

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 บทนำต้นเรื่อง

การศึกษาผลของไฟฟ้าต่อเซลล์ชีวภาพเป็นที่สนใจของนักวิจัยหลายกลุ่มเช่นชีวฟิสิกส์ เทคโนโลยีชีวภาพ และด้านการแพทย์ เป็นต้น ตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 20 จนถึงปัจจุบันมีการพัฒนา อุปกรณ์และเครื่องมือเพื่อใช้ในการศึกษาสมบัติเชิงไฟฟ้าของเซลล์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูล รายละเอียด ที่ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น

การใช้ไฟฟ้าเหนี่ยวนำวัสดุต่างๆ ในทางกายภาพมักจะเป็นวัสดุเนื้อเดียว (homogeneous) แต่ในวัสดุชีวภาพเช่นเซลล์เดี่ยวในสารละลาย ไม่ใช่วัสดุเนื้อเดียว (nonhomogeneous) ดังจะแสดงรายละเอียดพอสังเขปดัง ภาพประกอบ 1.1 a สามารถแบ่งโครงสร้างของเซลล์ ออกเป็น สองส่วนใหญ่ๆ ก็คือ

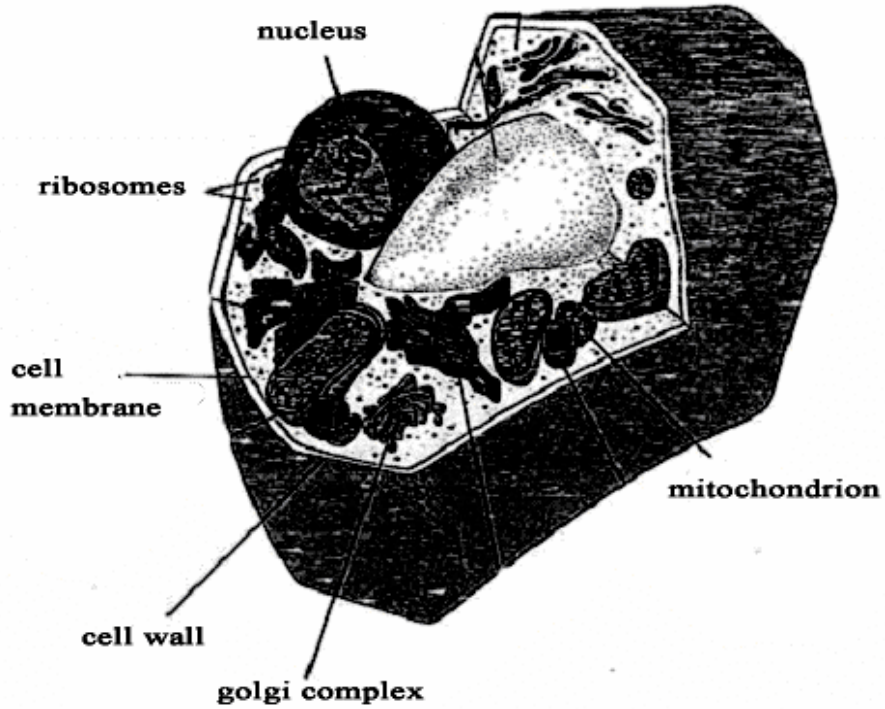
#### 1. ส่วนที่ห่อหุ้มเซลล์ ซึ่งแบ่งออกได้ดังนี้

1.1 เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นเยื่อชั้นบางๆ หนาประมาณ 7-15 nm. มีนักวิจัยได้นำเสนอแบบจำลองของเยื่อหุ้มเซลล์มากมาย แต่ที่เป็นที่ยอมรับคือ แบบจำลองฟลูอิด โมเซอิก (Fluid Mosaic) (ภาพประกอบ 1.1 b) ประกอบด้วยไขมันที่เป็นชั้นจัดเรียงตัวกัน โดยมีโปรตีนแทรกอยู่ ทำหน้าที่ควบคุมการส่งผ่านสารเข้าออกเซลล์ ทำให้สารต่างๆภายในเซลล์มีอยู่อย่างเหมาะสม เพื่อให้กิจกรรมเมแทบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ดำเนินไปด้วยดี

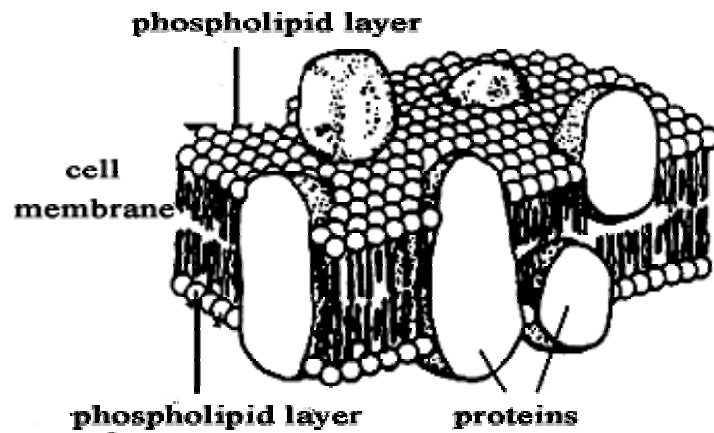
1.2 ผนังเซลล์ (cell wall) พบเฉพาะในเซลล์พืช และ แบคทีเรียไม่พบในเซลล์สัตว์ เป็นสารประกอบจำพวก เซลลูโลส ไขมัน ลิกนิน (lignin) ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายที่เกิดขึ้นกับเซลล์ ช่วยป้องกันการระเหยของน้ำออกนอกเซลล์ และกำหนดรูปร่างของเซลล์

2. ส่วนที่บรรจุอยู่ภายในเซลล์ (cell interior) หรือ โพรโทพลาสซึม (protoplasm) แบ่งย่อยออกเป็นสองส่วนคือส่วนที่เป็นนิวเคลียส จะมีสารพันธุกรรม (DNA) บรรจุอยู่ และส่วน ของสารละลายไซโทพลาสซึม ซึ่งจะประกอบด้วย ออร์แกเนลล์ (organelles) หลายชนิดเช่น ไรโบโซม (ribosomes) ไมโทคอนเดรีย (mitochondrion) กอลจิ คอมเพล็กซ์ (golgi complex) เป็นต้น ทั้งนี้ยังมีสารต่างๆแขวนลอยอยู่เป็นจำนวนมากมีขนาดตั้งแต่ 0.001 ไมครอนถึง 0.1 ไมครอน เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต น้ำ และแร่ธาตุต่างๆ ที่แตกตัวเป็นไอออนมีทั้ง ไอออนบวก และไอออนลบ เช่น ไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) แอมโมเนียมไอออน ( $NH^+$ ) แคลเซียมไอออน ( $Ca^{2+}$ ) แมกนีเซียมไอออน

