

การคัดแยกอนุภาคในท่อของไหลขนาดจุลภาครูปร่างขดเกลียว

Separation of Particles in Spiral Microchannels

อรรถวุฒิ ถนอมศรีเดชชัย¹, เดชชัย เกตุพันธุ์^{2,3}, อลงกรณ์ พิมพ์พิณ^{1,*},
วีระยุทธ ศรีธรรวานิช¹, ประพฤติดี ปิยะวิริยะกุล³, อัจฉริยา ไสละสูต², วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศรี⁴,
วิศรุต ศรีพุ่มไพบ⁴, จีรวัฒน์ จันทะวงศ์⁴, จักรพงษ์ ศุภเดช⁴ และวิน บรรจงปรุ⁴

¹ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

²ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

³หน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

⁴ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์แห่งชาติ อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 24000

*ติดต่อ: Email: alongkorn.p@chula.ac.th โทรศัพท์: 02-218-6647 โทรสาร: 02-252-2889

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองเพื่อนำข้อมูลไปใช้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคที่สามารถคัดแยกเซลล์มะเร็งออกจากกันตามขนาดของเซลล์ ซึ่งเซลล์มะเร็งที่ถูกคัดแยกออกมาตามขนาดจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเซลล์ต่อไป โดยเทคนิคที่เลือกใช้ในการศึกษานี้เป็นการอาศัยแรงยก (Lift force) และแรงของดิน (Dean drag force) ที่เกิดขึ้นในท่อโค้งสำหรับการแยกขนาดของอนุภาค อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาจะประกอบไปด้วยท่อที่มีความกว้าง 500 ไมโครเมตร ความสูง 130 ไมโครเมตร และมีลักษณะขดเป็นวงกลมซ้อนกัน ลักษณะรูปร่างขดกันหอยจำนวน 5 รอบโดยมีรัศมีมีความโค้งเฉลี่ยประมาณ 1 เซนติเมตร การทดสอบการทำงานของอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นมาได้ใช้เม็ดพอลิเมอร์ชนิดโพลิสไตรีนที่มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งเป็นอนุภาคจำลอง โดยในการศึกษานี้จะใช้เม็ดพอลิเมอร์ที่มีขนาด 5, 10 และ 15 ไมโครเมตรโดยเม็ดพอลิเมอร์แต่ละขนาดจะถูกนำมาแขวนลอยด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ หลังจากนั้นสารแขวนลอยพอลิเมอร์จะถูกป้อนเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 0.5 ถึง 2 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นการเคลื่อนที่ตามกันของเม็ดพอลิเมอร์ที่เกิดเป็นเส้นทางการไหลภายในท่อได้อย่างชัดเจน จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคแบบท่อขดเกลียวต้องมีอัตราส่วนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคต่อความสูงของท่อมากกว่า 0.07 จึงจะสามารถนำมาใช้แยกเม็ดพอลิเมอร์ที่มีขนาดแตกต่างกันได้ และมีความเป็นไปได้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับคัดแยกเซลล์ออกจากกันตามขนาดได้ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: แรงดัน, แรงยก, ท่อของไหลจุลภาค, ท่อขดเกลียว, การแยกเซลล์

Abstract

This article explains about an experimental work to obtain data for designing a spiral microfluidic device for cancer-cell research. The objective is to continuously sort multi-particles based on their sizes without external forces. This spiral channel technique relies on the equilibrium between Lift and Dean drag forces those are occurred in a curve channel at relatively high Reynolds number. In this study, the spiral channel consisted of a 5 loop microchannel with a spacing of 500 μm between the neighboring

BME-182

channels. The channel width was fixed at 500 μm while the channel height was fixed at 130 μm . The average radius of curvature of all spiral channel was fixed at 1 cm. Polystyrene beads with a diameter of 5, 10 and 15 μm were used as a replica model of cancer cells, and the tests were performed at the flow rate between 0.5 and 2 mL/min. Experimental results showed that the focusing of polystyrene beads occurred at some specific conditions. The lateral position at which the particles equilibrate depended on the bead diameter and flow rate. However, the ratio between a particle diameter and channel height should be greater than 0.07 in order to creating the focusing of particle motion. The results showed feasibility of the spiral microchannels for separating cancer cells based on their sizes.

Keywords : Dean drag force, Lift force, Microfluidic channel, Spiral microchannel, Cell sorting

