

การคัดแยกอนุภาคตามขนาดด้วยท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย Size-Based Particle Sorting Using a Contraction-Expansion Channel

<u>อำพล กำเหนิดสุข</u>¹, อลงกรณ์ พิมพ์พิณ^{1*}, วีระยุทธ ศรีธุระวานิช¹, ประพฤติดี ปิยะวิริยะกุล², อัจฉริยา ไศละสูต³, วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ⁴, วิศรุต ศรีพุ่มไข่⁴ และ ภัทรลักษณ์ ปัถมัง⁴

¹ ภาควิชาวิหวกรรมเครื่องกล คณะวิหวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
 ²หน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
 ³ ภาควิชาพยาธิวิทยา 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

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบอุปกรณ์การไหลที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายสำหรับคัดแยกเซลล์ ออกมาตามขนาด อุปกรณ์การไหลมีความลึก 50 ไมโครเมตรประกอบด้วยท่อทางเข้ามีลักษณะเป็นท่อหน้าตัดตรงกว้าง 50 ไมโครเมตร และยาว 5 มิลลิเมตร มีส่วนขยายที่มีหน้าตัดใหญ่กว่ามีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500 ไมโครเมตร ในส่วนสุดท้ายเป็นท่อทางออกหลักกว้างเท่ากับท่อทางเข้าแต่ยาว 3 มิลลิเมตร ด้านในของส่วนขยายจะมีท่อการไหลต่อ ออกไปทางด้านข้างซึ่งจะนำของไหลไปสู่ส่วนขยายที่สองที่มีส่วนประกอบเหมือนกับส่วนแรก การทดลองสำหรับการคัด แยกอนุภาคได้ใช้เม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร การทดลองแสดงว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการ ไหลในส่วนที่หนึ่งและสองเท่ากับ 100 และ 80 นั้นสามารถคัดแยกอนุภาคขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตร ได้ เท่ากับ 53, 72, 93 และ 73% ตามลำดับ

คำหลัก: ระบบของไหลจุลภาค, ท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย, การคัดแยกอนุภาค

Abstract

This study aims to design a contraction-expansion channel for separating cells based on their sizes. The device with the structure depth of 50 μ m consists of a main inlet, a straight channel with 5 mm long and 50 μ m wide, connecting to the first micro-chamber whose dimension is 500 x 500 μ m2. 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 μ m beads are 53, 72, 93 and 73%, respectively.

Keywords: microfluidics, contraction-expansion channel, particles sorting.



ทำการศึกษาและหาวิธีการคัดแยกขนาดเซลล์แบบอื่นๆ ที่ สามารถแยกเซลล์มะเร็งให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ โดยยัง ยึดหลักการที่มีผลกระทบต่อสมบัติของเซลล์ให้น้อยที่สุด

ME-NETT 31

การศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าวิธีการคัดแยก ขนาดเซลล์โดยอาศัยการหมุนวนภายในห้องการไหล ขนาดเล็ก [6-13] (ซึ่งเป็นส่วนขยายของท่อตรงแบบหน้า ตัดย่อขยาย) จะใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าอุปกรณ์คัดแยก ขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียวประมาณ 10 เท่า และ จากรายงานยังพบว่าสามารถแยกเซลล์ที่มีขนาดใกล้เคียง กันได้ (ขนาดแตกต่างกันน้อยกว่า 2 ไมโครเมตร) และมี ประสิทธิภาพการแยกขนาดอนุภาคมากกว่าร้อยละ 90 [8-10] ด้วยเหตุผลนี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้การคัดแยกอนุภาค โดยอาศัยเทคนิคท่อหน้าตัดแบบย่อและขยาย (Contraction Expansion, CE) มาใช้สำหรับการคัดแยก เซลล์มะเร็งซึ่งมีขนาดอยู่ในช่วง 10-25 ไมโครเมตร ออกเป็นกลุ่มตามขนาด

2. หลักการทำงานของอุปกรณ์

อุปกรณ์การคัดแยกขนาดอนุภาคโดยใช้แรงเฉื่อยใน ท่อ CE อาศัยการหมุนวนภายในห้องการไหลขนาดเล็ก เพื่อคัดแยกอนุภาคที่มีขนาดต่างๆกันไปยังทางออกในแต่ ละทิศทาง การที่จะทำให้อนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกันมี เส้นทางการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัย ต่างๆ