( $Mg^{2+}$ ) โพแทสเซียมไอออน ( $K^+$ ) ไฮดรอกไซด์ไอออน ( $OH^-$ ) และคลอไรด์ไอออน ( $Cl^-$ ) เป็นต้น จึงทำให้ไซโทพลาสซึม มีสมบัตินำไฟฟ้าได้ดี และมีสภาพนำไฟฟ้าที่สูงมากเมื่อเทียบกับเยื่อหุ้มเซลล์



(a)



(b)

ภาพประกอบ 1.1 โครงสร้างเซลล์พืช (a) เยื่อหุ้มเซลล์ (b)

ที่มา : Becker แล ะ ค ณะ (1996) หน้า 87

เซลล์ชีวภาพจัดเป็นวัสดุไดอิเล็กทริก เมื่อแขวนลอยในสารละลายที่มีสภาพนำไฟฟ้าต่ำ และถูกเหนี่ยวนำด้วยสนามไฟฟ้ากระแสสลับ เซลล์จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดไดโพลชั่วคราว ประจุบวก และประจุลบที่ถูกแยก จะมีการกระจัดทางไฟฟ้า ( electric displacement ) ทำให้มีค่าไดโพลโมเมนต์ Pohl ( 1978 ) อธิบายถึงปัจจัยที่ทำให้เซลล์เกิดไดโพลโมเมนต์ขึ้นเนื่องจาก

ภายในเซลล์มีโมเลกุลน้ำเป็นส่วนใหญ่และมีโปรตีน, DNA และ RNA ซึ่งมีขั้วไฟฟ้า โมเลกุลเหล่านี้จึงสามารถเกิดโพลาริเซชันได้ นอกจากนี้ผิวเซลล์มีโครงสร้างคล้ายตัวเก็บประจุ กล่าวคือ เยื่อหุ้มเซลล์มีชั้นไขมันสองชั้น กั้นระหว่างสารละลายอิเล็กโทรไลต์ภายในและภายนอกเซลล์ ศักย์ไฟฟ้าที่บริเวณผิวเยื่อหุ้มเซลล์ จะทำให้เกิดการออกของประจุภายในเซลล์ ส่งผลต่อการตอบสนองของ สนามไฟฟ้าทำให้เกิดโพลาริเซชันเป็นจำนวนมาก

ในงานวิจัยนี้สนใจปรากฏการณ์ การหมุนของเซลล์ในสนามไฟฟ้า ( electrorotation ) พฤติกรรม การหมุนและอัตราการหมุน ซึ่งสามารถนำไปศึกษาค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ เนื่องจาก อันตรกิริยาระหว่างไดโพลโมเมนต์ของเซลล์ กับ สนามไฟฟ้าภายนอก ทำให้เกิดทอร์ก ส่งผลให้เซลล์หมุนรอบตัวเอง เซลล์แต่ละชนิดจะมีอัตราการหมุนช้า-เร็วต่างกัน ขึ้นอยู่กับสมบัติไดอิเล็กทริกของเซลล์ ในการประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ต้องอาศัยเชิงทฤษฎี โดยใช้แบบจำลองของเซลล์ที่ผ่านมา เช่น แบบจำลองทรงกลมเปลือกเซลล์หนึ่งชั้น แบบจำลองทรงกลมเปลือกเซลล์สองชั้น และ แบบจำลองทรงกลมเปลือกเซลล์หลายชั้น เป็นต้น

## 1.2 ตรวจสอบเอกสาร

Schwan ( 1988 ) พบว่าเซลล์ชีวภาพจะตอบสนองต่อสนามไฟฟ้ากระแสสลับได้ในช่วง ความถี่ตั้งแต่ระดับ Hz จนถึง GHz และได้แบ่งอันตรกิริยาระหว่างไดอิเล็กทริกกับสนามไฟฟ้าในแต่ละ ช่วงความถี่คือ  $\alpha$ ,  $\beta$ , และ  $\gamma$ -dispersion เนื่องจากสภาพยอมทางไฟฟ้ามีการเปลี่ยนแปลงตามความถี่ของ สนามไฟฟ้า และมีค่าลดลงแบบไม่เชิงเส้น ( ภาพประกอบ 1.2 ) ดังนี้

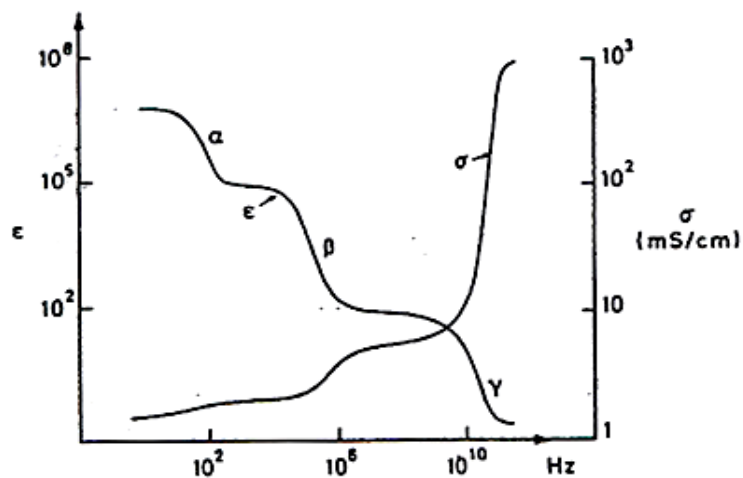
$\alpha$ -dispersion ( ความถี่น้อยกว่า 1 kHz ) เป็นช่วงความถี่ที่ทำให้เกิดชั้นประจุไฟฟ้าที่ บริเวณผิวเซลล์ มีอิทธิพลดึงดูดไอออน ( counter ions ) จากสารละลายภายนอกให้มาอยู่ที่ ผิวเซลล์ ทำให้เกิดเป็นชั้นห่อหุ้มเซลล์มีความหนาเรียกว่า ระยะเดอบาย ( Debye length ) ความหนาแน่น สัมพันธ์กับ ความหนาแน่นประจุในสารละลายที่แขวนลอยเซลล์ ทั้งนี้ค่าสภาพยอมทางไฟฟ้าของชั้น ประจุใน Debye length จะขึ้นกับความถี่ของสนามไฟฟ้า