1. บทนำ

ในปัจจุบันการคัดแยกอนุภาคด้วยอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคมีด้วยกันมากมายหลายวิธี ซึ่งสามารถจำแนกได้สองกลุ่มหลัก^[1,2] คือ กลุ่มแรกเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก จะอาศัยคุณสมบัติของการไหลภายในท่อขนาดเล็ก ที่มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ เช่นการจับด้วยแอนตี้บอดี, การสร้างการเคลื่อนที่ออกด้านข้างด้วยอาเรย์ของ เสาขนาดเล็ก^[3] ซึ่งมีการจำลองรูปร่างของเสาขนาดเล็กเป็นรูปร่างต่างๆ ซึ่งพบว่าเสาแบบทรงกลมมีประสิทธิภาพดีที่สุด นอกจากนั้นยังมี การคัดแยกด้วยไมโครฟิลเตอร์, การคัดแยกการไหลแบบเฮเลเซอร์, การคัดแยกด้วยแรงเฉือน และการคัดแยกแบบทิศทางการไหลตั้งฉากกับท่อ เป็นต้น สำหรับกลุ่มที่สองเป็นเทคนิคที่ใช้แรงภายนอกในการคัดแยก โดยใช้คุณสมบัติทางไฟฟ้าเพื่อใช้ในการ คัดแยกอนุภาคหรือเซลล์ เช่น หลักการไดอิเล็กโตรโฟรีซิส (Dielectrophoresis) และการคัดแยกด้วยคลื่นเสียง^[4] ซึ่งสามารถใช้คัดแยกเม็ดพอลิเมอร์ขนาด 3 และ 10 μm ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นต้น

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองเพื่อนำข้อมูลไปใช้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคที่สามารถคัดแยกเซลล์มะเร็งออกจากกันตามขนาดของเซลล์ ซึ่งเซลล์มะเร็งที่ถูกคัดแยกออกมาตามขนาดจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเซลล์ โดยมีเงื่อนไขในการศึกษาว่าจะต้องไม่มีแรงภายนอกมากระทำต่ออนุภาคตัวอย่างในระหว่างการ

คัดแยก ซึ่งในกรณีของเซลล์มะเร็ง หากมีแรงมากระทำต่อเซลล์จะส่งผลทำให้คุณสมบัติทางชีววิทยาของเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ และทำให้การวิเคราะห์ผลทางชีวภาพของเซลล์เกิดความคลาดเคลื่อนได้

ด้วยเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้เทคนิคท่อรูปร่างขดเกลียว (Spiral Microchannel)^[5-11] ซึ่งมีจุดเด่นคือการคัดแยกเซลล์ด้วยขนาดและไม่มีแรงภายนอกมากระทำกับเซลล์มะเร็งในระหว่างการแยก ทำให้สมบัติของเซลล์มะเร็งมีความเป็นไปได้อย่างมีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นๆ นอกจากนั้นเทคนิคนี้ยังมีรูปร่างของระบบไม่ซับซ้อนและมีการทำงานที่รวดเร็ว (high throughput) ซึ่งเทคนิคท่อรูปร่างขดเกลียวสามารถออกแบบได้หลายรูปแบบ เช่น การใช้ท่อหน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมคางหมูซึ่งมีรายงานว่ามีความสมรรถนะสูงกว่า แต่การสร้างค่อนข้างซับซ้อน นอกจากนั้นในอดีตก็มีการเริ่มใช้เทคนิคท่อรูปร่างขดเกลียวคัดแยกเม็ดพอลิเมอร์ขนาดใหญ่^[8] คือขนาด 40 และ 60 μm ออกจากกันซึ่งเป็นขนาดของเม็ดพอลิเมอร์มีขนาดแตกต่างกันมาก ต่อมาได้มีการเริ่มใช้สำหรับการคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง^[9] ด้วยเทคนิคท่อขดแบบเกลียวชนิดพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมคางหมูเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับพื้นที่หน้าตัดสี่เหลี่ยมผืนผ้า ซึ่งพบว่าพื้นที่หน้าตัดแบบสี่เหลี่ยมคางหมูนั้นมีประสิทธิภาพการคัดแยกได้ดีกว่า ในด้านการแพทย์ก็เริ่มใช้อุปกรณ์นี้ในการแยกเซลล์เนื้องอกของมะเร็งออกจากเซลล์เม็ด

BME-182

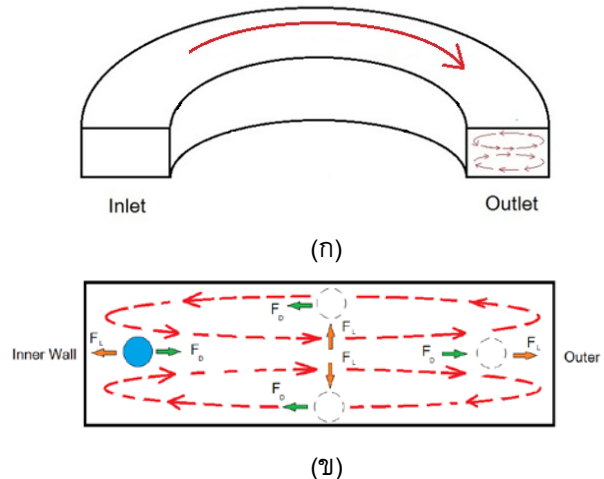
เลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว^[11] เนื่องจากขนาดของเซลล์เม็ดเร้มนั้นมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่นอย่างชัดเจน