เมื่อของไหลที่มีอนุภาคขนาดต่างๆผสมอยู่เคลื่อนที่ ภายในท่อที่มีลักษณะเป็นท่อตรง จะเกิดแรงทางกลที่ กระทำกับอนุภาคแบ่งได้ 3 แรงตามที่แสดงในรูปที่ 1ก คือ แรงยกจากการเปลี่ยนแปลงแรงเฉือน (Shear gradient lift force, F_{LS}) จะมีผลทำให้อนุภาคเคลื่อนเข้า สู่ผนังของท่อ แรงยกจากผลของผนัง (Wall induced lift force, F_{LW}) จะทำให้อนุภาคเคลื่อนที่เข้าสู่จุดกึ่งกลางของ ท่อ และแรงต้านสโตกส์ (Stokes drag force, F_D) จะทำ ให้อนุภาคเคลื่อนที่ไปตามกระแสไหลหลักตามความยาว ท่อ ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยที่ f_L คือ สัมประสิทธิ์แรงยกของของไหล,

1. บทนำ

กลุ่มตัวอย่างเนื้อเยื่อของเซลล์จะมีสมบัติทาง ชีววิทยาที่หลากหลายมากทำให้ผลการวิเคราะห์สมบัติ ของเซลล์ด้วยวิธีการในปัจจุบันมีความไม่แน่นอนสูงขึ้นอยู่ กับว่าจำนวนเซลล์ส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อที่เก็บมานั้นเป็น ประเภทใด ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเริ่มให้ความสนใจใน การศึกษาเซลล์ในลักษณะเซลล์เดี่ยว (Single cell) [1] ซึ่งจะช่วยทำให้วิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์ได้อย่าง ชัดเจนและแม่นยำมากขึ้น ดังนั้นเทคโนโลยีระบบของ ใหลจุลภาค (Microfluidics) [2, 3] ที่สามารถคัดแยก เซลล์ตามขนาด และดักจับเซลล์ให้อยู่ในลักษณะเซลล์ เดี่ยวได้ จึงถูกพัฒนาอย่างรวดเร็วเพื่อตอบสนองความ ต้องการของการวินิจฉัยทางการแพทย์ในรูปแบบนี้ เทคโนโลยีนี้อาจจะช่วยให้เราสามารถวิเคราะห์พฤติกรรม ของเซลล์ได้อย่างชัดเจนมากขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการ แบบเดิม และอาจจะนำไปสู่การค้นคว้าหาวิธีการรักษาที่ ดีกว่าสำหรับผู้ป่วยโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ต้องการจะคัดแยก เซลล์มะเร็งด้วยขนาดเซลล์เพื่อที่จะนำไปศึกษาสมบัติทาง ชีวภาพของเซลล์ต่อไป ดังนั้นการใช้เทคนิคการคัดแยก ขนาดโดยอาศัยแรงจากภายนอกอาจจะมีผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางชีวภาพของเซลล์มะเร็ง และ ทำให้ผลการวิเคราะห์พฤติกรรมของเซลล์มะเร็ง คลาดเคลื่อนได้ เทคนิคที่ไม่อาศัยแรงจากภายนอกจึงถูก เลือกมาใช้ในงานวิจัยนี้

ในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา ทางทีมวิจัยได้ทำการทดลอง โดยใช้อุปกรณ์คัดแยกขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียว ในการแยกขนาดเซลล์มะเร็ง [4-5] การศึกษาแสดงให้เห็น ว่าเซลล์มะเร็งที่ผ่านอุปกรณ์แยกขนาดนั้นเกิดการเสียรูป และตายมากกว่าครึ่งหนึ่ง สาเหตุอาจจะเกิดจากอุปกรณ์ แยกขนาดเซลล์ที่มีลักษณะแบบเกลียวจำเป็นต้องใช้อัตรา การไหลสูง (มากกว่า 1 มิลลิลิตรต่อนาที) ทำให้เกิดความ เค้นเฉือนสูงภายในอุปกรณ์และทำให้เซลล์ที่เคลื่อนที่ผ่าน มาได้รับผลกระทบอย่างรุนแรง ดังนั้นทีมวิจัยจึงได้



ho คือ ค่าความหนาแน่นของของไหล (kg/m³), μ คือ ค่าความหนืดของของไหล (N.s/m²), u_m คือ ความเร็ว ของของไหล (m/s), u_D คือ ความเร็วสูงสุดของการไหล (m/s), a คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (m) และ w คือ ความกว้างของท่อหน้าตัด (m)

$$F_{LS} = f_L \rho u_m^2 a^3 / w \tag{1}$$

$$F_{LW} = f_L \rho u_m^{\ 2} a^6 / w^4 \tag{2}$$

$$F_D = 3\pi a \mu u_D \tag{3}$$

เมื่อพิจารณาการเคลื่อนที่ของอนุภาคในแกน y ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับสมดุลแรงระหว่าง แรงยกจากการเปลี่ยนแปลงแรงเฉือนและแรงยกจากผล ของผนังที่กระทำกับอนุภาค โดยแรงยกจากแรงเฉือนจะ แปรผันตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคยกกำลัง สาม ในขณะที่แรงยกจากผลของผนังจะแปรผันตาม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคยกกำลังหก โดย อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าจะมีตำแหน่งสมดุลใกล้กับ กึ่งกลางท่อมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก

สำหรับการไหลในท่อ CE เมื่ออนุภาคเคลื่อนที่เข้ามา ในท่อทางเข้าที่เป็นท่อตรง ในตอนเริ่มต้นอนุภาคขนาด ต่างๆจะไหลแบบสุ่ม และเมื่ออนุภาคเคลื่อนที่ไปตาม ความยาวท่อจะเริ่มเคลื่อนที่เข้าสู่สมดุลดังแสดงในรูปที่ 1 ข ซึ่งความยาวของท่อ (L_{min}) จะต้องยาวเพียงพอที่ อนุภาคจะเรียงตัวสู่ตำแหน่งสมดุลได้

หลังจากนั้นอนุภาคจะไหลเรียงเข้าสู่ส่วนถัดไปของ อุปกรณ์คือห้องการไหลขนาดเล็ก โดยภายในส่วนนี้จะ เกิดการแบ่งกระแสการไหลออกเป็นสามทาง (แสดงในรูป ที่ 1ค) คือ กระแสการไหลหลัก (Main flow) เป็นส่วนที่ คัดแยกอนุภาคขนาดเล็กไปยังทางออกหลักของอุปกรณ์ ในส่วนถัดมาคือกระแสการไหลด้านข้าง (Sheath flow) เป็นส่วนคัดแยกอนุภาคขนาดใหญ่ไปยังทางออกด้านข้าง ของอุปกรณ์ และกระแสการไหลหมุนวน (Vortex) เป็น ส่วนที่ไม่มีการคัดแยกของอนุภาค ซึ่งอนุภาคที่เข้าไปใน ส่วนนี้จะเกิดการหมุนวน โดยสัดส่วนของกระแสการไหล

ทั้งสามจะขึ้นอยู่กับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหล ภายในอุปกรณ์





ปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้อนุภาคไหลแยกไปทางออก หลักหรือทางออกด้านข้างคือ เส้นทางการเคลื่อนที่ของ อ นุ ภ า ค (particles focusing position, *d_p*) เป็ น ระยะห่างจากขอบผนังท่อหน้าตัดจนถึงอนุภาคที่เกิดการ เรียงตัวในตำแหน่งสมดุล และเส้นขอบเขตการคัดแยก อนุภาค (separation boundary, *d_b*) คือ เส้นสตรีมไลน์ ที่เป็นเส้นที่แบ่งระหว่างกระแสการไหลหลักและกระแส การไหลด้านข้าง หากตำแหน่งของ *d_p* และ *d_b* ซ้อนทับ กัน การคัดแยกอนุภาคจะถูกคัดแยกโดยไปตามกระแส การไหลด้านข้าง ในทางกลับกันเมื่อ *d_p* และ *d_b* อยู่ห่าง



ออกจากกัน อนุภาคนั้นจะถูกคัดแยกไปตามกระแสการ ไหลหลัก

3. การกำหนดค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหล 3.1 การศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาค (d_p)

งานวิจัยของ Christopher Prohm และ Holger Stark ในปี ค.ศ.2014 [14] ได้ทำการทดลองหาตำแหน่ง สมดุลของอนุภาคภายในท่อตรงที่มีหน้าตัดแบบจัตุรัส โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 10, 20, 40 และ 80 ที่ ขนาดความกว้างของท่อหน้าตัด และขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางของอนุภาคขนาดต่างๆ การศึกษาพบว่าอนุภาค ขนาดใหญ่จะมีตำแหน่งสมดุลอยู่ใกล้กับกึ่งกลางของท่อ มากกว่า และการไหลที่เรย์โนลด์นัมเบอร์ที่สูงขึ้นจะทำให้ ตำแหน่งสมดุลของอนุภาคมีค่าสูงขึ้นด้วย นอกจากนั้น งานวิจัยของ Xiao Wang และคณะในปี ค.ศ.2013 [8] ได้ทำการทดลองหาตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของ อนุภาค (*d_p*) โดยใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 110 ที่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคต่างๆ