$\beta$ -dispersion ( ความถี่ระหว่าง 1 kHz ถึง 1 GHz ) เป็นช่วงที่สนามไฟฟ้าผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้ม เซลล์ได้ จึงเปรียบเยื่อหุ้มเซลล์เหมือนตัวเก็บประจุต่อขนานกับตัวต้านทาน ทำให้เกิดค่าความต้านทาน

เชิงซ้อน ( impedance ) ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อความถี่ของสนามไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าสู่เซลล์ง่ายขึ้น มีทฤษฎีอธิบายเป็นจำนวนมาก ในปัจจุบันทฤษฎีของ Maxwell-Wagner เป็นที่ยอมรับในการวิเคราะห์แบบจำลองทางไฟฟ้าของเซลล์ที่ความถี่ย่านกลาง

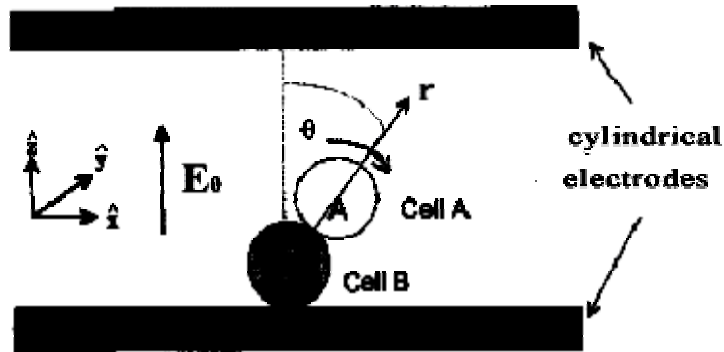
$\gamma$ -dispersion ( ความถี่มากกว่า 1 GHz ) เกิดที่ช่วงความถี่สูงแต่ยังไม่ทราบในรายละเอียด เนื่องจาก การดิสเพอซันที่ความถี่สูงนี้ทำให้ค่าสภาพยอมของสารละลายลดลง และทำให้สภาพนำของสารละลายมีค่าสูงมาก กรณีนี้ค่าไดโพลโมเมนต์ภายในเซลล์ลดลงมาก ทำให้อันตรกิริยาระหว่างไดโพลโมเมนต์ภายในเซลล์ กับ สนามไฟฟ้าภายนอกน้อยลงตามไปด้วย

เพื่อเอื้อต่อการเหนี่ยวนำเซลล์ สภาพนำไฟฟ้าของสารละลายภายนอกเซลล์ จึงควรมีค่าน้อยๆ ดังนั้นจึงต้องแขวนลอยเซลล์ ในสารละลายน้ำตาล



ภาพประกอบ 1.2 ค่าสภาพยอมและนำทางไฟฟ้าที่ค่าความถี่  
ของสนามไฟฟ้าต่างๆ  
ที่มา : Schwan ( 1988 )

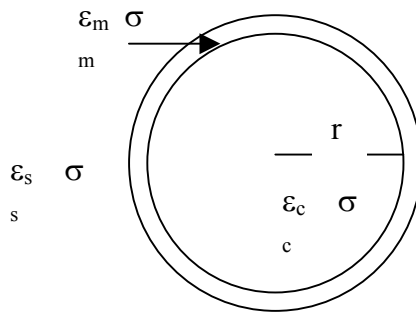
สำหรับการศึกษาการหมุนของเซลล์ในสนามไฟฟ้า ( electrorotation ) ในระยะแรกเริ่มนั้น ใช้ 2 ขั้วไฟฟ้าทรงกระบอก ( cylindrical electrodes ) เหนี่ยวนำเซลล์ให้เกิดการหมุนดังภาพประกอบ 1.3 โดยให้เซลล์เหมือนกัน 2 เซลล์ เกะกันเป็นมุม  $\theta$  ให้เซลล์ A หมุนขณะที่ เซลล์ B ถูกตรึงบนผิวของขั้วไฟฟ้า



ภาพประกอบ 1.3 วิธีหมุนเชิงไฟฟ้า แบบใช้สองขั้วไฟฟ้า

Holzappel และคณะ ( 1982 ) ศึกษาโพรโทพลาสของข้าวโอ๊ต (*Avena sativa*) พบ อัตราหมุนของโพรโทพลาสของข้าวโอ๊ต แปรผันกับสนามไฟฟ้ากำลังสอง และขึ้นกับมุมของเซลล์ทั้งสองที่เข้าเกาะกันพบว่า ที่มุม  $45^{\circ}$  เซลล์มีอัตราหมุนสูงสุด

Mahaworasilpa และคณะ ( 1996 ) ศึกษาอัตราหมุนของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ ( K562 ) และเซลล์หนู ( SP2 ) ในสนามไฟฟ้ากระแสสลับ ใช้ความถี่ระหว่าง 0.5 kHz ถึง 12 MHz และนำแบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว ( ภาพประกอบ 1.4 ) ประมาณค่าคงที่ไฟฟ้าของเซลล์ พบว่าค่าสภาพนำไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม ( $\sigma_c$ ) ของเซลล์ K562 และเซลล์ SP2 คือ  $0.2 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $0.3 \text{ S.m}^{-1}$  ตามลำดับ ในขณะที่ ความจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $C_m$ ) คือ  $2.7 \pm 0.8 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $9.8 \pm 0.6 \text{ mF.m}^{-2}$  ตามลำดับ



ภาพประกอบ 1.4 แบบจำลองของเซลล์ทรงกลมเปลือกชั้นเดียวโดยประกอบด้วย

$r$  คือ รัศมีของเซลล์

$\delta$  คือ ความหนาเยื่อหุ้มเซลล์

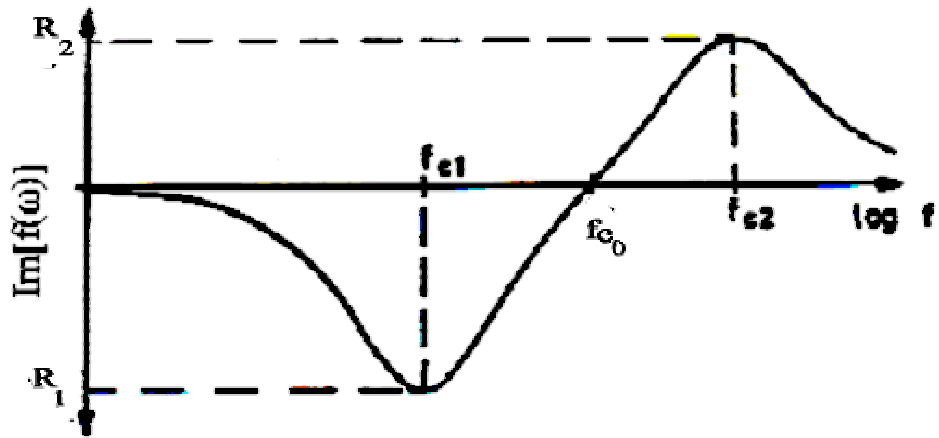
$\sigma_c, \sigma_m$  คือ สภาพนำไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม และเยื่อหุ้มเซลล์  
ตามลำดับ

