

## ปัจจัยที่ส่งผลต่อเสถียรภาพของ QCM ในการวัดจำนวนเซลล์

เนื่องจาก QCM เป็นตัวตรวจวัดที่มีความไวสูง ดังนั้นการนำ QCM มาใช้ ควรต้องมีการระมัดระวังตัวแปรต่างๆที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความถี่เรโซแนนซ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำ QCM มาใช้งานในของเหลว ในบทนี้จะกล่าวถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อเสถียรภาพของ QCM ในการวัดจำนวนเซลล์ โดยแบ่งเป็นการทดลอง 3 การศึกษา คือ

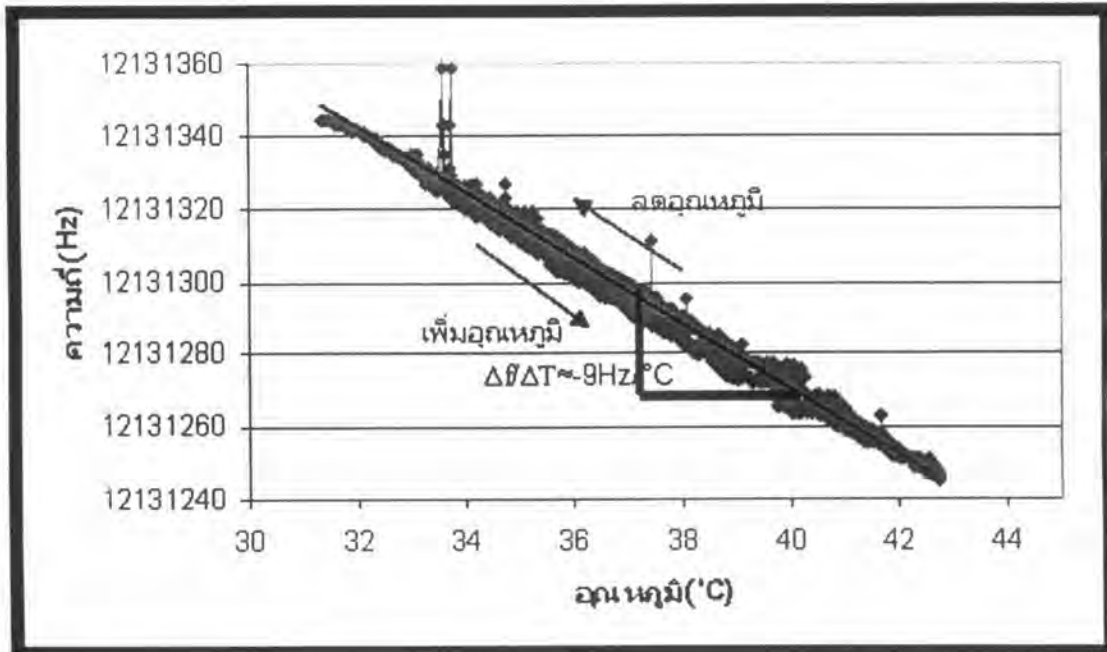
1. การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับ อุณหภูมิ ขณะที่ QCM อยู่ในอากาศ
2. การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับ อุณหภูมิ ขณะผิวทองด้านหนึ่ง QCM สัมผัสกับสารละลายเลี้ยงเซลล์
3. การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM อันเป็นผลมาจากการระเหยของน้ำ

### 3.1 การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิขณะ QCM อยู่ในอากาศ

การออกแบบระบบการทดลองให้ดีขึ้นจำเป็นต้องมีการควบคุมตัวแปรต่างๆที่ส่งผลต่อเสถียรภาพทั้งก่อนการทดลอง และในขณะที่ทดลอง การทดลองวัดปริมาณเซลล์นี้ต้องมีการวัดความถี่ตั้งต้นก่อนใส่และหลังใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์ซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ QCM เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ ดังนั้นการเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิทำให้สามารถออกแบบระบบการทดลองที่มีเสถียรภาพ และส่งผลให้ผลการทดลองที่ได้มีความน่าเชื่อถือ

การทดลองนี้ใช้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz โดยเริ่มจากวัดค่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM โดยเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 31.5 ถึง 42.75 °C แล้วลดอุณหภูมิลงจาก 42.75 °C ถึง 31.5 °C จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงระหว่างความถี่เรโซแนนซ์กับอุณหภูมิ



