

การออกแบบระบบไมโครฟลูอิดิกสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์
เพื่อวัดปริมาณ *E. coli*

DESIGN OF MICROFLUIDIC DEVICE FOR *E. coli* QUANTIFICATION
BY FLUORESCENCE DETECTION



เบญจพร เกียรติวงศ์วิช

BENJAPORN KIATWONGWANICH

สุทธิกานต์ เชิญศิริดำรงค์

SUTTHIKARN CHERNSIRIDUMRONG

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์ปีการศึกษา 2562

ภาควิชา วิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง การออกแบบระบบไมโครฟลูอิดิกสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิด
ฟลูออเรสเซนซ์เพื่อวัดปริมาณ *E. coli*

Design of Microfluidic Device for *E. coli* Quantification by
Fluorescence Detection

ผู้จัดทำ นางสาวเบญจพร เกียรติวงศ์วัฒน์ รหัสนักศึกษา 59010766

นางสาวสุทธิกานต์ เขียวศิริดำรงค์ รหัสนักศึกษา 59011430

ปริญญาานิพนธ์นี้ผ่านการตรวจสอบโดยอาจารย์ที่ปรึกษาแล้ว



(ดร.ตรีสุคนธ์ ตรีบุพชาติสกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปริญญานิพนธ์	การออกแบบระบบไมโครฟลูอิดิกสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพื่อวัดปริมาณ <i>E. coli</i>	
นักศึกษา	นางสาว เบญจพร เกียรติวงศ์วิช	59010766
	นางสาว สุทธิกานต์ เชิญศิริดำรงค์	59011430
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	วิศวกรรมชีวการแพทย์	
ปีการศึกษา	2562	
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์	ดร.ตรีสุคนธ์ ตรีบุพชาติสกุล	

บทคัดย่อ

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งซึ่งพบได้ทั่วไปในลำไส้ของมนุษย์ แต่การปนเปื้อนของแบคทีเรีย *E. coli* บางชนิดในน้ำ กลับเป็นปัญหาที่สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อทางด้านสุขภาพแก่มนุษย์ ปัจจุบันการทดลองเพื่อตรวจสอบปริมาณ *E. coli* ในแหล่งน้ำมีกระบวนการที่ซับซ้อนและใช้เวลานานในการทดสอบ คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณ *E. coli* ในแหล่งน้ำ โดยการสร้างไมโครฟลูอิดิก (microfluidic) สำหรับการวัดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาเอนไซม์ยับยั้งการออกแบบโดยโปรแกรมสามมิติ SOLIDWORKS 2018 ร่วมกับโปรแกรม ANSYS Student 2019 R3 ในการจำลอง (Simulation) พฤติกรรมการไหลของสารเพื่อเลือกรูปแบบที่มีประสิทธิภาพในการผสมสารที่ดีที่สุด และนำมาผลิตด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ Crealty3D LD-001 เพื่อขึ้นรูปเรซินแบบใสเป็นอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

การวัดค่าปริมาณ *E. coli* ด้วยปฏิกิริยาเอนไซม์ยับยั้งสามารถทำได้โดยอ้างอิงจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ β -D-glucuronidase (GUD) ซึ่งจัดเป็นไบโอมาร์คเกอร์ (Biomarker) ของ *E. coli* กับยับยั้ง 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG) และได้ผลิตภัณฑ์ (Product) ของปฏิกิริยา คือ 4-methyl-umbelliferone (4MU) ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 355 nm (Excitation wavelength 355 nm) จะมีคุณสมบัติเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ความยาวคลื่น 450 nm (Emission wavelength 450 nm) จึงทำให้สามารถวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเพื่อใช้ในการวัดปริมาณ *E. coli* ในตัวอย่างได้ โดยตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยค่า RGB จากแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือเพื่อใช้สำหรับศึกษาตัวอย่างในไมโครฟลูอิดิกและเปรียบเทียบผลการใช้งานกับเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน พบว่าค่า RGB และฟลูออเรสเซนซ์มีแนวโน้มแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย 4MU เช่นเดียวกับสมการความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ที่มีแนวโน้มแปรผันตรงกับ Enzyme activity ของ GUD จึงทำให้สามารถใช้ในการคำนวณย้อนกลับจากความสัมพันธ์ดังกล่าวเพื่อหาปริมาณ *E. coli* ในตัวอย่างได้

การตรวจวัดปริมาณ *E. coli* จากปฏิกิริยาเอนไซม์ร่วมกับการประยุกต์ใช้เครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์และไมโครฟลูอิดิก สามารถเพิ่มความสะดวกรวดเร็วในการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* ในตัวอย่างและช่วยลดต้นทุนของสารที่ใช้ทดสอบเมื่อเทียบกับวิธีการทั่วไปในห้องปฏิบัติการ ประกอบกับวิธีการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยค่า RGB สามารถใช้งานเป็นทางเลือกทดแทนฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน ทำให้เทคนิคการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* นี้สามารถเข้าถึงและใช้งานได้โดยบุคคลทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Design of Microfluidic Device for <i>E. coli</i> Quantification by Fluorescence Detection	
Student	Ms. Benjaporn Kiatwongwanich	59010766
	Ms. Sutthikarn Chemsiridumrong	59011430
Degree	Bachelor of Engineering	
Major	Electronics Engineering	
Program	Biomedical Engineering	
Academic Year	2019	
Project Advisor	Dr. Treesukon Treebupachatsakul	

Abstract

Escherichia coli is bacteria that is commonly found in human intestines. Contamination of *E. coli* in the water can cause significant health problems in human. Therefore, the technology for detecting *E. coli* in water sources is important in both the treatment and prevention of illness.

At present, the procedure to determine the amount of *E. coli* in water sources is complicated and time consuming; therefore, this research aims to develop a method to detect the amount of *E. coli* in water source by applying microfluidic technology along with fluorescence detection. The 3-D models of microfluidic device were created with SOLIDWORKS 2018. The most efficient design was chosen based on mixing performance, which could be observed with fluid flow simulation from Ansys Student 2019 R3. The microfluidic device was manufactured with transparent resin by 3-D printer, Creality3D LD-001. The biomarker enzyme, β -D-glucuronidase (GUD), in *E. coli* reacts with substrate 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG) releasing fluorescent product, 4-methyl-umbelliferone (4MU), which has excitation wavelength 355 nm and emission wavelength 450 nm. Fluorescence measurement with RGB values from mobile application was designed for studying samples in microfluidic device and the results were compared with standard fluorometers. The analysis has shown proportionality between RGB and fluorescence, which were both proportional to the concentration of the 4MU solution and enzyme activity of GUD as well. These trendline equations allow calculation between each value and thus finding the amount of *E. coli* in the sample.

This fluorescence detection from enzymatic reactions method can measure the amount of *E. coli* faster than the conventional method in the laboratory. Since it is applied with microfluidic technology. It also reduces the cost of the substance used for testing and the required experiment procedure. Additionally, using RGB values as an alternative to standard fluorometers making this technique conveniently accessible to public.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง การออกแบบระบบไมโครฟลูอิดิกสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพื่อวัดปริมาณ *E. coli* จะสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีไม่ได้ ถ้าไม่ได้รับความช่วยเหลือเป็นอย่างดี จาก ดร.ตรีศุคนธ์ ตรีบุพชาติสกุล อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิบูลย์ ปิยวัฒน์เมธา รศ.ดร.สี่อจิตต์ เพชรประสาน รวมถึงคณาจารย์ทุกท่าน และคุณณฤทธิ์ บุญให้เจริญ กรรมการผู้จัดการบริษัท เวแอม จำกัด ที่กรุณาสละเวลามาชี้แนะแนวทางการดำเนินงานวิจัย ให้คำปรึกษาและให้ความรู้ที่เกี่ยวกับการทำวิจัย ตลอดจนคอยสนับสนุนทางด้านอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ อีกทั้งติดตามเอาใจใส่ความคืบหน้าอยู่เสมอ คณะผู้จัดทำจึงขอขอบพระคุณอาจารย์และทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องไว้ ณ โอกาสนี้

นางสาว เบญจพร เกียรติวงศ์วัฒน์

นางสาว สุทธิกานต์ เชิญศิริดำรงค์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 สมมติฐานของการศึกษา	2
1.4 ขอบเขตของการศึกษา	2
1.5 ระยะเวลาในการดำเนินงาน	3
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 <i>E. coli</i>	4
2.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของ <i>E. coli</i>	4
2.1.2 การตรวจวัดปริมาณ <i>E. coli</i>	5
2.1.3 สารที่ใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณ <i>E. coli</i>	
ด้วยปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์	6
2.2 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	6
2.2.1 ข้อมูลเบื้องต้นของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	6
2.2.2 วัสดุในการสร้างไมโครฟลูอิดิก	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การคำนวณการไหลภายในไมโครฟลูอิดิก	10
2.3.1 พฤติกรรมการไหลภายในระบบไมโครฟลูอิดิก	10
2.3.2 การไหลแบบราบเรียบและการไหลแบบปั่นป่วน	10
2.3.3 จำนวนเลขเรย์โนลด์ (Reynolds Number)	11
2.3.4 ระเบียบวิธีไฟไนต์เอลิเมนต์ (Finite Element Analysis)	12
2.3.5 ระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics)	12
2.3.6 พลศาสตร์ของไหล (Fluid dynamic)	12
2.4 แสง	14
2.4.1 แสงและคุณสมบัติของแสง	14
2.4.2 ฟลูออเรสเซนซ์	16
2.4.3 ระบบสีของแสง	17
2.5 เทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ	18
2.5.1 ประเภทของเครื่องพิมพ์สามมิติ	18
2.5.2 การทำให้วัสดุเหลวในอ่างแข็งด้วยแสง (Vat Photopolymerization)	22
2.6 การวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์	23
2.6.1 ฟลูออโรมิเตอร์	23
2.6.2 โฟโตไดโอด	24
2.6.3 Color Grab	24
2.7 โปรแกรมสำหรับการออกแบบและคำนวณ	25
2.7.1 โปรแกรม SOLIDWORKS	25
2.7.2 โปรแกรม ANSYS	26
2.7.3 โปรแกรม MATLAB	27

2.8 อุปกรณ์อื่นๆ	28
2.8.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง	28
2.8.2 เวอร์เนีย	29
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	31
3.1 การออกแบบ	31
3.1.1 การสร้างโมเดลจำลองด้วย Computer Aided Design software	31
3.1.2 การจำลองการไหลด้วยด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational fluid dynamics)	33
3.2 การผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	35
3.3 การวัดฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4-methylumbelliferone (4MU)	39
3.4 การวัดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG	41
3.5 การออกแบบและผลิตเครื่องมือในการวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ	42
บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน	46
4.1 ผลการศึกษาการจำลองการไหลด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ	46
4.2 ผลการสร้างชิ้นงานอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	51
4.3 ผลการทดสอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	57
4.4 ผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU	60
4.5 ผลการทดลองการวัดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่าง เอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG	62
4.6 ผลการผลิตและใช้งานเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ	64
4.7 ผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue Value ใน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

RGB color model จากกล้องโทรศัพท์	65
4.7.1 ตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube	65
4.7.2 ตัวอย่างสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	68
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	72
5.1 อภิปรายผลการศึกษากาการจำลองการไหลด้วยด้วยระเบียบวิธี พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ	72
5.2 อภิปรายผลการสร้างแบบโมเดลจำลอง	72
5.3 อภิปรายผลการทดสอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	73
5.4 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU	74
5.5 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยา ระหว่างเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG	75
5.6 อภิปรายผลการผลิตและใช้งานเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วย กล้องโทรศัพท์มือถือ	75
5.7 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue Value ใน RGB color model จากกล้องโทรศัพท์	76
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	78
6.1 สรุปผลการวิจัย	78
6.2 ข้อเสนอแนะ	79
เอกสารอ้างอิง	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงแผนการดำเนินงานตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2562 จนถึง เดือนเมษายน 2563	3
3.1 แสดงปริมาณและความเข้มข้นของ 4MU และปริมาณของเมทานอล ในการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของ 4MU ที่ 10, 5, 2, 1 และ 0.1 μM	40
3.2 แสดงค่า Enzyme activity และปริมาณของ GUD ต่อปริมาณของฟอสเฟตบัพเฟอร์ ในการเจือจางให้ได้ค่า Enzyme activity ของ GUD ที่ 850, 425, 85 17 และ 1 U	42
4.1 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดจากเมทานอลด้วยโปรแกรม FLDigital	61
4.2 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ความเข้มข้นของ 4MU 0.1, 1, 2, 5 และ 10 μM	61
4.3 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์จากตัวอย่าง MUG-GUD ที่ Enzyme activity ของ GUD ที่ 1, 17, 85, 425, 850 และ 1700 $\mu\text{mol/ml/min}$	63
4.4 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์และค่า Blue value ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 4MU 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 μM ใน Microcentrifuge tube	66
4.5 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์และค่า Blue value ที่ความเข้มข้นของ 4MU 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 μM ในไมโครฟลูอิดิก	69

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ภาพจำลองของ <i>E. coli</i>	4
2.2 กราฟแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ เมื่อเทียบกับปริมาณ <i>E. coli</i> ในสารตัวอย่าง	5
2.3 โมเลกุลของ MUG	6
2.4 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	7
2.5 ปฏิกริยาการแข็งตัวของยูวีเรซิน	8
2.6 ยูวีเรซินที่ถูกนำมาใช้ในการพิมพ์งานสามมิติ	8
2.7 กาวตราข้าง	8
2.8 การเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของไซยาโนอะคริเลต	9
2.9 กาวซิลิโคน	9
2.10 ภาพจำลองการไหลแบบ laminar และ Turbulent flow ในท่อ	11
2.11 สถานะการไหลของของไหลภายในท่อขนาดไม่สม่ำเสมอ	13
2.12 สถานะการไหลของของไหลภายในท่อเพื่อพิสูจน์สมการแบร์นูลี	14
2.13 การสะท้อนของแสงบนวัตถุที่มีพื้นผิวแตกต่างกัน	16
2.14 การกระจายของแสงสีขาวเมื่อผ่านปริซึมรูปสามเหลี่ยม	16
2.15 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์	17
2.16 การผสมของสีในระบบ RGB	17
2.17 การผสมของสีในระบบ CMYK	18
2.18 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ VAT	18
2.19 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Material Jetting	19
2.20 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Bunder Jetting	19
2.21 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Material Extrusion	20
2.22 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Power Bed Fusion	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.23	การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Sheet Lamination	21
2.24	การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Direct Energy Deposition	21
2.25	องค์ประกอบและการทำงานของเครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP และ SLA	22
2.26	องค์ประกอบและการทำงานของฟลูออโรมิเตอร์	23
2.27	โฟโต้ไดโอดแบบซิลิกอน	24
2.28	แอปพลิเคชัน Color Grab	25
2.29	หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม SOLIDWORKS	25
2.30	หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม ANSYS	26
2.31	หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม MATLAB	27
2.32	กลไกการขยายภาพของเลนส์กล้องจุลทรรศน์	28
2.33	กล้องจุลทรรศน์	29
2.34	เวอร์เนียวาลิปเปอร์แบบทั่วไป	30
2.35	เวอร์เนียวาลิปเปอร์แบบดิจิทัล	30
3.1	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ A	32
3.2	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ B	32
3.3	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ C	32
3.4	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ D	32
3.5	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ E	33
3.6	โมเดลท่อนในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ F	33
3.7	เงื่อนไขขอบของโมเดล	34
3.8	การจัดวางชิ้นงานในโปรแกรม 3D Creator Slicer	36
3.9	เครื่องพิมพ์สามมิติ Creality3D LD-001 และองค์ประกอบ	36
3.10	โมเดลเจาะรู	37
3.11	โมเดลท่อนรูปตัว y	37
3.12	โมเดลชิ้นงานสามมิติอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อปิด	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.13 โมเดลชิ้นงานสามมิติอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อเปิด	38
3.14 การเจ็องสารละลายด้วยอโต้ปั๊ม	40
3.15 เครื่อง ESElog Fluorescence Detector	41
3.16 ภาพส่วนฐานที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018	43
3.17 ภาพส่วนฝาครอบที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018	43
3.18 ภาพส่วนฝาครอบฟิลเตอร์ที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018	44
3.19 ภาพเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่ประกอบสมบูรณ์ในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018	44
4.1 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล A	46
4.2 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล B	46
4.3 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล C	46
4.4 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล D	47
4.5 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล E	47
4.6 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล F	47
4.7 ภาพแสดงค่าของ Mass Fraction ของแถบสี	47
4.8 ลักษณะการเจาะของท่อแบบรูปสามเหลี่ยม	48
4.9 ลักษณะการเจาะของท่อแบบรูปวงกลม	49
4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ A	49
4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ B	50
4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ C	50
4.13 แบบจำลองท่อรูปตัว Y และท่อขนาดต่างๆ	51
4.14 การทดลองพิมพ์ท่อขนาดเล็ก	52
4.15 แบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1	52
4.16 ไฟล์ที่ถูกดัดแปลงสำหรับการพิมพ์สามมิติ	52
4.17 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1	53
4.18 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 2	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.19	แบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3	54
4.20	ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3	54
4.21	ภาพไมโครฟลูอิดิกที่มีการตั้งค่า first layer time 120 วินาที และ layer time 10 วินาที	55
4.22	ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 4	55
4.23	ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 5	56
4.24	ภาพลักษณะการประกอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	56
4.25	ภาพอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกหลังการประกบกระจกสไลด์	57
4.26	ภาพการวัดด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ โดยทางด้านซ้ายเป็นการวัดความลึกของท่อ และด้านขวาเป็นการวัดความหนาของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	57
4.27	ภาพท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ไม่สมบูรณ์เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x	58
4.28	ภาพท่อในไมโครฟลูอิดิกที่สมบูรณ์เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x	58
4.29	ภาพการทดสอบการรั่วไหลของท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ใช้เรซินเป็นตัวเชื่อมประสานระหว่างกระจกและชิ้นงานเรซิน	59
4.30	ภาพการทดสอบการรั่วไหลของท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ใช้ซิลิโคนเป็นตัวเชื่อมประสานระหว่างกระจกและชิ้นงานเรซิน	59
4.31	ภาพการทดสอบการไหลผสมของสารละลายสองสีในท่อของไมโครฟลูอิดิก	60
4.32	กราฟของค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดจากเมทานอล	60
4.33	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้น 4MU และค่าฟลูออเรสเซนซ์	62
4.34	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Enzyme activity ของ GUD และค่าฟลูออเรสเซนซ์	63
4.35	ภาพแสดงการจัดวางตำแหน่งของเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์	64
4.36	ภาพแสดงการจัดวางตำแหน่งของกล้อง	65
4.37	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่าง 4MU ใน Microcentrifuge tube กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	66
4.38	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 4MU กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 4MU กับ Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่าง 4MU ใน Microcentrifuge tube	68
4.40 การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ 4MU ตัวอย่างที่ 5 ใน Microcentrifuge tube	69
4.41 การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ 4MU ตัวอย่างที่ 5 ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	69
4.42 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่างสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	70
4.43 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 4MU กับ Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่าง 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก	71



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งซึ่งพบได้ทั่วไปในลำไส้ของมนุษย์ แต่การปนเปื้อนของแบคทีเรีย *E. coli* บางชนิดในน้ำ กลับเป็นปัญหาที่สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อทางด้านสุขภาพแก่มนุษย์และสัตว์อย่างมาก ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบปริมาณ *E. coli* ในแหล่งน้ำต่างๆ และทำให้ *E. coli* กลายเป็นแบคทีเรียอันดับต้นๆ ที่ถูกนำมาใช้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นเทคโนโลยีในการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* จึงมีความสำคัญทั้งในด้านการศึกษาทดลอง และการนำผลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ เพื่อการรักษา และป้องกันผลกระทบที่ตามมา

ในปัจจุบัน การทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบหรือตรวจวัดปริมาณ *E. coli* มีวิธีการที่ซับซ้อนหลายขั้นตอนและมีความยุ่งยาก ตัวอย่างเช่น การเจือจางตัวอย่างด้วยวิธี Serial dilutions แล้วจึงทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ป่มในอุณหภูมิประมาณ 7-50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ *E. coli* ซึ่งวิธีการเหล่านี้จะต้องทำในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ทำให้ใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงรวมทั้งใช้ทรัพยากรจำนวนมาก เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ อุปกรณ์การเลี้ยงเชื้อ

คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทำการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* โดยใช้ปฏิกิริยาเอนไซม์ β -D-glucuronidase (GUD) ซึ่งเป็นไบโอมาร์คเกอร์ (Biomarker) ของ *E. coli* และซับสเตรต 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG) เกิดผลิตภัณฑ์ (product) 4-methyl-umbelliferone (4MU) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สามารถตรวจวัดผ่านฟลูออโรมิเตอร์ โดยการหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของ 4MU จากสมการความสัมพันธ์นี้สามารถคำนวณกลับเพื่อย้อนหาปริมาณ *E. coli* ในสารตัวอย่างได้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังได้นำเอาเทคโนโลยีการออกแบบการไหลของของไหลในหน่วยไมโครลิตรบนแผ่นชิพ หรือการออกแบบไมโครฟลูอิดิก มาใช้ในการควบคุมการไหลของ β -D-glucuronidase และ 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide โดยใช้การออกแบบผ่านโปรแกรม SOLIDWORKS 2018 และทำการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติประเภท DLP รุ่น Creality3D LD-001 โดยใช้เรซินแบบใสในการขึ้นรูปไมโครฟลูอิดิก ซึ่งมีราคาถูก สามารถหาได้ง่าย ค่าฟลูออเรสเซนซ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเอนไซม์และซับสเตรตสามารถวัดได้จากแอปพลิเคชันบนอุปกรณ์มือถือ จึงทำให้ผู้ใช้งานทั่วไปสามารถเข้าถึงและใช้งานได้ง่าย ซึ่งการวัดแบบใหม่นี้จะสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากต่างๆลงได้ เมื่อเทียบกับการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* ในปัจจุบัน

การนำความรู้ด้านปฏิกิริยาเอนไซม์และซับสเตรต และเทคโนโลยีไมโครฟลูอิดิกมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* นอกจากจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการแล้ว ยังช่วยลดระยะเวลาการทำงานของผู้ทำการทดลอง ช่วยลดข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ลดต้นทุนของสารที่ใช้ เนื่องจากวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สามารถหาได้ทั่วไป จึงทำให้ทุกคนสามารถเข้าถึงและใช้งานได้ รวมถึงสามารถนำไปต่อยอดเพื่อการทดลองแบบอื่นๆ ได้ในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- ออกแบบระบบไมโครฟลูอิดิกโดยใช้โปรแกรม SOLIDWORKS 2018 และโปรแกรม ANSYS Student 2019 R3 สำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพื่อวัดปริมาณ *E. coli*
- สร้างไมโครฟลูอิดิกเพื่อเป็นเครื่องมือในการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเอนไซม์ไปโอมาร์คเกอร์ (biomarker) β -D-glucuronidase (GUD) จาก *E. coli* และซับสเตรต 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG)
- เปรียบเทียบการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากการประยุกต์ใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือเพื่อหาค่า RGB กับฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน
- เปรียบเทียบสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ 4MU และค่า enzyme activity จากการใช้ฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน (ESElog Fluorescence Detector) และไมโครฟลูอิดิกที่สร้างขึ้น

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

- ระบบไมโครฟลูอิดิกสามารถนำมาใช้ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพื่อวัดปริมาณ *E. coli*
- สามารถสร้างเครื่องมือในการวัดฟลูออเรสเซนซ์จากไมโครฟลูอิดิกสำหรับใช้วัดปริมาณ *E. coli* จาก Enzyme activity ของไปโอมาร์คเกอร์ β -D-glucuronidase (GUD) ได้
- ค่าฟลูออเรสเซนซ์สามารถวัดได้ด้วยค่า RGB จากแอปพลิเคชันผ่านกล้องโทรศัพท์มือถือได้

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

เป็นการวิจัยเพื่อศึกษาและประยุกต์ใช้ความรู้ทั้งในด้านวิศวกรรม และชีวเคมี ในการออกแบบและสร้างไมโครฟลูอิดิกสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาเอนไซม์ซับสเตรตเพื่อวัดปริมาณ *E. coli* จากตัวอย่าง โดยมีระยะเวลาการดำเนินงานตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2562 จนถึงเดือนเมษายน 2563 และดำเนินงาน ณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.5 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ตารางที่ 1.1 แสดงแผนการดำเนินงานตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2562 จนถึง เดือนเมษายน 2563

แผนการดำเนินงาน	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
การศึกษาความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับวิธีการในการวัดปริมาณ <i>E. coli</i> และกระบวนการต่างๆในห้องปฏิบัติการ									
ทดสอบปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจาก 4MU ในห้องปฏิบัติการ									
การศึกษาโปรแกรม รูปแบบและวิธีการต่างๆในการออกแบบไมโครฟลูอิดิก									
ทดลองออกแบบไมโครฟลูอิดิก									
ทดลองการไหลของของไหลภายในไมโครฟลูอิดิกด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์									
ปรับปรุงรูปแบบโมเดลให้เหมาะสมกับการใช้งานและการสร้างชิ้นงานไมโครฟลูอิดิกด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ									
ทดลองสร้างไมโครฟลูอิดิกด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ									
ปรับปรุงและแก้ไขปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสร้างไมโครฟลูอิดิกด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ									
ทดสอบปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์ระหว่าง GUD และ MUG ในห้องปฏิบัติการ									
ทดสอบและทดลองใช้งานไมโครฟลูอิดิกที่เสร็จสมบูรณ์									
แก้ไขปรับปรุงชิ้นงานที่ได้จากเครื่องพิมพ์สามมิติให้เหมาะสมกับการใช้งาน									
สรุปผลและจัดทำรายงาน									

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

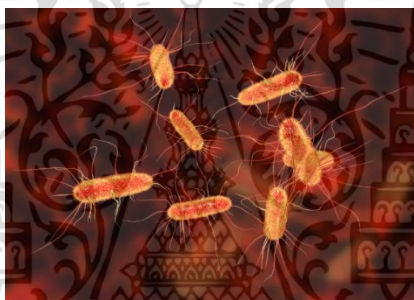
บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 *E. coli*

2.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของ *E. coli*

E. coli หรือ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ซึ่งมีลักษณะคือ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีอากาศ แบคทีเรีย *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น สามารถพบได้ในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หรือปนเปื้อนอยู่ในอุจจาระ ดินและแหล่งน้ำ



รูปที่ 2.1 ภาพจำลองของ *E. coli*

E. coli ที่อยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่บริโภคเข้าไป โดยไม่สร้างอันตรายหรือก่อโรคให้กับคนและสัตว์ แต่ถ้าหากแบคทีเรีย *E. coli* ผ่านเข้าสู่ระบบอื่นๆของร่างกาย จะก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่างๆได้ รวมถึงแบคทีเรีย *E. coli* บางสายพันธุ์ที่มีกลไกการก่อโรค และสามารถทำให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ รวมถึงโรคอุจจาระร่วง

E. coli ที่สามารถก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ จะถูกแบ่งเป็น 4 ประเภท ตามกลไกการเกิดโรคและอาการของผู้ป่วย ได้แก่

Enterotoxigenic E. coli (ETEC) เป็นเชื้อที่พบในแหล่งน้ำที่ปนเปื้อน ก่อนจะปนเปื้อนในอาหาร โดยเชื้อประเภทนี้จะสร้างสารพิษ Enterotoxin ที่กระตุ้นให้เกิดการหลั่งของของเหลว และทำให้อุจจาระร่วงแบบเฉียบพลัน

Enterohemorrhagic E. coli (EHEC) เป็นเชื้อที่สามารถสร้างสารพิษ Shigatoxin ซึ่งก่อให้เกิดอาการอุจจาระร่วงรุนแรง ถ่ายเป็นเลือด และอาจก่อให้เกิดอาการไตวายเฉียบพลัน โดยเชื้อประเภทนี้สามารถพบได้ในเนื้อดิบต่างๆ นมหรือน้ำผลไม้ดิบ และผักบางชนิด

Enteropathogenic E. coli (EPEC) เป็นเชื้อที่มีการแพร่ระบาดทั้งในคนและสัตว์หลายชนิด มักเกิดในเด็ก โดยจะทำให้มีอาการระว่งเป็นน้ำหรือเลือด รวมถึงเกิดอาการขาดน้ำ ซึ่งคล้ายกับอาการที่เกิดจากสารพิษ Shigatoxin มักพบในเชื้อประเภทนี้ในเนื้อสัตว์ดิบ และจากแหล่งน้ำต่างๆ

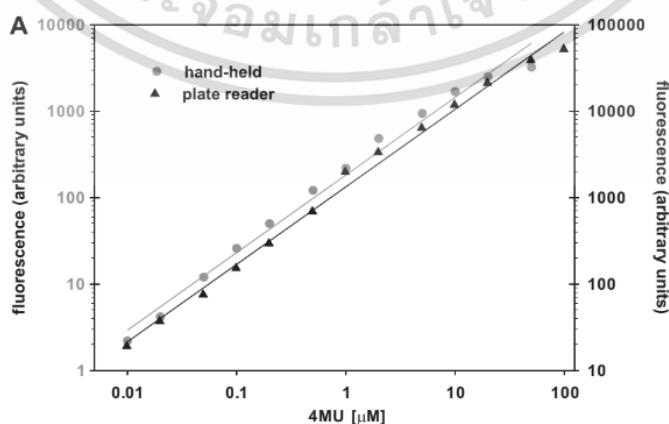
Enteroinvasive E. coli (EIEC) เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการอุจจาระร่วงแบบมีมูกหรือเลือด มีไข้ และทำให้เกิดอาการคล้ายโรคบิดมีตัว (Bacillary dysentery) แหล่งที่มายังไม่มีการระบุชัด แต่มีความเกี่ยวข้องกับอาหารที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

2.1.2 การตรวจวัดปริมาณ *E. coli*

ปริมาณ *E. coli* ในแหล่งต่างๆเป็นตัวชี้วัดถึงสุขลักษณะของน้ำและอาหาร เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณภาพการผลิต กระบวนการต่างๆในการทำ ดังนั้นการวัดปริมาณของ *E. coli* เพื่อประเมินคุณลักษณะดังกล่าวจึงมีความสำคัญ

วิธีพื้นฐานที่มีความนิยมมากที่สุดวิธีหนึ่งก็คือ การนำตัวอย่างเชื้อมาเจือจางในอัตราส่วนที่เหมาะสม ก่อนจะนำไปเพาะเลี้ยงลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งที่เตรียมไว้ บ่มในอุณหภูมิประมาณ 37-50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18-48 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำออกมาเพื่อนับจำนวนโคโลนีของเชื้อบนจานอาหาร ก่อนจะคำนวณไปเป็นปริมาณของเชื้อ ซึ่งวิธีนี้มีขั้นตอนที่ค่อนข้างเยาะและใช้เวลานาน อีกทั้งยังมีความผิดพลาดสูง

อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* สามารถทำได้อีกหลากหลายวิธี หนึ่งในวิธีที่ค่อนข้างมีความสะดวกก็คือ การวัดปริมาณ *E. coli* โดยอ้างอิงจากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ β -D-glucuronidase ใน *E. coli* และ 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide ซึ่งเป็นซับสเตรตในการทำให้เกิด 4-methyl-umbelliferone ซึ่งมีคุณสมบัติในการเรืองแสง และสามารถตรวจวัดได้จากค่าฟลูออเรสเซนซ์ จากนั้นจึงอ้างอิงจากกราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *E. coli* และค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ แล้วจึงคำนวณย้อนกลับจากกราฟเพื่อหาปริมาณ *E. coli* [1] ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กราฟแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ เมื่อเทียบกับปริมาณ *E. coli* ในสารตัวอย่าง [1]

