

การศึกษาสมบัติของวัสดุผสม(GELATIN/Na₂Ti₃O₇)

: กรณีศึกษาวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์

THE STUDY OF PROPERTIES OF COMPOSITES (GELATIN/Na₂Ti₃O₇)

: A CASE STUDY OF THE SCAFFOLD



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2566

KMITL-2023-EN-D-218-131

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STUDY OF PROPERTIES OF COMPOSITES (GELATIN/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$)
: A CASE STUDY OF THE SCAFFOLD



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF ENGINEERING IN INDUSTRIAL ENGINEERING
SCHOOL OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาสมบัติของวัสดุผสม(GELATIN/Na₂Ti₃O₇)
: กรณีศึกษาวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์
นักศึกษา นายฤทธิชัย สังฆทิพย์
รหัสประจำตัว 58601034
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชา วิศวกรรมอุตสาหกรรม
พ.ศ. 2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วิภู ศรีสืบสาย
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.กุลนันท์ เกียรติกิตติพงษ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลัก ใช้ไททานิต (Na₂Ti₃O₇) เป็นวัสดุรอง ขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แล้วประยุกต์ใช้หลักการออกแบบการทดลองแบบส่วนผสมมี 3 ปัจจัย คือ เจลาติน ไททานิตและน้ำปราศจากไอออน(deionized water) ศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางสัณฐานวิทยา สมบัติการต้านทานต่อแรงดึง แรงกด และทางชีวภาพ ทดสอบการย่อยสลาย ทดสอบการบวม น้ำ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินที่เป็นส่วนประกอบเพียงอย่างเดียว

วิเคราะห์หาพารามิเตอร์ที่ทำให้ค่าตอบสนองความแข็งแรงดึงดีที่สุดศึกษาโครงสร้างจุลภาค โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดผลการศึกษาพบว่า Na₂Ti₃O₇ แทรกซึมอยู่ทั่วโครงเลี้ยงเซลล์นั้นทำให้ค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เป็นวัสดุที่ใช้เจลาตินเพียงอย่างเดียวและจากผลของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการทดลองแบบส่วนผสมพบว่าปริมาณเจลาตินที่ 15.10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไททานิต(Na₂Ti₃O₇) ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณ DI Water ที่ 82.9 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดคือ 1,508.15 Kpa. ความเป็นรูพรุนพบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีประมาณ 67 เปอร์เซ็นต์ ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบแรงอัดพบว่ากลุ่มตัวอย่าง 80/20 ให้ค่าโมดูลัสที่ตีที่สุดได้เท่ากับ 30.57 kPa ซึ่งเมื่อเทียบกับตัวอย่างโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินบริสุทธิ์100/0 การบวมน้ำส่วนผสม 100/0 มีอัตราการพองตัว 22.98 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนการพองตัวสูงสุด 85.43 เปอร์เซ็นต์ การย่อยสลายส่วนผสม ที่ 60/40 และ 70/30 จะถูกย่อยสลายใน 48 ชั่วโมงและ 80/20 จะถูกย่อยสลายใน 54 ชั่วโมง การศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของตัวอย่างทั้งหมด แสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่สังเกตได้ประมาณ 98 เปอร์เซ็นต์ถึง 108 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	The Study of Properties of Composites (GELATIN/Na ₂ Ti ₃ O ₇): A Case Study of The Scaffold
Student	Mr.Rittichai Sangkatip
Student ID.	58601034
Degree	Doctor of Engineering
Program	Industrial Engineering
Year	20233
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr. Wipoo Sriseubsai
Co Advisor	Assoc.Prof.Dr. Kunlanan Kiatkittipong