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยของ Christopher Prohm และ Holger Stark รวบรวมเข้าด้วยกันจะได้ ข้อมูลของตำแหน่งเส้นทางการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่ค่า เรย์โนลด์ต่างๆ ที่ขนาดความกว้างของท่อหน้าตัดเท่ากับ 50 ไมโครเมตร แสดงในรูปที่ 2

3.2 การจำลองการไหลของเส้นขอบเขตการคัดแยก อนุภาค (*d_b*)

ระยะ *d_b* สามารถทำนายโดยใช้การจำลองการไหล ในคอมพิวเตอร์ โดยใช้ขนาดของท่อหน้าตัดเท่ากับ 50x50 ไมโครเมตร ท่อทางเข้ามีความยาว 5 มิลลิเมตร ท่อทางออกหลักมีความยาว 3 มิลลิเมตร และท่อทางออก รองมีความยาว 30 มิลลิเมตร ขนาดของห้องการไหล ขนาดเล็กมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 500x500 ไมโครเมตร และอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกรอง ต่อทางออกหลัก (**o**) เท่ากับ 5 และ 10 การจำลองการไหลเพื่อหาตำแหน่งเส้นขอบเขตการ คัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตั้งแต่ 20-360 ขนาดของกริดในส่วนของท่อทางเข้า ห้องการไหลขนาด เล็ก และท่อทางออกมีขนาดใหญ่ที่สุดเท่ากับ 3 ไมโครเมตร และขนาดเล็กสุดเท่ากับ 0.3 ไมโครเมตร และส่วนอื่นๆมีการปรับขนาดของกริดขนาดใหญ่ที่สุด เท่ากับ 10 ไมโครเมตร และขนาดเล็กสุดเท่ากับ 1 ไมโครเมตร

ผลการจำลองค่า d_b ในรูปที่ 2 แสดงให้เห็น ตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคจะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูงขึ้น จนถึงค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ ของการไหลเท่ากับ 160 สำหรับ σ =5 และ 180 สำหรับ σ =10 จากนั้นตำแหน่งเส้นขอบเขตการคัดแยกอนุภาคจึง จะเริ่มค่อย ๆ ลดลง โดยระยะ d_b ของอัตราส่วนความ ต้านทานเท่ากับ 5 จะมีค่ามากกว่าอัตราส่วนความ ต้านทานเท่ากับ 10 ที่ทุกค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์

จากรูปที่ 2 เมื่อ *d_p* มีตำแหน่งอยู่เหนือ *d_b* แสดงว่า อนุภาคนั้นมีระยะห่างจากเส้นขอบเขตการคัดแยก อนุภาค อนุภาคนั้นจะได้รับอิทธิพลจากกระแสการไหล หลัก และถูกคัดแยกออกไปที่ทางออกหลัก ในทาง กลับกันเมื่อ *d_p* มีตำแหน่งอยู่ต่ำกว่า *d_b* อนุภาคนั้นจะถูก คัดแยกออกไปที่ทางออกรอง





กว้างเท่ากับท่อทางเข้าแต่ยาว 3 มิลลิเมตร ด้านในของ ส่วนขยายจะมีท่อการไหลต่อออกไปทางด้านข้างซึ่งจะนำ ของไหลไปสู่ส่วนขยายที่สองที่มีส่วนประกอบเหมือนกับ ส่วนแรก โดยมีส่วนของท่อทางเข้าอีกทางหนึ่งต่อเข้ามา ก่อนที่ของไหลจะเข้าไปยังส่วนขยายที่สองเพื่อปรับอัตรา การไหลให้เหมาะสมอีกครั้ง โดยในส่วนขยายที่สองจะมี ค่าอัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกเท่ากับ 10 และใน ส่วนขยายที่หนึ่งจะมีค่าประมาณ 5-10 ขึ้นอยู่กับอัตรา การไหลที่ทางเข้าและอัตราการไหลเสริมที่ใช้เพื่อเพิ่ม อัตราการไหลในท่อขยายที่สองให้ได้ตามที่ต้องการ ลักษณะของอุปกรณ์แสดงอยู่ในรูปที่ 3

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล และการออกแบบการทดลอง

เครือข่ายความต้านทานการไหลของอุปกรณ์ [15] แสดงในรูปที่ 3 โดยอัตราการไหล (*Q*) จะถูกแบ่งไปตาม ทิศทางของท่อในตำแหน่งต่างๆ โดยการไหลของของไหล ไปตามความยาวของท่อในแต่ละส่วนนั้นจะถูกแทนด้วย ความต้านทาน (*R*) เมื่อทำการแปลงในรูปอย่างง่ายต่อการ คำนวณจึงได้ยุบรวมความต้านทานในส่วนขยายที่สองเข้า ด้วยกัน ทำให้วงจรเหลือเพียงแหล่งกำเนิดกระแสไฟฟ้า 2 แหล่ง คือ การไหลหลัก (*I_{in}*) และการไหลเสริม (*I_b*) และ ความต้านทาน 3 ตัว คือ *R*₁, *R*₂/2 และ *R*₆