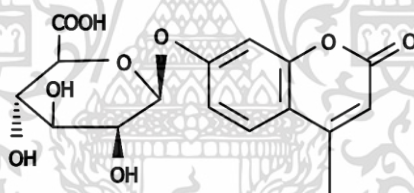
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งการตรวจวัด *E. coli* ด้วยวิธีดังกล่าว ให้ค่าผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงเมื่อเปรียบเทียบกับการวัดด้วยวิธีการทั่วไป แต่ใช้เวลาในการตรวจวัดที่น้อยกว่า และสามารถทำได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับขั้นตอนปกติ

2.1.3 สารที่ใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* ด้วยปฏิกิริยาฟลูออเรสเซนซ์

β -D-glucuronide หรือ GUD เป็นส่วนของเอนไซม์ที่สังเคราะห์มาจากยีน *uidA* ใน *E. coli* เป็นเอนไซม์ที่มีสภาพเป็นกรด สามารถเร่งการสลายตัวของ Glucuronides ได้ มีความไว สามารถละลายน้ำ มีคุณสมบัติสามารถย่อยยับสเตรต 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์ที่เรืองแสงได้ และสามารถตรวจจับได้ด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ จึงถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณเชื้อ *E. coli* [2]

4-methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide หรือ MUG เป็นซับสเตรตที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณ *E. coli* โดยเมื่อเอนไซม์ GUD จาก *E. coli* เข้ามา จะย่อยสลายในส่วนของ β -D-glucuronide ไป เหลือเพียงซับสเตรต 4-methylumbelliferyl หรือ 4MU ซึ่งมีคุณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยปริมาณ 4MU จะแปรผันโดยตรงกับค่าความสว่างของฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งสามารถทำให้คำนวณปริมาณ *E. coli* ในสารตัวอย่างได้



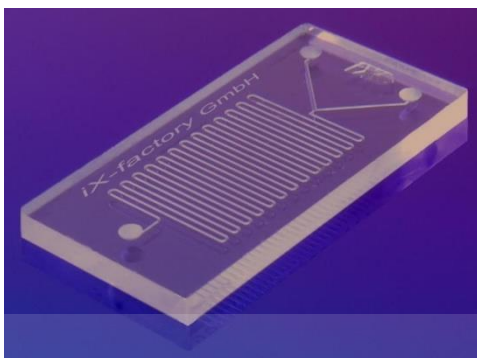
รูปที่ 2.3 โมเลกุลของ MUG

2.2 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

2.2.1 ข้อมูลเบื้องต้นของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก (Microfluidic device) คืออุปกรณ์ที่นำหลักการการไหลในระบบขนาดเล็ก (Microfluidics system) มาประยุกต์ใช้งานจัดการของไหล [3] เช่น ของเหลว หรือ ก๊าซ ที่มีปริมาณน้อยมาก ให้ไหลผ่านร่องหรือท่อที่มีขนาดเล็ก โดยมีความกว้างในระดับไมโครเมตร หากใหญ่เป็นระดับมิลลิเมตรจะเรียกว่าอุปกรณ์มหัพลูอิดิก ในช่วงเริ่มต้นของการพัฒนา อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกถูกสร้างขึ้นจากวัสดุฐานรองเช่น ซิลิกอน และ แก้ว ด้วยวิธีการสร้างลายวงจรด้วยแสง (photolithography) และ แกะสลัก (etching) แต่กระบวนการผลิตมีราคาสูงและไม่ยืดหยุ่น ภายหลังนักวิจัยส่วนใหญ่จึงหันมาสนใจสร้างและพัฒนาอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกในพอลิเมอร์ด้วยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี Soft lithography ซึ่งใช้วิธีการหล่อจากแม่แบบแทน [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

วิทยาการเกี่ยวกับไมโครฟลูอิดิกถูกนำไปใช้ศึกษาอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น การวินิจฉัยทางการแพทย์ การนำส่งยา (Drug delivery) การตรวจสอบสิ่งแวดลอม อวัยวะเทียมบนชิป การเพาะเลี้ยงเซลล์ เครื่องมือตรวจสอบการแสดงออกของยีน (DNA Microarrays) เป็นต้น จุดเด่นหลักของการนำอุปกรณ์ฟลูอิดิกมาประยุกต์ใช้คือ สารที่ใช้งานมีปริมาณน้อยมากเนื่องจากท่อและอุปกรณ์มีขนาดเล็ก จึงไม่สิ้นเปลืองในกรณีที่ต้องใช้สารเคมีราคาแพง อีกทั้งยังตรวจวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากกระบวนการและปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้นเร็วกว่าเดิม อุปกรณ์ขนาดเล็กยังช่วยในเรื่องความสะดวกในการใช้งาน กะทัดรัด พกพาได้ เนื่องจากต้นทุนการผลิตในปัจจุบันมีราคาต่ำลงจึงสามารถหาได้ง่าย และเหมาะสมกับการใช้งานทั่วไป อีกทั้งสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำหลังทำความสะอาด ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายของอุปกรณ์ในการทำงานได้

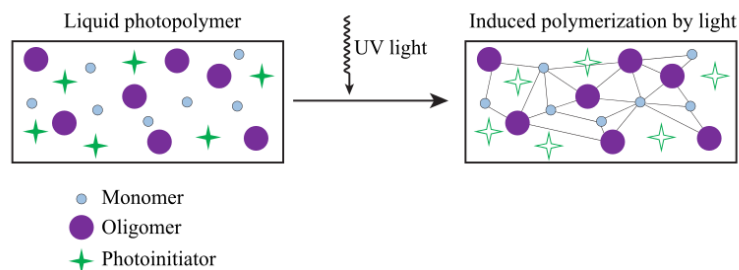
ถึงแม้การใช้งานอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกในอุตสาหกรรมจริงจะยังมีจำกัดเพราะความยุ่งยากในการผลิต แต่จากการใช้งานในห้องปฏิบัติการในงานวิจัยทั้งหลายได้ชี้ให้เห็นว่าอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกเป็นเทคโนโลยีที่มีศักยภาพซึ่งสามารถพัฒนาต่อยอดไปสู่การใช้งานด้านอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลายมากขึ้นในอนาคต

2.2.2 วัสดุในการสร้างไมโครฟลูอิดิก

การสร้างไมโครฟลูอิดิกโดยใช้เครื่องพิมพ์สามมิตินั้น สามารถพิมพ์รูปแบบโมเดลออกมาได้เพียงครั้งเดียวด้วยข้อจำกัดของเครื่อง ดังนั้นจึงต้องมีการนำไปประกบกับแผ่นวัสดุอื่นเพื่อทำให้ท่อภายในไมโครฟลูอิดิกเป็นท่อบีบ โดยการพิมพ์และประกบวัสดุนั้นจะต้องใช้วัสดุที่หลากหลาย [5] ได้แก่

1. Light-activated resin หรือ Photopolymer เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพหรือเคมีเมื่อได้รับแสง อย่างเช่น ยูวีเรซิน (UV resin) ที่เมื่อได้รับพลังงานจากแสง UV จะทำให้เกิดการ cross-linking ของโมเลกุลภายในและแข็งตัว [6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ปฏิกริยาการแข็งตัวของยูวีเรซิน [7]

ยูวีเรซินจะมีข้อดีต่างเรซินทั่วไปตรงที่สามารถเกิดการแข็งตัวได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา รวมถึงสภาพแวดล้อมภายนอกมีผลกระทบที่น้อยกว่าต่อการแข็งตัวของ resin ทำให้ เรซินประเภทนี้ ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการพิมพ์สามมิติ

การนำยูวีเรซินมาใช้ในการพิมพ์สามมิตินั้นจะถูกปรับสูตรให้มีความเหมาะสมกับการพิมพ์ โดยจะมีการเติมสารอื่นๆอย่างเช่น สารจำพวก Non-polymeric เพื่อป้องกันการหดตัวของรูปพิมพ์จนทำให้ชิ้นงานตกจากฐาน



รูปที่ 2.6 ยูวีเรซินที่ถูกนำมาใช้ในการพิมพ์งานสามมิติ

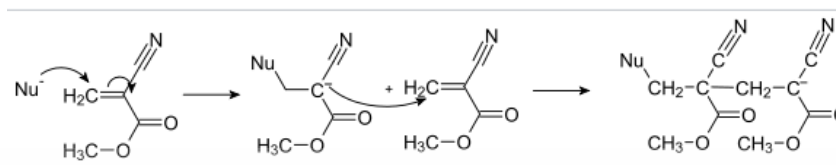
2. กาวตราช้าง หรือ Super glue เป็นกาวที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารประเภทไซยาโนอะคริเลต ซึ่งสารนี้มีความสามารถในการสร้างพันธะแบบ Thermosetting ระหว่างพื้นผิวของวัสดุหลายๆประเภทได้ จึงถูกนำมาใช้ในการยึดติดพื้นผิวของวัสดุเข้าด้วยกัน [8]



รูปที่ 2.7 กาวตราช้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในโครงสร้างของไซยาโนอะคริเลตจะประกอบไปด้วยสายโซ่สั้นๆที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ เซชันกลายเป็นสายโซ่ยาวได้อย่างรวดเร็ว โดยจะมีน้ำเข้ามากระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาทำให้เกิด Anion และเข้าเชื่อมกับพันธะตัวถัดไปเรื่อยๆ



รูปที่ 2.8 การเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชันของไซยาโนอะคริเลต [8]

ในการใช้งานควรทาลงบนพื้นผิวให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ เนื่องจากยิ่งบางอัตราเร็วในการสร้างพันธะจะยิ่งสูง และทำให้ความแข็งแรงของพันธะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆด้วย อย่างเช่น ประเภทพื้นผิวของวัสดุ, อุณหภูมิ และความชื้น

3. ซิลิโคน เป็นตัวเชื่อมประสานที่มีแกนหลักประกอบไปด้วยอะตอมของซิลิกอนและออกซิเจน จึงทำให้มีคุณสมบัติกันน้ำได้ดี มีความเสถียร ความเป็นพิษต่ำ ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาและอุณหภูมิสูงได้ จึงทำให้นิยมนำมาใช้งานอย่างแพร่หลาย [9]

ซิลิโคนสามารถนำไปใช้งานกับวัสดุได้หลากหลายประเภท เช่น พลาสติก, โลหะ หรือแก้ว อย่างไรก็ตามการใช้งานซิลิโคนนั้น ต้องใช้เวลาที่ค่อนข้างนานในการรอให้ซิลิโคนแห้งตัวและยึดติดอย่างแน่นหนา กับพื้นผิวของวัสดุ อย่างน้อยประมาณ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม



รูปที่ 2.9 กาวซิลิโคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การคำนวณการไหลภายในไมโครฟลูอิดิก

2.3.1 พฤติกรรมการไหลภายในระบบไมโครฟลูอิดิก

จากข้อมูลเบื้องต้นจะพบว่าพฤติกรรมการไหลในท่อขนาดเล็กนั้นแตกต่างจากการไหลของของไหลในท่อขนาดใหญ่ (Macro-scales) ปัจจัยที่ส่งผลต่อการไหลในระบบไมโครฟลูอิดิกคือคุณสมบัติของของเหลว อนุภาคของของเหลวในท่อขนาดใหญ่ก็มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับขนาดของท่อ การทำปฏิกิริยากันระหว่างอนุภาคจึงไม่ส่งผลต่อการไหลโดยรวมของของไหล ในขณะที่อนุภาคอาจส่งผลต่อการไหลโดยรวมในท่อขนาดเล็กเพราะท่อที่มีขนาดใกล้เคียงกับอนุภาค [10]

ในระบบท่อขนาดใหญ่แรงเฉื่อยจากแรงโน้มถ่วงจะเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการไหล แต่ในระบบท่อขนาดเล็ก แรงเฉื่อยจะส่งผลน้อยลง แรงตึงผิว แรงเสียดทาน และแรงหนืดจะเป็นปัจจัยหลักแทน อัตราส่วนระหว่างแรงเฉื่อยและแรงหนืดบ่งบอกถึงตัวเลขของเรย์โนลด์ซึ่งชี้ให้เห็นถึงพฤติกรรมการไหลว่าโดยทั่วไปแล้วในระบบขนาดเล็กจะมีตัวเลขของเรย์โนลด์ต่ำกว่า

ลักษณะทางกายภาพของท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกก็เป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อการไหล ภายในท่อขนาดเล็ก หากอัตราส่วนระหว่างพื้นผิวต่อของเหลว และ อัตราส่วนระหว่างความยาวของท่อต่อพื้นที่หน้าตัดท่อสูงขึ้น ความต้านทานต่อการไหลภายในท่อขนาดเล็กก็จะสูงขึ้นแล้วจึงส่งผลให้ความเร็วในการไหลลดลงตามไปด้วย [11]

ในวิทยานิพนธ์นี้ใช้อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกเพื่อเป็นอุปกรณ์สำหรับศึกษาผลิตภัณฑ์ซึ่งได้จากการผสมของเหลวสองชนิดซึ่งเป็นสารละลายเอานโซมและซัสเตอเรต อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่ใช้เพื่อการผสมสารสามารถเรียกได้ว่า Micromixer พฤติกรรมการผสมของของสารภายในท่อขนาดเล็กของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ Passive mixer ที่ไม่ใช้แรงกระตุ้นจากภายนอกมักเป็นไปได้ยากเพราะการไหลโดยทั่วไปเป็นแบบราบเรียบ ของเหลวในท่อจากทางเข้าทั้งสองจึงมักไหลขนานกัน การผสมกันของสารจึงอาศัยการแพร่เพื่อผสมให้สารเป็นเนื้อเดียว แต่ก็มีการพัฒนาอุปกรณ์แบบ Active mixer ซึ่งใช้การกระตุ้นจากอุปกรณ์ภายนอกเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการไหล เช่น สนามไฟฟ้า ไมโครปั๊ม (Micro pump) เป็นต้น ทำให้ของไหลผสมกันได้ดีมีประสิทธิภาพกว่าเดิม แต่ก็มีคามยุ่งยากในการผลิตและมีค่าใช้จ่ายสูงชันด้วยเช่นกัน

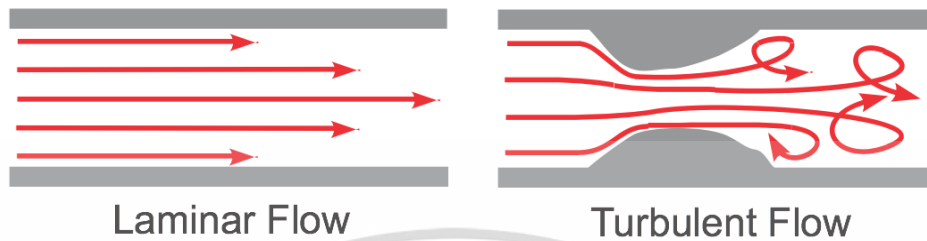
ปัจจัยที่เกี่ยวข้องเหล่านี้ทำให้การออกแบบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่เหมาะสมกับการใช้งานมีความซับซ้อน จึงมีการใช้การจำลองด้วยคอมพิวเตอร์เข้ามาเพื่อทำนายพฤติกรรมการไหลในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกก่อนการผลิตขึ้นงานต้นแบบ

2.3.2 การไหลแบบราบเรียบและการไหลแบบปั่นป่วน

การไหลแบบราบเรียบ (Laminar flow) คือรูปแบบการไหลที่อนุภาคของของไหลเคลื่อนที่อย่างเป็นระเบียบ อนุภาคของของไหลเคลื่อนที่เป็นเส้นตรง ขนานกันไปเป็นชั้น ๆ ไม่มีการผสมกันระหว่างชั้นของไหล ลักษณะการไหลแบบนี้โดยทั่วไปเกิดขึ้นกับของไหลที่มีความหนืด (Viscosity) สูงและไหลช้า มีจำนวนเลขเรย์โนลด์ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในทางตรงกันข้าม การไหลแบบปั่นป่วน (Turbulent flow) คือการไหลที่ไม่เป็นระเบียบ โดยทั่วไปเกิดขึ้นกับของไหลที่มีค่าความหนืด (Viscosity) ต่ำและไหลด้วยความเร็วสูง รูปแบบการไหลของของไหลมีทิศทางและความเร็วที่ไม่แน่นอน และมีการผสมกันระหว่างชั้นของไหลในขณะเคลื่อนที่



รูปที่ 2.10 ภาพจำลองการไหลแบบ laminar และ Turbulent flow ในท่อ

2.3.3 จำนวนเลขเรย์โนลด์ (Reynolds Number)

จำนวนเลขเรย์โนลด์เป็นสัดส่วนของแรงเฉื่อย (Inertial force) กับแรงหนืด (Viscous force) ใช้ในการอธิบายแบ่งลักษณะการไหลของของเหลวที่แตกต่างกัน เช่นแบบราบเรียบ (Laminar flow) หรือไหลแบบปั่นป่วน (Turbulent flow) กรณีจำนวนเลขเรย์โนลด์ของการไหลที่มีค่าต่ำ แสดงว่าแรงของความหนืดจะมีอิทธิพลต่อการเคลื่อนไหวของของเหลว ทำให้การไหลมีลักษณะราบเรียบ (Laminar) ถ้าจำนวนเลขเรย์โนลด์ของการไหลที่มีค่าสูง แสดงว่าแรงของความเฉื่อยจะมีอิทธิพลต่อการไหล ทำให้การไหลเป็นแบบปั่นป่วน (Turbulent) และจะผลิตการหมุนวนแบบก้ำก๋อ ซึ่งทำให้การไหลไม่เสถียร

สำหรับการไหลในท่อ สมการของตัวเลขเรย์โนลด์ถูกกำหนดด้วยสมการที่ 2.1

$$Re = \frac{\rho V D_h}{\mu} \quad (2.1)$$

โดยที่ ρ คือ ความหนาแน่นของของเหลว

V คือ ความเร็วเฉลี่ยของของไหลที่เข้ามา

D_h คือ เส้นผ่านศูนย์กลางกลางของท่อทางไฮดรอลิก

μ คือ ความหนืดของของเหลว

หาก Re อยู่ในช่วง 0 -2300 สภาพการไหลเป็นแบบ Laminar Flow

Re อยู่ในช่วง 2301 -4000 สภาพการไหลเป็นแบบ Transition Region

Re มากกว่า 4000 สภาพการไหลเป็นแบบ Turbulent Flow

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ระเบียบวิธีไฟไนต์เอลิเมนต์ (Finite Element Analysis)

คือวิธีการทางคณิตศาสตร์ซึ่งถูกนำมาประยุกต์เขียนเป็นโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อใช้คำนวณแก้ปัญหาทางวิศวกรรม โดยในการวิจัยนี้ใช้เพื่อวิเคราะห์การไหลในท่อไมโครฟลูอิดิก หลักการของ FEA คือการแบ่งชิ้นงานขนาดใหญ่ออกเป็นองค์ประกอบย่อยขนาดเล็กๆ เรียกว่า Element โดยแต่ละ Element จะมีการกระจายค่าตัวแปรแตกต่างกันทำให้แต่ละตำแหน่งมีผลลัพธ์จากการคำนวณต่างกัน ในแต่ละ Element จะมีจุด Node อยู่ที่มีมุม ซึ่งเป็นจุดที่โปรแกรมจะใช้คำนวณหาผลลัพธ์ ดังนั้นหากจุด Node มีจำนวนมาก แม้จะได้การคำนวณที่แม่นยำสูงขึ้นแต่ก็ต้องใช้เวลาในการคำนวณและสมรรถนะของคอมพิวเตอร์มาก

ขั้นตอนในการวิเคราะห์ FEA จะเป็นไปตามนี้

1. CAD Geometry คือการเขียนหรือนำเข้าไฟล์ CAD ที่ต้องการวิเคราะห์เข้ามา
2. กำหนดสมการสำหรับการวิเคราะห์ กำหนดเงื่อนไขขอบเขต (Boundary Condition)
3. Meshing คือการแบ่งชิ้นงานออกเป็นชิ้นส่วนเรขาคณิตเล็กๆสำหรับการวิเคราะห์
4. การแก้หาผลลัพธ์โดยอาศัยระเบียบวิธีทำซ้ำ (Iteration) และการกำหนดการลู่เข้าหาผลเฉลย โดยผลลัพธ์ที่ได้จะแสดงในลักษณะของเฉดสีเพื่อบอกว่าตำแหน่งนั้นๆมีค่ามากหรือน้อย และจะมีแถบสีกำกับเพื่อบอกว่าสีใดแสดงถึงค่าเท่าไร โดยค่าที่ได้ขึ้นอยู่กับรูปแบบที่ใช้คำนวณ
5. การวิเคราะห์ผลลัพธ์

2.3.5 ระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational Fluid Dynamics)

ระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ คือกลศาสตร์ของไหลที่ใช้กระบวนการเชิงตัวเลขและขั้นตอนวิธี (Algorithm) ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการไหลของของไหล เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หรือคาดการณ์ผลของของไหลเมื่อไหลผ่านวัตถุที่สนใจ การวิจัยนี้ใช้ระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณเพื่อศึกษาพฤติกรรมผสมของของไหลสองประเภทในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก คอมพิวเตอร์จะถูกนำมาใช้เพื่อทำการคำนวณก่อนที่จะสร้างแบบจำลองการทำงานปฏิกิริยาของของไหลและก๊าซต่อขอบผิวซึ่งกำหนดโดยสภาวะของขอบเขต พื้นฐานของระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ คือ สมการนาเวียร์-สโตกส์ซึ่งคำนวณผลของการไหลจาก Mesh หนึ่งไปยังอีก Mesh หนึ่ง เนื่องจากการจำลองและศึกษาด้วยคอมพิวเตอร์จึงนิยมนำวิธีการนี้มาใช้ในกระบวนการออกแบบอุปกรณ์ต้นแบบเพื่อลดเวลาและต้นทุน

2.3.6 พลศาสตร์ของไหล (Fluid dynamic)

สำหรับการคำนวณการไหลของของไหล จะพิจารณาโดยให้ของไหลเป็นแบบอุดมคติ โดยมีลักษณะดังนี้

1. มีการไหลที่สม่ำเสมอ โดยมีความเร็วของทุกอนุภาคบนพื้นผิวหน้าตัดเดียวกันมีค่าเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2.เป็นการไหลแบบราบเรียบ โดยทุกอนุภาคเคลื่อนที่เป็นเส้นตรง ไหลเป็นชั้นโดยไม่มีการผสมกัน
- 3.เป็นการไหลที่ไม่มีแรงต้านจากความหนืด ไม่มีแรงต้านของอนุภาคภายในเนื้อของของไหล
- 4.ของไหลมีความหนาแน่นคงตัวในทุกๆส่วนของของไหล

โดยการคำนวณพลศาสตร์ของของไหลในอุดมคติ จะอ้างอิงตามทฤษฎี 2 บทที่เกี่ยวข้องต่อเนื่องกัน ได้แก่

1.สมการความต่อเนื่องของการไหล: เป็นสมการที่ใช้ศึกษาการไหลของของไหลภายในท่อที่มีขนาดไม่สม่ำเสมอ โดยพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วในการไหลและขนาดพื้นที่หน้าตัดของท่อ ซึ่งมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 2.1



รูปที่ 2.11 สภาวะการไหลของของไหลภายในท่อขนาดไม่สม่ำเสมอ

$$\rho_1 = \rho_2$$

$$A_1 V_1 = A_2 V_2 \quad (2.2)$$

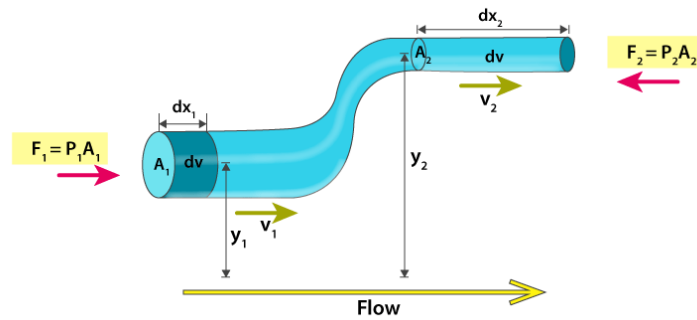
เมื่อ ρ คือ ความดันของของไหล

A คือ พื้นที่หน้าตัดของท่อ

V คือ ความเร็วของของไหล

2.สมการของไหลของแบร์นูลลี: เป็นสมการที่ใช้สำหรับศึกษาความสัมพันธ์ของความดันและอัตราเร็วของของไหล โดยถ้าหากของไหลมีอัตราเร็วเพิ่มขึ้น ความดันจะลด และถ้าหากอัตราเร็วของของไหลลด ความดันจะเพิ่มขึ้น โดยสามารถพิสูจน์ได้โดยอ้างอิงจากกฎอนุรักษ์พลังงาน ดังที่แสดงในสมการที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 สถานะการไหลของของไหลภายในท่อเพื่อพิสูจน์สมการแบร์นูลี

$$\rho gh_1 + \frac{1}{2} \rho v_1^2 + P_1 = \rho gh_2 + \frac{1}{2} \rho v_2^2 + P_2 \quad (2.3)$$

เมื่อ P คือ ความดันของของไหล

ρ คือ ความหนาแน่นของของไหล

h คือ ความสูงจากระดับอ้างอิง

v คือ ความเร็วของของไหล

แต่การคำนวณการไหลภายในท่อของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก เนื่องจากการจำลองของไหลในสถานะจริง จึงทำให้ไม่สามารถใช้คุณสมบัติของของไหลในอุดมคติได้ การคำนวณและวิเคราะห์จึงจะต้องประยุกต์จากสูตรเบื้องต้น อย่างกฎการเคลื่อนที่ของนิวตัน และความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของการกระจายตัวของของไหล และเทอมของความดัน โดยใช้สมการนาเวียสโตกส์

2.4 แสง

2.4.1 แสงและคุณสมบัติของแสง

แสง คือ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าประเภทหนึ่งซึ่งมนุษย์สามารถมองเห็นได้ (400-800 นาโนเมตร) หรืออาจรวมถึงการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าตั้งแต่ช่วงของรังสีอินฟราเรด ไปจนถึงรังสีอัลตราไวโอเล็ต ความถี่ของคลื่นแสงมีผลต่อความยาวคลื่นและพลังงานที่เกิดขึ้น โดยที่ยังมีความถี่มากความยาวคลื่นจะน้อย และถ้าความถี่น้อยความยาวคลื่นจะยิ่งมาก โดยสามารถแบ่งรูปแบบของแสงได้เป็นสามประเภทใหญ่ๆ ได้แก่

1. รังสีในช่วงยูวีเป็นรังสีที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถก่อให้เกิดความร้อนและส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตได้ โดยรังสีในช่วงนี้จะมีผลต่อความยาวคลื่นตั้งแต่ 100-400 นาโนเมตร

2. รังสีในช่วงที่สามารถมองเห็นได้ เป็นรังสีเพียงช่วงเดียวที่มนุษย์สามารถมองเห็นได้ โดยจะแบ่งตามช่วงของสีทั้งสิ้น 7 สี ได้แก่ สีม่วง, สีคราม, สีน้ำเงิน, สีเขียว, สีเหลือง, สีแสด และ สีแดง ตามความยาวคลื่นตั้งแต่ 380-780 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. รังสีในช่วงอินฟราเรด เป็นรังสีที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถก่อให้เกิดความร้อนสูงและส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตได้ โดยรังสีในช่วงนี้มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 700-2400 nm [12]

แสงมีคุณสมบัติที่สำคัญ 4 ข้อ ได้แก่

1. เดินทางเป็นเส้นตรง (Rectilinear propagation) ในตัวกลางที่มีค่าดัชนีการหักเหของแสงสม่ำเสมอเท่ากัน แสงจะเดินทางเป็นเส้นตรง โดยที่ค่าดัชนีหักเหแสงจะมีผลต่อความเร็วของแสงที่วิ่งผ่านตัวกลางนั้นๆ ยิ่งมีค่าดัชนีหักเหแสงมาก ความเร็วของแสงที่วิ่งผ่านตัวกลางนั้นๆก็จะลดลง ตามสมการที่ 2.4

$$n = \frac{c}{v} \quad (2.4)$$

เมื่อ n คือ ดัชนีหักเหของแสงในตัวกลางใดๆ

c คือ ความเร็วของแสงในสุญญากาศ

v คือ ความเร็วของแสงในตัวกลางใดๆ

2. การหักเหของแสง (Refraction) เมื่อแสงเดินทางผ่านตัวกลางที่มีดัชนีการหักเหแสงต่างกัน แสงบางส่วนจะเกิดการสะท้อนกลับ และบางส่วนจะเกิดการหักเหทำมุมผ่านเข้าไปในตัวกลางใหม่ โดยมุมที่เกิดการหักเหจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของแสงที่ตกกระทบและค่าดัชนีการหักเหของแสงตามตัวกลางทั้งสอง ตามสมการที่ 2.5

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{\sin\theta_1}{\sin\theta_2} \quad (2.5)$$

เมื่อ n_1 คือ ดัชนีหักเหของแสงในตัวกลางที่ 1

n_2 คือ ดัชนีหักเหของแสงในตัวกลางที่ 2

$\sin\theta_1$ คือ มุมที่เกิดจากแสงตกกระทบกระทำกับเส้นแนวฉาก

$\sin\theta_2$ คือ มุมที่เกิดจากแสงหักเหกระทำกับเส้นแนวฉาก

3. การสะท้อนของแสง (Reflection) เมื่อแสงไม่สามารถเดินทางผ่านตัวกลางใดตัวกลางหนึ่งได้ หรือเดินทางผ่านได้ยากจะทำให้เกิดการสะท้อนกลับของแสง โดยมุมที่สะท้อนของแสงจะเท่ากับมุมที่แสงตกกระทบ และอยู่ในระนาบเดียวกับมุมตกกระทบและเส้นปกติเสมอ โดยทิศทางการสะท้อนจะมีทั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะท้อนแบบปกติ เมื่ออยู่บนพื้นผิวที่เรียบ และการสะท้อนแบบกระจาย ซึ่งจะเกิดขึ้นบนพื้นผิวที่มีความขรุขระ

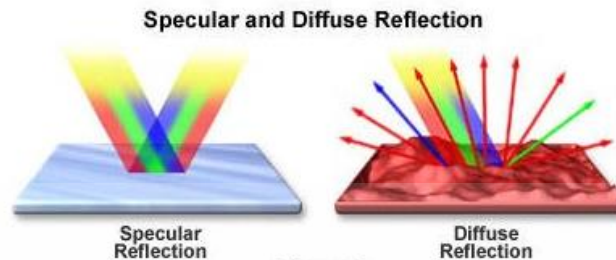
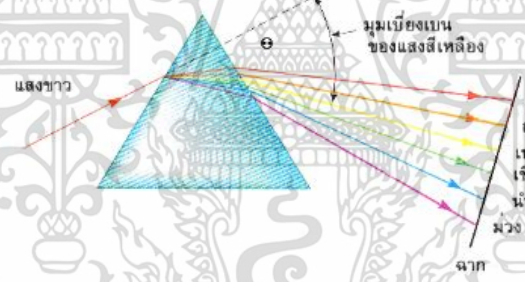