การไหลภายในอุปกรณ์ระบบท่อขดเกลียวนั้นเป็นการไหลแบบราบเรียบ สามารถแยกขนาดของอนุภาคโดยอาศัย สมดุลแรง สองแรงที่เกิดขึ้นบนอนุภาคเมื่อของไหลไหลผ่านท่อที่มีความโค้ง โดยแรงดังกล่าวได้แก่ แรงของดิน (Dean drag force) และแรงยก (Lift force) เมื่อของไหลเข้าสู่ท่อโค้งจะมีแรงเหวี่ยงทำให้ของไหลทางด้านผนังท่อด้านนอกของส่วนโค้งมีความเร็วสูงสุด ทำให้ ของไหลนั้นมีการเคลื่อนที่หมุนวน แบ่งเป็นสองส่วนที่มีแกนการหมุนในทิศเดียวกับทิศของการไหลหลัก ซึ่งจะเกิดการเคลื่อนที่หมุนวนตามเข็มนาฬิกา ในบริเวณด้านบนและการเคลื่อนที่ หมุนตาม เข็มนาฬิกาในบริเวณด้านล่าง ของท่อ ดังรูปที่ 1ก ซึ่งแรงของการไหลจะทำให้อนุภาคเคลื่อนที่หมุนวนไปด้วยและเรียกว่าแรงของดิน สำหรับแรงยกคือแรงที่กระทำกับอนุภาคให้เคลื่อนที่เข้าหาผนัง ซึ่งเกิดจากการที่มีความเร็วของของไหลไม่สม่ำเสมอ ในรูปที่ 1ข จะเห็นได้ว่าที่ผนังด้านใน ส่วนโค้งจะมีโอกาสเกิดสมดุลของแรงระหว่างแรงดินและแรงยกได้ จากงานวิจัยในอดีตแสดงให้เห็นว่าตำแหน่งสมดุลของอนุภาคขนาดเล็กจะห่างจากผนังมากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ และอัตราส่วนของขนาดอนุภาคต่อความสูงของท่อควรมีค่ามากกว่า 0.07 จึงจะทำให้เกิดความสมดุลได้

2. การทดลอง

2.1 การสร้างชิพ spiral

กระบวนการในการสร้างชิพ อาศัยเทคโนโลยี Soft lithography โดยการสร้างแบบแม่พิมพ์ซิลิกอนตามขนาดและรูปร่างที่ต้องการ จากนั้นนำพอลิเมอร์ Polydimethylsiloxane หรือเรียกว่า PDMS เทลงบนแบบแม่พิมพ์ แล้วรอจน PDMS เย็นตัว จึงแกะออกจากแบบแม่พิมพ์ นำฐานกระจกมาประกบกับชิ้นงาน PDMS ด้วยเทคนิคออกซิเจนพลาสมาและต่อท่อสายยางทางเข้าและทางออก



รูปที่ 1 การเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในท่อ (ก) ส่วนของท่อโค้ง (ข) ภาพขยายของการเกิดการไหลหมุนวนและตำแหน่งสมดุลของอนุภาค

ชิ้นงานประกอบไปด้วยท่อที่มีความกว้าง 500 μm ความสูง 130 μm มีช่องทางเข้าสองทางสำหรับสารละลายผสมเม็ดพอลิเมอร์และสารละลายบัฟเฟอร์ และมีการขดเป็นวงกลมซ้อนกันในลักษณะรูปก้นหอยจำนวน 5 รอบโดยมีรัศมีความโค้งเฉลี่ยประมาณ 1 cm บริเวณก่อนส่วนท่อทางออกจะมีการขยายพื้นที่หน้าตัดการไหลให้ใหญ่ขึ้นแล้วจึงเป็นท่อทางออกจำนวน 10 ช่อง รูปที่ 2 ก-ค แสดงภาพถ่ายของระบบท่อขดเกลียวและภาพขยายในส่วนท่อโค้งและท่อตรงบริเวณใกล้กับทางออก

2.2 ชุดทดลอง

การทดลองดำเนินการที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยคอมพิวเตอร์และกล้องจุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพและบันทึกภาพ อุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาค แบบขดเกลียวพร้อมสายยางต่อท่อทางเข้าและท่อทางออก อุปกรณ์หลอดฉีดยาและเข็มฉีดยา ภาชนะสำหรับผสมสารละลายทั้งสามชนิด ดังแสดงในรูปที่ 3

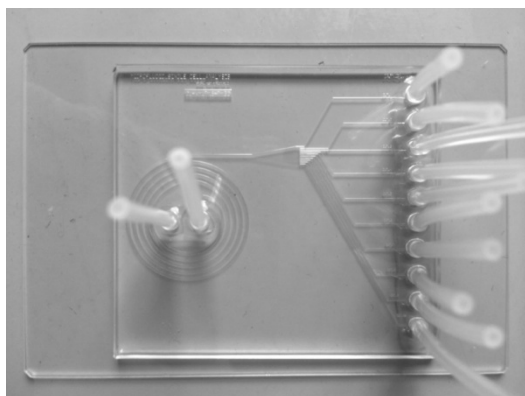
ในการทดลองนี้จะใช้เม็ดพอลิเมอร์ขนาด 5, 10 และ 15 μm สำหรับจำลองเป็นเซลล์ และใช้น้ำกรองปราศจากไอออนและสีผสมอาหารเป็นสารละลายบัฟเฟอร์