ในส่วนขยายที่หนึ่งประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค จะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลหลัก (*Q_{in}*) และอัตราส่วนความ ต้านทานที่ทางออกที่ 1 (**σ**₁) และในส่วนขยายที่สองจะ ขึ้นอยู่กับอัตราการไหลที่ตำแหน่งที่ 3 (*Q*₃) และอัตราส่วน ความต้านทานที่ทางออกที่ 2 (**σ**₂) ซึ่งในการคำนวณ อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่หนึ่ง จะเป็นผลมาจากการต่อเข้ากับส่วนขยายที่สองอีกด้วย

รูปที่ 2 ตำแหน่ง $d_{
ho}$ และ d_b ที่ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ต่างๆ

ตัวอย่างเช่นในส่วนขยายที่สอง (CE2) ของอุปกรณ์ จากรูปที่ 2 ที่เรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลเท่ากับ 80 ที่ σ =10 พบว่าอนุภาคขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่ต่ำกว่า d_b และอนุภาค ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 ไมโครเมตรจะมีตำแหน่ง d_p อยู่สูงกว่า d_b ทำให้สามารถคาดเดาได้ว่าที่ค่าเรย์โนลด์นัม เบอร์ของการไหลเท่ากับ 80 ที่ σ =10 จะสามารถคัดแยก อนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 15 ไมโครเมตรออกไปที่ ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง ขนาด 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกรองได้ และใน ส่วนขยายที่ 1 (CE1) ที่เรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหล เท่ากับ 100 ที่ σ =10 ด้วยวิธีคิดแบบเดียวกันจะสามารถ คัดแยกอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 15 ไมโครเมตร ออกไปที่ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาคเส้นผ่าน ศูนย์กลางขนาด 20 ไมโครเมตรออกไปที่ทางออกรองได้

ดังนั้นหากออกแบบอุปกรณ์ CE เป็นสองขั้นตอนคือ การออกแบบให้ส่วนขยายทั้งสองมีค่า **o**=10 โดยส่วน ขยายที่หนึ่งใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลตั้งแต่ 100 ขึ้นไปน่าจะสามารถทำการแยกอนุภาคขนาด 5 และ 10 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาค 15 และ 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออกรองได้ หลังจากนั้น ปล่อยให้การไหลจากทางออกรองของท่อขยายส่วนแรก ไหลไปที่ท่อขยายที่สอง และใช้ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของ การไหลตั้งแต่ 60-100 ท่อขยายที่สองนี้ก็น่าจะสามารถ ทำการแยกอนุภาค 15 ไมโครเมตรไปที่ทางออกหลัก และคัดแยกอนุภาคขนาด 20 ไมโครเมตรไปที่ทางออก รองของส่วนขยายนี้ได้

การออกแบบอุปกรณ์การไหลในการศึกษานี้จึง ประกอบไปด้วยท่อที่มีความลึก 50 ไมโครเมตร โดยท่อ ทางเข้ามีลักษณะเป็นท่อตรงกว้าง 50 ไมโครเมตร และ ยาว 5 มิลลิเมตร มีส่วนขยายที่มีหน้าตัดใหญ่กว่ามี ลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสกว้าง 500 ไมโครเมตร และ ยาว 500 ไมโครเมตร ในส่วนสุดท้ายเป็นท่อทางออกหลัก

1E-NETT 31

ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุดในส่วนขยายที่ สอง

หลังจากนั้นทำการทดลองถัดไปโดยกำหนดค่าเรย์ โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่สองเป็นค่าคงที่ ซึ่งได้มาจากการทดลองในส่วนแรก และทำการปรับค่า เรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งตั้งแต่ 100-180 เพื่อหาประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ดีที่สุด ของทั้งสองส่วนขยายด้วยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการทดลองนี้

4. การทดลอง

4.1 การสร้างและชุดทดลอง

กระบวนการสร้างอุปกรณ์การไหลจุลภาคจะอาศัย เทคโนโลยี Soft lithography แบบปกติ โดยอุปกรณ์ที่ ใช้ในการทดลองประกอบด้วยคอมพิวเตอร์และกล้อง จุลทรรศน์สำหรับถ่ายภาพและบันทึกภาพ อุปกรณ์การ ไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและขยายพร้อมสายยาง ต่อท่อทางเข้าและท่อทางออกต่างๆ ชุดอุปกรณ์หลอดฉีด ยาและเข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร และหลอดทดลอง สำหรับเก็บสารตัวอย่างที่ทางออกต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4ก และ 4ข ในการทดลองนี้จะใช้เม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรเป็นตัวแทนของเซลล์ขนาด ต่างๆ และใช้น้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) เป็นสารละลายในการทดลอง