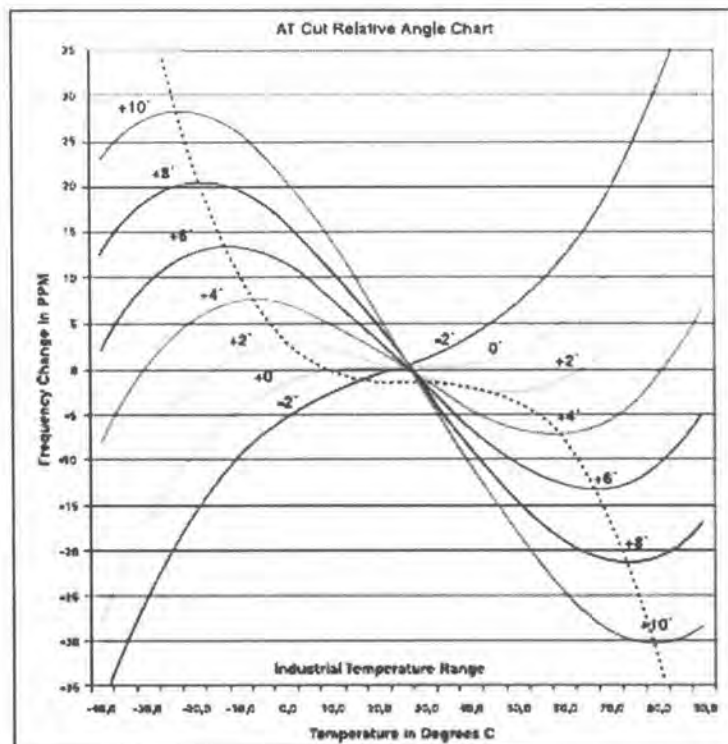
รูปที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิ

จากผลการทดลองในรูปที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะแปรผกผันกับอุณหภูมิ กล่าวคือ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะพบว่าความถี่เรโซแนนซ์จะมีค่าลดลง จากการคำนวณโดยใช้สมการประมาณค่าแบบเชิงเส้น สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่ต่ออุณหภูมิได้เท่ากับ  $-9\text{Hz}/^{\circ}\text{C}$

ผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 3.1 เห็นได้ว่า QCM มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทำให้เกิดการขยายตัวของผลึกควอตซ์ และเปลี่ยนแปลงค่าคงที่ออสติค ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM ตามสมการที่ 3.1 [15]

$$f = \frac{1}{2t_q} \sqrt{\frac{\mu_q}{\rho_q}} \quad (3.1)$$

โดยที่  $f$  คือ ความถี่เรโซแนนซ์       $\mu_q$  คือ ค่าคงที่ออสติค  
 $\rho_q$  คือ ความหนาแน่นของ QCM       $t_q$  คือ ความหนาของ QCM



รูปที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงความถี่ของคริสตัลที่ตัดที่มุมที่แตกต่างกัน [16]