Figure 3

รูปที่ 2.13 การสะท้อนของแสงบนวัตถุที่มีพื้นผิวแตกต่างกัน

4.การกระจายของแสง (Dispersion) แสงที่ตามนุษย์มองเห็น อาจเกิดจากการรวมกันของแสงหลายสีเข้าด้วยกัน แต่เมื่อแสงดังกล่าวเดินทางผ่านตัวกลางบางชนิด แสงแต่ละสีอาจมีค่าการหักเหแตกต่างกันในวัตถุที่มีค่าดัชนีหักเหแสงนั้นๆ และทำให้แสงที่ออกมาเกิดการหักเหในมุมต่างๆกัน กระจายออกเป็นแสงสีต่างๆซึ่งเรียกว่า สเปกตรัมของแสง



รูปที่ 2.14 การกระจายของแสงสีขาวเมื่อผ่านปริซึมรูปสามเหลี่ยม

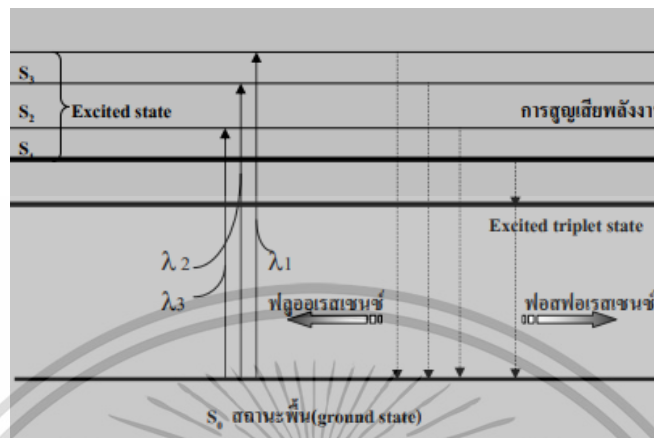
2.4.2 ฟลูออเรสเซนซ์

สารอินทรีย์และอนินทรีย์หลายชนิด เมื่อรับแสงจากภายนอกเข้าไปแล้ว จะมีการปล่อยแสงกลับออกมา โดยแสงที่เกิดขึ้นอาจเกิดได้จากหลากหลายปัจจัย อย่างเช่น ปฏิกิริยาเคมี กระบวนการทางชีววิทยา หรือ เกิดจากคุณสมบัติของตัวเอง ซึ่งสำหรับการเปล่งแสงจากคุณสมบัติของตัวเอง จะสามารถเรียกอีกอย่างว่า การวาวแสง หรือ ฟลูออเรสเซนซ์

ฟลูออเรสเซนซ์ เกิดจากที่เมื่ออิเล็กตรอนได้รับพลังงานจากแสงภายนอก จะมีการกระโดดขึ้นไปในชั้นออร์บิทัล (orbital) ที่สูงขึ้นตามระดับพลังงาน และเมื่ออิเล็กตรอนตกกลับสู่สถานะพื้น ก็จะมีการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาในช่วงเวลาสั้นๆ แต่เนื่องจากการสูญเสียพลังงาน เนื่องจากเหตุปัจจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่างๆ เช่น การชนของอะตอม การถ่ายเทพลังงานให้สารละลาย จึงทำให้แสงที่ปล่อยออกมาขณะเข้าสู่สถานะพื้นมีความยาวคลื่นมากกว่าแสงที่ถูกดูดกลืน



รูปที่ 2.15 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์

2.4.3 ระบบสีของแสง

1. RGB คือ Red (สีแดง), Green (สีเขียว) และ Blue (สีน้ำเงิน) แสงทุกเฉดสีจะเกิดจากการรวมกันของแม่สีของแสง ได้แก่ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ในอัตราส่วนต่างๆกัน โดยที่ยิ่งเมื่อใช้สีมากขึ้นภาพที่ได้ออกมาก็จะมีความสว่างมากขึ้น จนเมื่อให้ค่าสีของแม่สีทั้งสามสูงสุด สีที่เกิดจากการผสมก็จะกลายเป็นสีขาว ระบบสีนี้จะถูกใช้ทั่วไปในรูปแบบถ่ายจากกล้องดิจิทัล หรือโทรศัพท์มือถือเพื่อระบุสีในภาพ [13]

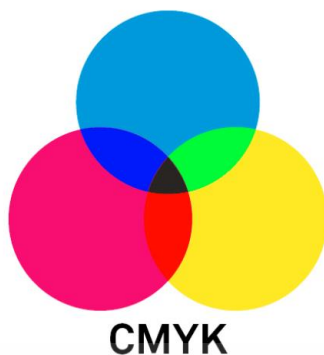


RGB

รูปที่ 2.16 การผสมของสีในระบบ RGB [13]

2. CMYK เป็นระบบที่แตกต่างจาก RGB โดยมีแม่สี ประกอบไปด้วย สีฟ้า สีม่วงแดง สีเหลือง และยังมีสีดำที่เป็นองค์ประกอบในการสร้างสี ตรงกันข้ามกับ RGB การผสมสีในระบบ CMYK ยิ่งค่าสีของแม่สีในภาพนั้นมีค่ามาก สีที่ได้ออกมาจะยิ่งมีความเข้มมากขึ้น ระบบสีนี้ส่วนใหญ่จะถูกใช้อยู่ในการผสมสีในเครื่องพิมพ์ [13]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



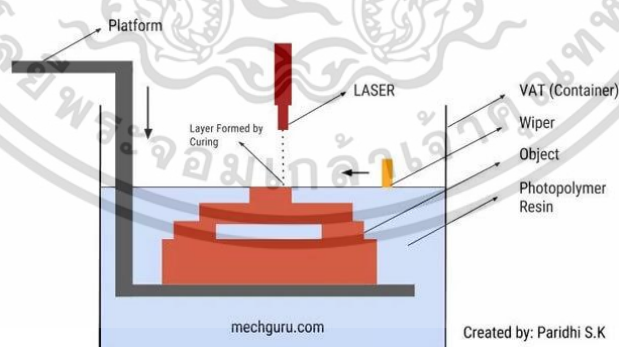
รูปที่ 2.17 การผสมของสีในระบบ CMYK [13]

2.5 เทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ

2.5.1 ประเภทของเครื่องพิมพ์สามมิติ

การพิมพ์สามมิติ (3D Printing) นั้นเป็นการสร้างวัตถุสามมิติจากไฟล์ 3D CAD โดยตรง ซึ่งมีความกว้าง ยาว ลึก สอดคล้องกับกลุ่มตัวอย่างเสมือนจริงจากรูปแบบที่ออกแบบไว้ เริ่มจากสร้างแบบจำลองในคอมพิวเตอร์ ก่อนจะส่งไปยังเครื่องพิมพ์เพื่อสร้างชิ้นงาน โดยขึ้นรูปด้วยการเติมเนื้อวัสดุทีละชั้นๆ จนได้ออกมาเป็นวัตถุที่ต้องการ [14] เครื่องพิมพ์สามมิตินั้นสามารถแบ่งตามลักษณะการทำงานได้เป็น 7 ประเภท ดังนี้

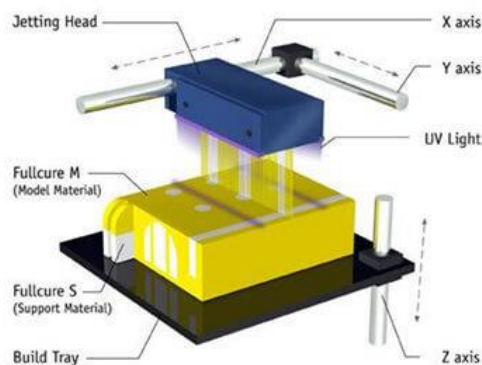
1.VAT Photopolymerization เป็นการใช้เรซินที่มีความไวต่อแสงยูวีในการสร้างชิ้นงาน โดยการฉายแสงยูวีเพื่อทำให้เรซินแข็งตัวเป็นชั้นบางๆ ก่อนจะขยับฐานเพื่อสร้างชิ้นงานชั้นถัดไปที่ละชั้น ซึ่งตัวเรซินจะเชื่อมยึดติดกันจนได้เป็นชิ้นงาน



รูปที่ 2.18 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ VAT [14]

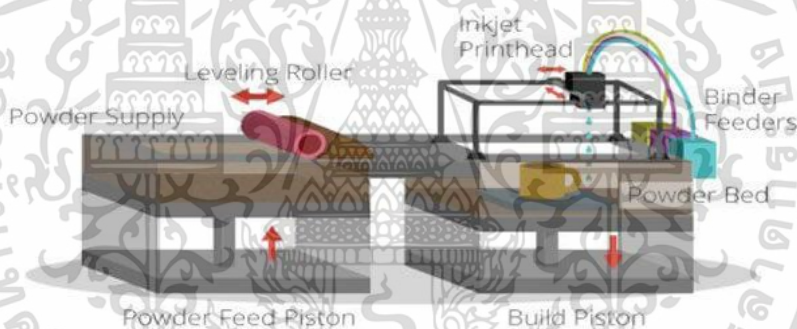
2.Material Jetting เป็นการพิมพ์ชิ้นงาน โดยใช้หัวพิมพ์คล้ายกับเครื่องพิมพ์เอกสาร แต่เป็นการพิมพ์น้ำหมึกที่มีส่วนผสมของพลาสติกออกมา ซึ่งน้ำหมึกจะถูกทำให้แข็งตัวด้วยยูวี ก่อนจะพิมพ์ชั้นถัดไปเรื่อยๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.19 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Material Jetting [14]

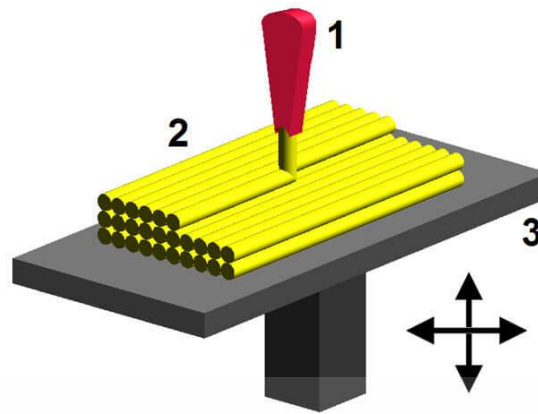
3. Binder Jetting ในเครื่องพิมพ์นี้จะมีการใช้วัสดุสองชนิดคือ วัสดุแบบผง และสารเชื่อมที่เป็นของเหลว โดยการทำงาน เครื่องจะเกลี่ยผงวัสดุให้เป็นแผ่นบางๆ จากนั้นจึงทำการพ่นสารเชื่อมลงไปเพื่อให้วัสดุติดกันเป็นแผ่นตามรูปร่างที่กำหนด แล้วจึงทำชั้นถัดๆ ไป จนได้ชิ้นงานที่สมบูรณ์



รูปที่ 2.20 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Bunder Jetting [14]

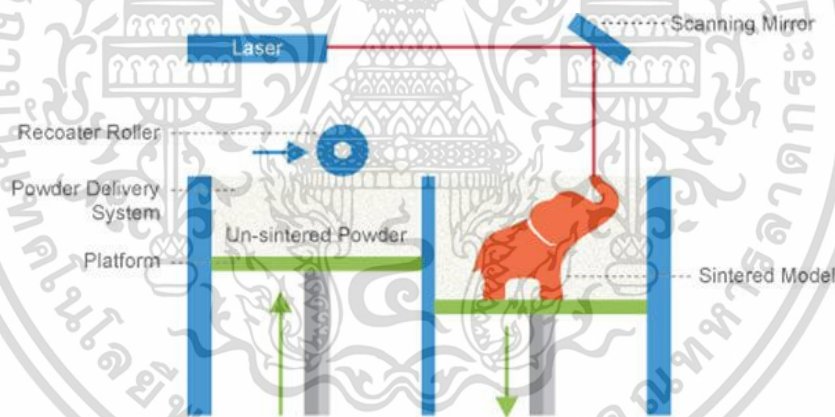
4. Material Extrusion เป็นเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติที่ถูกนำมาใช้มากที่สุด การทำงานค่อนข้างเรียบง่าย เพียงเป็นการใช้หัวฉีดขนาดเล็กในการฉีดเส้นวัสดุที่มีความหนืดออกมาแล้วจึงซ้อนทับไปเรื่อยๆ จนได้วัตถุรูปทรงสามมิติ โดยมากวัสดุที่มีความหนืดจะใช้เป็น Thermal Plastic อย่างเช่น ABS หรือ PLA ซึ่งวัสดุที่ต่างกันก็จะให้คุณสมบัติการพิมพ์ที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.21 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Material Extrusion [14]

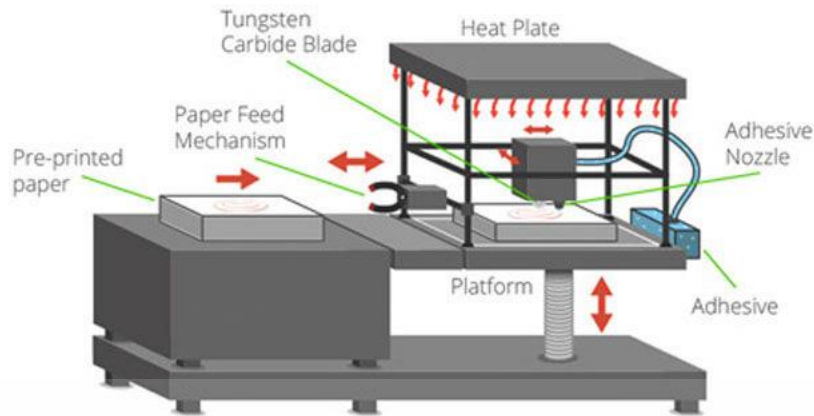
5.PowerBed Fusion เป็นเทคโนโลยีที่ใช้เลเซอร์กำลังสูง ยิงลงไปบนวัสดุแบบผงให้เกิดการเชื่อมติดกันอย่างหลวมๆ โดยสามารถพิมพ์ได้ทั้งวัสดุที่เป็นโลหะหรือพลาสติก แต่โดยมากนิยมใช้เป็น Nylon เนื่องจากมีความแข็งแรง เมื่อพิมพ์เสร็จจะต้องนำไปอบด้วยความร้อนอีกครั้งจึงจะได้ชิ้นงานที่เชื่อมติดกันสมบูรณ์



รูปที่ 2.22 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Power Bed Fusion [14]

6.Sheet Lamination เป็นการขึ้นรูปโดยการนำวัสดุที่เป็นแผ่นวางซ้อนทับกันไปเรื่อยๆ อย่างเช่นการใช้กระดาษ ด้วยการนำกระดาษตัดเป็นรูปแบบที่ต้องการในชั้นนั้นๆ ทากาวแล้วติดลงบนชิ้นงานทีละชั้นๆ จนได้ชิ้นงานสามมิติออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.23 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Sheet Lamination [14]

7.Direct Energy Deposition เทคโนโลยีนี้โดยมากมักถูกใช้ในอุตสาหกรรม เพราะมีความซับซ้อน โดยการทำงานจะใช้การพ่นผงโลหะและพลาสติกในการหลอมโลหะให้เป็นรูปร่าง โดยหัวพ่นจะเคลื่อนที่ไปตามชิ้นงานเพื่อกัดแบบให้ได้ออกมาตามที่ต้องการ



รูปที่ 2.24 การทำงานของเครื่องพิมพ์แบบ Direct Energy Deposition [14]

เทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติสามารถนำมาใช้พัฒนาชิ้นงานต้นแบบได้อย่างรวดเร็ว เหมาะสำหรับการผลิตในจำนวนน้อยและยังสามารถปรับเปลี่ยนแก้ไขการออกแบบได้ด้วยการใช้ CAD ในคอมพิวเตอร์ จึงเป็นการลดความยุ่งยากจากการลงทุนและการผลิตโดยจ้างโรงงานในราคาแพง ในปัจจุบันเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติมีราคาต่ำลงและมีคุณภาพสูงขึ้นจึงเหมาะสมสำหรับการนำมาสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกในการวิจัย ซึ่งจะช่วยลดความยุ่งยากของขั้นตอนในการผลิตแบบดั้งเดิม เช่น เทคนิค soft lithography กับ Polydimethylsiloxane (PDMS) เป็นต้น เพราะสามารถผลิตได้จากเครื่องพิมพ์สามมิติโดยตรงในราคาต่ำ แต่ยังมีข้อเสียอยู่ที่ความละเอียดของชิ้นงานและวัสดุในการทำอุปกรณ์ที่จำกัด

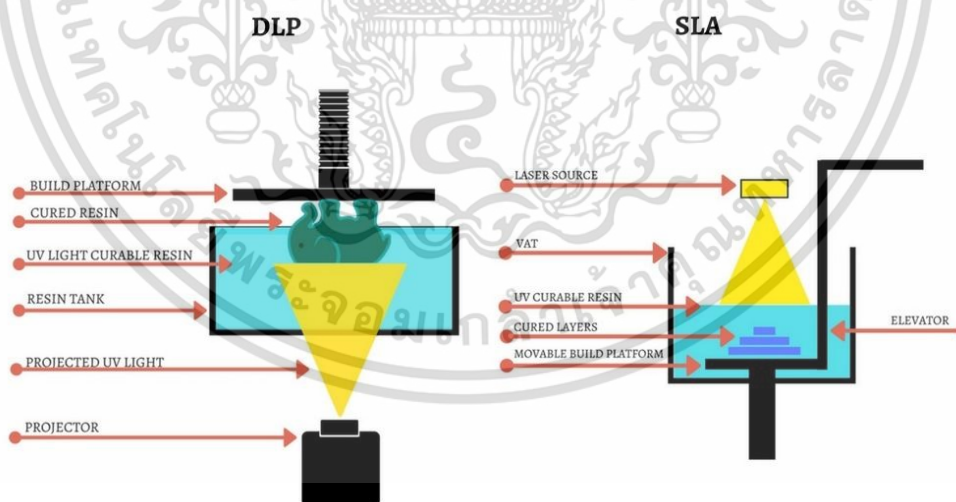
การวิจัยเกี่ยวกับไมโครฟลูอิดิกในระยะหลังเริ่มให้ความสนใจนำเทคโนโลยีพิมพ์สามมิติเข้ามาใช้ในกระบวนการผลิต เพราะแม้ PDMS จะทำให้นักวิจัยสามารถเข้าถึงการศึกษามิโครฟลูอิดิกได้ง่ายขึ้นแต่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก็ยังมีข้อจำกัดหลายอย่าง รวมถึงความยุ่งยากในการนำไปใช้จริงนอกห้องปฏิบัติการวิจัยเนื่องจากผลิตเป็นจำนวนมากได้ยาก เครื่องพิมพ์สามมิติซึ่งมีศักยภาพในการผลิตสูงกว่าจึงเป็นตัวเลือกที่ดีในการพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ในอนาคต

2.5.2 การทำให้วัสดุเหลวในอ่างแข็งด้วยแสง (Vat Photopolymerization)

การทำให้วัสดุเหลวในอ่างแข็งด้วยแสง หรือ Vat Photopolymerization เป็นเทคนิคหนึ่งในการพิมพ์สามมิติซึ่งใช้วัสดุเริ่มต้นเป็นโมโนเมอร์ในรูปของเหลว โดยโมโนเมอร์ที่ใช้เป็นชนิดที่เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันจากการกระตุ้นด้วยแสง โมโนเมอร์จำนวนมากรวมกันเกิดเป็นโพลิเมอร์ในรูปของแข็ง โดยจะฉายแสงซึ่งควบคุมตามแกน X, Y อย่างแม่นยำลงในอ่างเพื่อทำให้วัสดุเหลวแข็งตัว ส่วนฐานรองที่รองรับชิ้นงานอยู่จะค่อยๆปรับตามแนวตั้งในแกน Z จนชิ้นงานแข็งตัวขึ้นทีละชั้นเป็นชิ้นงานพิมพ์สามมิติ ชิ้นงานที่ได้จะมีความละเอียดและเที่ยงตรงสูงกว่าเทคนิคอื่นจึงเหมาะกับการนำมาใช้ในการวิจัย ตัวอย่างเครื่องพิมพ์ที่ใช้เทคนิคนี้ เช่น SLA (Stereolithographic Apparatus) และ DLP (Digital Light Processing) [15]

เครื่องพิมพ์สามมิติทั้งสองระบบนี้เป็นการขึ้นรูปชิ้นงานโดยส่งแสงยูวีไปที่กรดใสเรซินไวแสง (Photo Resin / Photopolymer) ข้อแตกต่างคือต้นกำเนิดของแสงที่ใช้ SLA จะใช้ยูวีเลเซอร์ (UV laser) ซึ่งตัวยิงขยับไปมาตามรูปทรงของชิ้นงานขณะที่ DLP ใช้การฉายแสง UV ด้วยโปรเจคเตอร์ซึ่งติดตั้งอยู่กับที่ สำหรับการวิทยานิพนธ์นี้ใช้เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP ในการศึกษาวิจัย



รูปที่ 2.25 องค์ประกอบและการทำงานของเครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP และ SLA [15]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์

2.6.1 ฟลูออโรมิเตอร์

การวัดฟลูออเรสเซนซ์สามารถทำได้ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่าฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) โดยมีหลักการทำงานคือ การปล่อยให้แสงในคลื่นความถี่จำเพาะมาตกกระทบกับตัวอย่าง ก่อนจะตรวจวัดค่าแสงที่ผ่านการตกกระทบกับตัวอย่าง โดยพิจารณาจากความเปลี่ยนแปลงของคลื่นแสงที่เกิดขึ้น ในการคำนวณหาค่าของฟลูออเรสเซนซ์ [16] ซึ่งเครื่องฟลูออโรมิเตอร์โดยทั่วไปจะมีองค์ประกอบหลักๆ ดังนี้

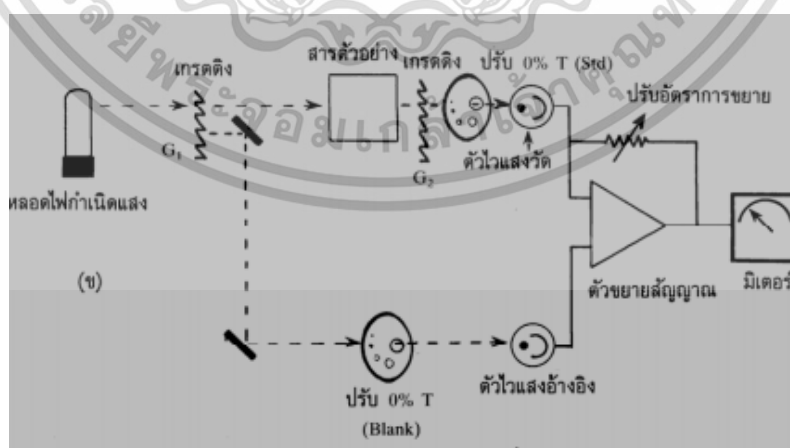
แหล่งกำเนิดแสง (Light source) คืออุปกรณ์ที่ทำหน้าที่จ่ายแสงผ่านสารตัวอย่าง โดยแหล่งกำเนิดแสงจะปล่อยแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วงที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ หลอดกำเนิดแสงสามารถมีหลายชนิดตามความต้องการและความเฉพาะของเครื่อง อย่างเช่น หลอดซินอน หลอดเมอคิวรี หลอดเลเซอร์ หรือหลอดไฟ LED

ตัวแยกแสงกระทบ (Excitation filter) เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสง เพื่อแยกความยาวคลื่นแสงที่ไม่ต้องการออก ก่อนปล่อยให้ไปตกกระทบกับตัวอย่างที่ต้องการวัด โดยมากนิยมใช้เป็นเกรตติง

ตัวแยกแสงปล่อยออก (Emission filter) เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสง เพื่อตัดแสงรบกวนต่างๆที่ไม่ต้องการออก ก่อนจะปล่อยไปยังตัวไวแสง โดยมากนิยมใช้เป็นเกรตติง

ตัวกรองแสง (Optical filter) มีในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์บางชนิด ใช้สำหรับกรองแสงเพื่อเลือกช่วงแสงที่ต้องการแคบช่วง ก่อนปล่อยออกมาเพื่อให้ตกกระทบกับตัวไวแสง ทำให้เครื่องมีความจำเพาะกับการวัดมากขึ้น

ตัวไวแสง (Light detector) เป็นอุปกรณ์สำหรับวัดแสงที่ผ่านมาตกกระทบ โดยใช้เป็นอุปกรณ์เช่น โฟโตไดโอด ในการวัดค่าของคลื่นแสง ก่อนส่งค่าผ่านตัวขยายสัญญาณ เพื่อไปวิเคราะห์และแสดงผล



รูปที่ 2.26 องค์ประกอบและการทำงานของฟลูออโรมิเตอร์ [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 โฟโตไดโอด

โฟโตไดโอด (Photo diode) เป็นอุปกรณ์สำคัญชิ้นหนึ่งที่ใช้ในการวัดค่าแสงภายในฟลูออโรมิเตอร์ โดยเป็นอุปกรณ์ประเภทเซมิคอนดักเตอร์หรือสารกึ่งตัวนำ ภายในอุปกรณ์จะประกอบด้วยสารกึ่งตัวนำสองชนิดมาต่อกัน (P และ N) และหุ้มบริเวณรอยต่อด้วยวัสดุที่แสงสามารถผ่านได้ บริเวณรอยต่อนี้ จะมีความไวต่อแสงค่อนข้างสูง โดยเมื่อมีแสงมาก ค่าอิมพีแดนซ์จะต่ำ และเมื่อไม่มีแสงหรือมีแสงน้อย ค่าอิมพีแดนซ์จะสูง ทำให้โฟโตไดโอดสามารถแปลงแสงที่มาจากกระทบให้กลายเป็นกระแสไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดได้

รูปที่ 2.27 โฟโตไดโอดแบบซิลิกอน

เมื่อเทียบประสิทธิภาพการวัดค่าแสงของโฟโตไดโอดและ LDR (ตัวต้านทานแปรค่าตามแสง) ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนค่าความต้านทานของโฟโตไดโอดมีค่ามากกว่า LDR มาก แต่เนื่องจากอัตรา การเปลี่ยนแปลงของกระแสต่อค่าแสงค่อนข้างต่ำ การใช้งานโฟโตไดโอดจึงจำเป็นต้องมีตัวขยายกระแส ร่วมด้วย โดยมักนิยมใช้เป็นโฟโตทรานซิสเตอร์ ในปัจจุบันโฟโตไดโอดถูกนำไปประยุกต์ใช้งานในวงจรที่ ต้องการความไวสูง อย่างเช่น วงจรกันขโมย ตัวรับรีโมทคอนโทรล เป็นต้น

2.6.3 Color Grab

เป็นแอปพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือที่ใช้สำหรับการวัดค่าสีของแสงที่เกิดขึ้นในรูปภาพแบบ Real time ซึ่งสามารถกำหนดขอบเขตและตำแหน่งของจุดที่ต้องการวัดได้ โดยแอปพลิเคชันจะแสดงผลออกมา เป็นค่า RGB ตั้งแต่ 0-255 ตามระดับความเข้มของแม่สีแต่ละสี ทำให้มีความสะดวกต่อการนำค่าสีที่ได้ไป ใช้งานต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



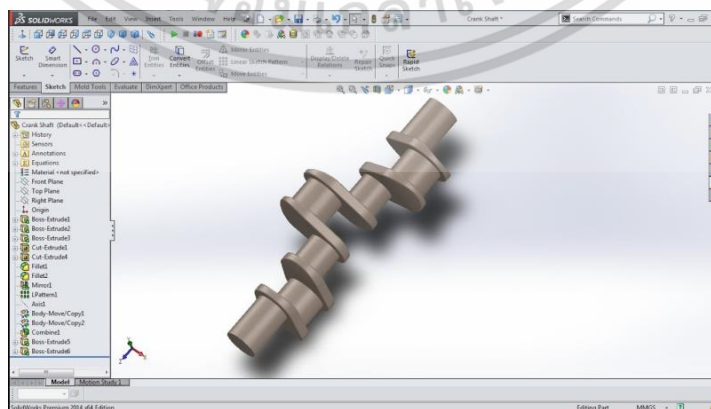
รูปที่ 2.28 แอปพลิเคชัน Color Grab

ซึ่งค่าฟลูออเรสเซนซ์ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วงของแสงสีฟ้า การใช้แอปพลิเคชันในการวัดค่าสีของแสงที่เกิดขึ้น จึงอาจช่วยในการวิจัยเพื่อหาวิธีในการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ง่ายและสะดวกกว่าได้

2.7 โปรแกรมสำหรับการออกแบบและคำนวณ

2.7.1 โปรแกรม SOLIDWORKS

SOLIDWORKS 2018 เป็นโปรแกรม Solid modeling CAD หรือการออกแบบและคำนวณสามมิติ สำหรับใช้งานบนไมโครซอฟท์วินโดวส์ โปรแกรม SOLIDWORKS ถูกพัฒนาขึ้นในปี พศ.2534 และสามารถก่อตั้งเป็นบริษัท SOLIDWORKS Corporation ได้ในปี พศ.2536 โดย Jon Hirschtick เริ่มต้นจากการรวมทีมนักวิจัย ซึ่งมีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาซอฟต์แวร์ออกแบบสามมิติที่ง่ายต่อการใช้งาน ราคาเหมาะสม และสามารถใช้งานบน Windows desktop ซึ่งโปรแกรม SOLIDWORKS ได้มีการปล่อยผลิตภัณฑ์ตัวแรกคือ SOLIDWORKS 95 ก่อนจะพัฒนามาจนกลายเป็น SOLIDWORKS 2019 ในปัจจุบัน



รูปที่ 2.29 หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม SOLIDWORKS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

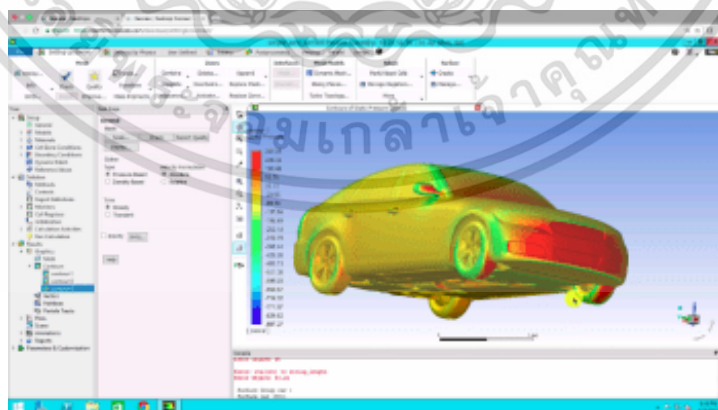
ในปัจจุบันโปรแกรม SOLIDWORKS เป็นซอฟต์แวร์สำหรับการออกแบบสามมิติที่มีความนิยมสูงสุด เนื่องจากการปรับปรุงและพัฒนาอย่างสม่ำเสมอเพื่อตอบสนองผู้ใช้งาน โดยโปรแกรม SOLIDWORKS ในปัจจุบัน ประกอบไปด้วยโปรแกรมพื้นฐาน SOLIDWORKS 3D CAD ได้แก่