4.2 การเตรียมสารละลาย

4.2.1 สารละลายผสมเม็ดพลาสติก

สารละลายประกอบด้วยน้ำปราศจากไออน และเม็ด พลาสติก ซึ่งเม็ดพลาสติกที่ใช้ในการทดลองนั้นมีความ เข้มข้นต่างกัน โดยเม็ดพลาสติกขนาด 5, 10, 15 และ 20 ไมโครเมตรจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.12x10⁶, 4.45x10⁵, 1.65x10⁵ และ 8.08x10⁴ อนุภาคต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยเม็ดพอลีเมอร์ที่ใช้ในการทดลองมีความ หนาแน่น 1.05 g/cm³ ซึ่งใกล้เคียงกับความหนาแน่นของ เซลล์ นอกจากนั้นมีการผสมสารลดแรงตึงผิว (Tween 20) ในอัตราส่วน 0.1% v/v เพื่อลดการยึดติดเป็นกลุ่ม ของเม็ดพอลิเมอร์และการเกิดฟองอากาศลงได้ ก่อนการ



รูปที่ 3 การวิเคราะห์ความต้านทานการไหลแสดง เครือข่ายความต้านทานการไหลของอุปกรณ์ และความ ต้านทานการไหลของอุปกรณ์ในรูปแบบวงจรไฟฟ้าอย่าง ง่าย

อัตราส่วนความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่ หนึ่งและสองจะวิเคราะห์ได้ดังสมการที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

$$\sigma_1 = \frac{I_1}{I_2} = \frac{R_2 Q_{in} + 2R_6 Q_{in} + 2R_6 Q_b}{R_1 Q_1 - R_2 Q_2}$$
(4)

$$\sigma_2 = \frac{I_4}{I_5} = \frac{R_5}{R_4}$$
(5)

เมื่อพิจารณาสมการที่ 7 และ 8 พบว่าอัตราส่วน ความต้านทานที่ทางออกของส่วนขยายที่หนึ่งจะเป็น ฟังก์ชันของอัตราการไหลเสริม (*Q*_b) ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไป ตามอัตราการไหลที่ทางเข้า (*Q*_{in}) และอัตราการไหลที่ ทางเข้าในส่วนขยายที่ 2 (*Q*₃) ดังนั้นจึงได้ออกแบบการ ทดลองเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนั้นจะกำหนดค่าเรย์ โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งเป็นค่าคงที่ หนึ่ง และปรับค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ของการไหลในส่วน ขยายที่สองเท่ากับ 60, 80 และ 100 โดยใช้ค่าอัตราส่วน ความต้านทานที่ทางออกเท่ากับ 10 เพื่อหาค่า





ผสมจะกรองน้ำปราศจากไออนด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตรเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้าไปอุดตันใน อุปกรณ์ และหลังจากผสมสารละลายกับเม็ดพลาสติกจะ ทำการกรองอีกครั้งด้วยตัวกรองที่มีรูขนาด 40 ไมโครเมตร

4.2.2 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์จะประกอบด้วยน้ำปราศจาก ไอออนมาผสมกับสารลดแรงตึงผิวที่อัตราส่วน เช่นเดียวกันกับสารละลายผสมเม็ดพลาสติก นอกจากนั้น ก่อนการทดลองจะผสมสารละลายที่ใช้กับสีผสมอาหาร เพื่อช่วยทำให้สามารถเห็นการแบ่งเส้นทางการเคลื่อนที่ ของสารละลายผสมเม็ดพลาสติกและสารละลายบัฟเฟอร์ ได้อย่างชัดเจน

4.3 การวัดผล

ในระหว่างทำการทดลองจะบันทึกภาพจากกล้อง จุลทรรศน์แบบส่องผ่านซึ่งได้ติดตั้งกล้องบันทึกภาพ ร่วมกับคอมพิวเตอร์ ในการทดลองใช้กล้องที่มีความ ละเอียด 3 ล้านพิกเซลและความไว 30 เฟรมต่อวินาที หลังจากนั้นปรับระยะโฟกัสของภาพและกำลังขยายให้ เหมาะสมเพื่อทำให้เห็นการเคลื่อนที่ของอนุภาคภายใน ชิ้นงานได้อย่างชัดเจน ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงอัตราการ ไหลในแต่ละครั้งจำเป็นต้องรอให้การเคลื่อนที่ของอนุภาค เคลื่อนที่เข้าสู่สภาวะสมดุลเสียก่อนจึงจะสามารถ บันทึกภาพ และเก็บตัวอย่างอนุภาคที่ทางออกได้ ซึ่งจะ ได้ผลการทดลองที่มีคลาดเคลื่อนน้อย