BME-182

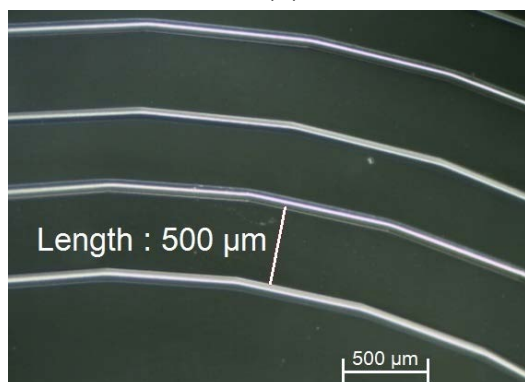
2.3 การเตรียมสารละลาย

2.3.1 สารละลายทำความสะอาด

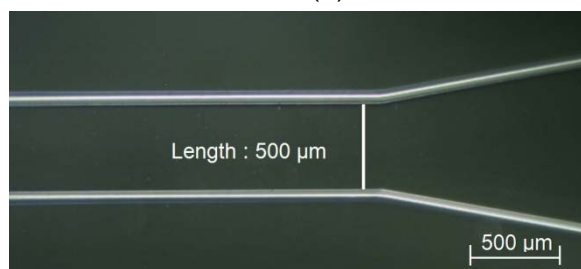
สารละลายจะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออนที่มีความบริสุทธิ์สูง (Deionized water) มาผสมกับสารลดแรงตึงผิวในอัตราส่วนเชิงปริมาตร 1 : 10 ส่วน เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยลดการยึดติดเป็นกลุ่มของเม็ดพอลิเมอร์และการเกิดฟองอากาศลงได้



(ก)

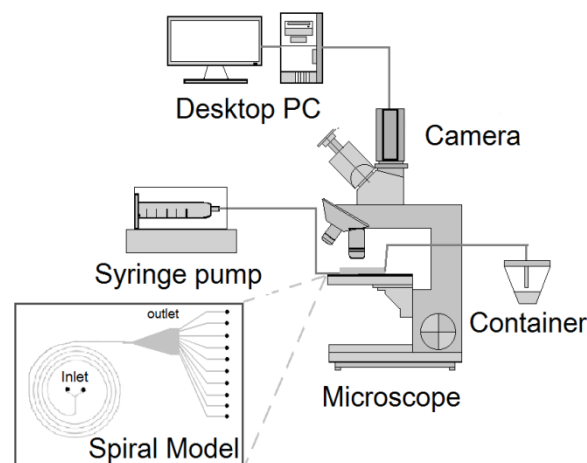


(ข)



(ค)

รูปที่ 2 อุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคแบบขดเกลียว (ก) ภาพถ่ายแสดงส่วนประกอบทั้งหมด (ข) ส่วนของท่อโค้งที่มีความกว้าง 500 μm (ค) ส่วนของท่อตรงที่เชื่อมต่อกับท่อส่วนขยายก่อนจะนำไปสู่ท่อทางออก



รูปที่ 3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.3.2 สารละลายผสมเม็ดพอลิเมอร์

สารละลายนี้จะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออนกับเม็ดพอลิเมอร์ ซึ่งเม็ดพอลิเมอร์ที่ใช้ในการทดลองนั้นมีความเข้มข้นต่างกัน จึงทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายให้มีความเข้มข้นของเม็ดพอลิเมอร์ใกล้เคียงกันคือ เม็ดพอลิเมอร์ขนาด 5 และ 10 μm มีความเข้มข้นคือ 4×10^3 อนุภาคต่อมิลลิลิตร แต่สำหรับพอลิเมอร์ขนาด 15 μm มีความเข้มข้น 2×10^3 อนุภาคต่อมิลลิลิตร เม็ดพอลิเมอร์ที่ใช้ในการทดลองมีความหนาแน่น 1.05 g/cm^3 ซึ่งใกล้เคียงกับความหนาแน่นของเซลล์ นอกจากนี้ ก่อนการทดลองจะผสมสารละลายที่ใช้กับสารละลายสีผสมอาหาร สีเขียว เนื่องจากจะช่วยทำให้การถ่ายภาพจากการทดลองสามารถเห็นอนุภาคชัดเจนขึ้น

2.3.3 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายนี้จะประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออนอย่างเดียว ซึ่งจะใช้ทดลองคู่กับสารละลายผสมเม็ดพอลิเมอร์ที่อัตราการใช้เท่ากัน

2.4 ขั้นตอนการทดลอง

ในขั้นตอนแรกคือการประกอบชุดทดลองเข้าด้วยกัน โดยนำชิ้นงานท่อขดเกลียวมาต่อท่อสายยางสำหรับช่องทางเข้าช่องและทางออก อีกปลายหนึ่งของท่อสายยางต่อทางเข้านั้นต่อเข้ากับกระบอกฉีดยาที่บรรจุสารทั้งสองหลอดคือ สารละลายผสมเม็ดพอลิ

BME-182

เมอร์ร่วมกับสารละลายบีฟเฟอร์ และสำหรับปลายท่อสายยางด้านทางออกต่อเข้ากับภาชนะเก็บสารละลาย