$\epsilon_c, \epsilon_m$  คือ สภาพยอมทางไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม และเยื่อหุ้มเซลล์  
ตามลำดับ

วิธีการศึกษาการหมุนของเซลล์ในสนามไฟฟ้าแบบ 2 ขั้วไฟฟ้านี้มีข้อจำกัดคือ การเลือกสองเซลล์ใดๆ ให้มีขนาดและองค์ประกอบภายในเหมือนกันทุกประการมีโอกาสเป็นไปได้ยาก ทำให้การใช้ทฤษฎีอธิบายผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้ การพัฒนาขั้วไฟฟ้าในระยะต่อมาจึงนิยมใช้แบบ 4 ขั้วดังนี้

Glaser และ Fuhr (1987) ศึกษาอัตราหมุนของเซลล์ในเชิงทฤษฎี โดยใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว พบว่า เมื่อเพิ่มความถี่ของสนามไฟฟ้าจากต่ำไปสูง เซลล์มีทิศการหมุนทวนเข็มนาฬิกา อัตราหมุนของเซลล์จะเพิ่มขึ้นจนสูงสุดที่  $R_1$  ( อัตราหมุนสูงสุดอันดับหนึ่ง ) ที่ความถี่  $fc_1$  ( ความถี่เฉพาะอันดับหนึ่ง ) และจะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งหยุดนิ่งที่จุดนี้เรียก  $fc_0$  ( ความถี่เฉพาะที่อัตราหมุนของเซลล์เป็นศูนย์ ) และเซลล์จะเริ่มหมุนตามเข็มนาฬิกาเพิ่มขึ้นจนสูงสุด เรียก  $R_2$  ( อัตราหมุนสูงสุดอันดับสอง ) ที่ความถี่  $fc_2$  ( ความถี่เฉพาะอันดับสอง ) และการหมุนจะค่อยๆ ลดลงจนหยุดนิ่ง ดังภาพประกอบ 1.5 และยังพบว่า ค่าคงที่ไฟฟ้าของเซลล์มีผลต่ออัตราหมุนของเซลล์ ดังภาพประกอบ 1.6 เมื่อเพิ่มค่าสภาพยอมทางไฟฟ้าของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $\epsilon_m$ ) และรัศมีของเซลล์ ( $r$ ) ค่า  $fc_1$  จะเลื่อนไปที่ความถี่ต่ำ Glaser และ Fuhr (1987) ใช้สัญลักษณ์  $G$  แทนค่าสภาพนำทางไฟฟ้า ทั้งนี้งานวิจัยอื่นๆ นิยมใช้สัญลักษณ์  $\sigma$  แทน ดังนั้นงานวิจัยนี้จะใช้สัญลักษณ์  $\sigma$  เพื่อแทนค่าสภาพนำทางไฟฟ้า

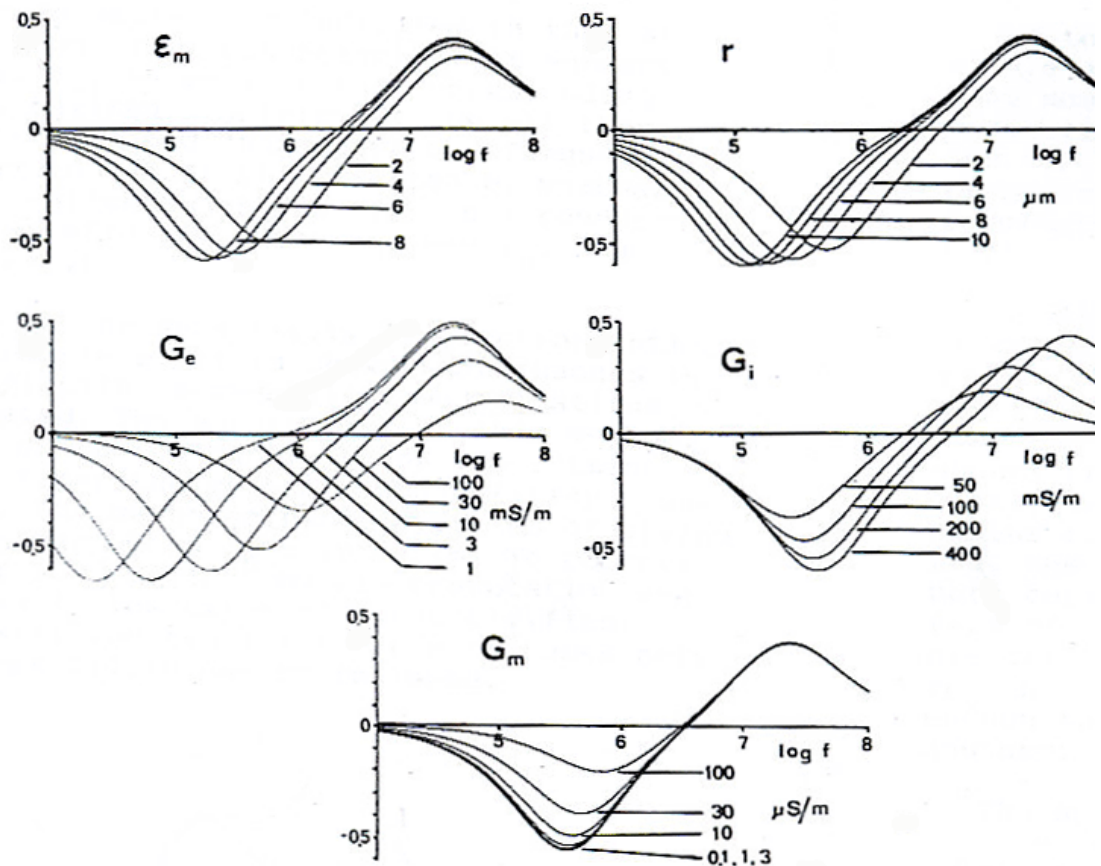
เมื่อเพิ่มสภาพนำทางไฟฟ้าของสารละลายที่ใช้แวนดอยเซลล์ ( $G_c$ ) ค่า  $f_{c1}$  และ  $f_{c2}$  จะเลื่อนไปทางความถี่สูง แต่อัตราหุน  $R_1$  และ  $R_2$  ของเซลล์ลดลง เมื่อเพิ่มสภาพนำทางไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม ( $G_i$ ) อัตราหุนของเซลล์เพิ่มขึ้น และ  $f_{c1}$  เลื่อนจะเลื่อนไปทางความถี่สูง และหากเพิ่มสภาพนำทางไฟฟ้าของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $G_m$ ) อัตราหุนของเซลล์จะลดลง