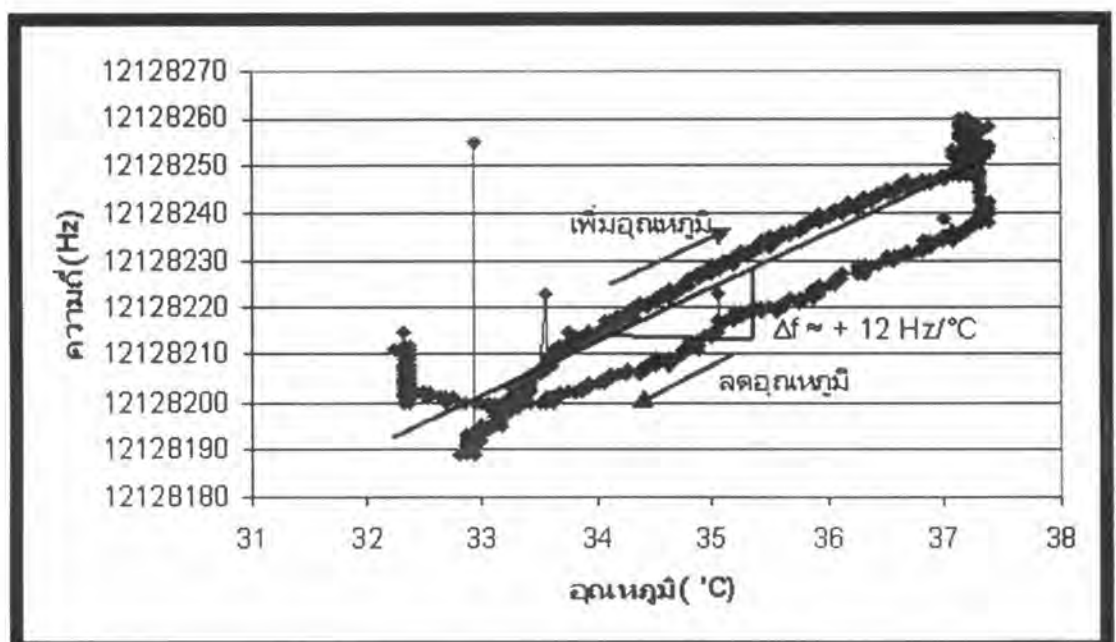
จากกราฟในรูปที่ 3.2 [16] QCM ซึ่งมีการตัดผลึกควอตซ์ แบบ AT-CUT จะมีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่ต่ออุณหภูมิเท่ากับ  $0 \frac{Hz}{^{\circ}C}$  ที่อุณหภูมิ  $27^{\circ}C$  และประมาณค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่ต่ออุณหภูมิเท่ากับ  $0.39 \frac{Hz}{^{\circ}C}$  ที่อุณหภูมิช่วง 30 ถึง  $40^{\circ}C$  แต่จากการทดลองในรูป 3.1 เห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงสัมประสิทธิ์มีค่ามากกว่าทฤษฎีอยู่มาก ดังนั้นการนำ QCM มาทดลองควรมีการหาค่าสัมประสิทธิ์ก่อน และ ควรมีการสร้างระบบที่สามารถควบคุมอุณหภูมิเพื่อให้มีผลของอุณหภูมิต่ำที่สุด

### 3.2 การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิ ขณะผิวทองด้านหนึ่ง QCM สัมผัสกับของเหลว

จากการรายงาน [17],[18] พบว่า QCM เมื่อถูกนำมาใช้งานในของเหลวจะมีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์สูงกว่าในอากาศ โดยในรายงานของ Frank Eichelbaum [17] พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสัมประสิทธิ์สูงกว่าอากาศประมาณ 3.7 เท่า ส่วนรายงาน David E. Nivens [18] พบว่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิมีการแปรผันแบบไม่เชิงเส้น โดยได้ทำการทดลองในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 22-28 °C เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในอากาศจึงทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิของ QCM ในน้ำเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในอากาศ

การทดลองนี้ใช้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz โดยควบคุมอุณหภูมิเริ่มต้นเป็น 33 °C จากนั้น ใส่สารละลายเลียงเซลล์ที่อุณหภูมิ 33 °C ปริมาตร 0.45 ml ลงในห้อง (chamber) แล้วปิดฝาห้อง เพื่อควบคุมการระเหยของสารละลาย จากนั้นวัดค่าความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM โดยเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 33 ถึง 37.25 °C แล้วลดอุณหภูมิลงจาก 37.25 ถึง 33 °C จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่

3.3



รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM เทียบกับ อุณหภูมิ เมื่อผิวด้านหนึ่งสัมผัสกับสารละลายเลียงเซลล์

จากผลการทดลองในรูปที่ 3.2 เห็นได้ว่า QCM มีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิเป็นบวก และ เกิด Hysteresis loop ขึ้นระหว่างการเพิ่มอุณหภูมิ และการลดอุณหภูมิ โดยจากการประมาณโดยใช้สมการเชิงเส้นสามารถหาสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงต่ออุณหภูมิได้เท่ากับ  $+ 12 \text{ Hz}/^{\circ}\text{C}$

เมื่อเปรียบเทียบกับสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่ต่ออุณหภูมิระหว่างการทดลองในน้ำกับในอากาศพบว่า QCM มีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงในทางตรงข้าม แต่เมื่อทำการวิเคราะห์พบว่า การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM กับ อุณหภูมิยังมีปัจจัยการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความหนืด และความหนาแน่นของของเหลว ดังนั้น จากผลการทดลองที่ผ่านมาสามารถวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM กับ อุณหภูมิในของเหลวได้ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เนื่องจากการขยายตัวของผลึกควอตซ์ และการเปลี่ยนแปลงค่าคงที่อีลาสติกทำให้ QCM มีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเป็นลบ

2. การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด และความหนาแน่นของสารละลายเชิงเซลล์เทียบกับอุณหภูมิ ทำให้ QCM มีสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเป็นบวก โดยจากตารางที่ 3.1 แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นค่าความหนืด และ ความหนาแน่นของน้ำมีค่าลดลงจากสมการของ Kanazawa

$$\Delta f_L = -6.3867 \times 10^{-8} f_0^3 (\rho_L \eta_L)^{1/2}$$
 จะเห็นได้ว่าเมื่อผลคูณของความหนาแน่น และ ความหนืดของของเหลวลดลงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์น้อยลงดังแสดงในตารางที่ 3.1

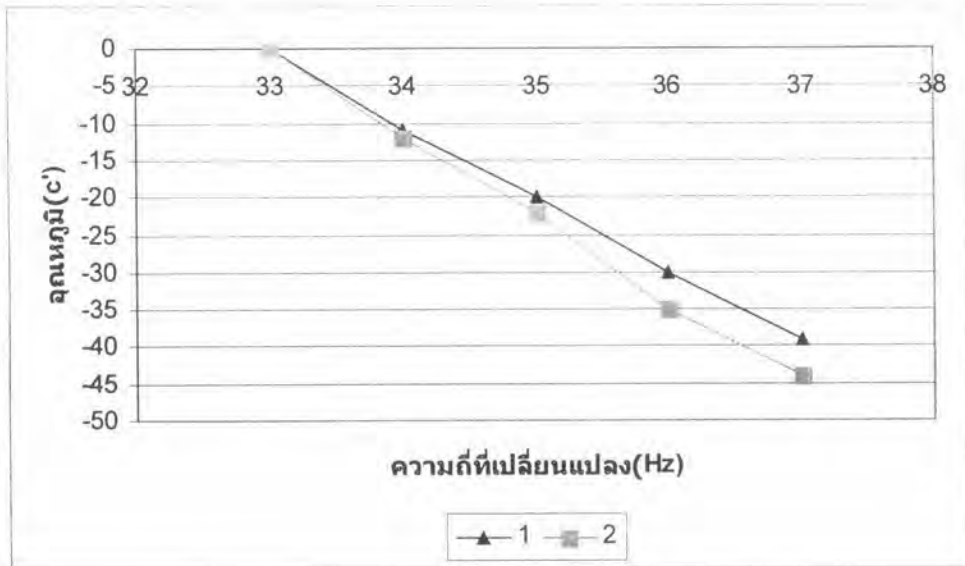
Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	$f_0$ (Hz)	$\rho_L$ ( $\text{Kg}/\text{m}^3$ )	$\eta_L$ ( $\text{Kg}/(\text{m}\cdot\text{s})$ )	$(\rho_L \eta_L)^{1/2}$ ( $\text{Kg}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ )	$\Delta f_L$ (Hz)	$\Delta f'_L = \Delta f'_L - \Delta f'_L{}^{t=33^{\circ}\text{C}}$ (Hz)
33	12,131,331	994.76	0.000749	0.863177	-2,329.	0
34	12,131,320	994.43	0.000734	0.854349	-2,305	24
35	12,131,311	994.08	0.00072	0.846013	-2,283	46
36	12,131,302	993.73	0.000705	0.837006	-2,258	71
37	12,131,293	993.37	0.000692	0.829103	-2,237	92

ตารางที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด และความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ซึ่งส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ ( $\Delta f_L$ ) มีค่าน้อยลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น โดยที่  $f_0$  คือ ค่าความถี่เรโซแนนซ์ตั้งต้นจากผลการทดลองในรูปที่ 3.1  $\rho_L$  คือ ค่าความหนาแน่นของน้ำ  $\eta_L$  คือ ค่าความหนาแน่นของของเหลว  $\Delta f'_L$  คือ ผลต่างระหว่างการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่อุณหภูมิต่างๆ กับอุณหภูมิ 33 $^{\circ}\text{C}$

Temperature (°C)	$\Delta f_L^{ex}$ (Hz)	$\Delta f_L^{ex} - \Delta f_L'$ (Hz)
33	0	0
34	12	-12
35	24	-22
36	36	-35
37	48	-44