ABSTRACT

This research has studied and developed a scaffold Gelatin/Na₂Ti₃O₇ by using gelatin as the main material and titanate (Na₂Ti₃O₇) as the secondary material, fabricated by salt leaching and freeze-drying technique. Then applied the experimental design principle with 3 factors, gelatin, titanate, and deionized water to study the physical properties, morphological, tensile, compressive, biological properties, and decomposition swelling test cytotoxicity test assay compared to the gelatin scaffolds that was the only constituents. The parameters that gave the best tensile strength response were analyzed. The microstructure was studied by scanning electron microscope. The results showed that Na₂Ti₃O₇ penetrated throughout the scaffold, causing the tensile strength to be higher than the scaffold made by pure gelatin and from the results of the mixed experimental technique showed that gelatin content of 15.10 percent, titanate (Na₂Ti₃O₇) content of 2 percent, and DI water content of 82.9 percent were obtained the highest tensile strength; which was 1,508.15 kPa. The porosity of all samples was about 67 percent to 85 percent. The compression test showed that the 80/20 samples gave the best modulus of 30.57 kPa, which compared with 100/0 pure gelatin scaffold. From the swelling results, the 100/0 mixture had a swelling rate of 22.98 percent, a maximum swelling ratio of 85.43 percent, and the degradation of mixtures at 60/40 and 70/30 in 48 h and 80/20 in 54 h. The fibroblast cytotoxicity assay studied of all samples showed the observed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

percentage of fibroblast viability of about 98 percent -108 percent, which was 80 percent higher than that of the control group, indicating that the scaffolds Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ revealed non cytotoxicity.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และเผยแพร่อย่างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องการศึกษาสมบัติของวัสดุผสม(GELATIN/Na₂Ti₃O₇): กรณีศึกษาวัสดุโครง
เลี้ยงเซลล์ ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและบรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยอย่างสมบูรณ์ โดยได้รับความ
กรุณา และช่วยเหลือเป็นอย่างดี จากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วิภู ศรีสีบสาย และ รศ.ดร.กุลนันท์
เกียรติกิตติพงษ์ ที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำแนะนำ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้ทุก
อย่างแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อบรมสั่งสอนให้คำแนะนำมาโดยตลอด
และขอขอบคุณครอบครัวที่ให้กำลังใจ รวมทั้งเพื่อนๆทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ในการ
ทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่ง
เป็นที่รัก และเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่มีส่วนสร้างพื้นฐานการศึกษา ประสิทธิ์
ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

ฤทธิชัย สังขทิพย์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญรูป.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.5 ขั้นตอนของการศึกษา.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 โครงเลี้ยงเซลล์.....	4
2.1.1 สมบัติที่ต้องการของ โครงเลี้ยงเซลล์.....	4
2.1.1.1 ความพรุนและขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์.....	4
2.1.1.2 การย่อยสลายของโครงเลี้ยงเซลล์.....	5
2.1.2 สมบัติเชิงกลของโครงเลี้ยงเซลล์.....	6
2.1.2.1 ความเป็นพิษของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อเซลล์.....	6
2.1.3 ลักษณะพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์.....	7
2.2 เจลาติน.....	8
2.2.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเจลาติน.....	8
2.3 คอลลาเจน.....	9
2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์คอลลาเจน.....	10
2.3.2 ปริมาณกรดอะมิโนในคอลลาเจน.....	11

