 Cells/ml แต่เมื่อพิจารณารูปร่างของปริมาณเซลล์ที่เกาะที่ผิวพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การคลุมผิวเกือบ 100% ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่ามีการตรวจเซลล์ที่ความเข้มข้นผิดพลาด ด้วยผลการวิเคราะห์จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าเซลล์ในแต่ละวันจะมีการตอบสนองไม่เหมือนกัน หากเซลล์มีการกระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วบริเวณผิวทองการเปลี่ยนแปลงความถี่เพิ่มขึ้นจะแปรผันกับปริมาณเซลล์แบบเชิงเส้น นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองเพื่อยืนยันการเปลี่ยนแปลงความถี่เนื่องจากการเกาะของเซลล์ด้วยการใช้ปิเปตติดพื้นที่ผิวของ QCM เพื่อให้เซลล์หลุดจากผิว แล้วสังเกตผลการทดลองอีกครั้งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เป็นเชิงบวกในการทดลองกับเซลล์ทั้ง 3 ห้อง (chamber) โดยมีการเปลี่ยนแปลงความถี่สัมพันธ์เป็นเชิงเส้นกับจำนวนเซลล์