ภาพประกอบ 1.5 กราฟอัตราหุนของเซลล์กับความถี่ของสนามไฟฟ้า ซึ่งแสดง

$$f_{c1}, f_{c2}, f_{c0}, R_1 \text{ และ } R_2$$

ที่มา : Glaser และ Fuhr ( 1987 )



ภาพประกอบ 1.6 ผลของค่าคงที่ทางไฟฟ้าต่ออัตราหมุนของเซลล์  
ที่มา : Glaser และ Fuhr ( 1987 )

Fuhr และคณะ ( 1987 ) ศึกษาอัตราหมุนของเซลล์ไข่ (oocytes) และเซลล์ตัวอ่อน (zygotes) ของหนู โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแสดงคลื่นสี่ขั้ว พบค่า  $f_{c1}$  ของเซลล์ไข่และเซลล์ตัวอ่อนหนูมีค่า 11.06 kHz และ 7.8 kHz ตามลำดับ จากความแตกต่างของค่า  $f_{c1}$  ทำให้สามารถแยกเซลล์ที่มีการปฏิสนธิ และ เซลล์ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิออกจากกันได้

Geier และคณะ ( 1987 ) ศึกษาผลของเกลือปรอทต่ออัตราหมุนของเซลล์ยีสต์ที่ปนเปื้อน  $HgCl_2$  และ ไม่ปนเปื้อน  $HgCl_2$  สำหรับเซลล์ที่มีการปนเปื้อนพบเพียง  $f_{c2}$  เท่านั้น และพบ  $f_{c1}$  ในเซลล์ยีสต์ที่ไม่มีการปนเปื้อน

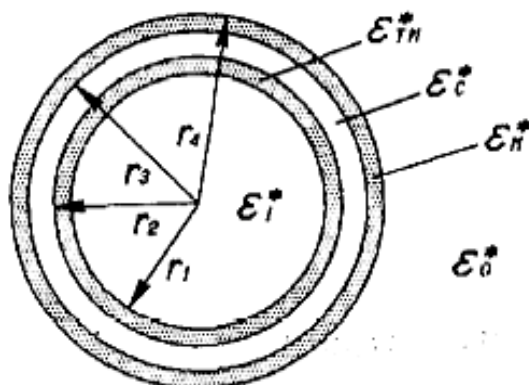
Donath และคณะ ( 1990 ) ศึกษาผลของสาร Diamide ( azidocarboxylic-acid- bis [dimethylamide] ) และ DIDS ( 4,4-diisothiocyanato-stilben-2,2'-disulfonacid-Na-salt ) ต่อเซลล์เม็ด



เลือดแดง ( red cell band-3 protein ) พบว่า ค่า  $fc_1$  ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ กับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้รับสาร DIDS และ Diamide มีค่าคือ 87 kHz, 74 kHz และ 45 kHz ตามลำดับ ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ ดังนี้ ค่าสภาพนำทางไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม ( $\sigma_c$ ) =  $0.3 \text{ S.m}^{-1}$  ค่าความนำไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $G_m$ ) =  $250 \text{ S.m}^{-2}$  ค่าความจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $C_m$ ) =  $4.63 \text{ kF.m}^{-2}$  ค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้รับสาร DIDS คือ  $\sigma_c = 0.3 \text{ S.m}^{-1}$ ,  $G_m = 20 \text{ S.m}^{-2}$  และ  $C_m = 4.86 \text{ kF.m}^{-2}$  และค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้รับสาร Diamide คือ  $\sigma_c = 0.3 \text{ S.m}^{-1}$ ,  $G_m = 0 \text{ S.m}^{-2}$  และ  $C_m = 7.96 \text{ kF.m}^{-2}$

Gimsa และคณะ ( 1991 ) ศึกษาสมบัติไดอิเล็กทริกของราสีส้ม ( neurospora slime ) และเซลล์เนื้องอกไขกระดูกของหนู ( murine myeloma ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแสดนเลสปลายแหลม พบเพียง  $fc_1$  ของทั้งสองเซลล์ ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียวประมาณค่า  $C_m$  และ  $G_m$  ของราสีส้ม ซึ่งมีค่าคือ  $8.1 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $500 \text{ S.m}^{-2}$  ตามลำดับ ค่า  $C_m$  และ  $G_m$  ของเซลล์เนื้องอกไขกระดูกของหนูมีค่าคือ  $15.5 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $380 \text{ S.m}^{-2}$  ตามลำดับ

Kakutani และคณะ ( 1993 ) ศึกษาโพธิพลาสของไบบาร์เลย์ พบความถี่ของสนามไฟฟ้าที่ทำให้เซลล์หมุ่นอยู่ระหว่าง  $1 \text{ kHz} - 1.8 \text{ MHz}$  ในสารละลายที่มีสภาพนำไฟฟ้า ( $\sigma_s$ ) คือ  $5.33 \text{ mS.m}^{-1}$  และ  $11.0 \text{ mS.m}^{-1}$  ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าโดยใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ 3 ชั้น ( ภาพประกอบ 1.7 ) พบว่า ที่สารละลาย  $\sigma_s = 5.33 \text{ mS.m}^{-1}$  ค่า  $C_m = 5.5 \text{ mF.m}^{-2}$ , ค่าความจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มแควิวโอด ( $C_{TM}$ ) มีค่า  $6.8 \text{ mF.m}^{-2}$ , ค่าสภาพยอมทางไฟฟ้าของสารละลายภายในแควิวโอด ( $\epsilon_*$ ) มีค่า  $60\epsilon_0$ , ค่าสภาพยอมทางไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม ( $\epsilon_c^*$ ) มีค่า  $60\epsilon_0$ , ค่าสภาพนำทางไฟฟ้าของเยื่อหุ้มแควิวโอด ( $\sigma_{TM}$ ) = ค่าสภาพนำทางไฟฟ้าของเยื่อหุ้มเซลล์ ( $\sigma_m$ ) =  $0.01 \text{ }\mu\text{S.m}^{-1}$ , ค่าสภาพนำทางไฟฟ้าของสารละลายภายในแควิวโอด ( $\sigma_i$ ) = ค่าสภาพนำทางไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม ( $\sigma_c$ ) =  $50 \text{ }\mu\text{S.m}^{-1}$  และที่สารละลาย  $\sigma_s = 11.0 \text{ mS.m}^{-1}$  มีค่าคงที่ทางไฟฟ้าเท่ากับค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ที่แขวนลอยในสารละลายที่มี  $\sigma_s = 53.3 \text{ }\mu\text{S.cm}^{-1}$  แต่ต่างตรงค่า  $C_m = 5.7 \text{ mF.m}^{-2}$