ตารางที่ 3.2 การเปลี่ยนความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิเมื่อหักผลของความหนืด และความหนาแน่นของน้ำ โดย  $\Delta f_L^{ex}$  แทนการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ที่ได้จากการทดลองในรูปที่ 3.3

เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์จากค่าความหนืด และความหนาแน่นของน้ำส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์มากกว่าการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เนื่องจากผลของอุณหภูมิ ดังนั้นผลการเปลี่ยนแปลงสัมประสิทธิ์ต่ออุณหภูมิโดยรวมจึงมีค่าเป็นลบ จากการทดลองเมื่อทำการหักผลของความหนืด และความหนาแน่นของน้ำจะทำให้ได้การเปลี่ยนแปลงสัมประสิทธิ์ของ QCM เท่ากับ  $-11 \text{ Hz/}^\circ\text{C}$  ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เทียบกับอุณหภูมิของ QCM ในอากาศดังแสดงในรูปที่ 3.4



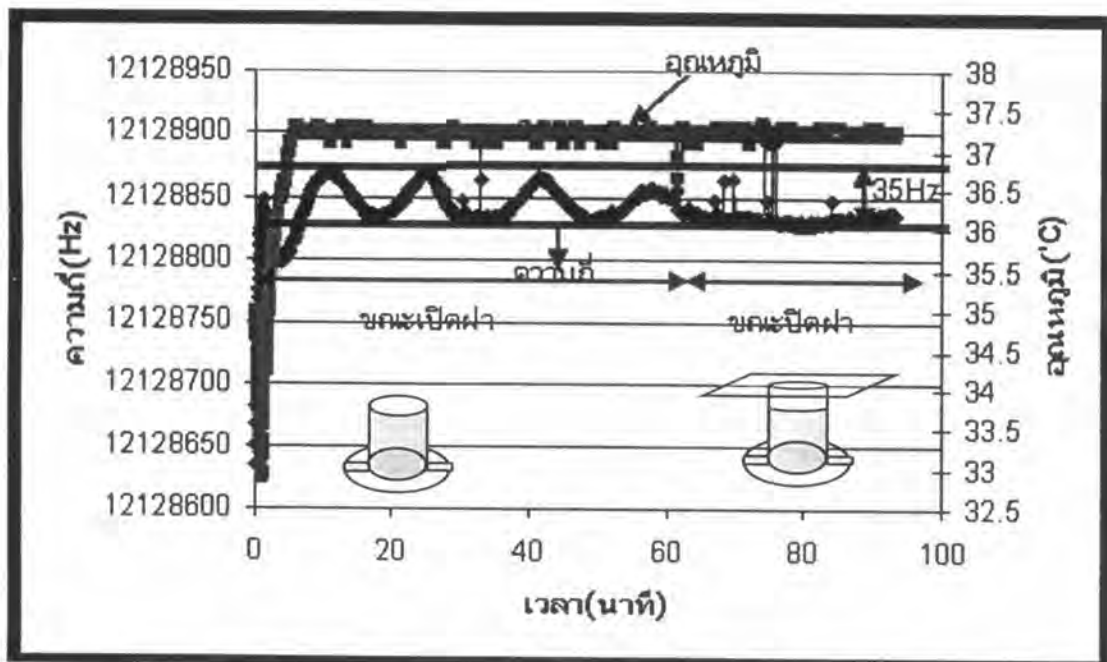
รูปที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิโดยที่

- ▲ แทนการเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิ เมื่อ QCM อยู่ในอากาศ
- แทนเปลี่ยนแปลงการความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM เทียบกับอุณหภูมิ เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงความหนืด และความหนาแน่นของน้ำ

### 3.3 การเปลี่ยนแปลงความถี่ของ QCM เนื่องจากการเกิดคลื่นตามยาวที่ผิวหน้า

จากการทดลองเบื้องต้นในรูปที่ 2.14 เห็นได้ว่าเมื่อ QCM อยู่ในสารละลายความถี่เรโซแนนซ์จะมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง  $\pm 25$  Hz เนื่องจากมีรายงาน [19],[20] ว่าความไม่เสถียรภาพนี้เป็นผลเนื่องมาจากการระเหยของสารละลายที่ส่งผลกระทบต่อคลื่นตามยาวที่เกิดจาก QCM ดังนั้นเพื่อตรวจสอบความไม่เสถียรภาพของ QCM ที่เกิดขึ้นนี้ว่าเป็นผลของการระเหยจริงหรือไม่ จึงทำการทดสอบดังต่อไปนี้