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.4 ไททาเนียมไดออกไซด์.....	12
2.4.1 คุณสมบัติเฉพาะ.....	13
2.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ และเชิงกล.....	13
2.4.3 ด้านความปลอดภัย.....	14
2.4.4 ประโยชน์ไททาเนียมไดออกไซด์.....	14
2.4.5 ชนิดไททาเนียมไดออกไซด์ แบ่งตามโครงสร้างของผลึก.....	15
2.4.6 นาโนไททาเนียมไดออกไซด์.....	16
2.5 การสังเคราะห์สารโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล.....	16
2.6 เทคนิคการขึ้นรูปโครงสร้างเซลล์.....	17
2.6.1 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง.....	17
2.6.2 การชะล้างอนุภาค.....	17
2.7 เทคนิคการเชื่อมโยงพันธะด้วยความร้อน.....	18
2.8 การออกแบบการทดลอง.....	19
2.8.1 ขั้นตอนการออกแบบการทดลอง.....	20
2.8.2 ส่วนประกอบต่างๆ ของการทดลอง.....	21
2.8.2.1 วิธีปฏิบัติหรือทริทเมนต์.....	21
2.8.2.2 ปัจจัย.....	21
2.8.2.3 ตัวแปรตอบสนอง.....	22
2.8.3 การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล.....	23
2.8.4 Alias / Confound.....	27
2.8.5 Defining Word.....	28
2.8.6 Vertical Balance.....	29
2.8.7 Orthogonal.....	29
2.8.8 วิธีการสร้าง Fractional Factorial Design แบบ 2^{k-p} Design.....	29
2.8.9 Resolution (R).....	32
2.8.10 วิธีการพินผิวผลตอบ.....	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.9 การทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางกล.....	35
2.9.1 สัณฐานวิทยาศึกษาของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์.....	35
2.9.2 การทดสอบการบวมนี้.....	36
2.9.3 การทดสอบแรงดึง แรงกด.....	37
2.9.4 การทดสอบการย่อยสลาย.....	40
2.9.4.1 การย่อยสลายได้โดยแสง.....	40
2.9.4.2 การย่อยสลายทางกล.....	41
2.9.4.3 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	41
2.9.4.4 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส.....	41
2.9.4.5 การย่อยสลายทางชีวภาพ.....	42
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	42
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	55
3.1 ขั้นตอนการวิจัย.....	55
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	64
3.2.1 เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	64
3.2.2 สารเคมี.....	65
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	66
4.1 โครงสร้างจุลภาคของไททานต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ผ่านการสังเคราะห์ ขึ้นมาใหม่จากไททานเนียมไดออกไซด์(TiO_2).....	66
4.1.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของไททานต.....	66
4.1.2 ผลการวิเคราะห์แถบสเปกตรัมจากการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ TiO_2 และ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	67
4.2 อธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงดึง กับการย่อยสลายทางชีวภาพ.....	67
4.2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง.....	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VII อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.2.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน.....	70
4.2.3 ผลการวิเคราะห์พื้นผิวดูดซับ.....	70
4.2.4 การหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด.....	71
4.2.5 ผลทดสอบการย่อยสลาย.....	72
4.3 อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการบวมน้ำ.....	73
4.3.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇	73
4.3.2 ผลการศึกษาความพรุนและขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇	74
4.3.3 ผลการศึกษาการบวมน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇	75
4.4 อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกดและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์.....	76
4.4.1 ผลการศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกด.....	76
4.4.2 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์.....	78
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....	80
5.1 สรุปผลการศึกษา.....	80
5.1.1 สรุปผลการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททานเนต (Na ₂ Ti ₃ O ₇) ซึ่งสังเคราะห์ใหม่จากสารตั้งต้นไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO ₂) เป็นวัสดุรอง.....	80
5.1.2 สรุปผลการศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ เพื่อให้ได้ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางกล และทางชีวภาพ ที่เหมาะสม.....	80
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	81
เอกสารอ้างอิง.....	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VIII อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก.....	92
ภาคผนวก ก. ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในฐานข้อมูล SJR,Scopus.....	93
ภาคผนวก ข. ผลการทดลอง.....	121
ประวัติผู้เขียน.....	126