- 1.SOLIDWORKS Standard เป็นส่วนที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและความเร็วในการออกแบบ 3 มิติ และ 2 มิติ รวมถึงการใช้งานในส่วนเครื่องมือเฉพาะ วัสดุ และเครื่องมือเกี่ยวกับแม่พิมพ์
- 2.SOLIDWORKS Professional เป็นส่วนสำหรับเพิ่มความสามารถการทำงานของ SOLIDWORKS Standard ทั้งในด้านการออกแบบ การจัดการเอกสาร การแสดงผลเสมือนจริง การแสดงส่วนประกอบย่อย และการตรวจสอบการร่างแบบ
- 3.SOLIDWORKS Premium เป็นส่วนเพิ่มประสิทธิภาพในการจำลองและการตรวจสอบการออกแบบของ SOLIDWORKS Professional รวมถึงแก้ไขปัญหาต่างๆในการออกแบบ 3 มิติ สามารถทำงานร่วมกับ ECAD / MCAD สำหรับการทำให้วิศวกรรมย้อนกลับ การกำหนดเส้นทางในท่อ และการคำนวณขั้นสูง

นอกจากโปรแกรมพื้นฐานแล้วโปรแกรม SOLIDWORKS ยังมี Multi-Product ที่เป็นส่วนเสริมในการช่วยให้การทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกด้วย

2.7.2 โปรแกรม ANSYS

ANSYS เป็นโปรแกรมที่ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์คำนวณและแก้ไขปัญหาทางวิศวกรรม โปรแกรมนี้ถูกสร้างขึ้นในปี ค.ศ.1970 โดย John Swanson โดยเริ่มจากการที่ต้องการสร้างโปรแกรมในการคำนวณ FEA (Finite Element Analysis) ซึ่งแต่เดิมต้องทำการคำนวณด้วยมือ โดยเขาเริ่มการพัฒนาโปรแกรมดังกล่าว ก่อนจะมีการปล่อยโปรแกรมตัวแรกออกมาคือเวอร์ชัน 2.0 ในปี ค.ศ.1971 และพัฒนาจนกลายเป็นเวอร์ชัน 18 ในปัจจุบัน



รูปที่ 2.30 หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม ANSYS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรม ANSYS ใช้การคำนวณด้วยวิธี FEM (Finite Element Method) โดยโปรแกรม ANSYS มีเทคโนโลยีในการวิเคราะห์และประมวลผลที่มีประสิทธิภาพและครอบคลุมการคำนวณในทุกศาสตร์วิศวกรรม ทั้งกลศาสตร์ของแข็ง พลศาสตร์ของไหล อุณหพลศาสตร์ รวมไปถึงในด้านอิเล็กทรอนิกส์ นอกจากนี้โปรแกรม ANSYS ยังสามารถคำนวณแบบประยุกต์โดยอ้างอิงจากการรวมศาสตร์เบื้องต้นเข้าด้วยกันอย่างไม่มีข้อจำกัด ซึ่งสามารถแบ่งการใช้งานได้เป็นหลายๆด้าน ได้แก่

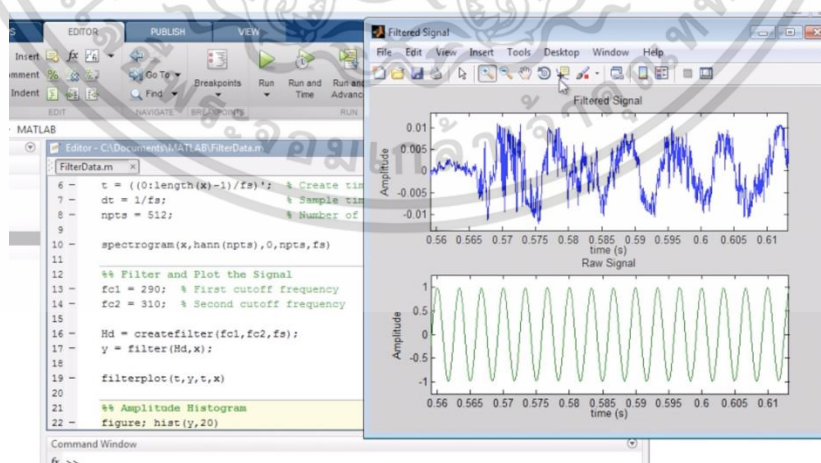
1.Fluid Mechanic คือการวิเคราะห์พฤติกรรมของของไหล หรือการคำนวณทางพลศาสตร์ของไหล สามารถใช้คำนวณได้ทั้งของไหลชนิดเดียว (Single-Phase Flows) ของไหลหลายชนิด หรือของไหลต่างสถานะ (MultiPhase Flows)

2.Structural Mechanics คือการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสภาพชิ้นงานเมื่อได้รับแรงหรือลักษณะกระทำต่างๆ เช่น การบิดงอ ความเค้นที่ชิ้นงานได้รับ การกระจายความร้อน เป็นต้น

3.Electromagnetics คือการวิเคราะห์คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การหาค่าลึงของสนามแม่เหล็กไฟฟ้า การตรวจสอบคลื่นสัญญาณ ฯลฯ ซึ่งใช้ในการออกแบบอุปกรณ์ไฟฟ้า อย่างเช่น มอเตอร์ หม้อแปลง ฯลฯ

2.7.3 โปรแกรม MATLAB

MATLAB หรือชื่อเต็มคือ Matrix Laboratory เป็นซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการคำนวณและเขียนโปรแกรม โดยครอบคลุมทั้งการเขียนและพัฒนาอัลกอริทึม ไปจนถึงการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ การจำลองระบบ และการทำ image processing โปรแกรม MATLAB ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกโดย Dr. Cleve Moler เพื่อใช้ในการแก้ปัญหาตัวแปรที่มีลักษณะเป็นเมตริกซ์ แต่ในปัจจุบันได้ถูกพัฒนาจนสามารถใช้งานได้หลากหลายรูปแบบ อย่างเช่น Computational Biology, Fuzzy Logic Designer และ Signal Processing



รูปที่ 2.31 หน้าต่างการทำงานของโปรแกรม MATLAB

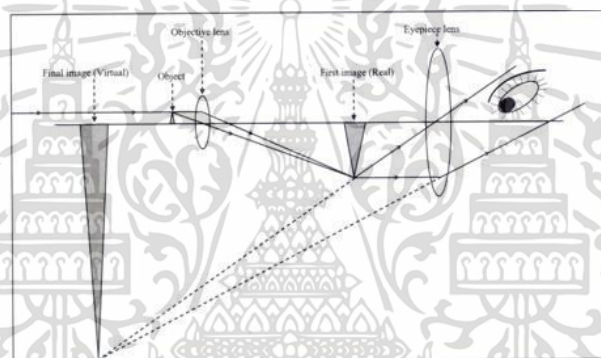
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้งานโปรแกรม MATLAB ในเชิงวิศวกรรมสามารถทำได้หลากหลาย เนื่องจาก MATLAB สามารถทำงานคำนวณและแสดงผลด้วยประสิทธิภาพสูง มีฟังก์ชันการทำงานที่เหมาะสมกับงานทางวิศวกรรม รวมถึงสามารถเขียนฟังก์ชันใหม่โดยการประยุกต์จากฟังก์ชันเดิมให้เหมาะสมกับการใช้งาน นอกจากนี้ภาษาที่ใช้ในการเขียนยังมีความใกล้เคียงกับสมการทางคณิตศาสตร์ทั่วไป จึงมีความง่ายต่อการใช้งาน และสามารถประยุกต์ได้หลากหลาย เหมาะกับการทำงาน

2.8 อุปกรณ์อื่นๆ

2.8.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้เลนส์ 2 ชนิด คือ เลนส์ใกล้วัตถุและเลนส์ใกล้ตาในการขยายภาพให้มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยมีแหล่งกำเนิดแสงด้านล่างเป็นตัวให้ความสว่างผ่านวัตถุขึ้นมา



รูปที่ 2.32 กลไกการขยายภาพของเลนส์กล้องจุลทรรศน์ [17]

ซึ่งกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา มีส่วนประกอบด้วยกันหลายส่วน เพื่อให้สามารถใช้งานในการขยายและส่องดูวัตถุได้ ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดมีดังนี้



รูปที่ 2.33 กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

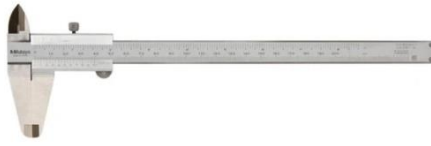
- 1.ลำกล้อง (Body tube) เป็นส่วนที่เชื่อมระหว่างเลนส์ใกล้ตากับเลนส์ใกล้วัตถุ ป้องกันไม่ให้แสงจากภายนอกกระทบ
- 2.แขน (Arm) คือส่วนที่ทำหน้าที่ยึดระหว่างส่วนลำกล้องกับฐาน
- 3.แท่นวางวัตถุ (Specimen stage) เป็นแท่นใช้วางวัตถุที่ต้องการศึกษา
- 4.ที่หนีบสไลด์ (Stage clip) ใช้ยึดสไลด์หรือวัตถุให้ติดอยู่กับแท่นวางวัตถุ
- 5.ฐาน (Base) เป็นส่วนฐานที่ใช้ยึดองค์ประกอบต่างๆของกล้อง
- 6.แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ทำหน้าที่ให้ความสว่างแก่บริเวณของวัตถุที่ต้องการศึกษา โดยมากจะเป็นหลอดไฟหรือกระจกเงา
- 7.เลนส์รวมแสง (condenser) ทำหน้าที่รวมแสงเพื่อให้ไปตกยังวัตถุที่ต้องการศึกษา
- 8.ไดอะแฟรม (diaphragm) อยู่ใต้เลนส์รวมแสงทำหน้าที่ปรับปริมาณแสงให้เข้าสู่เลนส์ในปริมาณที่ต้องการ
- 9.ปุ่มปรับภาพหยาบ (Coarse adjustment) ทำหน้าที่ปรับภาพโดยเปลี่ยนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ (เลื่อนฐานวางวัตถุขึ้นลง) เพื่อให้มองเห็นภาพชัดเจน
- 10.ปุ่มปรับภาพละเอียด (Fine adjustment) ทำหน้าที่ปรับภาพ ทำให้ได้ภาพที่ชัดเจนมากขึ้น
- 11.เลนส์ใกล้วัตถุ (Objective lens) จะติดอยู่กับจานหมุน (Revolving nose piece) ซึ่งจานหมุนนี้ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ ตามปกติเลนส์ใกล้วัตถุมีกำลังขยาย 3-4 ระดับ คือ 4x 10x 40x 100x ภาพที่เกิดจากเลนส์ใกล้วัตถุเป็นภาพจริงหัวกลับ
- 12.เลนส์ใกล้ตา (Eye piece) เป็นเลนส์ที่อยู่บนสุดของลำกล้อง โดยทั่วไปมีกำลังขยาย 10x หรือ 15x ทำหน้าที่ขยายภาพที่ได้จากเลนส์ใกล้วัตถุให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้เกิดภาพที่ตาผู้ศึกษาสามารถมองเห็นได้ โดยภาพที่ได้เป็นภาพเสมือนหัวกลับ

2.8.2 เวอร์เนีย

เวอร์เนียหรือเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier Caliper) เป็นอุปกรณ์สำหรับการวัดระยะที่มีความละเอียดและแม่นยำสูง สามารถวัดได้ทั้งระยะจากด้านนอกและระยะจากด้านในของวัตถุ [18] ซึ่งแบ่งออกเป็นสองประเภทหลักๆคือ

- 1.เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบทั่วไป ซึ่งการวัดและการอ่านค่าจะใช้การอ้างอิงจากการอ่านสเกลที่ปรากฏบนตัวอุปกรณ์ จึงทำให้ค่อนข้างมีความยุ่งยากในการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.34 เวอร์เนียคาลิปเปอร์แบบทั่วไป

2.เวอร์เนียคาลิปเปอร์แบบดิจิทัล จะสามารถอ่านค่าที่ได้จากหน้าจอดิจิทัลแสดงผล ซึ่งการใช้งานจะมีความสะดวกและแม่นยำกว่าเวอร์เนียแบบทั่วไป



รูปที่ 2.35 เวอร์เนียคาลิปเปอร์แบบดิจิทัล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงวิธีการทดลองและขั้นตอนในการผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่มีความสามารถในการผสมสารสองชนิดเข้าด้วยกันในรูปแบบ Passive micromixer ซึ่งประกอบด้วยทางเข้าสำหรับของเหลวสองชนิดและแ่งพักสารสำหรับการตรวจวัดความเข้มของฟลูออเรสเซนต์จาก 4-methyl-umbelliferone (4MU) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเอนไซม์ β -D-glucuronidase (GUD) และซับสเตรต 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG) เพื่อใช้ในการระบุปริมาณของ *E. coli*

3.1 การออกแบบ

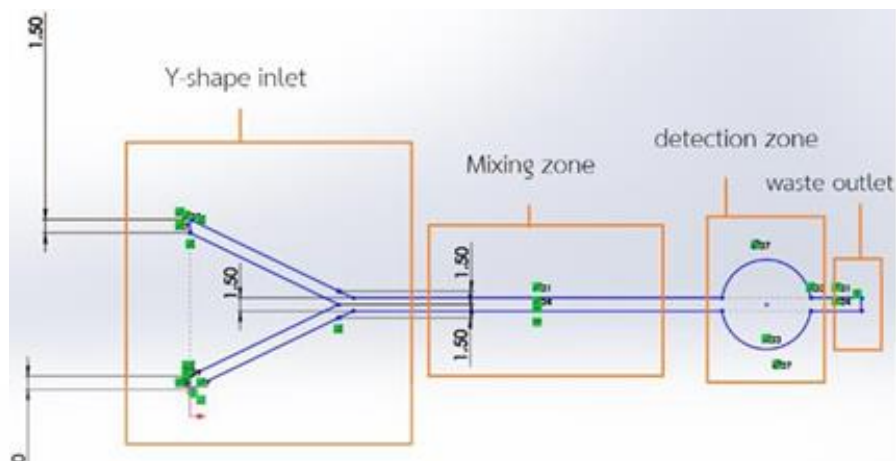
3.1.1 การสร้างโมเดลจำลองด้วย Computer Aided Design software

ในวิทยานิพนธ์นี้ใช้โปรแกรม SOLIDWORKS 2018 ในการออกแบบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ซึ่งองค์ประกอบของอุปกรณ์ที่ออกแบบได้แก่

ท่อรูปตัว Y (Y-shape inlet) สำหรับเป็นทางเข้าของของเหลวสองชนิดที่ถูกป้อนเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ก่อนจะมาบรรจบรวมกันที่บริเวณสำหรับผสมสาร (Mixing zone) ซึ่งเป็นท่อยาวต่อเนื่องมาจาก Y-shape inlet และเป็นบริเวณที่ของเหลวสองชนิดจะผสมกันเป็นเนื้อเดียว เนื่องจากท่อมีขนาดเล็กและเป็นระบบ Passive การไหลของสารมีความเร็วต่ำและการไหลเป็นรูปแบบ Laminar flow จะทำให้การผสมกันของสารเป็นไปได้ยาก อย่างไรก็ตามการผสมสารให้ดีขึ้นมีความสำคัญมากเพราะจะส่งผลต่อการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และซับสเตรต เมื่อผ่านบริเวณนี้มาแล้ว สารซึ่งผสมกันดีจะเข้าสู่แ่งพักสารสำหรับการตรวจวัด (Detection zone) ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้ในการตรวจสอบฟลูออเรสเซนต์จาก 4MU ถัดมาคือท่อปล่อยสารออกจากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก (Waste outlet) เพื่อให้อุปกรณ์สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้หลังจากทำความสะอาด

การวิจัยนี้ได้ออกแบบให้อุปกรณ์มีขนาดใกล้เคียงกับกระจกสไลด์ ซึ่งมีขนาด 1×3 นิ้ว (2.54×7.62 cm) มีท่อเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ที่ 1.5 mm เนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้งานยังไม่สามารถผลิตท่อที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กเกินไปได้และเมื่อพิมพ์จริงพบว่าชิ้นงานมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่เล็กลงจากโมเดลในคอมพิวเตอร์ แ่งพักสารมีลักษณะเป็นวงกลมอยู่หลัง Mixing zone และได้ออกแบบ Mixing zone ที่มีลักษณะท่อแตกต่างกันเป็นจำนวน 6 รูปแบบเพื่อนำมาเปรียบเทียบหาโมเดลที่มีประสิทธิภาพในการผสมสารได้ดีที่สุดในระยะทางที่สั้นที่สุด เนื่องจากความยาวท่อยาว สารที่ใช้ก็จะมีความเข้มข้นอย่างเกินความจำเป็นและความเร็วในการไหลของสารก็จะลดลง

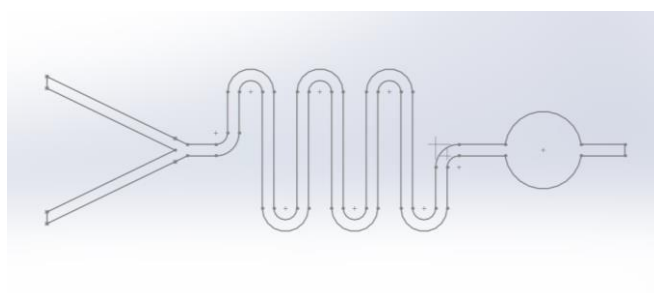
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ A

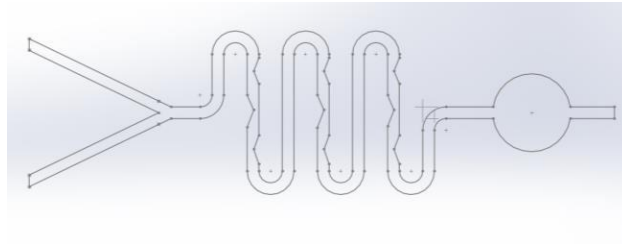
รูปที่ 3.2 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ B

รูปที่ 3.3 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ C



รูปที่ 3.4 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.5 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ E



รูปที่ 3.6 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ F

- โมเดลทั้ง 6 แบบถูกแสดงดังภาพ โดยมีลักษณะแตกต่างกันที่บริเวณสำหรับผสมสาร ดังนี้ รูปที่ 3.1 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ A เป็นเส้นตรง
- รูปที่ 3.2 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ B เป็นท่อโค้งงอหนึ่งขด
- รูปที่ 3.3 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ C เป็นท่อโค้งสองขด
- รูปที่ 3.4 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ D เป็นท่อโค้งสามขด
- รูปที่ 3.5 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ E เป็นท่อโค้งสามขดเจาะรูสามเหลี่ยม
- รูปที่ 3.6 โมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบ F เป็นท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลม

การเลือกโมเดลที่เหมาะสมจะเลือกจากการจำลองการไหลใน Computational fluid dynamics (CFD) software เมื่อได้โมเดลที่มี Mixing zone ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดแล้วจึงนำมาขึ้นรูปโมเดลเป็นสามมิติ และบันทึกเป็นไฟล์ .STL เพื่อใช้ในการพิมพ์สามมิติต่อไป

3.1.2 การจำลองการไหลด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ (Computational fluid dynamics)

การจำลอง (Simulation) สามารถช่วยตรวจสอบการไหลและศึกษาพฤติกรรมของการไหลของสาร ภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกโดยไม่ต้องผ่านการผลิตชิ้นงานทุกโมเดลขึ้นจริง และยังเหมาะกับ

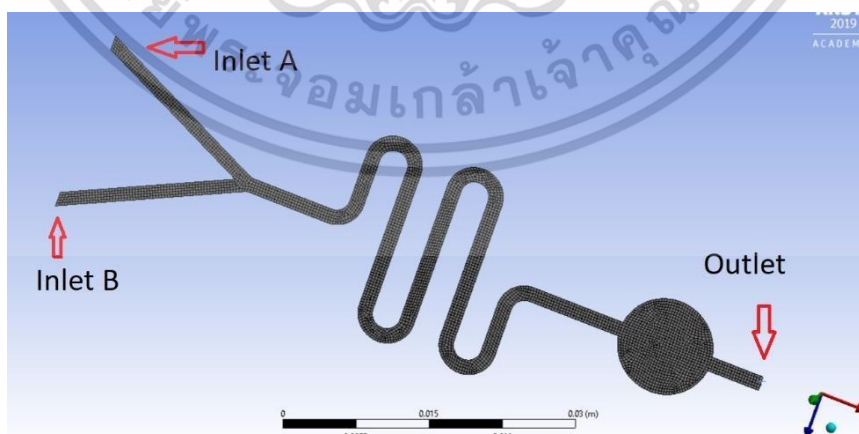
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบเพราะสามารถควบคุมตัวแปรได้ดีกว่า เป็นผลให้การจำลองสามารถลดต้นทุนในการผลิตและลด ระยะเวลาการทำงานในการออกแบบอุปกรณ์ต้นแบบได้

การใช้คอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์การไหลในชิ้นงานนั้น โดยหลักการแล้วซอฟต์แวร์จะสร้าง Mesh ของชิ้นงาน หรือก็คือการแบ่งชิ้นงานออกเป็นองค์ประกอบเล็กๆจำนวนมาก จากนั้นใช้การคำนวณของสมการ Navier–Stokes และสมการอื่นๆที่เกี่ยวข้องเพื่อวิเคราะห์ผลและแสดงภาพผลลัพธ์ในรูปแบบที่ต้องการศึกษา

การวิจัยนี้ใช้โปรแกรม ANSYS Student 2019 R3 ในการศึกษาพฤติกรรมการไหลของสารในไมโครฟลูอิดิกซึ่งแตกต่างกัน 6 แบบ มาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผสมสารบริเวณ Mixing zone เพื่อเลือก โมเดลที่จะใช้งาน โปรแกรม ANSYS Student เป็น Workbench ที่มาพร้อมกับ ANSYS, CFD และแอปพลิเคชันอื่นๆช่วยให้โปรแกรมมีความยืดหยุ่นในการทำงานและจำลองสถานการณ์จริงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในที่นี่ทางผู้วิจัยได้ใช้ Analysis system เป็น Fluid flow (Fluent) สำหรับศึกษาไฟล์ CAD จากโปรแกรม SOLIDWORKS 2018 ถูกนำมาใช้ในการจำลองที่โปรแกรม ANSYS ได้โดยใช้คำสั่ง Planar surface ลงบน Sketch ที่ออกแบบเอาไว้ใน SOLIDWORKS 2018 และบันทึกไฟล์เป็นสกุล .IGS เพื่อใช้สำหรับ Import geometry ใน Fluid flow (Fluent)

ขั้นตอนถัดมาเป็นการกำหนดรายละเอียดเงื่อนไขขอบ (Boundary conditions) รวมถึงสร้างกริด (Meshing) ซึ่งดำเนินการใน ANSYS meshing เนื่องจากการวิจัยต้องการศึกษาพฤติกรรมการไหลภายในท่อ อุปกรณ์ การกำหนดให้ขอบต้นท่อบนตัว Y ทั้งสองฝั่งเป็น Inlet A และ Inlet B สำหรับให้สารสองสารที่ ต่างกันเข้ามาสู่ระบบ และกำหนดให้ขอบปลายของท่อปล่อยสารออกจากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกเป็น Outlet ส่วนบริเวณท่อภายในเป็นทางให้สารไหลจาก Inlet สู่อ Outlet สำหรับการสร้างกริดเบื้องต้นผู้วิจัยได้กำหนด ขนาดของ Element ที่ 0.0003 m ดังแสดงในรูปที่ 3.7 แสดงถึงการสร้างกริด (Meshing) และกำหนด เงื่อนไขขอบ กำหนดให้ทางเข้าฝั่งท่อบนตัววายเป็น Inlet A และ Inlet B ทางออกที่ท่อปล่อยสารเป็น Outlet



รูปที่ 3.7 เงื่อนไขขอบของโมเดล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเสร็จสิ้นการสร้างกริดและกำหนด Boundary condition แล้วจึงเข้าสู่การตั้งค่าการจำลองของ Fluent โดยการวิจัยศึกษาเป็นระบบสองมิติ และ Double precision solver เพื่อเพิ่มความถูกต้องในการ คำนวณ ลักษณะการไหลแบบ Laminar ระบบไมโครฟลูอิดิกมักมีตัวเลขเรย์โนลด์ต่ำมากเนื่องท่อนขนาดเล็ก ตั้งแต่ระดับนาโนถึงมิลลิเมตร ไม่สามารถรองรับความเร็วต้นสูงได้ และรูปแบบการจำลอง (Models) เป็น Species transport เพื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของสารระหว่างผสม

จุดประสงค์หลักในการจำลองคือเปรียบเทียบหาโมเดลที่มี Mixing zone ดีที่สุด จึงควบคุมตัวแปร อื่นๆให้เท่ากัน เบื้องต้นกำหนดให้ความเร็วที่ Inlet อยู่ที่ 0.01 m/s เท่ากันทั้งสองฝั่ง ความดันและอุณหภูมิ เป็นค่าคงที่ Material ที่ใช้ในการคำนวณเป็นประเภท Fluid โดยเลือกใช้น้ำ ($H_2O<l>$) จาก Fluent database เนื่องจากเอนไซม์และเซลล์ที่ใช้งานวิจัยถูกเจือจางอยู่ในน้ำเป็นปริมาณน้อยมาก จึงสามารถ ใช้น้ำในการจำลองการไหลแทนได้ ดังนั้นของเหลวทั้งสองแบบจึงกำหนดชื่อให้เป็น Water-liquid ($H_2O<l>$) กับ Water-liquid-solute โดยทั้งคู่มีคุณสมบัติคงที่ของน้ำตาม Database เช่นเดียวกันคือความหนาแน่น 998.2 kg/m^3 ความหนืด 0.001003 kg/m.s ความจุความร้อนจำเพาะ 4182 J/kg.K

ในส่วนของ Mixture properties ใน Species model เลือกใช้ Mixture-template ซึ่งกำหนดการผสมของสารสองแบบได้แก่ Water-liquid และ Water-liquid-solute คำนวณความหนาแน่นของของเหลวผสมโดยใช้ Volume-weighted-mixing-law และคำนวณความหนืดของของเหลวผสมโดยใช้ Mass-weighted-mixing-law ซึ่งใช้สำหรับการผสมสารที่ไม่ใช่แก๊สในอุดมคติ กำหนดค่า Mass diffusivity ไว้ที่ $2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ซึ่งอยู่ในช่วงค่าโดยประมาณสำหรับการถ่ายโอนมวลของของเหลวในของเหลว

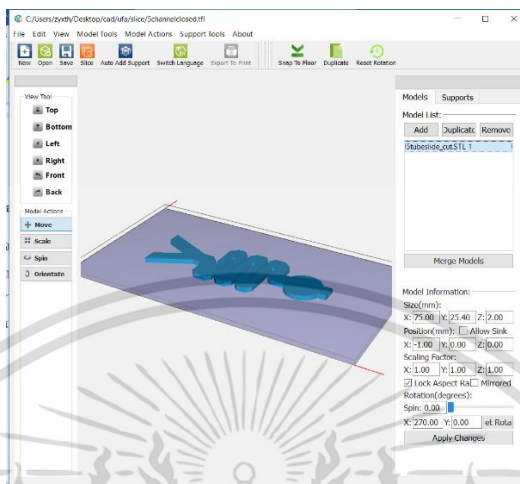
การจำลองการผสมของสองสารจากทางเข้าที่ต่างกันทำด้วยการกำหนด Boundary condition ให้ Water-liquid เข้าทาง Inlet A และ Water-liquid-solute เข้าทาง Inlet B จากนั้นการตั้งค่าที่สำคัญคือ การกำหนด Species mass fraction ให้ $H_2O<l>$ ที่ Inlet A เป็น 1 ขณะที่ Inlet B เป็น 0 จากนั้นคำนวณจนเกิดการลู่เข้าของค่าตอบ (จำนวน Iteration 150 ครั้ง)

3.2 การผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

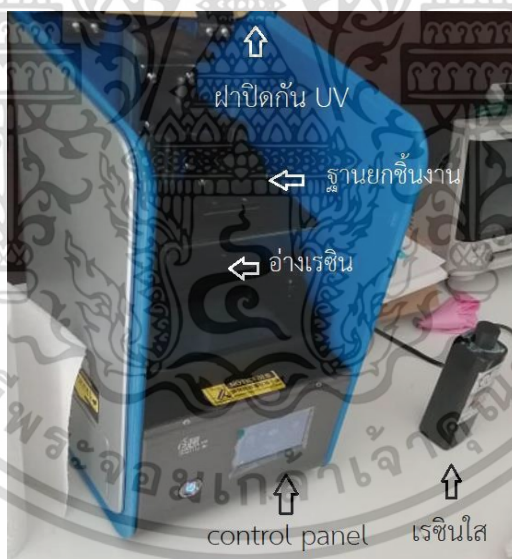
เมื่อออกแบบได้โมเดลสามมิติที่ต้องการ ไฟล์ .STL จะต้องนำไปผ่านตัดเป็นชิ้นบางๆสองมิติด้วย Slicer program เพื่อเตรียมชิ้นงานสำหรับการพิมพ์เนื่องจากเครื่องพิมพ์จะทำการพิมพ์ทีละชั้น ในงานวิจัยนี้ ใช้โปรแกรม 3D Creator Slicer ซึ่งมีการจัดวางชิ้นงานดังรูปที่ 3.8 โดยวางชิ้นงานให้ติดอยู่กับฐาน

การวิจัยนี้ศึกษาการนำเทคโนโลยีที่สามารถเข้าถึงได้โดยบุคคลทั่วไปมาใช้ในการผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก เครื่องพิมพ์สามมิติที่ใช้งานคือ Creality3D LD-001 ซึ่งเป็นเครื่องพิมพ์ประเภท DLP มีความละเอียด (resolution) อยู่ที่ $50 \mu\text{m}$ ขนาดพื้นที่พิมพ์ $120 \times 70 \times 120 \text{ mm}$ มีจุดเด่นที่ราคาไม่สูงเมื่อเทียบกับเครื่องพิมพ์ประเภทเดียวกันและความละเอียดสูง ส่วนยูวีเรซินที่ใช้เป็นประเภทยูวีเรซินแบบใสเพื่อให้

มองเห็นการไหลของของเหลวภายในอุปกรณ์ รวมถึงไม่บดบังแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่างที่ใส่เข้าไป ภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

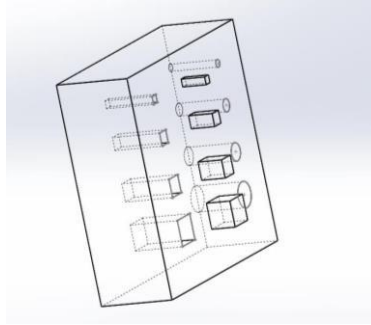


รูปที่ 3.8 การจัดวางชิ้นงานในโปรแกรม 3D Creator Slicer

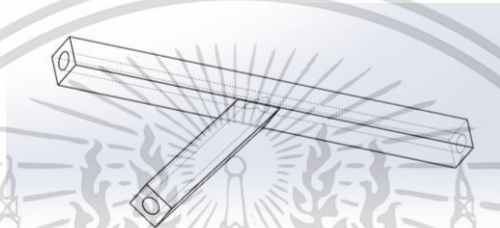


รูปที่ 3.9 เครื่องพิมพ์สามมิติ Crealitiy3D LD-001 และองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 โมเดลเจาะรู



รูปที่ 3.11 โมเดลท่อรูปตัว y

ตัวอย่างชิ้นงานสำหรับทดสอบพิมพ์ รูปที่ 3.8 เจาะรูท่อกกลมและสี่เหลี่ยมที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 300, 500, 700, 1000 μm และรูปที่ 3.9 ท่อรูปตัววายที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 700 μm