ใช้ QCM ที่มีความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz มีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่อุณหภูมิ  $37.25 \pm 0.1$  °C ใส่สารละลายเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 0.45 ml ที่อุณหภูมิ 37 °C ลงในห้อง (chamber) ทำการวัดความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM โดยไม่ปิดฝาครอบห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปิดฝาครอบห้อง เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ แล้วดูการเปลี่ยนแปลงของความถี่เรโซแนนซ์ในช่วงที่ไม่ปิดฝารอบกับปิดฝารอบห้อง

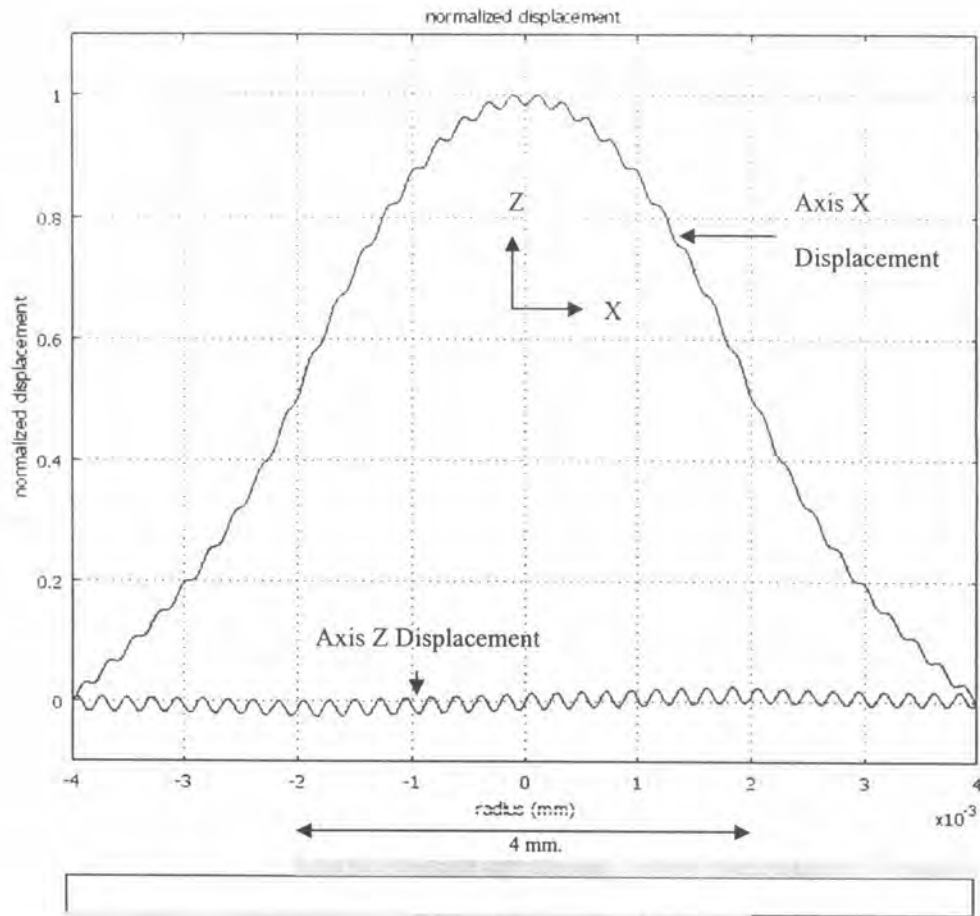


รูปที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงความถี่เรโซแนนซ์เป็นคลื่นลักษณะไซน์