ภาพประกอบ 1.7 แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ 3 ชั้นซึ่งประกอบด้วย

$\epsilon_i^*$ ,  $\epsilon_{TM}^*$ ,  $\epsilon_c^*$ ,  $\epsilon_m^*$  และ  $\epsilon_0^*$  คือ ค่าสภาพยอมทางไฟฟ้าของสารละลายภายในแควิวโอล, เยื่อหุ้มแควิวโอล, ไซโทพลาสซึม, เยื่อหุ้มเซลล์ และสารละลายที่ใช้แวนดอยเซลล์ตามลำดับ สำหรับค่า  $r_1$ ,  $r_2$ ,  $r_3$  และ  $r_4$  คือรัศมีภายในแควิวโอล, ชั้นที่ 2, ชั้นที่ 3 และ ทั้งหมดของเซลล์  
ที่มา : Kakutani และ คณะ ( 1993 )

Huang และคณะ ( 1995 ) ศึกษาเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของหนู (Friend murine erythroleukaemia, DS19) โดยเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลซูโครสจาก 40 ถึง 125 mg.ml<sup>-1</sup> พบค่า  $R_1$  ลดลงจาก 1.38 เป็น 0.97 rad s<sup>-1</sup> V<sup>-2</sup> และ  $R_2$  ลดลงจาก 0.77 เป็น 0.59 rad s<sup>-1</sup> V<sup>-2</sup> ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าได้ดังนี้  $C_m = 10-19$  mF.m<sup>-2</sup>,  $G_m = 6.8 - 10.4$  kS.m<sup>-2</sup>,  $\epsilon_c = 66-86 \epsilon_0$  และ  $\sigma_c = 48-60$  mS.m<sup>-1</sup>

Becker และ คณะ ( 1995 ) ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ทำจากทอง ศึกษาอัตราหมุนของเซลล์มะเร็งเต้านมมนุษย์ (MDA231) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T ( T lymphocytes ) และเซลล์เม็ดเลือดแดง พบค่า  $fc_1$  ของเซลล์ MDA231 เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์เม็ดเลือดแดง มีค่า 100 kHz, 400 kHz และ 600 kHz ตามลำดับ ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว ประมาณค่า  $C_m$  ของเซลล์ MDA231, เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T และ เซลล์เม็ดเลือดแดง ได้ดังนี้ 26 mF.m<sup>-2</sup>, 11 mF.m<sup>-2</sup> และ 9 mF.m<sup>-2</sup> ตามลำดับ

Zhou และ คณะ ( 1995 ) ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ทำจากทอง ศึกษาความแตกต่างของฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรีย *rubiacearum KI* ที่เลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารปกติ และเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมสารควบคุมจุลชีวะ ( polyhexanide ) พร้อมกับใส่เม็ดพลาสติก ( polystyrene beads ) เพื่อให้แบคทีเรียสร้างฟิล์มบางห่อหุ้มเม็ดพลาสติก นำเม็ดพลาสติกที่ได้ไปศึกษาอัตราหุ้มพบว่าอัตราหุ้มของเม็ดพลาสติกที่ห่อด้วยฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงปกติ มีค่า  $R_1 = 0.2 \text{ rad s}^{-1} \text{V}^{-2}$  และ  $R_2 = 2.3 \text{ rad s}^{-1} \text{V}^{-2}$  และอัตราหุ้มของเม็ดพลาสติกที่ห่อด้วยฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงที่เติมสาร polyhexanide มีค่า  $R_1 = 1.4 \text{ rad s}^{-1} \text{V}^{-2}$  และ  $R_2 = 1.4 \text{ rad s}^{-1} \text{V}^{-2}$

Zhou และคณะ( 1996 ) ศึกษาผลความเข้มข้นของสารควบคุมจุลชีวะ ( polyhexanide ) ต่ออัตราหุ้มของเซลล์ยีสต์ พบเพียงค่า  $R_1$  มีค่า  $0.015 \text{ s}^{-1} \text{V}^{-2}$  เมื่อเติม polyhexanide เข้มข้น 500 ppm พบค่า  $R_1 = 0.001 \text{ s}^{-1} \text{V}^{-2}$  และพบค่า  $R_2 = 0.0038 \text{ s}^{-1} \text{V}^{-2}$  นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสภาพการนำไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ polyhexanide ด้วยเทคนิคนี้ ทำให้สามารถหาความเข้มข้นของสารพิษที่เข้าสู่เซลล์ได้

Huang และคณะ ( 1996 ) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคงที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ไตหนู ( rat kidney cells ) โดยเพิ่มอุณหภูมิจาก  $33 \text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็น  $39 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ให้กับเซลล์ เป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำไปเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฟฟ้า ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์หนึ่งชั้นประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ค่า  $C_m$  ลดลงจาก  $37.2 \text{ mF.m}^{-2}$  เป็น  $27.4 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $\epsilon_c$  ลดจาก  $76.7\epsilon_0$  เป็น  $72.9 \epsilon_0$  ตามลำดับ ในขณะที่ค่า  $\sigma_c$  เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยคือ  $0.49 \text{ S.m}^{-1}$  เป็น  $0.51 \text{ S.m}^{-1}$

Zhou และคณะ ( 1998 ) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราหุ้มของเซลล์ยีสต์ โดยเพิ่มอุณหภูมิให้กับเซลล์ยีสต์ตั้งแต่อุณหภูมิ  $21 \text{ }^{\circ}\text{C}$  จนถึง  $44 \text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็น เวลา 20 นาที ใช้คอมพิวเตอร์ในการวัดอัตราหุ้มของเซลล์ พบว่าค่า  $R_1$  ของเซลล์ยีสต์ลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