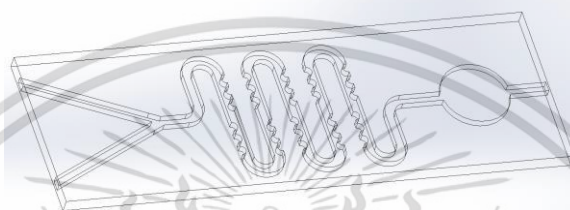
ก่อนจะพิมพ์โมเดลจริงได้มีการทดสอบประสิทธิภาพเครื่องพิมพ์โดยเจาะรูเป็นรูปทรงและขนาดที่ต่างกัน ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 300, 500, 700, 1000 μm กับท่อรูปตัววายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เท่ากัน แล้วจึงนำมาเทียบกับชิ้นงานที่พิมพ์ได้จริง

นอกจากขนาดของโมเดลและเส้นผ่านศูนย์กลางที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการพิมพ์แล้ว ยังรวมถึงจำนวน และความเร็วในการพิมพ์ชิ้นงานในชั้นแรก เนื่องจากถ้าพิมพ์ช่วงแรกเร็วเกินไปชิ้นงานจะไม่ติดกับฐาน ปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการพิมพ์โครงสร้างประเภทท่อคือ ความหนาของผนังท่อต้องเพียงพอที่จะทำให้โครงสร้างมั่นคง ท่อที่มีรูโครงสร้างกลมนั้นยากต่อการพิมพ์โดยไม่มีตัวค้ำภายในโครงสร้างและในชิ้นงานขนาดเล็กไม่สามารถเอาตัวค้ำในท่อออกที่หลังได้ รูที่พิมพ์สามมิติมักจะมีขนาดเล็กกว่าในไฟล์ต้นแบบ เนื่องจากการหดตัวของวัสดุ

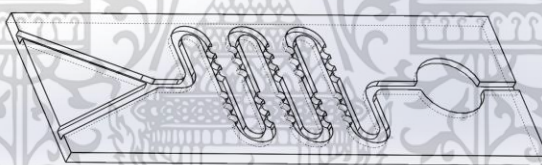
ในการใช้งานการพิมพ์สามมิติเพื่อสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกจึงมักเป็นการพิมพ์ตัวเข้าหล่อซึ่งพิมพ์ส่วนทางของไหลเป็นท่อต้นแบบ Negative space ของอุปกรณ์จริง ตามที่ MacDonal et al. ซึ่งเป็นคณะแรกที่ใช้เทคโนโลยีดังกล่าวในการหล่อชิ้นรูป PDMS หรือเป็นการพิมพ์สามมิติให้ท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกเป็นท่อเปิดในลักษณะของรูปที่ 3.13 แล้วนำมาประกบกับกระจกสไลด์เพื่อปิดท่อในภายหลังตามที่ Plevniak et al. รายงาน อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่ใช้การพิมพ์สามมิติผลิตโดยตรงมักมีข้อจำกัดเรื่องความละเอียด อันเป็นผลมาจากขนาดรูของหัวฉีดที่เครื่องพิมพ์แบบ FDM ตัวอย่างเช่น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องพิมพ์ Objet Connex 350 ถูกรายงานว่าจะนำไปใช้ผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่มีรูท่อกว้าง 3 mm ลึก 1.5 mm อย่างไรก็ตาม Shallan et al. ได้รายงานความสำเร็จในการใช้เครื่องพิมพ์สามมิติ MiiCraft ซึ่งเป็นเครื่องพิมพ์เทคนิค VAT Photopolymerisation ในการสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกด้วยเรซินใสสำเร็จเป็นครั้งแรก

ในวิทยานิพนธ์นี้จึงทำการพิมพ์สามมิติโดยปรับเปลี่ยนโมเดลตามปัจจัยดังกล่าวเพื่อศึกษาผลลัพธ์ที่ได้จากการพิมพ์



รูปที่ 3.12 โมเดลชิ้นงานสามมิติอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อบิด



รูปที่ 3.13 โมเดลชิ้นงานสามมิติอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อเปิด

เมื่อได้ชิ้นงานออกมาแล้วจึงทำการตรวจสอบคุณภาพอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่ได้จากการพิมพ์สามมิติ ด้วยการวัดขนาดและความหนาภายนอกของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกด้วยเวอร์เนียแบบดิจิทัล แล้วจึงทำการส่องดูรายละเอียดของท่อภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงรุ่น Optika B 252

ต่อมาจึงทำการประกบชิ้นงานที่ได้จากการพิมพ์สามมิติด้วยแผ่นกระจกสไลด์ เพื่อปิดผิวท่อด้านบน โดยใช้วัสดุเชื่อมประสานอย่าง กาวตราช่าง, เรซินใส และ ซิลิโคน จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของตัวเชื่อมประสานแต่ละตัวด้วยการฉีดสารสีเข้าไปภายในท่อของไมโครฟลูอิดิก เพื่อดูการรั่วไหลของบริเวณที่ประกบชิ้นงาน

สุดท้ายจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพการไหลผสมของสารภายในท่อของไมโครฟลูอิดิก ด้วยการฉีดสีที่แตกต่างกันเข้าไปภายในท่อทั้งสองฝั่งของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก แล้วจึงดูการไหลผสมของสารสีภายในไมโครฟลูอิดิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การวัดฟลูออเรสเซนซ์จาก 4-methylumbelliferone (4MU)

จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ β -D-glucuronidase (GUD) ซึ่งเป็นไปโอมาร์คเกอร์ของเชื้อ *E. coli* กับ ซับสเตรต 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) การไฮโดรไลซิสของซับสเตรต MUG ทำให้เกิด 4-methylumbelliferone (4MU) ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ของ 4MU ที่สามารถวัดได้จะเป็นสัดส่วน โดยตรงกับปริมาณของเอนไซม์ GUD ซึ่งช่วยบ่งบอกปริมาณของ *E. coli* ภายในตัวอย่างได้

ในส่วนของ การทดลองนี้เป็นการนำ 4MU ในปริมาณความเข้มข้น 10, 5, 2, 1, 0.1 μ M มาวัดความเข้มฟลูออเรสเซนซ์เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้นของ 4MU

เริ่มต้นด้วยการเตรียมสารละลาย 4MU มวลโมเลกุลของ 4MU ซึ่งมีสูตรโมเลกุล $C_{10}H_8O_3$ อยู่ที่ 176 g/mol จากความสัมพันธ์ของโมลในสมการที่ 3.1

$$n = \frac{m}{MW} \quad (3.1)$$

กำหนดให้

n คือ โมล

m คือ มวล

MW คือ มวลโมเลกุล

สามารถเตรียม 4MU 500 μ M ได้โดยชั่ง 4MU แบบผงปริมาณ 0.088 g ละลายกับเมทานอล 100 ml จากนั้นจึงทำการเจือจางสารละลายจากสารละลายเข้มข้น โดยใช้ความสัมพันธ์ในสมการที่ 3.2

$$M_1V_1 = M_2V_2 \quad (3.2)$$

กำหนดให้ M_1 เป็นความเข้มข้นสารละลายก่อนเจือจาง

V_1 เป็นปริมาตรสารละลายก่อนเจือจาง

M_2 เป็นความเข้มข้นสารละลายหลังเจือจาง

V_2 เป็นปริมาตรสารละลายหลังเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ออโต้ปิเปตซึ่งผ่านการสอบเทียบเครื่องมือ (calibrate) ในการตวงสารละลายเข้มข้น และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ใช้เครื่องเขย่าสารเพื่อให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อใช้ปริมาณสารในการเจือจางดังตารางที่ 3.1 จะได้สารละลาย 4MU ที่ความเข้มข้น 10, 5, 2, 1, 0.1 μM

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณและความเข้มข้นของ 4MU และปริมาณของเมทานอล ในการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของ 4MU ที่ 10, 5, 2, 1 และ 0.1 μM

ความเข้มข้นของ 4MU ที่ต้องการ	สารที่ใช้ในการเจือจาง		
	ความเข้มข้น	ปริมาณ	ปริมาณเมทานอล
	4MU	4MU	
10 μM	500 μM	1 ml	49 ml
5 μM	10 μM	1 ml	1 ml
2 μM	5 μM	1 ml	1.5 ml
1 μM	2 μM	1 ml	1 ml
0.1 μM	1 μM	1 ml	9 ml



รูปที่ 3.14 การเจือจางสารละลายด้วยออโต้ปิเปต

นำ 4MU ที่ความเข้มข้นดังกล่าวมาใส่ใน Microcentrifuge tube แล้ววัดความเข้มฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่อง ESElog Fluorescence Detector (ความถี่แสงตกกระทบ 355 nm และความถี่แสงปล่อยออก 450 nm) ดัง รูปที่ 3.15 ซึ่งแสดงการตรวจสอบฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube ตัวเครื่องถูกเชื่อมต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์ด้วยสาย USB และใช้โปรแกรม FLDigital ในการประมวลข้อมูลการวัด ความถี่ในการวัด 10 ครั้งโดยเว้นช่วงการวัดที่ 1 วินาที นำค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวัดมาใช้ในการวาดกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.15 เครื่อง ESElog Fluorescence Detector

3.4 การวัดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG

ในการทดลองที่ผ่านมาเป็นการศึกษาฟลูออเรสเซนซ์จาก 4MU โดยตรง แต่ในการทดลองนี้จะเป็นการศึกษาฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG ซึ่งเกิดผลิตภัณฑ์เป็น 4MU ที่สามารถวัดฟลูออเรสเซนซ์ได้

โดยศึกษาด้วยการใช้เอนไซม์ GUD ที่มี Enzyme activity แตกต่างกัน ปริมาณ 100 μl ผสมเข้ากับซับสเตรต MUG ความเข้มข้นคงที่ที่ 50 μM pH 6.8 ปริมาณ 100 μl ใช้เวลาทำปฏิกิริยา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้องก่อนจะใส่ NaOH ความเข้มข้น 1M จำนวน 100 μl เพื่อหยุดปฏิกิริยา ส่วนสารละลาย blank ใช้ขั้นตอนเดียวกันแต่เปลี่ยนจาก GUD เป็นน้ำกลั่นแทน จากนั้นใช้ฟลูออโรมิเตอร์ในการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์

ซับสเตรต MUG (สูตรโมเลกุล $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 352.3 g ใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 nM ในการทำละลายซับสเตรต จัดเตรียมบัฟเฟอร์โดยผสม Na_2HPO_4 และ NaH_2PO_4 ให้ได้ pH 6.8 โดยคำนวณตามสมการที่ 3.3

$$\text{pH} = -\log K_b + \log\left(\frac{\text{salt}}{\text{acid}}\right) \quad (3.3)$$

ซึ่งจะได้ค่าความเข้มข้นของ Na_2HPO_4 และ NaH_2PO_4 เท่ากันคือ 0.025 M จากนั้นจึงทำการเตรียมสารเพื่อนำมาผสมกันและทดสอบค่า pH ของบัฟเฟอร์อีกครั้งด้วยกระดาษอินดิเคเตอร์

ช่วง Enzyme activity ของเอนไซม์ GUD ที่เหมาะสมจะต้องเป็นค่าที่ใช้แล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่มีฟลูออเรสเซนซ์อยู่ในช่วงที่สามารถวัดค่าได้จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ และเป็นปริมาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงใกล้เคียงกับกราฟมาตรฐานที่วัดความสัมพันธ์ฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้น 4MU ที่ได้ในการทดลองที่ผ่านมา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหา Enzyme activity เริ่มต้นก่อนที่จะกำหนดช่วงได้ ทำโดยนำ GUD มาเจือจางและทำปฏิกิริยากับ MUG ทดสอบหาฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อได้ค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ปริมาณเหมาะสมจึงนำมาคำนวณหา Enzyme activity ของ GUD ที่ใช้ แล้วค่อยกำหนดช่วง Enzyme activity จากค่าที่คำนวณได้เป็นหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 Unit ของ Enzyme activity หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่เปลี่ยนให้ซับสเตรตเป็นผลิตภัณฑ์ 1 ไมโครโมล ได้ภายในเวลา 1 นาที ($1U = \mu\text{mol}/\text{ml}/\text{min}$) จึงสามารถคำนวณ Enzyme activity เริ่มต้นได้จากการนำค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้จากปฏิกิริยา MUG-GUD หักลบกับ blank มาหาค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์โดยใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้น 4MU และค่าฟลูออเรสเซนซ์ ได้เป็นค่า Enzyme activity เริ่มต้นที่ $1700 \mu\text{mol}/\text{ml}/\text{min}$

กำหนดช่วง Enzyme Activity ของ GUD ที่ใช้ทดลองเป็น 1700, 850, 425, 85, 17, 1 U และ Blank ซึ่งจัดเตรียมได้โดยนำ GUD 1700 U มาทำการเจือจางด้วยบัฟเฟอร์ฟอสเฟตจนได้ Enzyme activity ที่ต้องการ ดังตารางที่ 3.2 และใช้ GUD ที่เตรียมนี้ไปผสมกับ MUG เพื่อทำปฏิกิริยาวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Enzyme activity ของ GUD กับ ฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้

ตารางที่ 3.2 แสดงค่า Enzyme activity และปริมาณของ GUD ต่อปริมาณของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ในการเจือจางให้ได้ค่า Enzyme activity ของ GUD ที่ 850, 425, 85 17 และ 1 U

Enzyme activity ของ GUD ที่ต้องการ (U)	สารที่ใช้ในการเจือจาง		
	Enzyme activity ของ GUD	ปริมาณของ GUD	ปริมาณฟอสเฟตบัฟเฟอร์
850	1700 U	1 ml	1 ml
425	850 U	1 ml	1 ml
85	425 U	1 ml	4 ml
17	85 U	1 ml	4 ml
1	17 U	1 ml	16 ml

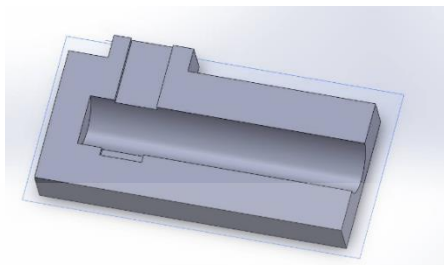
3.5 การออกแบบและผลิตเครื่องมือในการวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ

เนื่องจากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกไม่สามารถใช้งานกับเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐานได้ จึงได้ใช้การวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยค่า RGB ผ่านรูปถ่ายจากกล้องโทรศัพท์มือถือทดแทน การจะใช้กล้องโทรศัพท์มือถือถ่ายภาพการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จะต้องอยู่ในที่มีดสนิท ไม่มีแสงจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้ามารบกวนเพื่อให้ภาพฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ชัดเจนที่สุด

การออกแบบเครื่องมือในการวัดด้วยวิธีดังกล่าวถูกทำขึ้นโดยใช้โปรแกรม SOLIDWORKS 2018 ในการออกแบบโมเดล 3 มิติขึ้น มีลักษณะโดยทั่วไปเป็นกล่องเพื่อกันแสงจากภายนอก ตัวโมเดลแบ่งเป็น 3 ชั้นส่วน เพื่อความสะดวกในการพิมพ์ 3 มิติ โดยแบ่งเป็น

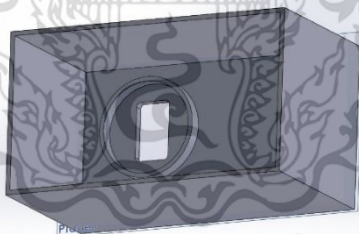
1. ส่วนฐาน (รูปที่ 3.16) มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า 10×19 cm มีความหนา 2.5 cm ทำหน้าที่เป็นส่วนที่ไว้ใช้วางตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ โดยมีการเจาะฐานให้เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้าง 2.6 cm ตามรูปทรงไมโครฟลูอิดิกเพื่อใช้ยึดตำแหน่งให้ตรงกับรูด้านบนที่ส่วนฝากล่อง ทำให้เมื่อส่องกล้องถ่ายรูป

ลงมาจะตรงกับตำแหน่งของตัวอย่างที่วางอยู่ นอกจากนี้ยังมีการเจาะทรงครึ่งกระบอกเพื่อใช้วางไฟฉายยูวี ซึ่งเป็นแหล่งแสงสำหรับฉายไปยังตัวอย่าง ทำให้ทิศของแหล่งแสงกับทิศของการถ่ายภาพตั้งฉากกัน



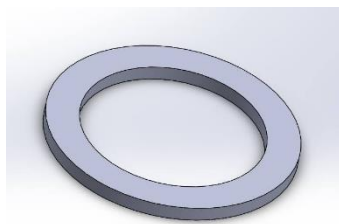
รูปที่ 3.16 ภาพส่วนฐานที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018

2. ส่วนฝากล่อง (รูปที่ 3.17) ทำหน้าที่เป็นฝาครอบส่วนฐานและวางโทรศัพท์สำหรับถ่ายภาพที่ด้านบนฝา ส่วนด้านบนของฝาเจาะรูสำหรับกล้องโทรศัพท์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 2.4*4.0 cm เพื่อให้กล้องถ่ายรูปส่องผ่านลงมาจากฝากล่องได้ บริเวณด้านใต้ฝาส่วนบนมีขอบรูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.2 cm สำหรับใส่ ยูวีฟิลเตอร์รูปวงกลม เพื่อให้แสงผ่านฟิลเตอร์ก่อนมาถึงกล้อง และกรองแสงยูวีจากแหล่งแสงออกทำให้สามารถวัดเฉพาะแสงที่มาจากตัวอย่างได้ ตัวฝากล่องมีความสูง 11.1 cm จากพื้นเพื่อให้กล้องสามารถจับโฟกัสไปที่ตัวอย่างได้อย่างชัดเจน



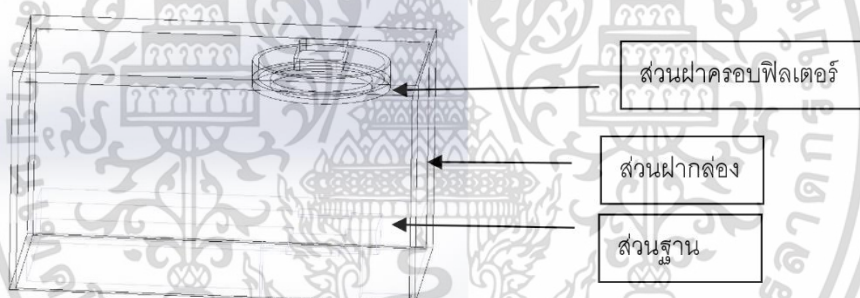
รูปที่ 3.17 ภาพส่วนฝากล่องที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018

3. ฝาครอบฟิลเตอร์ (รูปที่ 3.18) เป็นแผ่นรูปวงกลมเจาะรูตรงกลางด้วยเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 cm เมื่อใส่ฟิลเตอร์ไว้ในช่องใส่ฟิลเตอร์ที่ฝากล่องแล้ว ใช้ฝาครอบในการปิดล็อกให้ฟิลเตอร์ไม่ตกลงมาตามแรงโน้มถ่วง รูตรงกลางทำให้เป็นพื้นที่ว่างที่ไม่ไปบดบังการถ่ายภาพ



รูปที่ 3.18 ภาพส่วนฝาครอบฟิลเตอร์ที่ออกแบบในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018

เมื่อทดลองนำมาประกอบเข้าด้วยกันด้วย Assembly ในโปรแกรมจะได้เป็นเครื่องมือที่มีลักษณะเป็นกล่อง ดังรูปที่ 3.19 ส่วนฐานด้านในกล่องวางไฟฉายฉายแสงยูวีไปกระตุ้นตัวอย่างให้เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ตัวอย่างจะถูกวางไว้ตรงกับตำแหน่งที่เจาะรูไว้ที่ฝาเพื่อสำหรับถ่ายรูป เมื่อเรืองแสงแล้ว แสงจะผ่านฟิลเตอร์ไปสู่กล้องถ่ายรูปของโทรศัพท์ที่วางไว้ด้านบนฝาครอบ ในงานวิจัยนี้ใช้ไฟฉาย MaxDe รุ่นฉายแสงยูวี ความถี่ 365 nm และ Kenko UV filter สำหรับเป็นฟิลเตอร์กันแสงยูวี และโทรศัพท์รุ่น Asus Zenphone Max Pro M1 ในการถ่ายรูป



รูปที่ 3.19 ภาพเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่ประกอบสมบูรณ์ในโปรแกรม SOLIDWORKS 2018

เมื่อออกแบบโมเดลเสร็จเรียบร้อยแล้ว ใช้เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ FDM ในการพิมพ์โมเดลด้วยฟิลาเมนต์ นำทั้ง 3 ชิ้น มาประกอบเข้าด้วยกันพร้อมกับฟิลเตอร์ ไฟฉายวางไว้ที่ส่วนฐาน โทรศัพท์วางที่ส่วนฝาบน ได้เป็นเครื่องมือสำหรับใช้งานวัดฟลูออเรสเซนซ์

การหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือจะใช้เครื่องมือที่ได้พิมพ์สามมิติออกมาในการจัดวางตำแหน่งของอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ไฟฉายยูวี ฟิลเตอร์ยูวี โทรศัพท์ และตัวอย่าง เมื่อวางตรงตามตำแหน่งแล้วจะใช้แอปพลิเคชัน Color Grab ในการถ่ายภาพ ซึ่งเป็นแอปพลิเคชันสำหรับวัดค่าสี RGB ของตำแหน่งที่กำหนดจากภาพในกล้องถ่ายรูป เมื่อโฟกัสและเลือกค่าสีที่บริเวณสำหรับตรวจวัดของไมโครฟลูอิดิก หรือเข็มเปิดชนิดอื่นๆ จะทำให้ได้ค่า RGB จากการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่างที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า RGB ที่ได้ประกอบด้วย 3 จำนวน ซึ่งได้แก่ Red value, Green value และ Blue value ในการวิจัยนี้ใช้ค่า Blue Value เพื่อหาฟลูออเรสเซนซ์เนื่องจากแสงที่เขมเปิดเรืองออกมาหลังถูกกระตุ้นด้วยแสงยูวีจะมีความถี่อยู่ที่ 450 nm ซึ่งอยู่ในช่วงแสงสีฟ้า ตรงกับช่วงการวัดค่า Blue value ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ

เมื่อนำ Blue value ที่ได้จากแต่ละตัวอย่าง 4MU ที่ความเข้มข้นต่างกันมาเทียบกับค่าฟลูออเรสเซนซ์จากฟลูออโรมิเตอร์ของตัวอย่างนั้นๆ จะได้เป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์กับ Blue value ทำให้สามารถใช้โทรศัพท์มือถือในการทดแทนฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐานได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน

4.1 ผลการศึกษาการจำลองการไหลด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ

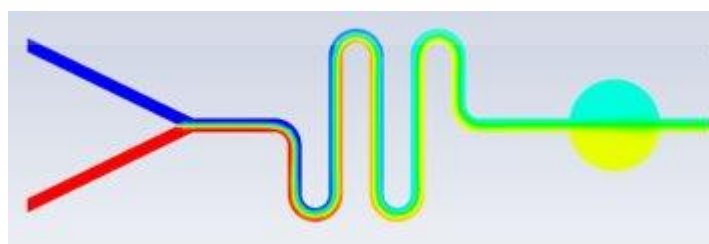
จากการวิเคราะห์ Fluid flow ด้วย Fluent ใน ANSYS Student 2019 R3 โดยใช้ Geometry ของท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกจากโปรแกรม SOLIDWORKS 2018 ซึ่งมีส่วนบริเวณสำหรับผสมสารแตกต่างกัน 6 แบบ ผลที่ได้จากการคำนวณและแสดงผลกราฟิก Mass fraction ของ Water-liquid ($H_2O<l>$) ถูกแสดงดังรูปที่ 4.1 ถึง 4.6 โดยมีรูปที่ 4.7 เป็นภาพแสดงค่า Mass Fraction ของแถบสี



รูปที่ 4.1 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล A

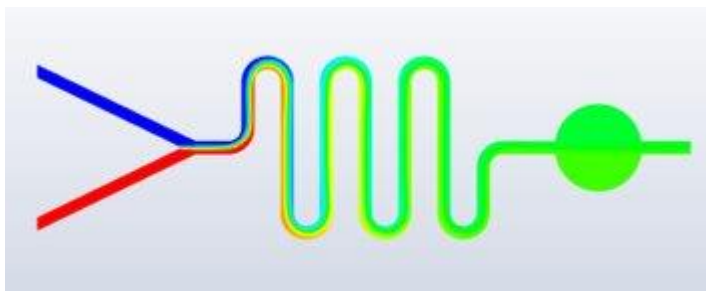


รูปที่ 4.2 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล B

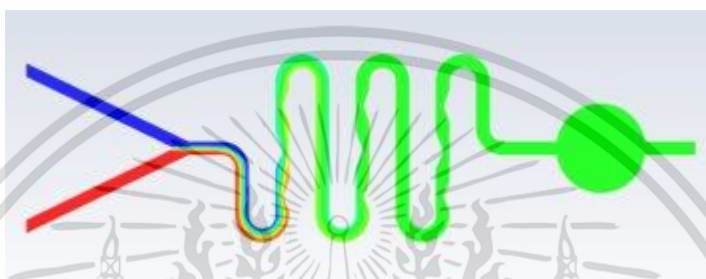


รูปที่ 4.3 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล C

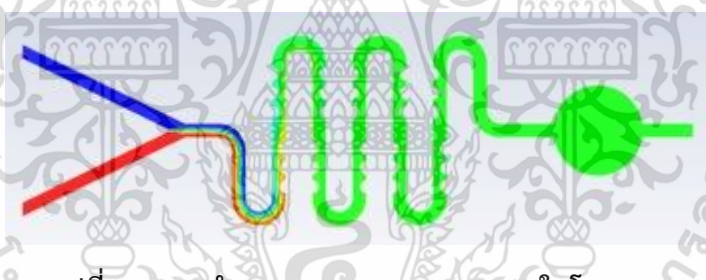
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



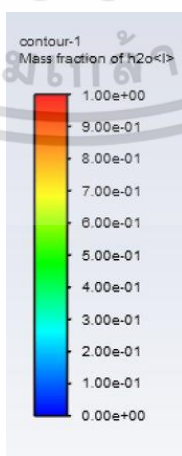
รูปที่ 4.4 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล D



รูปที่ 4.5 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล E



รูปที่ 4.6 การจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล F



รูปที่ 4.7 ภาพแสดงค่าของ Mass Fraction ของแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

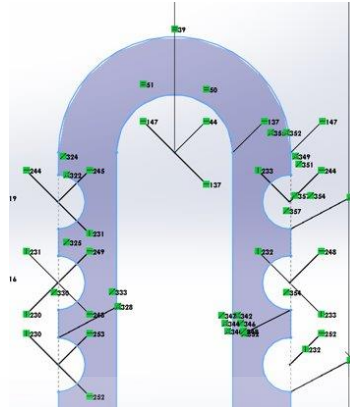
จากภาพแสดงผลกราฟิก Mass Fraction ของ Water-liquid ($H_2O<l>$) ในท่อไมโครฟลูอิดิกที่มีบริเวณผสมสารต่างกันทั้ง 6 โมเดล ดังนี้ A) ท่อเป็นเส้นตรง B) ท่อโค้งงอหนึ่งขด C) ท่อโค้งสองขด D) ท่อโค้งสามขด E) ท่อโค้งสามขดเจาะรูสามเหลี่ยม F) ท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลม โดยช่วงสีแสดงค่า Mass fraction ในภาพดังรูปที่ 4.7 สีแดงแสดงอัตราส่วนเป็นหนึ่ง ซึ่งหมายถึง Water-liquid ($H_2O<l>$) ที่ไม่มี Water-liquid-solute ผสมอยู่ และสีน้ำเงินแสดงอัตราส่วนเป็นศูนย์ หมายถึง Water-liquid-solute ที่ไม่มี Water-liquid ($H_2O<l>$) ผสมอยู่

จากผลกราฟิกที่ได้ของท่อไมโครฟลูอิดิกโมเดลรูปแบบ A) ท่อเป็นเส้นตรง B) ท่อโค้งงอหนึ่งขด C) ท่อโค้งสองขด สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนจากภาพกราฟิกว่าสารละลายทั้งสองชนิดยังคงเกิดการแบ่งชั้นและไม่สามารถผสมกันได้ดีแม้เกินจากบริเวณผสมสาร หมายความว่า Water-liquid ($H_2O<l>$) และ Water-liquid-solute ซึ่งเป็นสารละลายจำลองทั้งสองประเภทผสมกันเพียงบางส่วนใน Detection zone สำหรับการตรวจวัดซึ่งจำเป็นที่จะต้องเกิดการผสมกันอย่างดีเพื่อให้สารละลายทั้งสองประเภททำปฏิกิริยาและตรวจวัดผลฟลูออเรสเซนซ์ได้ ขณะที่ท่อไมโครฟลูอิดิกแบบ D) ท่อโค้งสามขด มีการผสมกันของสารดีขึ้นจากสามแบบแรกอย่างมาก สังเกตได้จากช่วงสีบริเวณ Detection zone ว่าเป็นสีเขียว ซึ่งแสดงถึง Mass fraction ในช่วงประมาณ 0.6 ถึง 0.4 ซึ่งเกิดจากการที่สารละลายทั้งสองแพร่และผสมเข้าหากัน อย่างไรก็ตามผลที่ได้ยังคงมีการแบ่งชั้นของสีเขียวแสดงถึงการผสมที่ยังไม่สมบูรณ์

ในท่อไมโครฟลูอิดิกในแบบ E) ท่อโค้งสามขดเจาะรูสามเหลี่ยม ดังรูปที่ 4.8 และ F) ท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลม ดังรูปที่ 4.9 ซึ่งเป็นรูปแบบที่ต่อยอดมาจากท่อไมโครฟลูอิดิกแบบ D ผลกราฟิกที่สังเกตได้พบว่า ช่วง Detection zone เป็นสีเขียวเนื้อเดียวกัน (Mass fraction ที่ 0.5) ซึ่งแสดงถึงการผสมกันอย่างสมบูรณ์ของสารละลายทั้งสองประเภท ทั้งนี้ท่อแบบ E และ F มีประสิทธิภาพในการผสมสารมากกว่าเนื่องจากการเจาะท่อ



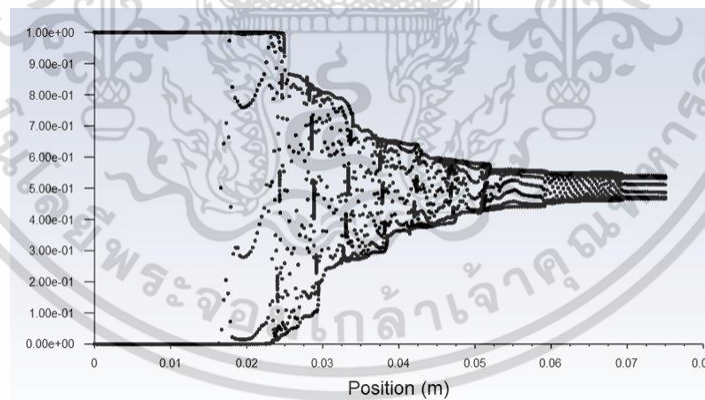
รูปที่ 4.8 ลักษณะการเจาะของท่อแบบรูปสามเหลี่ยม