รูปที่ 4 อุปกรณ์การไหลจุลภาคที่มีท่อหน้าตัดแบบย่อและ ขยาย (ก) ภาพถ่ายแสดงส่วนประกอบทั้งหมด และส่วน ของห้องการไหลขนาดเล็ก (ข) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

หลังจากที่ได้ตัวอย่างอนุภาคจากการทดลองแล้วจะ นำไปนับความหนาแน่นของอนุภาคที่ทางออกต่างๆโดย ใช้ ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ทำการ นับ ทั้งหมด 3 ครั้ง และนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและแปลงค่า ความหนาแน่นของอนุภาคให้เป็นจำนวนอนุภาคในแต่ละ ทางออกโดยใช้ปริมาตรของตัวอย่างจากการทดลอง และ คำนวณหาประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาค (Separation efficiency) – อัตราส่วนของจำนวนอนุภาคที่ทางออกที่ สนใจเทียบจำนวนอนุภาคทั้งหมดที่ทุกทางออกรวมกัน – เพื่อนำมาเปรียบเทียบต่อไป

5. ผลการทดลอง

การทดลองในส่วนแรกในส่วนขยายที่หนึ่งจะใช้อัตรา การไหลคงที่เท่ากับ 540 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์ นัมเบอร์เท่ากับ 180) และส่วนขยายที่สองจะ เปลี่ยนแปลงค่าจาก 180, 240 และ 300 ไมโครลิตรต่อ นาที (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 60, 80 และ 100



ตามลำดับ) ทำให้ σ ในส่วนขยายหนึ่งเท่ากับ 6.65, 5.86 และ 5.20 ตามลำดับ ในขณะที่ σ ในส่วนขยายที่สอง เท่ากับ 10 มีค่าคงที่ทุกการทดลอง

ผลการทดลองพบว่าที่อัตราการไหลในส่วนขยายที่ สองเท่ากับ 240 ไมโครลิตรต่อนาทีจะให้ผลการคัดแยก อนุภาคที่ส่วนขยายที่สองดีกว่ากรณีอื่น โดยอนุภาค ขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรในส่วนขยายที่สองจะไหล ไปที่ท่อทางออกหลักและทางออกรองของ CE2 ตามลำดับ และประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคเท่ากับ 84% และ 94% ตามลำดับ (รูปที่ 5ก)

หลังจากนั้นจึงทำการทดลองในส่วนถัดไป โดยใช้ อัตราการไหลที่เหมาะสมของส่วนขยายที่สองคือ 240 ไมโครลิตรต่อนาทีคงที่ และปรับอัตราการไหลของส่วน ขยายที่หนึ่งเท่ากับ 300, 360, 420, 480 และ 540 ไมโครลิตรต่อนาที (ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เท่ากับ 100. 120, 140, 160 และ 180 ตามลำดับ) ทำให้มีค่า σ ใน ส่วนขยายหนึ่งเท่ากับ 7.58, 6.77, 6.24, 5.86 และ 5.59 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงว่าที่อัตราการไหลในส่วน ขยายที่หนึ่งเท่ากับ 300 ไมโครลิตรต่อนาทีจะมีการคัด แยกที่ดีกว่ากรณีอื่นๆ โดยอนภาคขนาด 10 ไมโครเมตร ในส่วนขยายที่หนึ่งจะไหลไปที่ท่อทางออกหลักของ CE1 และมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ทางออกหลัก เท่ากับ 70% ในขณะที่อนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรในส่วนขยายที่หนึ่งจะไหลไปที่ท่อทางออกรอง ของ CE1 และมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ ทางออกรองเท่ากับ 97% และ 100% ตามลำดับ (รูปที่ 5 ข) และอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตรจะกระจายตัวไปที่ทั้ง สองทางออกในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน

ดังนั้นจึงสรุปว่าอัตราการไหลในส่วนขยายที่หนึ่งและ สองควรจะเท่ากับ 300 และ 240 ไมโครลิตรต่อนาที โดย มีผลการคัดแยกของอุปกรณ์รวมแสดงในรูปที่ 5ค ซึ่งจะ สามารถคัดแยกอนุภาคขนาด 5 และ 10 ไมโครเมตรได้ 53% และ 72% ตามลำดับ และอนุภาคขนาด 15 และ 20 ไมโครเมตรมีประสิทธิภาพเท่ากับ 93% และ 73%