ในการควบคุมอัตราการไหลในการทดลองจะนำกระบอกเข็มฉีดยาต่อเข้ากับ syringe pump แล้วจับ syringe pump ตั้งเอียงให้ด้านปลายเข็มฉีดยาคือด้านล่าง เพื่อให้เม็ดยาไหลออกจากกระบอกฉีดยาอย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากในการทดลองเม็ดยา เมอร์จะตกตะกอนค่อนข้างเร็วและยังช่วยป้องกันไม่ให้ฟองอากาศไหลเข้าสู่ระบบ

ระหว่างทำการทดลองสามารถบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ซึ่งได้ติดตั้งกล้องบันทึกภาพร่วมกับคอมพิวเตอร์ ในการทดลองใช้กล้องที่มีความละเอียด 3 ล้านพิกเซลและความไว 30 เฟรมต่อวินาที จากนั้นปรับระยะโฟกัสของภาพและกำลังขยายให้เหมาะสม เพื่อทำให้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายในชิ้นงานได้อย่างชัดเจน

ตามปกติ ภายในชิ้นงานจะมีอากาศอยู่จึงจำเป็นต้องไล่อากาศโดยการฉีดสารละลายทำความสะอาดเข้าไปภายในระบบเสียก่อน จากนั้นจึงเริ่มการทดลองและบันทึกภาพ

ในการทดลองใช้เม็ดยาขนาด 5, 10 และ 15 μm และใช้อัตราการไหลรวมระหว่างสารละลายผสมเม็ดยาและสารละลายบีฟเฟอร์ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mL/min ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลในแต่ละครั้งจำเป็นต้องรอให้การเคลื่อนที่ของอนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่สภาวะสมดุลเสียก่อนจึงจะสามารถบันทึกภาพ โดยในแต่ละการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลต้องรออย่างน้อย 15 วินาที จึงจะได้ผลการทดลองที่มีคลาดเคลื่อนน้อย จากนั้นบันทึกภาพที่บริเวณท่อทางตรงก่อนถึงส่วนขยายของท่อทางออก แล้วจึงนำภาพจากการทดลองมาตกแต่งในคอมพิวเตอร์ปรับให้เป็นภาพสีขาวดำ ลดสีเหลืองภายในภาพและเพิ่มความสว่างของสีบริเวณเส้นการไหลของเม็ดยาเพื่อให้ภาพจากการทดลองนั้นเห็นชัดยิ่งขึ้น ซึ่งการเปรียบเทียบระหว่างรูปถ่าย และรูปที่ปรับสีแสดงไว้ในรูปที่ 4 ก-ข

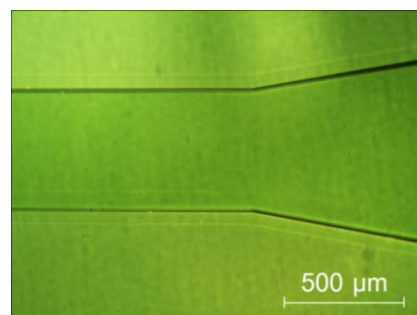
ในการหาตำแหน่งสมดุล จะเลือกภาพการทดลองที่อัตราการไหลเดียวกันและขนาดเม็ดยาเดียวกันเท่ากันมาวัดระยะห่างของเส้นแนวทางการไหลของเม็ดยาเม็ดยากับผนังท่อด้านในเป็นจำนวน 5 ภาพ แล้วจึงนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล เพื่อนำไปสร้างกราฟแสดงในผลการทดลองต่อไป

3. ผลการทดลอง

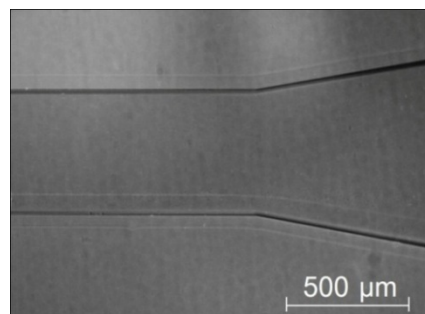
3.1 การทดลองเม็ดยาเม็ดยาเดี่ยว

สำหรับทุกขนาดของเม็ดยาเม็ดยาพบว่า การเคลื่อนที่ของอนุภาคนั้นจะเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ หากอัตราการไหลต่ำกว่า 0.5 mL/min ซึ่งอนุภาคจะมีการเคลื่อนที่สลับไปมา ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่าที่อัตราการไหลต่ำกว่า 0.5 mL/min ไม่เหมาะสมในการคัดแยกอนุภาค

เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่อัตราการไหลตั้งแต่ 0.5 mL/min ขึ้นไป พบว่าสำหรับอนุภาคเดี่ยวขนาด 5 μm มีลักษณะการไหลเป็นการกระจายตัวไม่เป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหลดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 5ก ซึ่งค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคกับความสูงของท่อขดเกลียวมีค่าเพียง 0.038 ซึ่งต่ำกว่าเงื่อนไขที่จะเกิดการเรียงตัวของอนุภาค ตามที่มีรายงานในงานวิจัยในอดีต