รูปที่ 4.9 ลักษณะการเจาะของท่อแบบรูปวงกลม

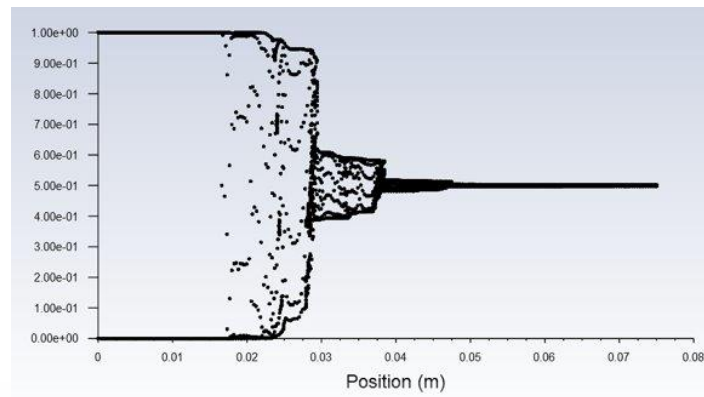
การเจาะท่อของท่อไมโครฟลูอิดิกทั้งสองแบบทำให้เกิดการกิดขวางการไหลของสาร และเกิดการไหลแบบ Chaotic flow ซึ่งช่วยให้สารละลายสองประเภทผสมกันได้ดีและเร็วมากขึ้น

อย่างไรก็ตาม การสังเกตด้วยตาพบว่าสีจากผลกรรฟิของ Mass fraction ในท่อไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดเจาะรูปสามเหลี่ยม และท่อโค้งสามขดเจาะรูปวงกลม มีความใกล้เคียงกันมากจนเปรียบเทียบรูปแบบที่มีประสิทธิภาพดีกว่ายาก จึงทำการศึกษาจากการแสดงผลค่า Mass fraction ในรูปแบบกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction ของ Water-liquid ($H_2O < >$) กับ ตำแหน่งในแกน X ของท่อไมโครฟลูอิดิก (m) ซึ่งได้ผลดังในรูปที่ 4.10 จนถึง 4.12

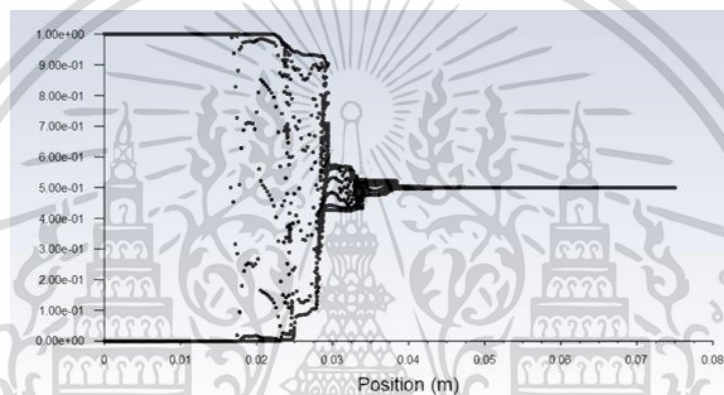


รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ B



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction และตำแหน่งของของไหลแบบ C

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Mass fraction ของ Water-liquid ($H_2O < >$) กับ ตำแหน่งในแกน X ของท่อไมโครฟลูอิดิก (m) โดยแสดงการไหลแบบ A) กราฟของไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขด ในรูปที่ 4.10 แสดงการไหลแบบ B) กราฟของไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดเจาะรูปสามเหลี่ยม ในรูปที่ 4.11 และแสดงการไหลแบบ C) กราฟของไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดเจาะรูปวงกลม ในรูปที่ 4.12

กราฟความสัมพันธ์ข้างต้นนำสีจากกราฟมาแสดงเป็นจุดและเส้นเพื่อบอกค่าของ Mass fraction แทนการสังเกตสีด้วยสายตา กราฟในช่วงบริเวณที่รูปร่างตัววายซึ่งยังไม่มีส่วนผสมสาร (ช่วง 0 ถึง 0.017 m ในแกน X ของท่อไมโครฟลูอิดิก) จะแสดงเส้นกราฟของ Mass fraction อยู่ที่ 0 กับ 1 โดยไม่มีค่าระหว่างกลางเพราะยังไม่มีส่วนผสมระหว่างสารละลายทั้งสองชนิด พอสารละลายเริ่มไหลเข้าสู่ท่อช่วงบริเวณผสมสารและแสดงค่า Mass fraction หลายค่าต่อตำแหน่ง เนื่องจากภายในท่อที่ตำแหน่งเดียวกันสารยังแยกตัวและไม่ผสมเป็นเนื้อเดียว แต่เมื่อสารละลายไหลผ่านท่อและเกิดการแพร่เพื่อผสมสารเข้าด้วยกันมากขึ้น ค่า Mass fraction จะอยู่ในช่วงที่แคบลง จนกระทั่งเข้าสู่เส้นเดียวกันที่ 0.5 เพื่อแสดงถึงการผสมสารเป็นเนื้อเดียวกันในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของกราฟ A ดังในรูปที่ 4.10 ซึ่งแสดงถึง Mass fraction ในโมเดลไมโครฟลูอิดิกแบบ D) ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดซึ่งใกล้เคียงกับการผสมกันอย่างสมบูรณ์เมื่อสังเกตด้วยตาจากกราฟิก ค่าที่แสดงจากกราฟกลับแสดงอย่างชัดเจนว่าค่า Mass fraction ไม่เข้าสู่จุดเดียวกันที่ 0.5 แสดงว่ายังไม่ผสมกันดีแม้จะถึงปลายท่อของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกในโมเดลรูปแบบนี้

กราฟ B ดังในรูปที่ 4.11 ซึ่งใช้โมเดล E) ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดเจาะรูปสามเหลี่ยม และกราฟ C ดังในรูปที่ 4.12 ซึ่งใช้โมเดล F) ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลม พบว่ามีการลู่เข้าสู่เส้นตรงที่ 0.5 ของ Mass fraction เช่นเดียวกัน แสดงถึงการผสมกันอย่างสมบูรณ์ของสารทั้งสอง ก่อนเข้าถึงบริเวณ Detection zone แต่ทั้งสองมีข้อแตกต่างกันคือตำแหน่งที่เกิดการลู่เข้า พบว่ากราฟ B จะลู่เข้าสมบูรณ์ที่ตำแหน่งประมาณ 0.048 m ในแกน X ของโมเดล ขณะที่กราฟ C ลู่เข้าสมบูรณ์ที่ตำแหน่งประมาณ 0.038 m ในแกน X ของโมเดล

หากนำกราฟดังกล่าวมาเปรียบเทียบกันเพื่อหารูปแบบของท่อไมโครฟลูอิดิกที่มีประสิทธิภาพในการผสมสารมากที่สุด จะได้ว่ากราฟ C ของโมเดล F) อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่มีบริเวณผสมสารเป็นท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลมนั้นทำให้เกิดการผสมสารที่ดีที่สุด เพราะเกิดการผสมสารเป็นเนื้อเดียวกันในระยะที่น้อยกว่า ซึ่งแสดงว่าเกิดการผสมสารเร็วกว่าแบบโมเดลอื่นๆ

4.2 ผลการสร้างชิ้นงานอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

ก่อนเริ่มทำการพิมพ์สามมิติ คณะผู้วิจัยได้ทดลองออกแบบและพิมพ์โมเดลท่อขนาดเล็กขนาดต่างๆกันออกมา รวมถึงโมเดลของท่อรูปตัว Y ดังในรูปที่ 4.13 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องพิมพ์สามมิติ และศึกษาแนวทางในการออกแบบโมเดลสามมิติของไมโครฟลูอิดิก



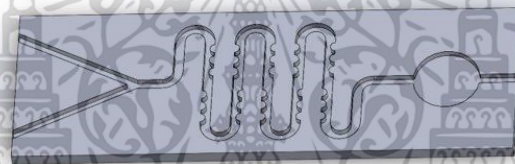
รูปที่ 4.13 แบบจำลองท่อรูปตัว Y และท่อขนาดต่างๆ

โดยท่อขนาดเล็กที่พิมพ์ออกมานั้น มีลักษณะที่สมบูรณ์ตรงตามแบบ ดังในรูปที่ 4.14 แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อตัดผ้าโมเดลพิมพ์สามมิติที่ได้พบว่าท่อภายในกลายเป็นท่อตัน ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงได้เลือกที่จะทำไมโครฟลูอิดิกแบบตัดเปิดส่วนท่อด้านบน เพื่อให้สอดคล้องตามความสามารถในการพิมพ์ของเครื่องพิมพ์ที่มี



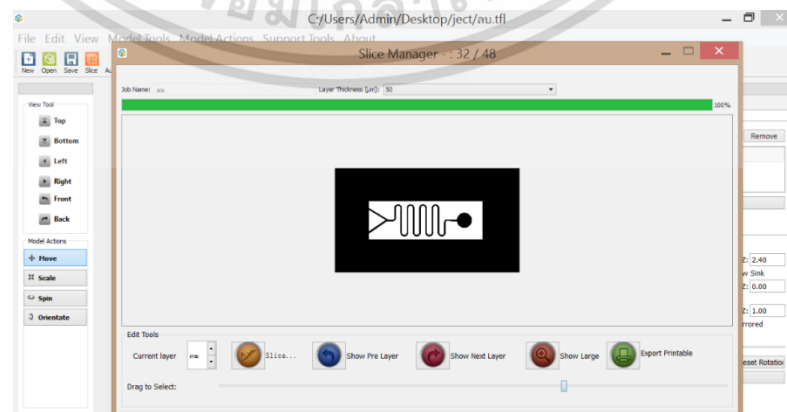
รูปที่ 4.14 การทดลองพิมพ์ท่อขนาดเล็ก

การสร้างแบบไมโครฟลูอิดิกเพื่อพิมพ์ออกมาใช้งานนั้น จำเป็นต้องมีการปรับรูปแบบจากสองมิติไปเป็นสามมิติ เพื่อให้สามารถใช้เครื่องพิมพ์สามมิติพิมพ์ออกมาเป็นรูปชิ้นงานได้ โดยการนำแบบจำลองสองมิติของท่อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด (โมเดล F) มาสร้างเป็นแบบจำลองสามมิติผ่านโปรแกรม SOLIDWORKS 2018 และได้เป็นโมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1 ดังในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 แบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1

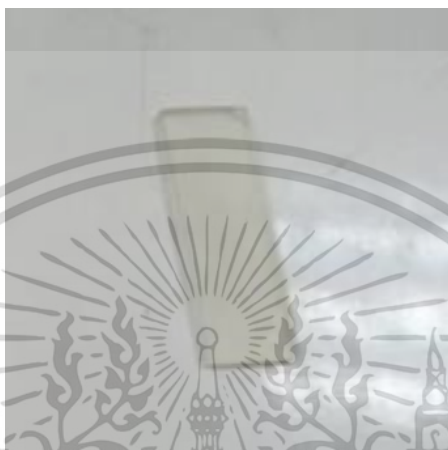
เมื่อได้แบบจำลองสามมิติแล้ว จึงนำไปแปลงเป็นไฟล์สำหรับเครื่องพิมพ์สามมิติ โดยการแบ่งโมเดลออกเป็นชั้นบางๆหลายชั้น สำหรับการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ ผ่านโปรแกรม 3D Creator Slicer for LD จนได้เป็นไฟล์สำหรับการพิมพ์ ดังในรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 ไฟล์ที่ถูกตัดแปลงสำหรับการพิมพ์สามมิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นจึงนำไฟล์ที่ปรับแล้วเข้าสู่เครื่องพิมพ์สามมิติเพื่อพิมพ์ชิ้นงานออกมา สำหรับการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1 โมเดลสามมิติที่ถูกพิมพ์ออกมานั้นไม่เหมือนกับโมเดลที่ออกแบบไว้ นัก โดยไมโครฟลูอิดิกที่ได้มีลักษณะเป็นแผ่นเรียบ ไม่มีร่องให้สารไหล เนื่องจากตัวโมเดลไม่สามารถติดอยู่ บนฐานด้านบนได้ จึงทำให้หลุดตกมาด้านล่างขณะพิมพ์ และทำให้การพิมพ์แผ่นไมโครฟลูอิดิกไม่สมบูรณ์ ดังในรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.17 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 1

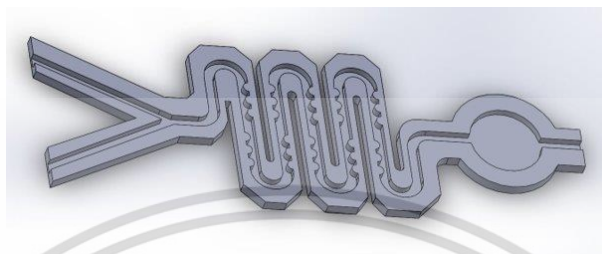
คณะผู้วิจัยคาดว่าเนื่องจากโมเดลไมโครฟลูอิดิกมีขนาดค่อนข้างใหญ่ จึงทำให้มีน้ำหนักมาก และมีโอกาสเกิดแรงฉีกที่ปลายทั้งสองด้านของชิ้นงาน เมื่อทำการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแล้ว จึงทำให้ตกลงมาด้านล่าง ดังนั้นจึงได้ทำการออกแบบโมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 2 โดยได้ทำการลดขนาดของไมโครฟลูอิดิกลง และทดลองพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ พบว่าแผ่นไมโครฟลูอิดิกที่ได้ มีการหลุดตกลงมาด้านล่าง และไม่สามารถพิมพ์จนสำเร็จ แต่บนแผ่นไมโครฟลูอิดิกมีปรากฏรอยละลายของท่อภายในไมโครฟลูอิดิกอยู่บ้างแม้จะไม่สมบูรณ์ ดังในรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่ไม่โครฟลูอิดิกตกลงมาจากฐานก่อนพิมพ์เสร็จนั้นอาจเป็นเพราะว่าแรงยึดระหว่างชิ้นงาน และพื้นผิวด้านล่างมีมากกว่าแรงยึดของชิ้นงานและฐาน จึงได้ทำการตัดขอบที่ไม่จำเป็นของชิ้นงานออก เพื่อลดแรงยึดระหว่างชิ้นงานและพื้นผิวด้านล่าง รวมถึงลดแรงฉีกและน้ำหนักของชิ้นงาน แล้วจึงสร้างเป็นแบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3 ดังในรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 แบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3

ได้ทำการทดลองพิมพ์แบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3 ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ ผลการพิมพ์โมเดลค่อนข้างดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสองแบบแรก โดยตัวไมโครฟลูอิดิกมีความสมบูรณ์มากกว่าแบบที่ 1 และ 2 ความหนาของชิ้นงานมีความใกล้เคียงกับที่ออกแบบไว้ รวมถึงส่วนของท่อที่สามารถมองเห็นแนวได้จริงๆ ถึงแม้ชิ้นงานจะยังหลุดจากฐานและพิมพ์ไม่เสร็จสมบูรณ์ ดังในรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 3

ซึ่งหลังจากทดสอบการพิมพ์แล้ว พบว่าไมโครฟลูอิดิกที่พิมพ์โดยใช้ first layer time 120 วินาที และ layer time 10 วินาที นั้นมีผลลัพธ์ออกมาสมบูรณ์ที่สุด ถึงแม้ชิ้นงานจะยังหลุดจากฐานและยังไม่ได้ความหนาตามต้องการ รวมถึงมีการตันภายในท่อ แต่ก็มีรูปร่างของท่อที่เว้าลึกลงไปและมองเห็นได้ตลอดแนวของท่อ รวมถึงขอบและขนาดที่มีความใกล้เคียงกับต้นแบบ ดังในรูปที่ 4.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 ภาพไมโครฟลูอิดิกที่มีการตั้งค่า First layer time 120 วินาที และ Layer time 10 วินาที

จากการพิมพ์พบว่าบริเวณรายละเอียดเล็กๆของชิ้นงาน เครื่องพิมพ์สามมิติยังไม่สามารถพิมพ์ออกมาให้สมบูรณ์ได้ จึงได้ทำการปรับแก้โมเดลเล็กน้อย โดยนำโมเดลที่มีการเจาะท่อรูปสามเหลี่ยม (รูปที่ 4.8) ซึ่งมีเนื้อที่การเจาะท่อน้อยกว่ามาใช้ในการพิมพ์แทน นับเป็นแบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 4 ดังในรูปที่ 4.22 เพื่อลดส่วนขวางทางท่อให้มีขนาดเล็กลงและลดการตันภายในท่อจากการพิมพ์ ทำให้บริเวณท่อของชิ้นงานไมโครฟลูอิดิกที่ได้มีความสมบูรณ์มากขึ้น มองเห็นเป็นแนวของท่อตลอดทาง แต่อย่างไรก็ตาม ความหนาของชิ้นงานที่ได้ยังคงไม่เท่ากับที่ออกแบบไว้ เนื่องจากชิ้นงานตกลงจากฐานในระหว่างการพิมพ์

รูปที่ 4.22 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 4

สุดท้ายจึงได้ทำการปรับแก้ไขส่วนของตัวเครื่องโดยเพิ่มแรงยึดพื้นฐานของเครื่องพิมพ์สามมิติด้วยการใช้กระดาษทรายขัดบริเวณพื้นผิวของฐานพิมพ์ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างฐานและชิ้นงาน ทำให้ชิ้นงานสามารถเกาะติดได้ดีขึ้น

หลังจากขัดผิวของฐาน พบว่าไมโครฟลูอิดิกที่ทำการพิมพ์สามารถพิมพ์ออกมาได้สมบูรณ์ครบโดยไม่มีตกจากฐาน แต่กลับมีปัญหาไม่สามารถแกะโมเดลออกจากฐานเมื่อพิมพ์เสร็จได้ เนื่องจากชิ้นงานบางเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือเป็นการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาตีพิมพ์เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมายและไม่ควรเผยแพร่ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแตกหักง่าย จึงได้ทำการปรับแบบไมโครฟลูอิดิกอีกครั้ง ให้ไมโครฟลูอิดิกกลับมาเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า โดยไม่มีการตัดขอบ เพื่อให้มีเนื้อที่ของชิ้นงานสำหรับการแกะออกจากฐานเมื่อพิมพ์เสร็จโดยไม่แตกหัก เป็นแบบจำลองไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 5 ดังในรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 ผลการพิมพ์โมเดลไมโครฟลูอิดิกสามมิติแบบที่ 5

ผลที่ได้ออกมาพบว่าไมโครฟลูอิดิกไม่ตกจากฐาน สามารถพิมพ์ออกมาได้สำเร็จทั้งชิ้นงาน มีลักษณะภายนอกโดยรวมสมบูรณ์ตรงตามแบบไฟล์โมเดลสามมิติที่ใช้พิมพ์ จากการสังเกตด้วยสายตา ท่อมีความลึกตามที่กำหนดและไม่อุดตัน

เนื่องจากแบบโมเดลที่พิมพ์ออกมาถูกออกแบบไว้ให้มีท่อไมโครฟลูอิดิกแบบเปิด เพื่อที่จะใช้งานจริงจึงนำเรซินที่พิมพ์ออกมาประกอบเข้ากับกระจกสไลด์แบบใส โดยใช้ซิลิโคนเป็นตัวเชื่อมติดระหว่างกระจกกับเรซิน ดังในรูปที่ 4.24 ความใสของกระจกที่อยู่ด้านบนจะทำให้สามารถสังเกตแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ส่วน Detection zone ของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกได้ดี



รูปที่ 4.24 ภาพลักษณะการประกอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

เมื่อประกอบเข้าด้วยกันแล้วจะได้ผลลัพธ์เป็นชิ้นงานอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่มีท่อปิด ดังในรูปที่ 4.25 พร้อมสำหรับฉีดของเหลวเข้าไปในท่อ ซึ่งจะทำให้การทดสอบการใช้งานในหัวข้อถัดไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ภาพอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกหลังการประกบกระจกสไลด์

4.3 ผลการทดสอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

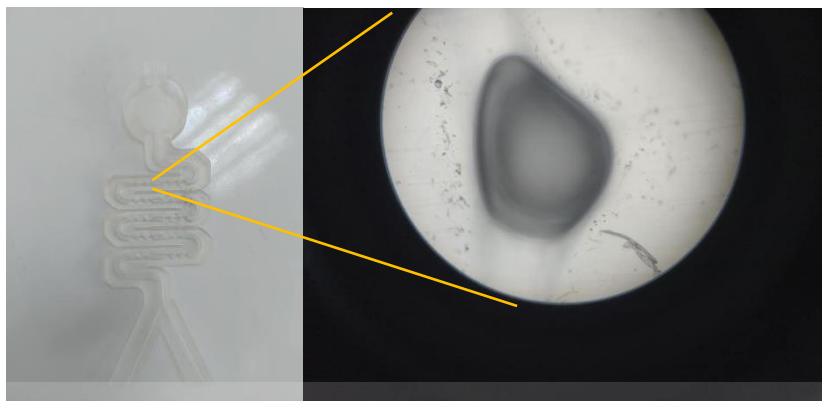
เพื่อทดสอบความสมบูรณ์ของชิ้นงานไมโครฟลูอิดิกเรซินที่พิมพ์ออกมาได้ จึงได้มีการทดลองใช้อุปกรณ์เวอร์เนียคาลิเปอร์เพื่อวัดความหนาและขนาดของไมโครฟลูอิดิกที่ได้ตามในรูปที่ 4.26 ซึ่งพบว่าไมโครฟลูอิดิกที่ได้มีความหนาและขนาดตรงตามที่ออกแบบไว้ ได้แก่ความลึกของท่ออยู่ที่ 1 mm และความหนาของชิ้นงานอยู่ที่ 2 mm



รูปที่ 4.26 ภาพการวัดด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ โดยทางด้านซ้ายเป็นการวัดความลึกของท่อ และด้านขวาเป็นการวัดความหนาของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

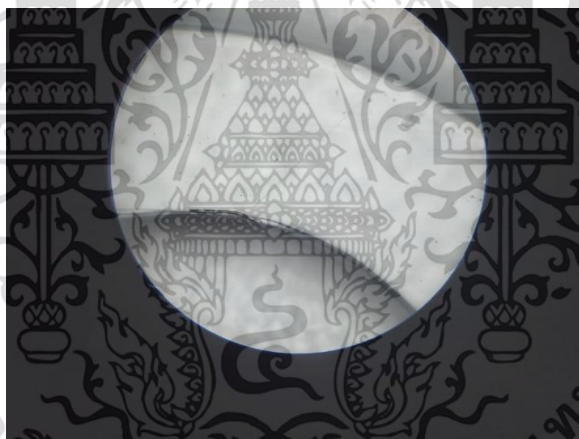
หลังจากนั้นจึงได้ทำการศึกษารายละเอียดของไมโครฟลูอิดิกผ่านการขยายด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X (เลนส์วัตถุ 10x และเลนส์ตา 10x) พบว่าในโมเดลชิ้นแรกๆที่ยังพิมพ์ได้ไม่เสร็จสมบูรณ์ (รูปที่ 4.17, 4.18, 4.20, 4.21 และ 4.22) ภายในบริเวณรอยหยักของท่อ เครื่องพิมพ์สามมิติไม่สามารถพิมพ์ให้ออกมาคมชัดตามแบบที่วางไว้ได้ จึงทำให้เกิดการอุดตันในบริเวณดังกล่าว ดังในรูปที่ 4.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 ภาพท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ไม่สมบูรณ์เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x

ซึ่งหลังจากได้ทำการแก้ปัญหาในเรื่องของการพิมพ์ และแบบของไมโครฟลูอิดิก จนได้ไมโครฟลูอิดิกที่สมบูรณ์ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นได้ว่าผิวและขอบของท่อมีความเรียบสม่ำเสมอ และเป็นรูปร่างของท่อชัดเจนดังในรูปที่ 4.28 ไม่อุดตันเหมือนดังในรูปที่ 4.27



รูปที่ 4.28 ภาพท่อในไมโครฟลูอิดิกที่สมบูรณ์เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x

การทดสอบการรั่วไหลของท่อภายหลังจากที่ติดกระจกสไลด์ด้วยตัวเชื่อมประสาน 3 แบบ ได้แก่ เรซิน, ซิลิโคน และกาวตราช่าง ในการเชื่อมกระจกกับชิ้นงานเรซิน และฉีดสีผสมอาหารเข้าไปภายในท่อของไมโครฟลูอิดิกเพื่อสังเกตผลลัพธ์ของการไหลในท่อชิ้นงาน พบว่าในกรณีของการใช้ตัวเชื่อมประสานเรซินและกาวตราช่างนั้น มีการไหลซึมของสารจากภายในท่อออกมาด้านนอก ดังในรูปที่ 4.29 อีกทั้งเมื่อตัวเชื่อมประสานแข็งตัว ยังมีบางส่วนของตัวเชื่อมประสานไหลไปอุดตันภายในท่อ ในขณะที่กรณีของการใช้ซิลิโคนเป็นตัวเชื่อมประสาน นอกจากจะติดได้แน่นกว่าการใช้เรซินและกาวตราช่างแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดการรั่วของสารภายในท่อ และด้วยคุณสมบัติความเหนียว ซิลิโคนจึงไม่ไหลเข้าไปในท่อของไมโครฟลูอิดิกทำให้มีการอุดตันท่อน้อยกว่าแบบอื่นๆ ดังในรูปที่ 4.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



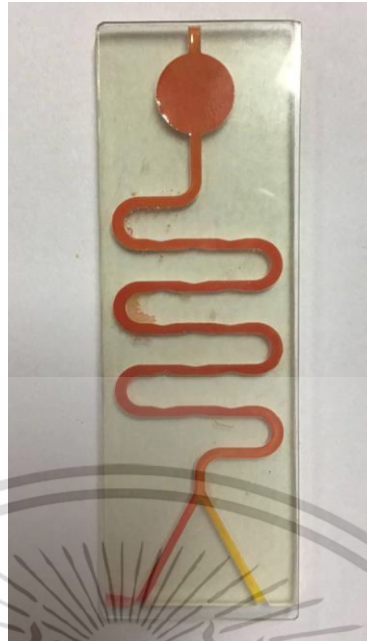
รูปที่ 4.29 ภาพการทดสอบการรั่วไหลของท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ใช้เรซินเป็นตัวเชื่อมประสานระหว่าง
กระจกและชิ้นงานเรซิน



รูปที่ 4.30 ภาพการทดสอบการรั่วไหลของท่อในไมโครฟลูอิดิกที่ใช้ซิลิโคนเป็นตัวเชื่อมประสาน
ระหว่างกระจกและชิ้นงานเรซิน

ทดสอบการผสมของสารภายในไมโครฟลูอิดิกโดยการนำสารละลายที่มีสีแดงและสีเหลืองฉีดเข้าไปภายในท่อแต่ละฝั่งของขาเข้า จากนั้นจึงศึกษาการไหลและการผสมของสีสารละลายภายในท่อ ซึ่งจากภาพที่ 4.31 สังเกตพบว่า สีสารละลายที่ถูกฉีดลงในท่อนั้นสามารถไหลผสมกันได้ค่อนข้างดีเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเป็นไปตามการจำลองการไหลในโปรแกรม สารมีการไหลผสมกันมากขึ้นเมื่อผ่านบริเวณท่อโค้งของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ก่อนจะผสมกันได้ดีที่สุดเมื่ออยู่ที่บริเวณ Detection zone ดังในรูปการจำลองการผสมของของเหลวในโมเดล E (รูปที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

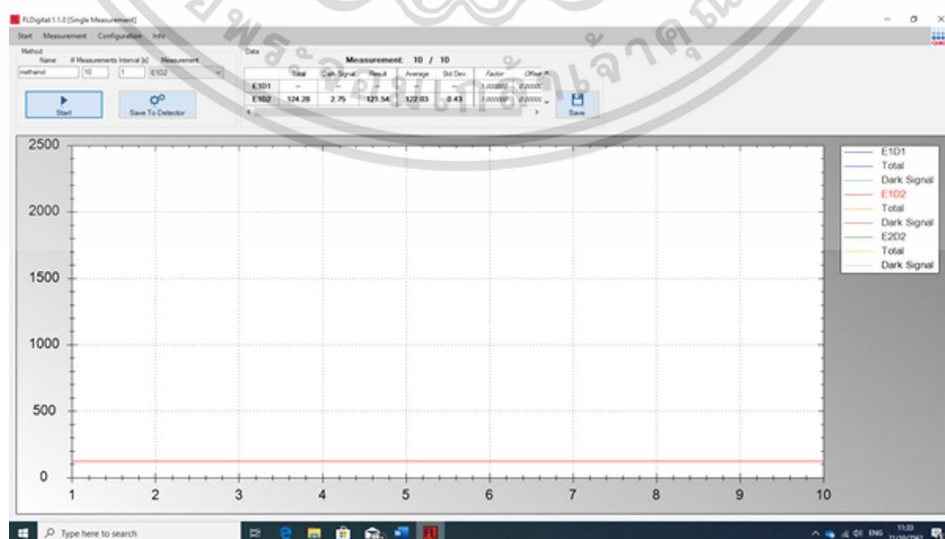


รูปที่ 4.31 ภาพการทดสอบการผสมของสารละลายสีแดงและเหลืองในท่อของไมโครฟลูอิดิก

4.4 ผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU

จากการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน เริ่มจากการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่างควบคุม หรือเมทานอลเพื่อนำไปหักลบหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจากสารละลาย 4MU

โดยเมื่อทำการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ของเมทานอลที่เป็นตัวอย่างควบคุมด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ผ่านโปรแกรม FLDigital ทั้งหมด 10 ครั้งและหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่าของฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 122.03 ดังในรูปที่ 4.32 และตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.32 กราฟของค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดจากเมทานอลด้วยโปรแกรม FLDigital

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้กับโรงเรียนในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นแปะเว็บไซต์นี้เป็นการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดจากเมทานอลด้วยโปรแกรม FLDigital

Measurement: 10 / 10							
	Total	Dark Signal	Result	Average	Std.Dev.	Factor	Offset ^
E1D1	-	-	-	-	-	1.000000	0.000000
E1D2	124.28	2.75	121.54	122.03	0.43	1.000000	0.000000

การวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย 4MU ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยเจือจาง 4MU กับเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 10, 5, 2, 1 และ 0.1 μM จากนั้นจึงนำไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ตามลำดับ โดยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์จะทำการวัดค่าซ้ำ 10 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ย

ค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้เป็นค่าจากทั้ง 4MU และเมทานอลที่ใช้ในการเจือจาง ดังนั้นจึงหักลบค่าฟลูออเรสเซนซ์ของตัวอย่างควบคุมเมทานอลออกจากค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ของสารละลาย 4MU แต่ความเข้มข้นเนื่องจากการศึกษาฟลูออเรสเซนซ์จาก 4MU เท่านั้น ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2