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ IX อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในคอลลาเจนจากหนังปลาและเจลาตินจากหนังหมู.....	13
2.2 อัตราส่วนของผลจาก Main Effects ต่อจำนวน Effects รวมทั้งหมดในการทดลอง.....	26
2.3 Full Factorial สำหรับ 4 ปัจจัย.....	27
2.4 Main Effectsและ Interaction ของ 3 ปัจจัย.....	27
2.5 Fractional Factorial Designของ 4 ปัจจัย.....	28
2.6 Alias structure ของ 4 ปัจจัย.....	29
2.7 จำนวน Run เทียบกับจำนวน Factor ของแต่ละ Design.....	31
2.8 ผลการออกแบบโดยวิธี 2 ^k -3.....	31
2.9 ระดับ Resolution ที่เป็นไปได้ เมื่อกำหนด Run และจำนวน Factor.....	34
3.1 Parameters for experimental design.....	59
4.1 แสดงปัจจัยและระดับของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลอง.....	68
4.2 Experimental design and results.....	68
4.3 ผลวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของผลทดสอบความแข็งแรงดึง.....	70
4.4 Porosity percent and pore size of the scaffold. at p < 0.05.....	76
4.5 Compressive modulus recorded for the gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇ scaffold.....	79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ X อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ EDC และ NHS	5
2.2 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ GA	6
2.3 การวัดค่ามุมสัมผัสน้ำแบบ Sessile drop	7
2.4 ขั้นตอนการสกัดเจลาติน	9
2.5 โครงสร้างของเจลาติน	10
2.6 โครงสร้างทางเคมีของคอลลาเจนชนิดที่ 1	10
2.7 โครงสร้างแบบสายเกลียว 3 สายของคอลลาเจนชนิดที่ 1	11
2.8 กระบวนการสังเคราะห์คอลลาเจนชนิดที่ 1	12
2.9 ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide: TiO_2)	14
2.10 โครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide: TiO_2)	17
2.11 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ EDC และ NHS	19
2.12 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ GA	20
2.13 ปัจจัยและพารามิเตอร์ของกระบวนการ	23
2.14 เส้นโครงร่างของพื้นผิวผลตอบ	35
2.15 ภาพเครื่องทดสอบอเนกประสงค์	39
2.16 เส้นโค้งความเค้น-ความเครียด (Stress-Strain Curve)	39
2.17 มอดูลัสแบบแทนเจนต์ (Tangent modulus)	41
2.18 มอดูลัสแบบซีแคนต์ (Secant modulus)	41
2.19 มอดูลัสแบบซีแคนต์ (Secant modulus)	41
3.1 ภาพรวมขั้นตอนการทำวิจัย	55
3.2 ขั้นตอนไททาเนตนาโนริบบอนถูกสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรเทอร์มอล	58
3.3 ชั่งเจลาติน	59
3.4 Gelatin solution	59
3.5 ชั่งไททาเนต ($Na_2Ti_3O_7$)	60
3.6 ไททาเนต ($Na_2Ti_3O_7$) solution	60
3.7 นำสารละลายเจลาตินและสารละลายไททาเนต ($Na_2Ti_3O_7$) ที่เตรียมได้มาผสมกัน	60
3.8 ดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจล	61
3.9 ตู้อบสุญญากาศ	61

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.10 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM).....	62
3.11 โครงเลี้ยงเซลล์ไปแช่ใน PBS buffer.....	63
3.12 ชั่งน้ำหนักแห้งและน้ำหนักเปียก.....	63
3.13 ตัวอย่างชิ้นงานที่ใช้ทดสอบการกด 1 x 1 ซม.....	63
3.14 ตัวอย่างชิ้นงานที่ใช้ทดสอบการดึง 1 x 4 ซม.....	63
3.15 การทดสอบการต้านทานแรงกด.....	64
3.16 การทดสอบการต้านทานแรงดึง.....	64
3.17 การแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในไลโซไซม์.....	65
3.18 ชั่งน้ำหนักก่อนหลังแช่ไลโซไซม์.....	65
4.1 โครงสร้างจุลภาคของไททานेट ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) จากเทคนิค SEM.....	66
4.2 ผลการทดสอบ XRD ของ TiO_2 และ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	67
4.3 การตรวจสอบคุณภาพข้อมูลของความทนแรงดึง (tensile strength).....	69
4.4 Mixture Surface และ Mixture contour plot.....	72
4.5 การวิเคราะห์ระดับที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength).....	73
4.6 ผลของการย่อยสลายโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (n = 20) (พิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ P < 0.05 เทียบกับ 100/0).....	74
4.7. SEM images of the scaffold obtained via the freeze-dry technique with gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixed in a ratio of (ก) 100/0, (ข) 90/10, (ค) 80/20, (ง) 70/30 และ (จ) 60/40.....	75
4.8. Swelling ratio of gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold via freeze-dry technique. (n = 5) at p < 0.05.....	77
4.9. Tukey Simultaneous 95% CIs (differences of Means for kPa)	78
4.10. Compressive test conducted for the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold (*Significant differences were observed between the scaffolds at p < 0.05)	79
4.11. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ประเมินโดยการตรวจ MTT มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ p < 0.05.....	80