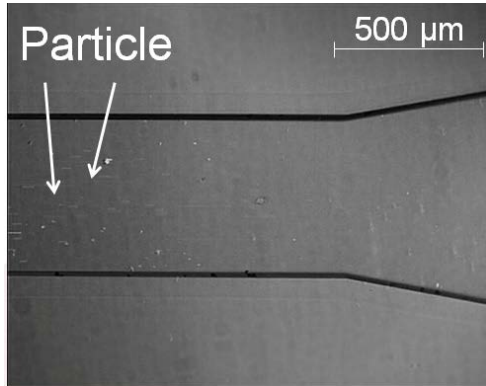


(ก)

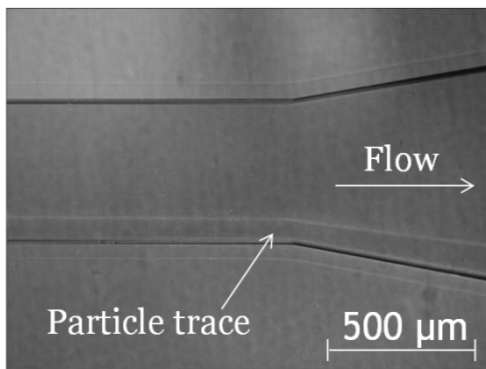


BME-182

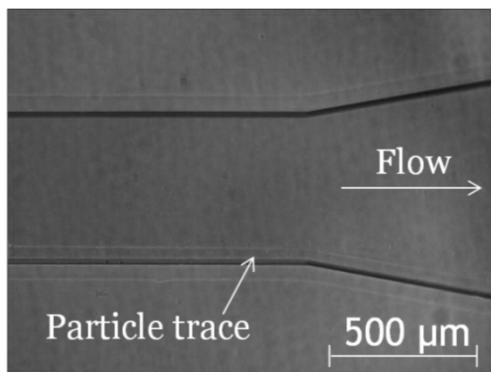
(ข)
รูปที่ 4 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ก) ภาพจากกล้อง
(ข) ภาพที่ผ่านการตกแต่งภาพและนำมาใช้ในการ
วิเคราะห์ผลการทดลอง



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 5 ภาพถ่ายจากการทดลอง (ก) อนุภาค 5 μm ที่
0.5 mL/min (ข) อนุภาค 10 μm ที่ 0.5 mL/min
(ค) อนุภาค 15 μm ที่ 0.5 mL/min

สำหรับการทดลองกับอนุภาคเดี่ยวขนาด 10 μm
พบว่าลักษณะการไหลมีการเคลื่อนที่เป็นแนว
เส้นตรงเรียงเป็นระเบียบที่ทุกอัตราการไหล ซึ่ง

ระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ของระยะห่างคือ $76 \pm 2 \mu\text{m}$, $78 \pm 3 \mu\text{m}$, $91 \pm 2 \mu\text{m}$
และ $108 \pm 3 \mu\text{m}$ สำหรับอัตราการไหล 0.5, 1.0, 1.5
และ 2.0 mL/min ตามลำดับ รูปที่ 5ข แสดงตัวอย่างที่
อัตราการไหล 0.5 mL/min ของอนุภาคขนาด 10 μm

สำหรับการทดลองอนุภาคเดี่ยวขนาด 15 μm ก็
พบการเรียงตัวเช่นกันดังแสดงในรูปที่ 5ค โดยมี
ระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ของระยะห่างคือ $48 \pm 2 \mu\text{m}$, $55 \pm 3 \mu\text{m}$, $74 \pm 2 \mu\text{m}$
และ $77 \pm 2 \mu\text{m}$ ตามลำดับอัตราการไหลตั้งแต่
0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mL/min

3.2 การทดลองเม็ดพอลิเมอร์แบบผสม

ในการทดลองนี้ใช้เม็ดพอลิเมอร์แค่สองขนาดคือ
10 และ 15 μm มาผสมกันและทำการทดลองที่อัตรา
การไหล 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mL/min เช่นเดิม จาก
การทดลองพบว่าอนุภาคขนาด 10 และ 15 μm จะมี
การเรียงตัวของเม็ดพอลิเมอร์ โดยมีระยะห่างระหว่าง
ผนังเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะห่างคือ
 $75 \pm 4 \mu\text{m}$, $77 \pm 1 \mu\text{m}$, $93 \pm 8 \mu\text{m}$ และ $107 \pm 3 \mu\text{m}$
ตามลำดับอัตราการไหลสำหรับอนุภาคขนาด 10
 μm ขณะเดียวกันระยะห่างระหว่างผนังเฉลี่ยและค่า
เบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะห่างคือ $51 \pm 4 \mu\text{m}$, $55 \pm 1 \mu\text{m}$,
 $72 \pm 2 \mu\text{m}$ และ $74 \pm 1 \mu\text{m}$ ตามลำดับอัตรา
การไหลสำหรับอนุภาคขนาด 15 μm รูปที่ 6 แสดง
ตัวอย่างของการจัดเรียงตัวของอนุภาคที่อัตราการไหล
0.5 mL/min