Sukhorukov และ คณะ ( 1998 ) ศึกษาอัตราหุ้มของดอกกลิลลี่ พันธุ์ longiflorum โดยผันแปรค่า  $\sigma_c$  ตั้งแต่ 3 ถึง  $480 \text{ mS.m}^{-1}$  พบว่าอัตราหุ้ม  $R_1$  และ  $R_2$  ของเซลล์สืบพันธุ์ ( Generative cells ) และโพรโทพลาสของเรณูดอกกลิลลี่ ( Pollen protoplasts ) มีค่าลดลง และค่า  $fc_1$  และ  $fc_2$  ของเซลล์ทั้งสองจะเลื่อนไปยังความถี่สูงขึ้นตามการเพิ่มของ  $\sigma_c$  เช่นกัน ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียวประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์สืบพันธุ์มีค่า ดังนี้  $C_m = 7 - 9 \text{ mF.m}^{-2}$  ,  $G_m = 100 - 300 \text{ S.m}^{-2}$  ,  $\sigma_c = 0.3 - 0.5 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $\epsilon_c = 60-70 \epsilon_0$  ส่วนค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์โพรโทพลาสของเรณูดอกกลิลลี่ มีค่า  $C_m = 8-10 \text{ mF.m}^{-2}$  ,  $G_m = 50-200 \text{ S.m}^{-2}$  ,  $\sigma_c = 0.5-0.7 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $\epsilon_c = 50-60 \epsilon_0$

Holzel ( 1997 ) ศึกษาการหมุนของเซลล์ยีสต์ที่แขวนลอยในสารละลายที่มี  $\sigma_s$  ตั้งแต่  $0.7 \mu\text{S.m}^{-1}$  ถึง  $550 \mu\text{S.m}^{-1}$  จำนวนค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ โดยใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ 4 ชั้น ( A spherical four-shell model ) ซึ่งได้แก่ 1. เยื่อหุ้มเซลล์ ( membrane ) 2. เพอริพลาสมิก ( periplasmic space ) 3. ผนังเซลล์ภายใน ( inner wall ) และ 4. ผนังเซลล์ภายนอก ( outer wall ) ได้ค่าความจุไฟฟ้าจำเพาะของชั้น 1,2 และ 4 เป็น  $7.6 \text{ mF.m}^{-2}$ ,  $5 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $1 \text{ mF.m}^{-2}$  ตามลำดับ และได้ค่าสภาพนำไฟฟ้าของไซโทพลาสซึม , เยื่อหุ้มเซลล์ และผนังเซลล์ภายนอก เป็น  $9-12 \text{ mS.m}^{-1}$ ,  $5.8 - 50 \text{ nS.m}^{-1}$  และ  $6 - 240 \mu\text{S.m}^{-1}$  ตามลำดับ และในปี 1999 ศึกษาการหมุนเชิงไฟฟ้าของเซลล์แบคทีเรีย *E.coli* ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ ตามแบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์สองชั้นพบว่า ค่าสภาพนำไฟฟ้าของไซโทพลาสซึมและเยื่อหุ้มเซลล์ภายนอก คือ  $0.44 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $2.5 \text{ mS.m}^{-1}$  ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าค่าความจุไฟฟ้าจำเพาะของเยื่อหุ้มเซลล์ภายในและภายนอก คือ  $14 \text{ mF.m}^{-2}$  และ  $2.6 \text{ mF.m}^{-2}$  ตามลำดับ

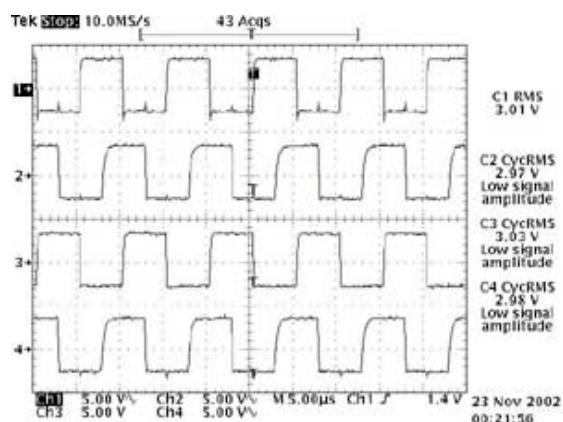
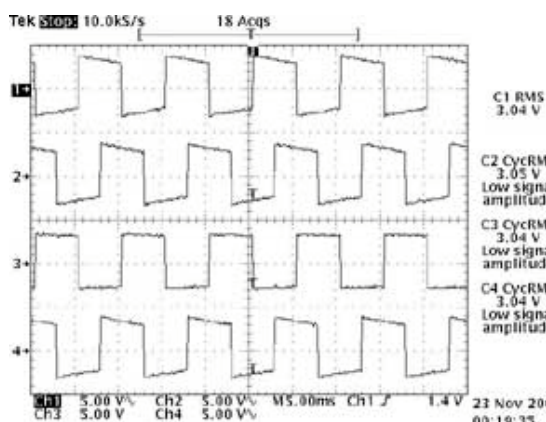
Yang และคณะ ( 1999 ) ศึกษาค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์เม็ดเลือดขาวมนุษย์โดยใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียวพบค่า  $C_m$  ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T ( T-lymphocytes ) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด B ( B-lymphocytes ) เซลล์โมโนไซต์ ( monocytes ) และ แกรนูโลไซต์ ( granulocytes ) คือ  $10.5$ ,  $12.6$ ,  $15.3$  และ  $11.0 \text{ mF.m}^{-2}$  ตามลำดับและค่า  $\sigma_c$  ของเซลล์ทั้งสิ้นคือ  $0.65$ ,  $0.73$ ,  $0.56$  และ  $0.60 \text{ S.m}^{-1}$  ตามลำดับ

Archer และคณะ ( 1999 ) ที่ใช้เทคนิคดังกล่าวในการตรวจสอบเซลล์ไตของหนู BHK(C-13) ที่ปกติกับเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส ( HSV-1 ) ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียวประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้า พบว่าค่า  $\epsilon_c$  ลดลงจาก  $75\epsilon_0$  เป็น  $58\epsilon_0$  และ  $C_m$  ลดลงจาก  $20 \text{ mF.m}^{-2}$  เป็น  $15 \text{ mF.m}^{-2}$  หลังจากเซลล์ติดเชื้อไวรัสประมาณ 12 ชั่วโมง