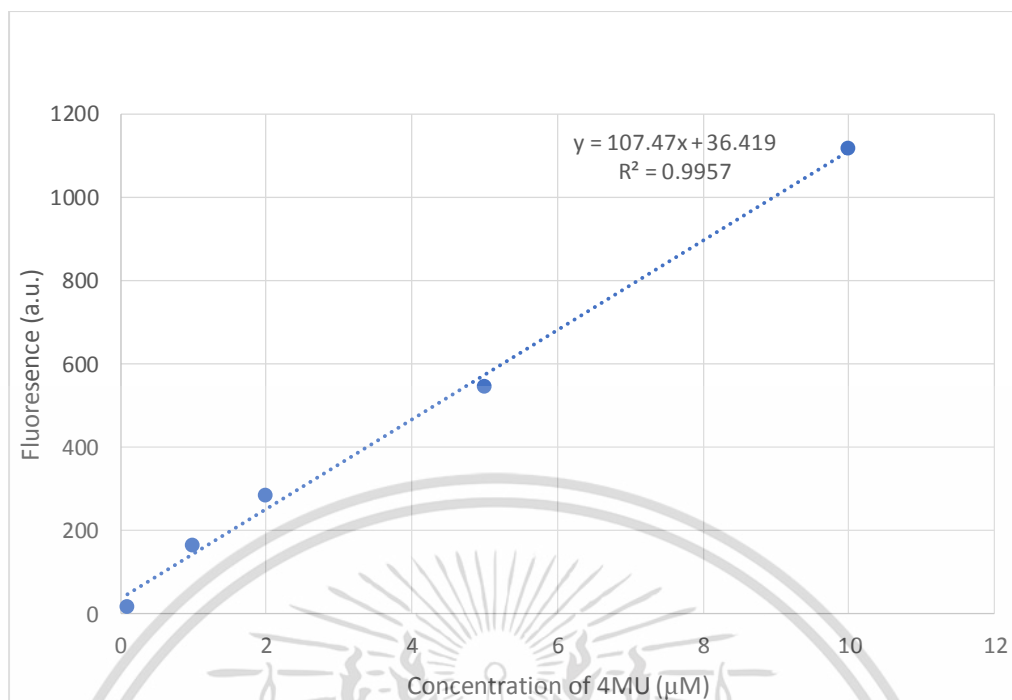
ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย 4MU ที่ความเข้มข้น 0.1, 1, 2, 5 และ 10 μM

Concentration of 4MU (μM)	Fluorescence of 4MU (a.u.)
0.1	17.74
1	164.54
2	283.21
5	543.88
10	1117.9

นำค่าในตารางไปพล็อตกราฟด้วยโปรแกรม Excel และได้ผลออกมาใกล้เคียงกับกราฟเส้นตรง ดังรูปที่ 4.33 ซึ่งมีค่าแนวโน้มเป็นไปตามสมการที่ 4.1 และมีค่า $R^2=0.9957$

$$y=107.47x+36.419 \quad (4.1)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.33 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นสารละลาย 4MU และค่าฟลูออเรสเซนซ์

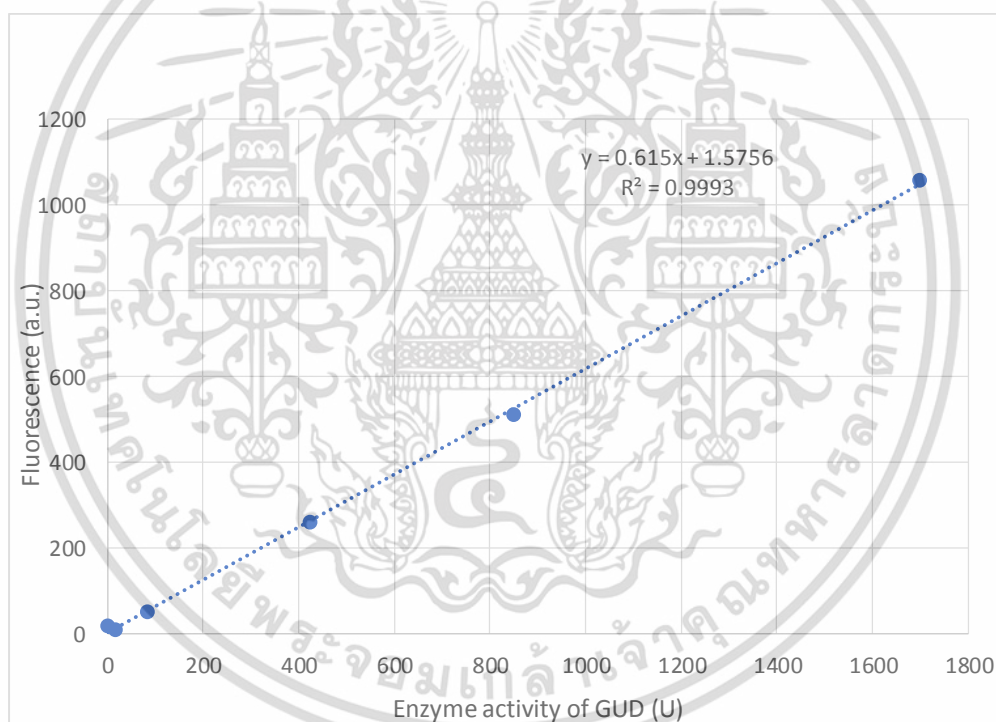
4.5 ผลการทดลองการวัดฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับ ซับสเตรต MUG

ปริมาณ Enzyme activity ของ GUD ซึ่งจัดเป็นไบโอมาร์คเกอร์เฉพาะของ *E. coli* สามารถบ่งบอกถึงความมากน้อยของปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ การทดลองนี้จึงมีเป้าหมายที่เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ด้วยฟลูออโรมิเตอร์มาตรฐาน ซึ่งเป็นฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจาก 4MU ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาระหว่างซับสเตรต MUG กับเอนไซม์ GUD

จากทดลองผสมเอนไซม์ GUD ปริมาณ 100 µl ที่มี Enzyme activity ในช่วงตั้งแต่ 1, 17, 85, 425, 850 และ 1700 U ผสมกับซับสเตรต MUG ความเข้มข้น 50 µM ที่ pH 6.8 เป็นปริมาณ 100 µl ใน Microcentrifuge tube ปล่อยให้สารทำปฏิกิริยาต่อกันเป็นเวลา 15 นาที และใช้ NaOH ความเข้มข้น 1 M ปริมาณ 100 µl เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วนำสารละลายใน Microcentrifuge tube ไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อนำไปหักลบฟลูออเรสเซนซ์ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม จะได้ค่าฟลูออเรสเซนซ์ดังตารางที่ 4.3 นำข้อมูลที่ได้มาพล็อตกราฟด้วย Excel เพื่อหาแนวโน้มและสมการความสัมพันธ์ของข้อมูลดังแสดงในรูปที่ 4.34

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าฟลูออเรสเซนซ์จากตัวอย่าง MUG-GUD ที่ Enzyme activity ของ GUD ที่ 1, 17, 85, 425, 850 และ 1700 U

Enzyme activity of GUD (U)	Fluorescence (a.u.)
1	17.61
17	10.01
85	50.9
425	259.01
850	509.07
1700	1055.91



รูปที่ 4.34 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Enzyme activity ของ GUD และค่าฟลูออเรสเซนซ์

จากผลที่ได้จะสังเกตเห็นพบความสัมพันธ์แนวโน้มการเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงตามสมการที่ 4.2 และมีค่า $R^2 = 0.9993$

$$y = 0.615x + 1.5756 \quad (4.2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มาจาก 4MU ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จะแปรผันตรงตาม Enzyme activity ของ GUD และเมื่อ GUD มีปริมาณสูงขึ้น นั่นหมายถึง *E. coli* มีปริมาณสูงขึ้นด้วยเนื่องจาก GUD เป็นเอนไซม์ที่หลั่งออกมาจาก *E. coli* ซึ่งจัดว่าเป็นไบโอมาร์คเกอร์ที่สามารถใช้บ่งบอกปริมาณของ *E. coli* โดยจากผลการทดลองของ Wildeboer et al., 2010 [1] พบว่าค่า Enzyme activity ของ GUD ที่หลั่งออกมาจาก *E. coli* เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ *E. coli* จากการนับจำนวน colony ของ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง และหากใช้ MUG มาทดสอบโดยตรงกับ *E. coli* ก็จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นของฟลูออเรสเซนซ์ที่แปรผันตามจำนวน colony ที่เพิ่มขึ้นของ *E. coli* [1] ในลักษณะเดียวกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นของสารละลาย 4MU สามารถบ่งชี้ปริมาณของ *E. coli* ได้นั่นเอง

4.6 ผลการผลิตและใช้งานเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ

เมื่อพิมพ์ชิ้นงานสามมิติออกมาด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแล้ว จะได้ชิ้นงานที่เป็นส่วนประกอบของเครื่องมือวัดฟลูออโรมิเตอร์ออกมา แต่เนื่องจากการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จำเป็นต้องทำในสภาพแวดล้อมที่มีมืดสนิทและไม่มีแสงรบกวนของแสง เพื่อให้สามารถวัดค่าได้อย่างแม่นยำ จึงได้ใช้สเปร์ยสีดำพ่นบริเวณด้านในกล่อง สำหรับส่วนฐานสามารถนำมาใช้จัดวางไฟฉายและไมโครฟลูอิดิกได้ในตำแหน่งดังรูปที่ 4.35



รูปที่ 4.35 ภาพแสดงการจัดวางตำแหน่งของเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์

ผลที่ได้จะสังเกตเห็นว่าร่องที่เจาะเอาไว้สามารถวางไมโครฟลูอิดิกได้พอดี และไฟฉายฉายตรงไปที่ไมโครฟลูอิดิกในมุมตั้งฉาก

ส่วนฝากล่องเมื่อนำไปติดตั้งฟิลเตอร์พร้อมใช้ฝาครอบฟิลเตอร์ที่พิมพ์ออกมาประกบติดเข้าไปเรียบร้อย นำไปวางครอบไว้บนฐานและใช้โทรศัพท์มือถือส่องกล้องผ่านรู จะเห็นภาพอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่อยู่ด้านล่างชัดเจน ดังในรูปที่ 4.36 และเมื่อใช้แอปพลิเคชัน Color Grab จะสามารถระบุค่า RGB จากบริเวณ Detection zone ของไมโครฟลูอิดิกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.36 ภาพแสดงการจัดวางตำแหน่งของกล้อง

4.7 ผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue Value ใน RGB color model จากกล้องโทรศัพท์

4.7.1 ตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube

เพื่อพิสูจน์ว่าสามารถใช้ค่า Blue Value ใน RGB color model ซึ่งได้จากภาพถ่ายตัวอย่างด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือในการตรวจวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ได้จริง เพื่อใช้ทดแทนเครื่องฟลูออโรมิเตอร์มาตรฐานไม่สามารถใช้ตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์จากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกได้ จึงทำการทดลองโดยการวัดค่าจากตัวอย่างสารละลาย 4MU ซึ่งปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ความยาวคลื่น 455 nm เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยแสงไฟฉายยูวีที่ ความยาวคลื่น 365 nm ที่ความเข้มข้นต่างกัน แบ่งการตรวจวัดออกเป็นสองแบบ ได้แก่ การวัด RGB ด้วยแอปพลิเคชัน Color Grab จากการถ่ายภาพตัวอย่างใน Microcentrifuge tube ด้วยกล้องโทรศัพท์ และใช้ไฟฉายยูวีเป็นแหล่งแสง เลือกเฉพาะ Blue value จากภาพนำมาเปรียบเทียบกับ การวัดตัวอย่างเดียวกันใน Microcentrifuge tube ด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์มาตรฐาน แล้วสร้างเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์กับ Blue value ที่ได้

ตามสมมติฐาน หากตัวอย่างสารละลาย 4MU มีความเข้มข้นสูง ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้รวมถึง Blue value จะมีค่าสูงกว่าค่าจากตัวอย่างสารละลาย 4MU ที่มีความเข้มข้นต่ำ กราฟความสัมพันธ์ที่ได้ควรจะมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแปรผันตามกัน และจากกราฟนี้จะทำให้สามารถนำ Blue value จากกล้องโทรศัพท์มาเทียบแปลงเป็นค่าฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องมาตรฐาน ความสัมพันธ์ดังกล่าวทำให้สามารถนำ Blue value ไปใช้กับกราฟมาตรฐานอื่นๆที่ใช้ค่าฟลูออเรสเซนซ์ได้

จากการทดลองเปรียบเทียบการวัดฟลูออเรสเซนซ์จาก Microcentrifuge tube ด้วยฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน กับการวัดฟลูออเรสเซนซ์จากค่า Blue value ด้วยแอปพลิเคชันในโทรศัพท์มือถือ ในตัวอย่างสารละลาย 4MU จำนวน 5 ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 μM ได้ผลดังในตารางที่ 4.4

เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

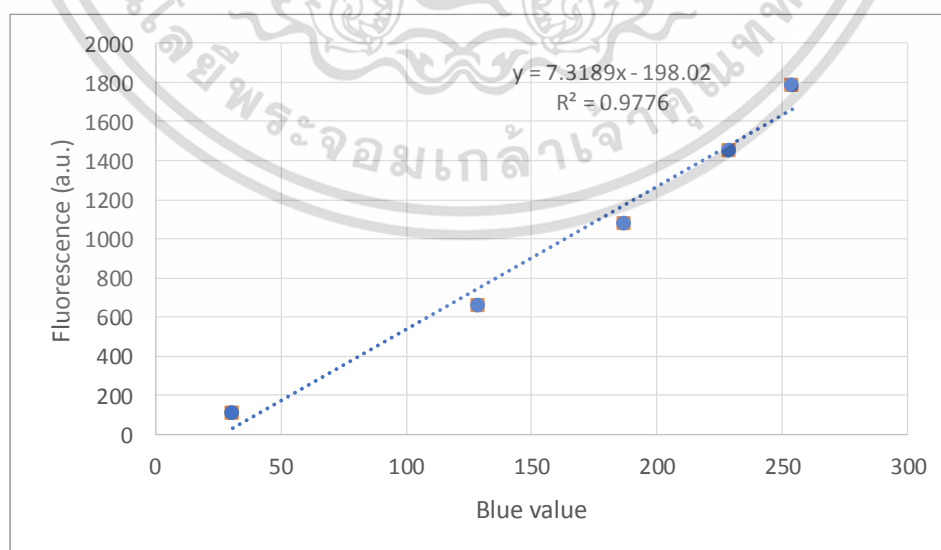
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์และค่า Blue value ของสารละลาย 4MU ที่ความเข้มข้น 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 μM ใน Microcentrifuge tube

4MU	4MU concentration (μM)	Fluorescence (a.u.)	Blue value
ตัวอย่างที่ 1	0	108.32	31
ตัวอย่างที่ 2	62.5	659.56	129
ตัวอย่างที่ 3	125	1076.86	187
ตัวอย่างที่ 4	187.5	1453.36	229
ตัวอย่างที่ 5	250	1786.51	254

เมื่อนำข้อมูลมาพล็อตกราฟด้วยโปรแกรม Excel พบว่าค่า Blue value แปรผันตรงกับค่าฟลูออเรสเซนซ์จริงตามสมมติฐานดังในรูปที่ 4.37 ซึ่งกราฟมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงและสามารถนำมาเขียนสมการเส้นแนวโน้มได้ดังสมการที่ 4.3 และมีค่า $R^2=0.9776$

$$y = 7.3189x - 198.02 \quad (4.3)$$

จากสมการนี้ช่วยให้หาค่าฟลูออเรสเซนซ์ได้ด้วย Blue value ผลดังกล่าวสรุปได้ว่าวิธีการวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue value สามารถทำได้จริงตามทฤษฎี และยังเป็นวิธีการที่มีข้อดีที่ใช้อุปกรณ์ทั่วไปอย่างโทรศัพท์มือถือในการวัด ซึ่งหาได้ง่าย ประหยัดกว่าฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐาน

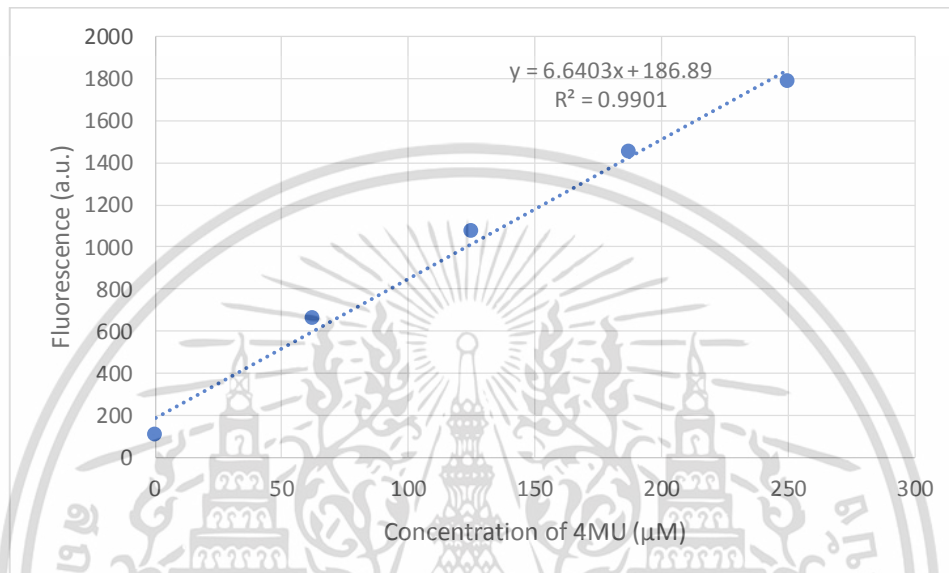


รูปที่ 4.37 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าไม่เหมาะสมหรือมีข้อผิดพลาดใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำค่าฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของ 4MU มาพล็อตกราฟจะแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น ดังรูปที่ 4.38 และสมการเส้นตรงดังสมการที่ 4.4 และมีค่า $R^2=0.9901$

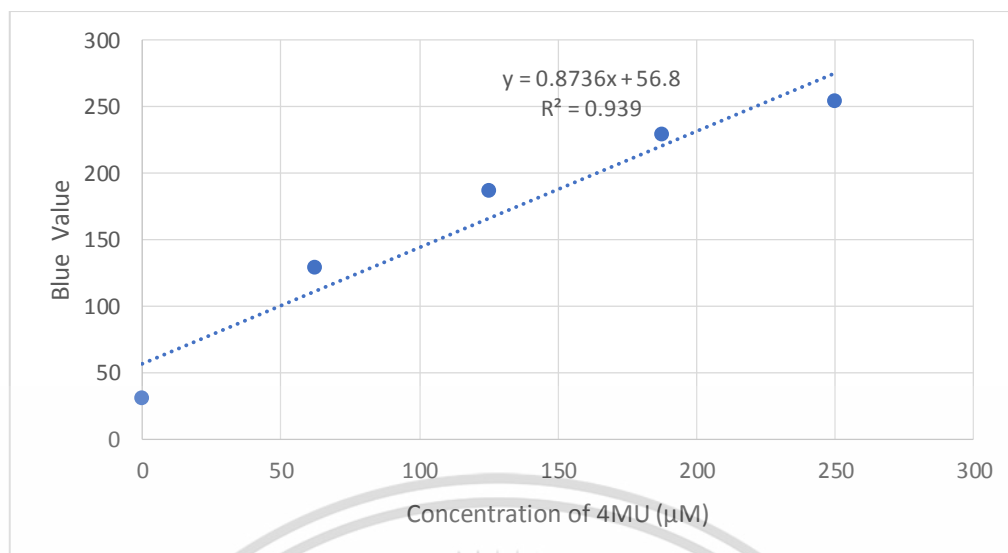
$$y = 6.6403x + 186.89 \quad (4.4)$$



รูปที่ 4.38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย 4MU กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์

ในลักษณะเดียวกัน สามารถนำข้อมูลพล็อตกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value กับความเข้มข้นของ 4MU โดยตรงดังรูปที่ 4.39 ได้เป็นสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นดังในสมการที่ 4.5 และมีค่า $R^2=0.939$

$$y = 0.8736x + 56.8 \quad (4.5)$$



รูปที่ 4.39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย 4MU กับ Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube

4.7.2 ตัวอย่างสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

เมื่อพิสูจน์หลักการใช้งานของการวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยค่า Blue value ได้แล้ว จึงนำมาใช้กับสารละลาย 4MU ภายในท่อไมโครฟลูอิดิกแทนการใส่ Microcentrifuge tube วิธีปฏิบัติเช่นเดิมคือใช้ตัวอย่างสารละลาย 4MU เดียวกับการทดลองใน Microcentrifuge tube ค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดจากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์จึงมีค่าเท่าเดิม นำสารละลาย 4MU ดังกล่าวมาฉีดเข้าอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ใช้ไฟฉายยูวี 365 nm เป็นแสงกระตุ้นให้เกิดการปล่อยฟลูออเรสเซนซ์ และถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือเก็บค่า RGB ด้วยแอปพลิเคชัน Color Grab เลือกศึกษาเฉพาะค่า Blue value เนื่องจากต้องการตรวจจับเพียงแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่แผ่ออกมาที่ความถี่ 455 nm ผลที่เก็บได้เป็นไปดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์และค่า Blue value ของสารละลาย 4MU ที่ความเข้มข้น 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 µM ในไมโครฟลูอิดิก

4MU	4MU concentration (µM)	Fluorescence (a.u.)	Blue value
ตัวอย่างที่ 1	0	108.32	28
ตัวอย่างที่ 2	62.5	659.56	48
ตัวอย่างที่ 3	125	1076.86	54
ตัวอย่างที่ 4	187.5	1453.36	81
ตัวอย่างที่ 5	250	1786.51	147

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลที่ได้พบว่า Blue value ของตัวอย่างสารละลาย 4MU เมื่อมาอยู่ในอุปกรณ์ไมโครฟลูออริติกแล้วมีค่าที่ต่ำลงจากตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube อย่างมาก แสงฟลูออเรสเซนต์สีฟ้าที่แผ่ออกมาจากสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูออริติกจางกว่าสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube อย่างชัดเจนเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า เปรียบเทียบจากรูปที่ 4.40 ความเข้มของแสงสีฟ้าจาก 4MU ของตัวอย่างที่ 5 ใน Microcentrifuge tube สามารถเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่รูปที่ 4.41 ความเข้มของแสงสีฟ้าจากสารละลาย 4MU ของตัวอย่างที่ 5 ในไมโครฟลูออริติกมีความชัดเจนน้อยกว่า ถึงแม้ทั้งสองตัวอย่างจะมีความเข้มข้นของสารละลาย 4MU เดียวกัน นอกจากนี้เมื่อแสงยูวีถูกฉายไปที่อุปกรณ์ไมโครฟลูออริติกจะทำให้เห็นส่วนของเนื้อเรซินใสที่พิมพ์สามมิติออกมาเป็นสีเหลืองปนเขียว



รูปที่ 4.40 การเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ของสารละลาย 4MU ตัวอย่างที่ 5 ใน Microcentrifuge tube



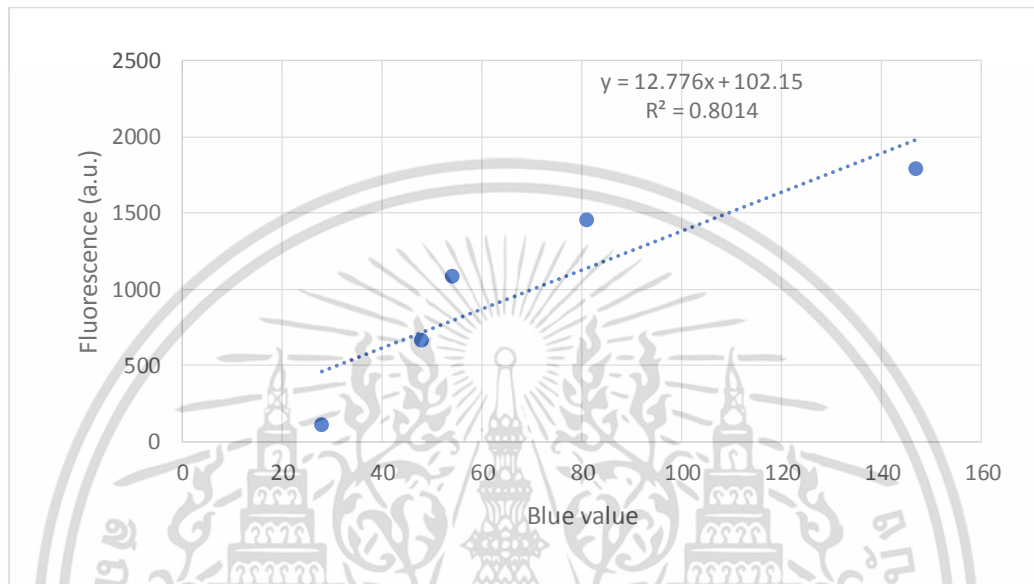
รูปที่ 4.41 การเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ของสารละลาย 4MU ตัวอย่างที่ 5 ในอุปกรณ์ไมโครฟลูออริติก

นำข้อมูลมาพล็อตกราฟด้วยโปรแกรม Excel พบว่าค่า Blue value ยังคงมีแนวโน้มสูงขึ้นตามค่าฟลูออเรสเซนต์ดังรูปที่ 4.42 และมีสมการเส้นตรงแนวโน้มดังสมการที่ 4.6 และมีค่า $R^2=0.8014$

$$y = 12.776x + 102.15 \quad (4.6)$$

สังเกตได้ว่าจุดของข้อมูลคลาดเคลื่อนออกจากเส้นแนวโน้มค่อนข้างมาก และค่า Blue value ที่วัดได้จากตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสารละลาย 4MU ต่ำมีค่าลดลงจนเกิดการกระจุกตัวกันของข้อมูล การเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์สีฟ้าของสารละลาย 4MU ในไมโครฟลูออริติกยิ่งจางจนแทบไม่สามารถสังเกตเห็น การเรืองแสงได้ด้วยสายตาเปล่า เป็นไปได้ว่าวัสดุยูวีเรซินของชิ้นงานไมโครฟลูออริติกส่งผลต่อการวัดปริมาณเอกสารเป็นเอกสารที่สงวนเวลาหรือการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลูออเรสเซนซ์ผ่านแอปพลิเคชันบนกล้องมือถือ ทำให้วัดค่าได้ต่ำลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างเดียวกันใน Microcentrifuge tube เรซินแบบใสเมื่อผ่านกระบวนการล้างและประกบกับกระจกสไลด์ด้วยซิลิโคน แล้วจะมีความขุ่นและสีที่ตัววัสดุ ซึ่งอาจส่งผลต่อการดูดกลืนค่าแสงของฟลูออเรสเซนซ์ และทำให้การวัดค่าแสงด้วยแอปพลิเคชันบนกล้องมือถือมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

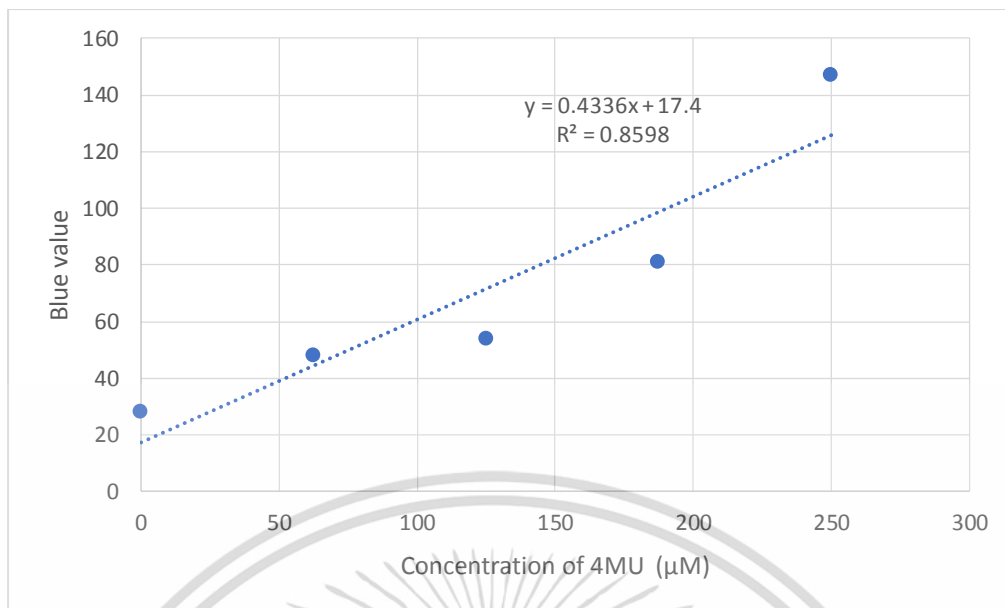


รูปที่ 4.42 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่างสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก กับฟลูออเรสเซนซ์จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์

จากข้อมูลในตารางยังสามารถพล็อตหาความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value ของ 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกกับความเข้มข้นของ 4MU โดยตรงดังรูปที่ 4.43 ได้เป็นสมการเส้นแนวโน้มดังในสมการที่ 4.7 และมีค่า $R^2=0.8598$

$$y = 0.4336x + 17.4 \quad (4.7)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.43 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 4MU กับ Blue value จากภาพถ่ายตัวอย่างสารละลาย 4MU ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

จากกราฟที่ 4.43 ถึงแม้ว่าค่า Blue value จะค่อนข้างคลาดเคลื่อนจากเส้นแนวโน้ม แต่ก็ยังคงแปรผันตามกันกับความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ในลักษณะเส้นตรง แสดงให้เห็นว่ายิ่งค่า Blue value มาก ค่าความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ก็จะมีมากขึ้นตามไปด้วย เมื่อเทียบกับกราฟที่ 4.39 จะเห็นได้ว่าค่า Blue value ของกราฟที่ 4.43 อยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า

เมื่อค่า Blue value ที่วัดได้จากตัวอย่างมีค่าต่ำลงและอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกันมากขึ้น จึงทำให้แยกแยะตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ใกล้เคียงกันได้ยาก และส่งผลให้ความละเอียดของค่าความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ที่วัดได้ในช่วงดังกล่าวลดลง แต่ก็ยังสามารถใช้ในการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารละลาย 4MU และใช้ในการอ้างอิงเพื่อหาปริมาณ *E. coli* ได้

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการศึกษาการจำลองการไหลด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ

เมื่อนำท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกซึ่งออกแบบไว้ให้มีบริเวณผสมสารต่างกัน 6 แบบมาทำการจำลองการไหลด้วยระเบียบวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณในโปรแกรม ANSYS Student 2019 R3 พบว่าค่า Mass fraction ที่ได้จากการคำนวณด้วย Species transport model solver สามารถแสดงถึงพฤติกรรมผสมกันของสารละลายสองชนิดได้ จากการจำลองนี้พบว่าโมเดลท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่มีบริเวณผสมสารเป็นท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลมเป็นแบบที่มีประสิทธิภาพในการผสมสารมากที่สุด

ทั้งนี้ ปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการคลาดเคลื่อนในผลการคำนวณมีดังนี้

1. การแบ่ง Element ของโมเดลจากการสร้าง Mesh ไม่เท่ากันดีทำให้โปรแกรมวิเคราะห์รูปร่างของชิ้นงานผิดเพี้ยน และทำให้ผลลัพธ์ที่ได้คลาดเคลื่อน
2. การจำลองการไหลในชิ้นงานที่มี Element ขนาดเล็กและ Node จำนวนมากต้องใช้คอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อใช้งานโปรแกรมสำหรับการคำนวณ หากคอมพิวเตอร์ไม่สามารถรองรับการทำงานได้ก็จะต้องลดปริมาณของ Element ลง
3. คุณสมบัติของของไหลที่ใช้ในการจำลองไม่ตรงกับความเป็นจริง เพราะเลือกใช้คุณสมบัติที่ใกล้เคียงแทน ในที่นี้ใช้คุณสมบัติของของเหลวตรงกับน้ำ หากต้องการคุณสมบัติของของเหลวที่ถูกต้องตามความเป็นจริงจะต้องมีการตรวจสอบคุณสมบัติจากสารละลายที่ใช้จริง