เมื่อเปรียบเทียบระยะห่างจากผนังที่วัดได้จากผล
การทดลองของเม็ดพอลิเมอร์แบบเดี่ยวและแบบผสม
จะพบว่าเม็ดอนุภาคขนาดใหญ่จะมีระยะห่างระหว่าง
ผนังที่วัดได้ในการไหลของอนุภาคน้อยกว่าเม็ด
อนุภาคขนาดเล็ก โดยเมื่อเพิ่มอัตราการไหลมากขึ้น
ระยะห่างจากผนังจะเพิ่มขึ้นสำหรับทั้งสองขนาด
อนุภาค และระยะดังกล่าวก็มีขนาดใกล้เคียงกันมาก
สำหรับทั้งสองการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลของแรง
กระทำระหว่างสองอนุภาคน้อยมาก สำหรับระยะห่าง
ระหว่างสองอนุภาคมีระยะประมาณ 20-30 μm ที่ทุก
อัตราการไหล

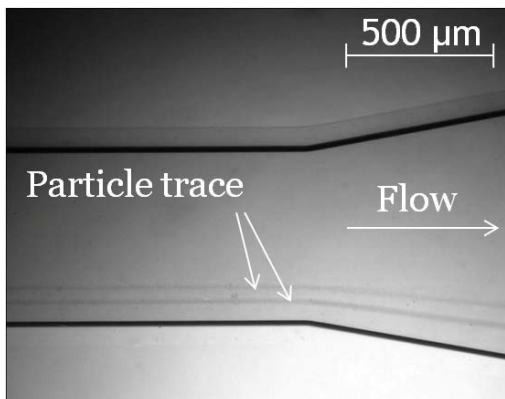
BME-182

3.3 การเปรียบเทียบผลการทดลองกับงานวิจัยอื่น

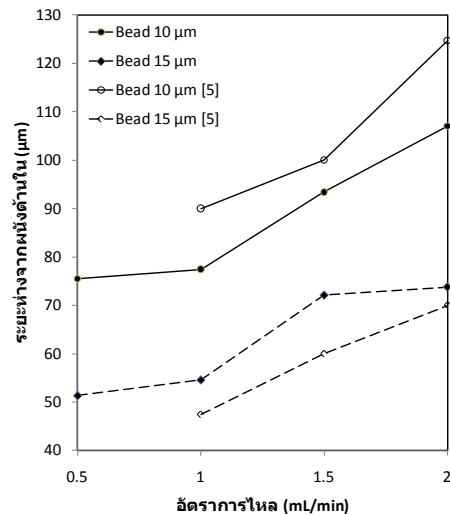
เมื่อนำผลการทดลองเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Kuntaegowdanahalli et al. [5] ดังแสดงในรูปที่ 7 ซึ่งใช้อุปกรณ์คัดแยกรูปร่างขดเกลียว ความกว้างท่อ 500 μm ความสูงท่อ 130 μm เช่นเดียวกันและได้ทำการทดลองในช่วงอัตราการไหล 1.0 ถึง 2.0 mL/min สำหรับแยกอนุภาคขนาด 10 และ 15 μm

เนื่องจากการคัดแยกอนุภาคนั้นต้องอาศัยความสมดุลของแรง ดันและแรงยก ส่งผลให้อนุภาคขนาดต่างๆ เกิดการเคลื่อนที่เรียงตัวภายในท่อที่ตำแหน่งที่แตกต่างกัน ซึ่งอนุภาคขนาดใหญ่จะมีแรงยกที่สูงกว่ามากกว่าส่งผลให้ตำแหน่งสมดุลนั้นอยู่ชิดผนังด้านในมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก ด้วยเหตุนี้เราจึงสามารถเห็นการเรียงตัวแยกกันของอนุภาคขนาด 10 และ 15 μm ได้อย่างชัดเจน

เมื่อเปรียบเทียบระยะห่างจากผนังของอนุภาคทั้งสองขนาดที่อัตราการไหลต่างๆ พบว่าผลการทดลองในงานนี้มีแนวโน้มใกล้เคียงกันผลการทดลองของงานวิจัยดังกล่าว



รูปที่ 6 การไหลของอนุภาคแบบผสมที่มีขนาด 10 และ 15 μm ที่อัตราการไหล 0.5 mL/min



รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะของแนวทางการไหลของอนุภาคที่อัตราการไหลต่างๆของอนุภาคแบบเดี่ยวและผสมขนาด 10 และ 15 μm