รูปที่ 5 ประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคที่ค่าเรย์โนลด์ นัมเบอร์ของส่วนขยายที่หนึ่งและสองเท่ากับ 100 และ 80 ตามลำดับ (ก) การทดลองที่ 1 – ผลการทดลองของ CE2 (ข) การทดลองที่2 – ผลการทดลองของ CE1 (ค) ประสิทธิภาพรวมของอุปกรณ์

6. สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการทำการทดลองเพื่อนำข้อมูลไปใช้ ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ระบบของไหลจุลภาคที่



สามารถคัดแยกเซลล์มะเร็งโดยจำลองเซลล์ด้วยเม็ด พลาสติกขนาด 5. 10. 15 และ 20 ไมโครเมตร ซึ่งการ ทดลองได้เลือกใช้เม็ดพลาสติกที่มีขนาดใกล้เคียงกับ เซลล์มะเร็งมาใช้ อุปกรณ์อาศัยเทคนิคท่อหน้าตัดแบบ ย่อและขยายเนื่องจากไม่ต้องอาศัยแรงภายนอกในการ ทำงาน และใช้อัตราการไหลที่ต่ำกว่าเทคนิคอื่นๆ ผลการ ทดลองที่ให้ผลดีกว่ากรณีอื่นจะต้องมีอัตราการไหลในส่วน ขยายที่หนึ่งและสองเท่ากับ 300 และ 240 ไมโครลิตรต่อ นาทีตามลำดับ ผลการทดลองที่สภาวะนี้พบว่าอนุภาค ทั้งหมดถูกคัดแยกไปที่ทางออกต่างๆตามที่คาดหวังไว้ โดยมีประสิทธิภาพการคัดแยกอนุภาคมากกว่า 70% ยกเว้นอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตรที่ถูกคัด แยกไปที่ทางออกที่คาดหวังไว้ได้เพียง 53% เท่านั้น วิธีการแก้ไขคือการออกแบบอุปกรณ์คัดแยกอนุภาคใน ส่วนขยายที่หนึ่งให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวิกฤติของ การคัดแยกอนุภาคเหมาะสมมากขึ้น

7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้แต่งขอขอบคุณเงินทุนการศึกษา TGIST จาก สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่ สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา และ ทุนวิจัยจากโครงการแผนพัฒนาวิชาการ จุฬาฯ สร้าง เสริมพลังจุฬาฯก้าวสู่ศตวรรษที่ 2 จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย (อุปกรณ์การแพทย์ชาญฉลาด)

8. เอกสารอ้างอิง

[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, 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, pp. 28-47, Feb 2010.

[4] A. Thanormsridetchai, "Size-Based Cell Sorting using Spiral Microchannels," Master's Thesis, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, 2014.

[5] 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.

[6] M. G. Lee, S. Choi, and J. K. Park, "Inertial separation in a contraction-expansion array microchannel," *J Chromatogr A*, vol. 1218, pp. 4138-43, Jul 8 2011.

[7] 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, pp. 6213-8, Jul 2 2013.

[8] X. Wang, J. Zhou, and I. Papautsky, "Vortex-aided inertial microfluidic device for continuous particle separation with high sizeselectivity, efficiency, and purity," *Biomicrofluidics*, vol. 7, p. 44119, 2013.

[9] X. Wang and I. Papautsky, "Size-based microfluidic multimodal microparticle sorter," *Lab Chip*, vol. 15, pp. 1350-9, Mar 7 2015.

[10] X. Wang, X. Yang, and I. Papautsky, "An integrated inertial microfluidic vortex sorter for



tunable sorting and purification of cells," *Technology,* vol. 04, pp. 88-97, 2016.

[11] 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, pp. 939-948, 2009.

[12] 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, pp. 532-42, Feb 7 2016.

[13] S. C. Hur, A. J. Mach, and D. Di Carlo, "High-throughput size-based rare cell enrichment using microscale vortices," *Biomicrofluidics,* vol. 5, p. 22206, Jun 2011.

[14] C. Prohm and H. Stark, "Feedback control of inertial microfluidics using axial control forces," *Lab Chip,* vol. 14, pp. 2115-23, Jun 21 2014.

[15] K. W. Oh, K. Lee, B. Ahna and E. P. Furlani, "Design of pressure-driven microfluidic networks using electric circuit analogy," *Lab Chip*, vol. 12, pp. 515-545, Nov 22 2011.