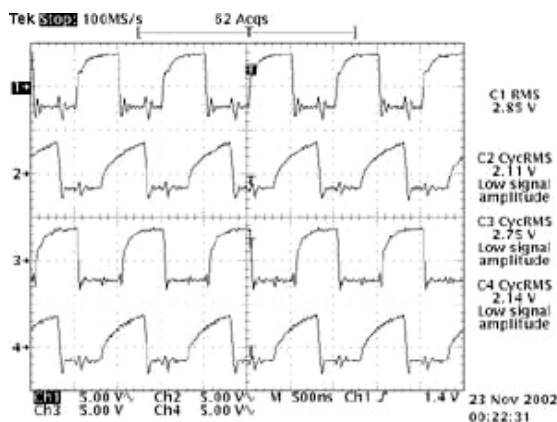
Kriegmaier และคณะ ( 2001 ) ศึกษาค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ยีสต์ *Schizosaccharomyces pombe* ใช้ขั้วไฟฟ้าทำจากแพลตตินัม พบว่าเมื่อเพิ่มค่า  $\sigma_s$  ความถี่  $f_{c1}$  และ  $f_{c2}$  จะเลื่อนไปทางความถี่ที่สูงขึ้น และอัตราหมุน  $R_1$  และ  $R_2$  มีค่าลดลง ทั้งนี้ใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียวประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้าของ Isolated protoplasts ของเซลล์ยีสต์ เซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ตาย พบค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ Isolated protoplasts คือ  $C_m = 6.71 \text{ mF.m}^{-2}$ ,  $G_m = 0.49 \text{ kS.m}^{-2}$ ,  $\sigma_c = 0.4 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $\epsilon_c = 133 \epsilon_0$  ส่วนเซลล์ที่มีชีวิต พบค่าคงที่ทางไฟฟ้าคือ  $C_m = 6.71 \text{ mF.m}^{-2}$ ,  $G_m = 3-5 \text{ kS.m}^{-2}$ ,  $\sigma_c = 0.95 - 1 \text{ S.m}^{-1}$  และ  $\epsilon_c = 85\epsilon_0$  สำหรับเซลล์ตายใช้แบบจำลองเซลล์เดี่ยวเปลือกเซลล์ 2 ชั้น ได้ค่าคงที่ทางไฟฟ้าคือ  $\sigma_c = 0.03 \text{ S.m}^{-1}$ ,  $\epsilon_c = 110 \epsilon_0$  สภาพนำไฟฟ้าของผนังเซลล์  $0.007 \text{ S.m}^{-1}$  และ สภาพยอมทางไฟฟ้าของผนังเซลล์  $45 \epsilon_0$

Dalton และคณะ ( 2001 ) ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ทำจากทอง ศึกษาซิสต์ของปรสิต *Glardla muris* และ *Cyclospora cayetamensis* ที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต พบว่า ซิสต์ของปรสิตที่มีชีวิตมีค่า  $R_1$  มากกว่า  $R_2$  ของซิสต์ของปรสิตที่ตาย ดังนั้นจึงเป็นประโยชน์ในการแยกเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตออกจากกัน

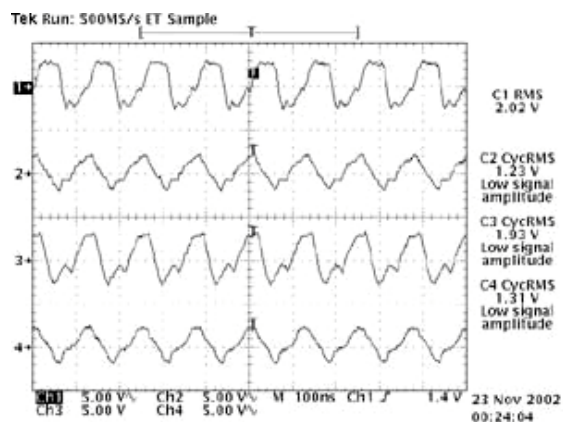
ขณะนี้ห้องปฏิบัติการชีวฟิสิกส์ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ ได้พัฒนาอุปกรณ์อุปกรณ์แยกสัญญาณ ( Phase Sift Unit 1, PSU1) เพื่อใช้ศึกษาการหมุนเซลล์เชิงไฟฟ้า ซึ่งใช้ได้ในช่วงความถี่ kHz – MHz พบปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณคลื่นสี่เหลี่ยม ดัง ภาพประกอบ 1.8 และการลดทอนของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ความถี่สูงกว่า 1 MHz ดังภาพประกอบ 1.9 ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. เพื่อทดสอบอุปกรณ์ที่สร้างขึ้น สำหรับการหาค่าคงที่ทางไฟฟ้าของเซลล์ อาศัย แบบจำลองเซลล์ทรงกลมเปลือกชั้นเดียววิธีของ Glaser and Fuhr (1987) และ Gimsa และ คณะ ( 1991 )



100 kHz

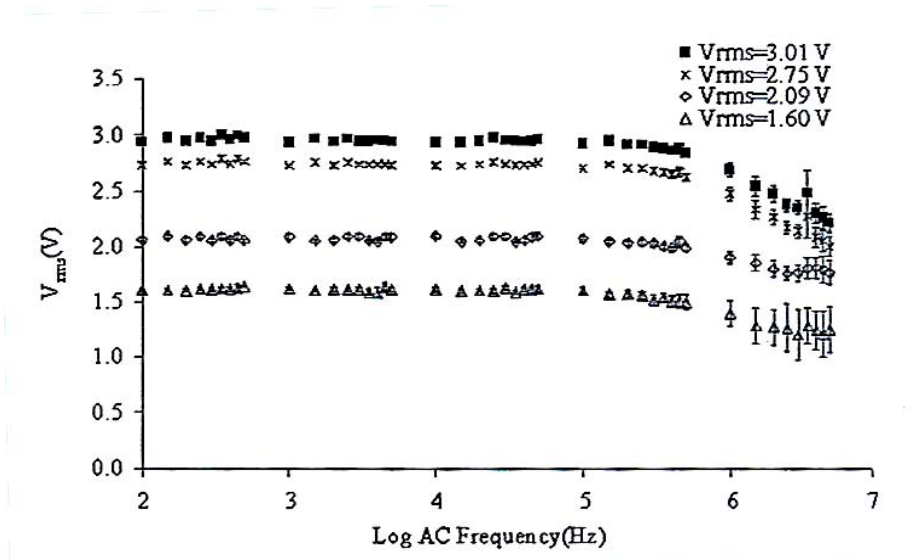


1 MHz



8 MHz

ภาพประกอบ 1.8 สัญญาณไฟฟ้าที่ความถี่ต่างๆซึ่งได้จากขั้วไฟฟ้าทั้งสองขั้วของ PSU1



ภาพประกอบ 1.9 ความต่างศักย์ไฟฟ้าเอาต์พุตที่ได้จาก PSU 1 ที่ความถี่ต่างๆ

### 1.3 วัตถุประสงค์

1. พัฒนาอุปกรณ์แยกสัญญาณไฟฟ้า ( PSU 2 )
2. ศึกษาการหมุนของเซลล์ แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ด้วยอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น
3. ประมาณค่าคงที่ทางไฟฟ้า แพลงก์ตอน *Tetraselmis* sp. ตามแบบจำลองเซลล์เดี่ยวทรงกลมเปลือกเซลล์ชั้นเดียว