5.2 อภิปรายผลการสร้างแบบโมเดลจำลอง

การออกแบบและทดลองพิมพ์โมเดลสามมิติ พบว่ามีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการยึดเกาะกับฐานและความสมบูรณ์ของชิ้นงาน เนื่องจากการพิมพ์สามมิติด้วยเครื่องพิมพ์แบบ DLP จะพิมพ์ชิ้นงานโดยที่ฐานของชิ้นงานจะติดอยู่กับฐานพิมพ์ด้านบน ซึ่งแตกต่างกับเครื่องพิมพ์สามมิติทั่วไปที่ฐานของชิ้นงานจะติดอยู่ด้านล่าง ดังนั้นเพื่อไม่ให้ชิ้นงานหลุดตกลงมาจากฐาน แรงแยัดระหว่างชิ้นงานกับฐานจึงมีความสำคัญมาก การออกแบบชิ้นงานจึงต้องมีการปรับโดยคำนึงถึงปัจจัยดังนี้

1. น้ำหนักของชิ้นงาน ถ้าหากน้ำหนักของชิ้นงานมากเกินไป แรงแยัดที่กระทำต่อชิ้นงานก็จะมากขึ้นตามไปด้วย และอาจทำให้แรงแยัดของชิ้นงานกับฐานไม่มากพอ จนทำให้ชิ้นงานตกลงมาได้ ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การออกแบบชิ้นงานจึงต้องมีขนาดเล็กและบาง เพื่อให้น้ำหนักเบาและสามารถยึดติดกับฐานได้จนเสร็จสมบูรณ์

2.รูปทรงของชิ้นงาน เนื่องจากต้องการให้ชิ้นงานติดกับฐานด้านบน ดังนั้นจึงต้องลดแรงยึดระหว่างชิ้นงานกับอ่างเรซินด้านล่าง รูปแบบของชิ้นงานจึงควรมีลักษณะฐานกว้างและยอดแคบ เพื่อลดแรงยึดดังกล่าว

3.แรงฉีกที่ปลายของชิ้นงาน ชิ้นงานที่มีความยาว ถ้าหากฐานด้านบนมีความเอียงแม้เพียงเล็กน้อย เมื่อทำการพิมพ์และยกฐานขึ้นก่อนพิมพ์ชั้นถัดไป บริเวณปลายจะเกิดแรงฉีกขึ้น ยิ่งชิ้นงานมีความยาวมาก แรงฉีกที่เกิดขึ้นก็จะมากขึ้นและส่งผลให้ชิ้นงานหลุดลงมาได้ จึงต้องปรับฐานให้ตรงเสมอก่อนใช้งาน และไม่ควรรอบแบบชิ้นงานที่ความยาวต่อเนื่องกันมากเกินไป

4.วัสดุของฐาน แรงยึดระหว่างฐานและชิ้นงานขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุฐานเช่นกัน โดยมากนิยมใช้เป็นแผ่นแก้ว เนื่องจากมีแรงยึดที่พอเหมาะ แต่ถ้าหากต้องการแรงยึดที่สูงขึ้น ก็จะใช้เป็นแผ่นอะลูมิเนียม นอกจากนี้แผ่นอะลูมิเนียมยังสามารถใช้กระดาษทรายขัดเพื่อเพิ่มความหยาบบริเวณผิวสัมผัส ทำให้มีพื้นที่ผิวให้ชิ้นงานยึดเกาะมากขึ้นและไม่ตกลงมา

5.เวลาในการฉายแสง เรซินเหลวในถาดจะแข็งตัวได้เมื่อได้รับแสงยูวี ถ้าหากขณะพิมพ์มีการฉายแสงแต่ละชั้นที่นาน จะทำให้เรซินเกิดการแข็งตัวและยึดเกาะกับฐานได้ดีมากขึ้น

นอกจากปัจจัยที่มีผลต่อการพิมพ์ชิ้นงานแล้ว การสร้างไมโครฟลูอิดิกยังมีอีกปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือ ความสามารถของตัวเชื่อมประสานในการยึดไมโครฟลูอิดิกจากเครื่องพิมพ์เข้ากับแผ่นกระจกสไลด์ ซึ่งพบว่า ซิลิโคน เป็นตัวเชื่อมประสานที่สามารถทำงานได้ดีที่สุด เนื่องจากซิลิโคนมีแรงยึดเกาะค่อนข้างสูง เมื่อแห้งแล้วมีการหดตัวเพียงเล็กน้อย อีกทั้งยังสามารถยึดติดกับวัสดุประเภทกระจกได้ดี รวมถึงลักษณะที่มีความหนืด ทำให้ไม่ไหลลงไปอุดตันในท่อขณะติดแผ่นกระจก

5.3 อภิปรายผลการทดสอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

ไมโครฟลูอิดิกที่เสร็จสมบูรณ์จะต้องนำมาทดสอบเพื่อดูความสมบูรณ์ของชิ้นงาน โดยการทดสอบทั้งหมดได้แก่

การทดสอบขนาดของไมโครฟลูอิดิก โดยการใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์วัด ซึ่งสามารถวัดทั้งความหนาของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ความลึกของท่อ และขนาดกว้างยาวของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกได้อย่างแม่นยำ ซึ่งพบว่าขนาดที่วัดมีความแม่นยำตรงกับค่าที่ออกแบบไว้ อย่างไรก็ตามด้วยขนาดที่เล็กมากของท่อในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก อุปกรณ์เวอร์เนียจึงยังไม่สามารถวัดขนาดหน้าตัดของท่อภายในได้

การศึกษารายละเอียดของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่ผลิตออกมาในช่วงแรก (รูปที่ 4.17, 4.18, 4.20, 4.21 และ 4.22) การพิมพ์อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติยังไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร ซึ่งนอกจากชิ้นงานจะตกจากฐาน ทำให้ความหนาของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นงานและความลึกของท่อไม่ตรงตามที่ออกแบบไว้ บริเวณรอยหยักของท่อที่มีขนาดเล็กยังเชื่อมติดกัน กลายเป็นท่อตัน ทำให้สารไหลผ่านไม่ได้

ทั้งนี้ถึงแม้ว่าความสามารถของเครื่องพิมพ์จะสามารถพิมพ์รายละเอียดที่เล็กที่สุดได้ถึง $47\ \mu\text{m}$ แต่เมื่อนำมาใช้งานจริง ปัจจัยหลายๆด้าน อย่างเช่น อุณหภูมิของเครื่อง สีของเรซิน ความหนืดของเรซิน และอื่นๆ อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของเครื่องไม่ไปถึงจุดที่ตั้งไว้ ซึ่งเมื่อทำการแก้ไขปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการพิมพ์ของเครื่องพิมพ์สามมิติ อย่างการปรับรูปแบบโมเดล การตั้งค่าเวลาในการพิมพ์ และเพิ่มความหนาของฐานด้วยการใช้กระดาษทรายขัด จึงทำให้ชิ้นงานไมโครฟลูอิดิกที่ออกมาสามารถพิมพ์ได้จนครบทั้งชิ้น และมีรายละเอียดที่สมบูรณ์ (รูปที่ 4.23)

การทดสอบการรั่วไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก เมื่อทำการฉีดสีเข้าไปภายในท่อของไมโครฟลูอิดิกจะสามารถเห็นเส้นทางการไหลของสารภายในได้ ซึ่งพบว่าไมโครฟลูอิดิกที่ทำการติดแผ่นกระจกด้วยกาวตราช่าง หรือเรซินนั้น เนื่องจากตัวเชื่อมประสานทั้งสองไม่มีคุณสมบัติในการยึดเกาะกับกระจก อีกทั้งเมื่อแข็งตัวยังมีการหดตัวมาก จึงทำให้กระจกที่ติดไม่ยึดแน่น สามารถหลุดออกมาและเกิดการรั่วของสารได้ง่าย (รูปที่ 4.29) อีกทั้งความเหลวของตัวเชื่อมประสานทำให้มีการไหลไปอุดตันในท่อของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก จึงไม่สามารถนำตัวเชื่อมประสานเหล่านี้มาใช้งานจริงได้

ในขณะที่ซิลิโคนนั้นเป็นวัสดุที่สามารถยึดติดกระจกได้ดีมากกว่า อีกทั้งยังมีการหดตัวที่น้อย ทำให้กระจกที่ติดอยู่บนไมโครฟลูอิดิกสามารถติดได้แน่นหนาทนทานมากกว่า และเกิดการรั่วไหลของสารน้อยกว่าอีกด้วย (รูปที่ 4.30) ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของซิลิโคนที่เป็นสารคล้ายเจลและความหนืด จึงทำให้เมื่อทาลงบนพื้นผิวของไมโครฟลูอิดิกแล้ว จะไม่ไหลลงไปในท่อหรือรายละเอียดอื่นๆ จึงเป็นตัวเชื่อมประสานที่มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก

การทดสอบการไหลผสมของสารภายในไมโครฟลูอิดิก จะใช้ไซริงค์สำหรับฉีดสีเหลืองและแดงเข้าไปในทางเข้าทั้งสอง โดยกำหนดอัตราเร็วของสารที่ไหลเข้าที่ช่องเข้าทั้งสองมีอัตราเร็วเท่ากัน ซึ่งสีทั้งสองสามารถผสมกันได้ค่อนข้างดีเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า (รูปที่ 4.31)

แต่อย่างไรก็ตามในบริเวณ Detecting zone ที่ใช้สำหรับตรวจวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์นั้น ยังสามารถมองเห็นสีที่แตกต่างกันเล็กน้อยได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากอัตราการฉีดสารที่ยังไม่คงที่ตามในแบบจำลองของโปรแกรม รวมถึงความเข้มข้นและความหนืดของสีที่ใช้ ซึ่งอาจมีผลต่อการไหลของสารภายในท่อ

5.4 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU

ปริมาณฟลูออเรสเซนซ์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลาย 4MU โดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย 4MU มากขึ้น ค่าของฟลูออเรสเซนซ์ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย โดยกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 4MU และค่าของฟลูออเรสเซนซ์มีลักษณะเป็นกราฟแนวโน้มแบบเส้นตรงดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$y=107.47x+36.419$ (รูปที่ 4.33) ที่มีค่า $R^2=0.9957$ ซึ่งกราฟที่ได้นี้จะถูกนำไปใช้เป็นกราฟอ้างอิงในการหาค่า 4MU จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ GUD และซับสเตรต MUG

การวัดปริมาณฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU ที่ค่าความเข้มข้นต่างๆ ทำให้สามารถทราบได้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ 4MU และค่าของฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ จึงได้กราฟมาตรฐานออกมาซึ่งเมื่อนำกราฟนี้ไปเปรียบเทียบกับปริมาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD และซับสเตรต MUG ก็จะสามารถหาคำนวนหาความเข้มข้นของ 4MU ได้

5.5 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับ ซับสเตรต MUG

จากผลกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Enzyme activity ของ GUD กับฟลูออเรสเซนซ์ (รูปที่ 4.34) มีสมการเส้นแนวโน้ม $y = 0.615x + 1.5756$ ที่มีค่า $R^2=0.9993$ จะสังเกตว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้น 4MU และค่าฟลูออเรสเซนซ์ (รูปที่ 4.33)

ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG ทำปฏิกิริยาได้ผลิตภัณฑ์ 4MU และในการทดลองนี้ใช้ MUG ที่ความเข้มข้นคงที่ ทำให้ GUD และ 4MU มีแนวโน้มในรูปแบบเดียวกัน

นอกจากนี้ สมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้น 4MU และค่าฟลูออเรสเซนซ์ยังใช้ในการคำนวณ Enzyme activity ของ GUD เพราะฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้แผ่ออกมาจาก 4MU ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ จึงสามารถคำนวณย้อนกลับจากค่าฟลูออเรสเซนซ์ไปหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้

ค่าฟลูออเรสเซนซ์ซึ่งแปรผันตามปริมาณของ 4MU เป็นสิ่งบ่งบอกถึงปริมาณ Enzyme activity ของ GUD ในปฏิกิริยากับซับสเตรต MUG และเนื่องจาก GUD เป็นไบโอมาร์คเกอร์ของแบคทีเรีย *E. coli* การตรวจวัดนี้จึงสามารถบ่งบอกถึงปริมาณ *E. coli* ในสารตัวอย่าง

5.6 อภิปรายผลการผลิตและใช้งานเครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ

การถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์จากตัวอย่างจะต้องถ่ายในที่มืดและมีอุปกรณ์เสริมอย่าง ไฟฉายยูวี ฟิลเตอร์ โทรศัพท์มือถือ เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นเครื่องมือที่ใช้ในการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์จึงมีความสำคัญต่อการได้ภาพที่ถูกต้อง จากผลพบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการคลาดเคลื่อนของการวัดค่า RGB มีดังนี้

1. ตำแหน่งของไฟฉายยูวีที่ใช้เป็นแสงกระตุ้น องค์ประกอบของการฉายแสงควรฉายไปที่ตัวอย่างโดยตรง และห้ามมุดอกกับกล้องถ่ายรูปเพื่อไม่ให้แสงเข้าสู่ตัวกล้อง

2. ค่า RGB ขึ้นอยู่กับสีของบริเวณที่ต้องการศึกษา ดังนั้นการที่ภาชนะใส่สารใสไม่มีสีจะทำให้สีของฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้แม่นยำมากกว่า การวัดค่าของตัวอย่างใน Microcentrifuge tube ที่มีเนื้อวัสดุสี จึงสามารถศึกษาแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดีกว่าเรซินใสซึ่งมีเนื้อวัสดุทึบสีเหลืองและขุ่นกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังหน่วยงานด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เพื่อความแม่นยำ ฟิลเตอร์ที่ใช้งานควรมีสองฟิลเตอร์ ใช้อันหนึ่งเพื่อคัดเลือกแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะเจาะจงสำหรับการกระตุ้นไปที่ตัวอย่าง และใช้อีกฟิลเตอร์คัดเลือกแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่แผ่ออกมา ให้เฉพาะความยาวคลื่นที่กำหนดผ่านไปเข้าสู่กล้องโทรศัพท์มือถือ อย่างไรก็ตาม ฟิลเตอร์ที่เฉพาะเจาะจงความยาวคลื่นมีราคาสูงมาก ในงานวิจัยนี้จึงใช้ยูวีฟิลเตอร์วางไว้หน้ากล้องเพื่อคัดกรองแสงยูวีซึ่งมีความยาวคลื่นต่ำกว่าแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ต้องการศึกษาออกเป็นการทดแทน

5.7 อภิปรายผลการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue Value ใน RGB color model จากกล้องโทรศัพท์

จากผลการทดลองใช้ตัวอย่าง 4MU ที่ความเข้มข้นต่างๆ 6 ตัวอย่าง ได้แก่ 0, 62.5, 125, 187.5 และ 250 μM นำมาตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ พบว่ากราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย 4MU กับฟลูออเรสเซนซ์ (รูปที่ 4.38) มีสมการ $y = 6.6403x + 186.89$ ที่มีค่า $R^2 = 0.9901$ และมีแนวโน้มแปรผันรูปแบบเดียวกันกับการทดลองวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลาย 4MU ที่ทำไว้ใน การทดลองที่ผ่านมา (รูปที่ 4.33) แต่จะพบว่าค่าความเข้มข้นของ 6 ตัวอย่างในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าช่วงของกราฟอ้างอิงที่เคยทำไว้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะใช้สาร 4MU ที่ได้เตรียมไว้นานแล้ว จึงทำให้ความสามารถในการเรืองแสงของ 4MU ลดลง

เมื่อนำ 6 ตัวอย่างเดียวกันนี้มาตรวจสอบฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้วิธีการวัด Blue value ที่ได้จากค่าสี RGB เมื่อใช้กล้องโทรศัพท์ถ่ายไปยังการเรืองแสงของตัวอย่างสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube จะได้กราฟที่มีสมการความสัมพันธ์ระหว่าง Blue value กับฟลูออเรสเซนซ์ คือ $y = 7.3189x - 198.02$ (รูปที่ 4.37) ที่มีค่า $R^2 = 0.9776$ ในขณะที่ความสัมพันธ์แบบเดียวกันของตัวอย่างในไมโครฟลูอิดิกจะได้เป็นสมการ $y = 12.776x + 102.15$ (รูปที่ 4.42) ที่มีค่า $R^2 = 0.8014$ จากผลจะสังเกตได้ว่า Blue value มีแนวโน้มแปรผันตามฟลูออเรสเซนซ์เป็นเส้นตรง ทำให้สามารถใช้สมการในการแปลงค่าระหว่าง Blue value เทียบเป็นฟลูออเรสเซนซ์ และใช้ทดแทนฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐานได้ เมื่อทราบค่าฟลูออเรสเซนซ์แล้วก็จะสามารถนำไปแปลงเป็น enzyme activity ของ GUD ได้ด้วยความสัมพันธ์ระหว่าง Enzyme activity ของ GUD และค่าฟลูออเรสเซนซ์ (สมการที่ 4.2)

นอกจากนี้ค่า Blue value ของแต่ละตัวอย่างลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อถูกนำไปใช้กับไมโครฟลูอิดิก เหตุผลที่เป็นไปได้คือยูวีเรซินที่ใช้ผลิตอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกมีการดูดซับแสงจากไฟฉายยูวีซึ่งเป็นแสงกระตุ้นให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ไปบางส่วนก่อนที่จะไปถึงตัวอย่าง ทำให้การเรืองแสงของตัวอย่างมีประสิทธิภาพลดลง อีกข้อสังเกตหนึ่งคือเนื้อของเรซินขุนติดสีเหลืองและไมใสเท่า Microcentrifuge tube เมื่อถูกแสงไฟฉายยูวี ส่องทำให้เห็นเนื้อเรซินเป็นสีเหลืองและเขียว ซึ่งมีอาจผลทำให้ค่าสีที่วัดได้จากตัวอย่างผิดเพี้ยนไปเพราะถูกสีของเรซินรบกวน

จากข้อมูลผลการทดลองนี้ ยังสามารถหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย 4MU กับ Blue value โดยตรงได้อีกด้วย สำหรับตัวอย่างใน Microcentrifuge tube จะได้สมการแนวโน้ม $y = 0.8736x + 56.8$ (รูปที่ 4.39) ที่มีค่า $R^2 = 0.939$ ส่วนตัวอย่างในไมโครฟลูอิดิกจะได้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการ $y = 0.4336x + 17.4$ (รูปที่ 4.43) ที่มีค่า $R^2 = 0.8598$ จากความสัมพันธ์นี้ทำให้สามารถใช้ Blue value จากกล้องถ่ายภาพโทรศัพท์มือถือในการระบุความเข้มข้นของ 4MU โดยตรงได้โดยไม่ต้องคำนวณผ่านฟลูออเรสเซนซ์จากฟลูออโรมิเตอร์

จึงสรุปได้ว่า Blue value จากกล้องโทรศัพท์สามารถนำไปใช้เทียบหาค่าฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของ 4MU และยังใช้สมการคำนวณหา Enzyme activity ของ GUD ซึ่งช่วยบ่งบอกปริมาณของ *E. coli* ได้ ดังนั้นโทรศัพท์และเครื่องมือวัด Blue value ที่เกี่ยวข้องจึงเป็นทางเลือกที่ทดแทนฟลูออโรมิเตอร์ ข้อดีคือสามารถใช้กับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกและ Microcentrifuge tube ได้ ในขณะที่ฟลูออโรมิเตอร์รองรับเฉพาะ Microcentrifuge tube รวมถึงเครื่องมือที่ใช้งานสามารถเข้าถึงได้ง่าย ราคาต่ำกว่าฟลูออโรมิเตอร์ ข้อเสียคือความแม่นยำที่น้อยกว่าและอุปกรณ์ที่ใส่สารมีผลต่อ Blue value ที่วัดได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองพบว่าค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจาก 4-methyl-umbelliferone (4MU) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ β -D-glucuronidase (GUD) และซับสเตรต 4-methyl-umbelliferone- β -D-glucuronide (MUG) แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ 4MU (รูปที่ 4.33) ในรูปแบบเดียวกัน ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ก็แปรผันตรงกับ Enzyme activity ของเอนไซม์ GUD (รูปที่ 4.34) ซึ่งเป็นเอนไซม์เฉพาะของ *Escherichia coli* ทำให้อนุมานได้ว่าสามารถใช้ค่าฟลูออเรสเซนซ์สำหรับหาปริมาณของ *E. Coli* ในตัวอย่างได้ จึงได้นำผลการวิจัยมาต่อยอดในการสร้างไมโครฟลูอิดิกขึ้น

กระบวนการสร้างไมโครฟลูอิดิกเริ่มจากการออกแบบด้วย SOLIDWORKS 2018 และจำลองการไหลด้วยโมเดล FLUENT ใน ANSYS Student 2019 R3 เพื่อหารูปแบบที่มีประสิทธิภาพในการผสมสารที่ดีที่สุดก่อนจะนำมาผลิตจริงด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ Creality3D LD-001 ซึ่งใช้ยูวีเรซินแบบใสในการพิมพ์

จากผลการออกแบบระบบการไหลของของเหลวในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก พบว่าโมเดลแบบ F (รูปที่ 4.6) ท่อโค้งสามขดเจาะรูวงกลม มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการผสมสารที่ไหลเข้าในอุปกรณ์ แต่เมื่อนำมาใช้พิมพ์ในเครื่องพิมพ์สามมิติ พบว่าท่อจะเกิดการอุดตันเพราะเครื่องพิมพ์ไม่สามารถพิมพ์ท่อเจาะรูวงกลมอย่างสมบูรณ์ได้ ในขณะที่โมเดลแบบ E (รูปที่ 4.5) ท่อเจาะรูสามเหลี่ยมซึ่งมีประสิทธิภาพในการผสมสารที่ใกล้เคียงกัน สามารถพิมพ์ออกมาจากเครื่องพิมพ์สามมิติได้สมบูรณ์กว่าและไม่เกิดการอุดตันของท่อ ชิ้นงานไมโครฟลูอิดิกที่พิมพ์สำเร็จจะได้เป็นชิ้นงานเรซินทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่สังเกตความลึกของท่อได้ชัดเจน (รูปที่ 4.23) ก่อนจะนำไปประกอบกับกระจกสไลด์ด้วยซิลิโคน

การทดสอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกที่ได้นั้น พบว่าเมื่อวัดด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ ชิ้นงานมีขนาดและความหนาตรงตามที่ออกแบบไว้ การประกอบชิ้นงานเข้ากับกระจกสไลด์ด้วยซิลิโคน ทำให้ไมโครฟลูอิดิกที่ไม่เกิดการรั่วซึมของสาร อีกทั้งยังไม่ทำให้เกิดการอุดตันภายในท่อของไมโครฟลูอิดิก (รูปที่ 4.30) นอกจากนี้เมื่อทดลองฉีดสีเหลืองและสีแดงเพื่อดูการผสมของสาร ยังให้ผลที่ประสิทธิภาพดีใกล้เคียงกับแบบจำลองการไหล (รูปที่ 4.31)

เนื่องจากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบมาตรฐานไม่รองรับการใช้งานกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก จึงได้ออกแบบเครื่องมือทางเลือกในการวัดฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้ค่า Blue value จากค่าสี RGB ซึ่งมีหลักการทำงานคือใช้ไฟฉายยูวีฉายแสงความยาวคลื่น 365 nm กระตุ้นไปที่สารตัวอย่างและเก็บภาพการเรืองแสงด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ โดยมีฟิลเตอร์สำหรับกรองแสงที่ไม่เกี่ยวข้องกับความยาวคลื่นฟลูออเรสเซนซ์ที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัด ก่อนจะใช้แอปพลิเคชัน Color Grab ในการหาค่า RGB จากบริเวณภาพการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ต้องการ และเลือกใช้เฉพาะ Blue value เนื่องจากความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์ที่ต้องการศึกษาอยู่ที่ 450 nm ซึ่งเป็นแสงสีฟ้าและอยู่ในช่วงการตรวจจับค่า Blue value ของกล้องโทรศัพท์มือถือ

การทดสอบใช้งานจริงของเครื่องมือวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วยระบบ RGB ในการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย 4MU ใน Microcentrifuge tube พบว่าค่า blue value มีแนวโน้มแปรผันตรงกับค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้จากเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (ตารางที่ 4.4) จากสมการความสัมพันธ์ที่ได้ จึงสามารถนำค่า blue value ซึ่งใช้เครื่องมือที่ราคาถูกลงและเข้าถึงได้ง่าย เช่น โทรศัพท์มือถือ มาประยุกต์ใช้ในการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์แทนฟลูออโรมิเตอร์ได้

อย่างไรก็ตามเมื่อนำไมโครฟลูอิดิกมาใช้งานร่วมกับเครื่องมือวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วยระบบ RGB พบว่าค่าของ blue value ที่ได้ ดังในรูปตารางที่ 4.5 มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากการใช้ Microcentrifuge tube ซึ่งอาจเกิดจากการที่สี ความขุ่น และการดูดกลืนแสงยูวีของเรซินส่งผลกระทบต่อการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก จึงทำให้ค่าลดลงกว่าที่ควรเป็น

ค่า Blue value ยังสามารถแปลงเป็นความเข้มข้นของสารละลาย 4MU ได้โดยตรงด้วยสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง Blue value กับความเข้มข้นของสารละลาย 4MU และเนื่องจาก 4MU เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ GUD ซึ่งเป็นไบโอมาร์คเกอร์ของ *E. coli* กับซับสเตรต MUG จึงส่งผลให้ความเข้มข้นของสารละลาย 4MU แปรผันตามปริมาณ *E. coli* และด้วยความสัมพันธ์เหล่านี้ การวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วยระบบ RGB จึงสามารถใช้ในการวัดปริมาณของ *E. coli* ได้

6.2 ข้อเสนอแนะ

- ปรับสูตรส่วนผสมของยูวีเรซินให้เนื้อเรซินมีความใสมากขึ้น
- ปรับปรุงอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกให้เป็นแบบอัตโนมัติโดยใช้ Micropump ในการฉีดสารเข้าสู่ไมโครฟลูอิดิก เพื่อกำหนดให้สารทั้งสองมีความเร็วเข้าสู่ไมโครฟลูอิดิกเท่ากันและมีประสิทธิภาพในการผสมสารที่ดีขึ้น
- ติดตั้งอุปกรณ์ป้องกันไฟฉายยูวีสำหรับส่วนฐานของกล่องเครื่องมือวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วย RGB เพื่อให้สามารถส่งไฟฉายไปตรงตำแหน่งของตัวอย่างได้ดีขึ้น
- ทำการทดลองวัดฟลูออเรสเซนซ์ด้วย Blue value ของค่า RGB จากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ GUD กับซับสเตรต MUG โดยฉีดสารละลายทั้งสองเข้าไปในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกให้เกิดการผสมกันและทำปฏิกิริยาภายในไมโครฟลูอิดิกภายในเวลาที่กำหนด
- ทำการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออเรสเซนซ์กับจำนวนของ *E. coli* โดยตรง โดยนำสารตัวอย่างที่มี *E. coli* จำนวนหนึ่งอยู่มาทำปฏิกิริยาร่วมกับซับสเตรต MUG แล้วนำไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ การวัดจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

E. coli ทำได้โดยนำสารตัวอย่างไปเจือจางก่อนเพาะบนจานเลี้ยงเชื้อและตรวจนับจำนวนโคโลนีด้วยวิธี Standard plate count ได้ผลเป็นหน่วย cfu อีกวิธีหนึ่งคือวัดหาความหนาแน่นของเซลล์ด้วยความขุ่น โดยใช้ Spectrophotometer วัดความขุ่นของการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 600 nm ใช้กราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาจำนวน *E. coli* จากความขุ่น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Wildeboer, D., Amirat, L., Price, RG., Abuknesha RA. 2010. "Rapid detection of *Escherichia coli* in water using a hand-held fluorescence detector." *Water Res.* 44(8): 2621–2628.
- [2] Togo, C. 2006. "Development of an in-situ β -D-Glucuronidase diagnostic moraxella- based biosensor for potential application in the monitoring of water polluted by faecal material in South Africa." Ph.D. Thesis of Rhodes University.
- [3] เต็มศิริ ทรงเจริญ. 2551. "การพัฒนาวิธีการตรวจวัดระดับไมโครอัลบูมินและครีเอตินินในปัสสาวะ ในระบบของไหลจุลภาคแบบพกพา." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คลินิกและอนุทางการแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [4] Amin, R., Knowlton, S., Hart, A., Yenilmez, B., Ghaderinezhad, F., Katebifar, S., et al. 2016. "3D-printed microfluidic devices." *Biofabrication*, 8(2).
- [5] Plevniak, K., Campbell, M., He, M. 2016. "3D printed microfluidic mixer for point-of-care diagnosis of anemia." 267–270. *Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference.*
- [6] บริษัท เอฟ.อาร์.พี.เอ็กซ์เปอร์ทีส จำกัด. 2563. *เรซิน คืออะไร*. [Online]. Available : <http://frp-expertise.com/เรซิน-resins-คืออะไร>.
- [7] Resin Expert. 2020. *UV Resin – The fast curing resin for immediate results*. [Online]. Available : <https://resin-expert.com/en/guide/uv-resin-guide>.
- [8] Wikipedia. 2020. *Cyanoacrylate*. [Online]. Available : <https://en.wikipedia.org/wiki/Cyanoacrylate>.
- [9] Hotmelt. 2020. *Silicone Sealant Handbook*. [Online]. Available : <https://www.hotmelt.com/blogs/blog/silicone-sealant-handbook>.
- [10] Sidharthan, S., Daniel Gandhi, A., Balashanmugam, N., Jeyaraj, P. 2014. "Numerical Approach for Fabrication of Micromixers Using Microstereolithography." *Procedia Materials Science*. 5: 527-534.
- [11] Burghlea T, Segre E, Bar-Joseph I, Groisman A, Steinberg V. 2004. "Chaotic flow and efficient mixing in a microchannel with a polymer solution." *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter*. 69(6 Pt 2): 066305.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [12] Wikipedia. 2020. *Light*. [Online]. Available : <https://en.wikipedia.org/wiki/Light>.
- [13] บริษัท อิงค์ออนเปเปอร์ จำกัด. 2563. *ระบบสี RGB VS CMYK แตกต่างกันยังไง?*. [Online]. Available : <https://www.iop.co.th/content/6222>.
- [14] Knowled. 2560. *7 ประเภทของปริ้นเตอร์ 3 มิติ เทคโนโลยีสร้างสรรค์งานลอยตัว ที่ใกล้เรา มากขึ้นทุกขณะ*. [Online]. Available : <https://www.techhub.in.th/7-types-of-3d-printers>.
- [15] MANUFACTUR3D. 2018. *The Difference between DLP and SLA*. [Online]. Available : <https://manufactur3dmag.com/difference-dlp-sla>.
- [16] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. *เครื่องมือวิทยาศาสตร์*. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น : โรงพิมพ์ คลังน่านวิทยา.
- [17] เนียรวรรณ มีเจริญ. 2561. *กล้องจุลทรรศน์ และส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์*. [Online]. Available : <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7873-2018-02-27-02-46-18>.
- [18] TCmech. 2556. *วิธีการใช้งานเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์*. [Online]. Available : <http://www.tcmech.com/เครื่องมือวัด/เครื่องมือวัดทางกล/วิธีการใช้งานเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์.html>.
- [19] Liang, C., Liu, Y., Niu, A., Liu, C., Li, J., & Ning, D. 2019. "Smartphone-app based point- of-care testing for myocardial infarction biomarker cTnI using an autonomous capillary microfluidic chip with self-aligned on-chip focusing (SOF) lenses." *Lab Chip*. 19(10): 1797-1807.