4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการทำการทดลองเพื่อนำข้อมูลไปใช้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคที่สามารถคัดแยก เซลล์มะเร็งโดยจำลองเซลล์ด้วยเม็ดพลาสติกขนาด 5, 10 และ 15 μm ซึ่งการทดลองได้เลือกใช้เม็ดพอลิเมอร์ที่มีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งมาใช้ในการทดลอง ในการศึกษาเลือกใช้เทคนิคท่อขดเกลียวเนื่องจากไม่ต้องอาศัยแรงภายนอกในการทำงาน ในการศึกษา สารแขวนลอยพอลิเมอร์จะถูกป้อนเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 0.5 ถึง 2 mL/min เมื่อใช้สารแขวนลอยของเม็ดพอลิเมอร์ขนาด 5 μm ที่อัตราการไหลต่างๆ พบว่าการเคลื่อนที่ของอนุภาคไม่มีความต่อเนื่องและไม่เป็นระเบียบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในอดีตที่แนะนำว่าอัตราส่วนของ

เส้นผ่าศูนย์กลางอนุภาคกับความสูงของท่อขดเกลียวควรจะมีค่ามากกว่า 0.07 สำหรับการแขวนลอยของเม็ดพอลิเมอร์ขนาด 10 และ 15 μm ที่อัตราไหล 0.5 ถึง 2 mL/min จะมีการจัดเรียงตัวให้เห็นการเคลื่อนที่ตามกันของเม็ดพอลิเมอร์ที่เกิดเป็นเส้นทางการไหลภายในท่อได้อย่างชัดเจน โดยตำแหน่งในทิศด้านขวางของท่อที่เกิดความสมดุล ของเส้นทางการไหล จะขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาค และอัตราการไหล โดยอนุภาคทั้งสองมีการเคลื่อนที่ห่างกัน 20-30 μm ที่ทุก

BME-182

อัตราการไหล อย่างไรก็ตามหากลดอัตราการไหลให้ต่ำกว่า 0.5 mL/min แล้วจะไม่สามารถสร้างแนวทางการไหลสำหรับอนุภาคทั้งสองขนาดได้ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าระบบท่อขดเกลียวมีความเป็นไปได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับคัดแยกเซลล์มะเร็งออกจากกันตามขนาด ได้ และ นำเซลล์มะเร็ง ไปเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไปได้

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุน วิจัยจากโครงการยุทธศาสตร์การวิจัยเชิงลึก กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ศาสตราจารย์สุภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ใช้กระบวนการสร้างอุปกรณ์ระบบการไหลจุลภาคที่ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์แห่งชาติ

6. เอกสารอ้างอิง

[1] E.D. Pratt, C. Huang, B.G. Hawkins, J.P. Gleghorn, B.J. Kirby, "Rare cell capture in microfluidic devices," *Chemical Engineering Science*, vol. 66, 2011, pp.1508-1522.

[2] D.R. Gossett, W.M. Weaver, A.J. Mach, S.C. Hur, H.T.K. Tse, W. Lee, H. Amini, D.D. Carlo, "Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems," *Anal Bioanal Chem*, vol. 397, 2010, pp. 3249-3267.

[3] K.K. Zeming, S. Ranjan, Y. Zhang, "Rotational separation of non-spherical bioparticles using I-shaped pillar arrays in a microfluidic device," 2013, doi:10.1038/ncomms 2653, pp.1-8.

[4] R. Guldiken, M.C. Jo, N.D. Gallant, U. Demirci and J. Zhe, "Sheathless Size-Based Acoustic Particle Separation," *Sensors*, vol.12, 2012, pp. 905-922.

[5] S.S. Kuntaegowdanahalli, A.A.S. Bhagat, G. Kumarb and I. Papautsky, "Inertial microfluidics for continuous particle separation in spiral microchannels," *Lab on a chip*, vol. 9, 2009, pp. 2973-2980.

[6] L.R. Huang, E.C. Cox, R.H. Austin, J.C. Sturm, "Continuous separation of cells and particles in microfluidic systems," *Lab on a chip*, vol. 304, 2004, pp. 987-990.

[7] S. Dutz, M.E. Hayden, A. Chaap, B. Stoeber, U.O. Hafeli, "A microfluidic spiral for size-dependent fractionation of magnetic microspheres," *Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 324, 2012, pp. 3791-379.

[8] A.E. Hasni, K. Göbbels, A.L. Thiebes, P. Bräunig, W. Mokwa, U. Schnakenberg, "Focusing and sorting of particles in spiral microfluidic channels," *Procedia Engineering*, vol.25, 2011, pp. 1197-1200.

[9] L. Wu, G. Guan, H.W. Hou, A. Asgar, S. Bhagat and J. Han, "Separation of Leukocytes from blood using spiral channel with trapezoid cross-section," *Anal. Chem*, vol. 84, 2012, pp. 9324-9331.

[10] M.E. Warkiani, G. Guan, K.B. Luan, W.C. Lee, A.A.S. Bhagat, D.S. Tan, W.T. Lim, S.C. Lee, P.C. Chen, C.T. Lim, J. Han, "Slanted spiral microfluidics for the ultra-fast, label-free isolation of circulating tumor cells," *Lab on a chip*, 2013, doi: 10.1039/C3LC50617G, pp. 1-26.

[11] H.W. Hou, M.E. Warkiani, B.L. Khoo, Z.R. Li, R.A. Soo, D.S. Tan, W. Lim, J. Han, A.S. Bhagat, C.T. Lim, "Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces," *Scientific Reports*, vol. 3, February 2013, pp. 1-8.