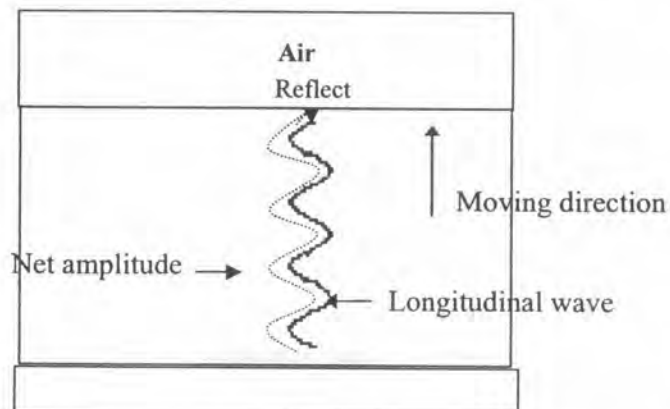
ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3.5 จะเห็นว่าในช่วงที่เปิดฝารอบห้อง (chamber) ความถี่เรโซแนนซ์ของ QCM จะมีลักษณะการแกว่งในลักษณะรูปคลื่นไซน์ โดยมีค่าขอดถึงขอด เท่ากับ 35 Hz และ มีคาบการแกว่งเท่ากับ 15 นาที แต่ในขณะที่ปิดฝารอบ chamber จะไม่สังเกตเห็นการสั่นเป็นคาบของความถี่เรโซแนนซ์



จากการทดลองจะเห็นได้ว่าในช่วงที่ไม่มีการควบคุมการระเหยของน้ำความถี่เรโซแนนซ์ จะมีการแกว่งเป็นคาบ ปรากฏการณ์การสั่นของความถี่เรโซแนนซ์คล้ายรูปไซน์นี้ถูกค้นพบโดย Ward, Martin [19],[20] โดยเกิดขึ้นเนื่องจากการสะท้อนของคลื่นตามยาวที่ผิวของของเหลว ซึ่งคลื่นตามยาวนี้เกิดขึ้นเนื่องจากความเร็วของคลื่นเฉือนที่รอยต่อของ QCM กับ ผิวของของเหลวมีค่าไม่สม่ำเสมอ จากผลการจำลองการสั่นของ QCM ด้วยโปรแกรม COMSOL โดย QCM มี อิเล็กโทรดรัศมี 2 มิลลิเมตรในรูปที่ 3.6 เห็นได้ ว่าความเร็วที่รอยต่อของ QCM กับของเหลวจะมีการกระจายตัวแบบเกาส์เซียน โดยที่จุดศูนย์กลางของอิเล็กโทรดมีค่าแอมพลิจูดสูงสุด นอกจากนี้ การเกิดคลื่นตามยาวนี้ยังเป็นผลเนื่องจากการสั่นในโหมดต่างๆ ของ QCM (โดยปกติแล้ว QCM จะมีลักษณะการสั่นในรูปแบบคลื่นเฉือน) สังเกตจากรูปที่ 3.6 QCM มีการสั่นในแนวแกน Z ด้วยคลื่นตามยาวที่เกิดขึ้นนี้มีลักษณะคล้ายคลื่นเสียง แต่สามารถเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่าคลื่นเฉือนมาก (คลื่นเฉือนของ QCM ที่ความถี่เรโซแนนซ์ 12 MHz มีระยะ skin depth ในน้ำเท่ากับ  $0.16 \mu\text{m}$ ) คลื่นตามยาวนี้จะเกิดการสะท้อนขึ้นที่ผิวน้ำทำให้เกิดการแทรกสอดขึ้น ทำให้ค่าความเครียดที่ผิวของ QCM มีค่าเปลี่ยนแปลงตามการแทรกสอดหากเป็นการแทรกสอดแบบเสริมก็จะทำให้ QCM มีความเครียดที่ผิวมากขึ้น [19] โดยปรากฏการณ์การเปลี่ยนแปลงความเครียดที่ผิวนี้ได้อ้างอิงจากการทดลองของ Lin [19] โดยได้ใช้โพรบทั้งสแตนดลึงที่กลางอิเล็กโทรดพบว่าเกิดการเพิ่มความถี่เรโซแนนซ์ขึ้นเช่นกัน ดังนั้นเมื่อน้ำระเหยทำให้ระดับน้ำลดลงลักษณะการแทรกสอดจึงเปลี่ยนไปซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเครียดที่ผิวของ QCM และเกิดการแกว่งความถี่เรโซแนนซ์เป็นรูป ไซน์ รายละเอียดการพิสูจน์การเกิดคลื่นตามยาวอยู่ในภาคผนวก ข



รูปที่ 3.6 การจำลองการกระจัดของ QCM ที่มีอิเล็กโทรดรัศมี 2 มิลลิเมตร ด้วยโปรแกรม COMSOL



รูปที่ 3.7 การเกิดคลื่นตามยาว (longitudinal wave) แทรกสอดแบบเสริมทำให้เกิดการเพิ่มความเครียดที่ผิวของ QCM มากขึ้น