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineering) เป็นกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อ (regeneration of functional tissues) เพื่อทดแทน ซ่อมแซม หรือปรับปรุงการทำงานของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่สูญเสียหรือบาดเจ็บ ซึ่งโดยปกติจะไม่มีการงอกใหม่เองในมนุษย์ ได้แก่ ผิวหนังแท้ เส้นประสาท กระดูก กระดูกอ่อน กล้ามเนื้อหัวใจ เป็นต้น กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อต้องใช้ในการพัฒนาความรู้ต่างๆสามด้านหลัก ได้แก่ วิศวกรรมของวัสดุ ชีววิทยาของเซลล์และวิศวกรรมชีวเคมี โดยจะเริ่มจากการพัฒนาชีววัสดุ (วัสดุที่เข้ากับร่างกายได้ดี Biomaterials) เพื่อทำหน้าที่เป็นโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold) ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้ชีววัสดุจากธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน เจลาติน ไหมหรือวัสดุสังเคราะห์ขึ้น เช่น PLA PCL โครงเลี้ยงเซลล์จะถูกนำไปใช้เลี้ยงเซลล์ที่ถูกคัดแยก และขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมากพอแล้วการชักนำให้เปลี่ยนแปลง (differentiate) ไปเป็นเนื้อเยื่อที่ต้องการอย่างสมบูรณ์ [1] ปัจจุบันมีงานวิจัยที่พัฒนาวัสดุทางการแพทย์จากชีววัสดุธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน เจลาติน ไคโตซานแบคทีเรียเซลลูโลส สารสกัดจากสาหร่าย ฯลฯ โดยปัจจัยหลักที่ต้องคำนึงถึงเพื่อให้ตอบสนองต่อการใช้งานจริงคือพัฒนาคุณสมบัติทางกลของวัสดุนั้นๆ

ไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide, TiO_2) เป็นหนึ่งในบรรดาวัสดุที่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ เช่นการนำเอานาโนไทเทเนียมไดออกไซด์มาผสมกับคอลลาเจนไคโตซานเพื่อทำเป็นโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับการซ่อมแซมบาดแผลจากผลการวิจัยพบว่าทำเป็นวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ได้ดี สมบัติทางกลของวัสดุหลักดีขึ้น มีความเป็นรูพรุนดีขึ้น ไม่เป็นพิษต่อเซลล์และสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ [2-4] การศึกษาปฏิกิริยาการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียชนิด *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* โดยใช้ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้แสงยูวีเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีอนุภาคขนาดต่างกันและศึกษาผลของความหนาของฟิล์มที่ใช้ พบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคเล็กระดับนาโนและฟิล์มที่มีขนาดบางกว่าจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* ได้ ร้อยละ 95 และ 75 ตามลำดับ [5] การศึกษาปฏิกิริยาต่อต้านแบคทีเรีย *Escherichia coli* K-12 ของฟิล์มบางไทเทเนียมที่ได้กับเหล็กไอออนที่เคลือบบนกระจก Soda-lime-silica ซึ่งเตรียมจากวิธีโซ-เจล ความเข้มข้นสูงสุดของเหล็กไอออน(ประมาณ 0.5 mol%)หลังฉายรังสี 120 นาที สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ถึง 95% เนื่องจากทำให้ผนังเซลล์ (Cell wall) เกิดความเสียหาย [6] การใช้ไททาเนียมไดออกไซด์(P25 Degussa) เติมด้วยเงิน (Ag) มาทำการฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ภายใต้การฉายแสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลปรากฏว่าสามารถเพิ่ม ประสิทธิภาพของปฏิกิริยาโฟโตแคตะไลติกได้ และเมื่อใช้เวลามากขึ้น ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรคก็จะเพิ่มขึ้นเช่นกัน [7] กระจายอนุภาคอินทรีย์ เช่น การผสม ไทเทเนียมไดออกไซด์ในพอลิเมอร์จะทำให้ประสิทธิภาพของสมบัติทางกลเพิ่มขึ้น มีความคงที่ของขนาดและลักษณะพื้นผิวที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับพอลิเมอร์ที่ไม่ผสม [8-10] นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุง สมบัติโดยการผสมอนุภาคระดับนาโนจนประสบความสำเร็จด้วยการเติมปริมาณที่ต่ำมาก (<5wt%) ในขณะที่ขนาดไมโครคอมโพสิตจะต้องเติมในปริมาณที่สูงขึ้นตามลำดับ 25-40 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก [11-14]

ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดและสนใจที่จะศึกษาการนำเอาไททาเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ผ่านการสังเคราะห์จากไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) [15-16] ที่สามารถเป็นวัสดุตัวเติมเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ [8-10] และยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ อีกด้วย [17-18] มาผสมกับเจลาตินเพื่อพัฒนาเป็นวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งโครงเลี้ยงเซลล์นั้นจะถูกนำไปใช้เลี้ยงเซลล์ที่ถูกคัดแยกและขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมากพอแล้วเกิดการชักนำให้เปลี่ยนแปลง (differentiate) ไปเป็นเนื้อเยื่อที่ต้องการอย่างสมบูรณ์และสามารถนำไปใช้งานได้ตามวัตถุประสงค์ต่อไป

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททาเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ซึ่งสังเคราะห์ใหม่จากสารตั้งต้นไททาเนียมไดออกไซด์(TiO_2) เป็นวัสดุรอง

1.2.2 ศึกษาสมบัติทางกล ทางกายภาพ และทางชีวภาพ ของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$

1.2.3 ศึกษาพารามิเตอร์ในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์เซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ โดยวิธีการออกแบบการทดลองส่วนผสม

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

โครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินที่มีไททาเนตเป็นส่วนประกอบจะให้สมบัติทางกล ทางกายภาพ และทางชีวภาพดีกว่าโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินเพียงอย่างเดียว

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 สังเคราะห์ไททาเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) จากสารตั้งต้นไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO_2)

1.4.2 ออกแบบการทดลองส่วนผสมด้วยโปรแกรม Minitab จากนั้นขึ้นรูปด้วยวิธีการผสม จากวัสดุทั้งสองชนิดคือ เจลาติน ไททาเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และน้ำปราศจากไอออน (DI water) ด้วยอัตราส่วนตามที่กำหนดคือ 100/0, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.3 ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อศึกษาความเป็นรูพรุนและพื้นผิวโดยรวมของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่ได้มาศึกษาสมบัติทางกายภาพ

1.4.4 ใช้เครื่องทดสอบแรงดึง แรงกด ศึกษาลักษณะทางกล ด้วยการทดสอบแรงดึงและแรงกดของวัสดุตามมาตรฐาน ASTM D3574 test E

1.4.5 ใช้วิธีการทดสอบการบวมน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇

1.4.6 ใช้วิธีการทดสอบการย่อยสลายของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇

1.4.7 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

1.5 ขั้นตอนของการศึกษา

ลำดับขั้นตอนของการศึกษางานวิจัยนี้มีดังนี้

1.5.1 ศึกษาข้อมูลและขั้นตอนในการทดสอบวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์

1.5.2 จัดเตรียมเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง สั่งซื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.5.3 ดำเนินการทดลองตามโปรโตคอลมาตรฐาน โดยอ้างอิงจากวรรณกรรมหลักที่ใช้อ้างอิง

1.5.4 ทดสอบทางกายภาพ ทางกล และ ทางชีวภาพ

1.5.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบผลการทดลอง

1.5.6 สรุปผลที่ได้ ปรับปรุงหรือพัฒนางานวิจัยให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

งานวิจัยและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททานेट (Na₂Ti₃O₇) เป็นวัสดุรองที่ใช้เป็นตัวที่ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือ (Salt Leaching techniques) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried techniques) พร้อมทั้งศึกษา ลักษณะสมบัติทางกายภาพได้แก่การ วิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา ทางกลได้แก่การทดสอบสมบัติ การทนทานต่อแรงดึง แรงกด และทางชีวภาพ ได้แก่การทดสอบการย่อยสลาย การทดสอบการบวมตัวของโครงเลี้ยงเซลล์ เจลาตินที่มีส่วนประกอบของไททานेट (Na₂Ti₃O₇) โดยเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินที่เป็นส่วนประกอบเพียงอย่างเดียว เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของการวิจัย ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

2.1 โครงเลี้ยงเซลล์

โครงเลี้ยงเซลล์นำมาใช้ในการเลี้ยงเซลล์เพื่อทดแทนเนื้อเยื่อที่หายไปอันเนื่องมาจากอุบัติเหตุต่างๆ เช่น ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก [17] ซึ่งการเลี้ยงเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อที่หายไป จะใช้โครงเลี้ยงเซลล์เป็นตัวนำเซลล์จากรอบๆแผลมาทำการแบ่งตัว จนกระทั่งเต็มพื้นที่ของโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจะทำได้เนื้อเยื่อใหม่มาทดแทน [18-20] ซึ่งหลังจากนั้นจะเกิดกระบวนการย่อยสลายกับโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยทางชีวภาพ โดยกระบวนการดังกล่าวจะเป็นการเลียนแบบสภาวะของสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix , ECM) โดยมีส่วนสำคัญดังนี้

- คอลลาเจน เป็นส่วนที่มีปริมาณมากที่สุดของสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix , ECM) ซึ่งจะทำหน้าที่สำคัญ โดยจะเป็นตัวโครงให้เซลล์นั้นเข้ามายึด และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์
- โปรตีโอไกลแคน (Proteoglycans (PG)) จะทำหน้าที่กำหนดปริมาณน้ำที่จะไปอยู่ในโมเลกุล (Hydration) ของสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix , ECM) และจะเป็นตัวกำหนดทิศทางของเซลล์
- โกลโคโปรตีน จะทำหน้าที่ดึงเซลล์เข้าไปเกาะกับคอลลาเจนที่เป็นตัวรองรับเซลล์
- โกรท แฟคเตอร์ (Growth factors) จะทำหน้าที่ในกระบวนการแบ่งเซลล์ ของสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix , ECM)

2.1.1 สมบัติที่ต้องการของ โครงเลี้ยงเซลล์

สมบัติที่ดีที่ต้องพิจารณาในการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ [21] ซึ่งมีดังนี้

2.1.1.1 ความพรุนและขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

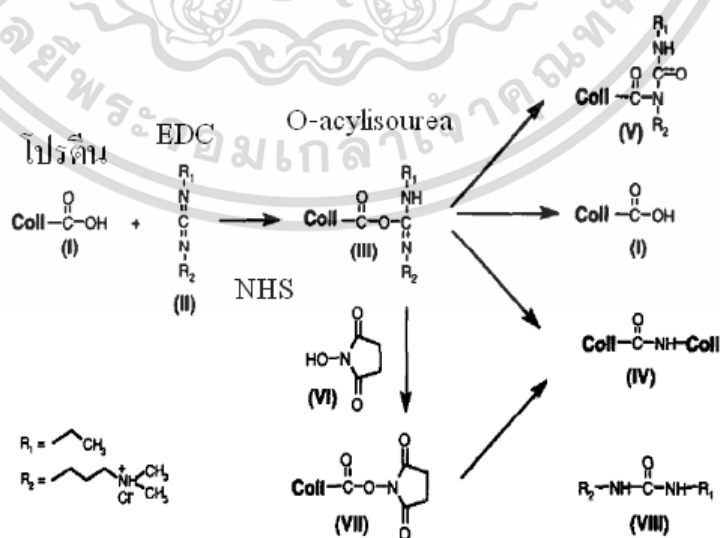
เซลล์ไฟโบลาสต์จะยึดเกาะ และเติบโตในลักษณะการกระจายตัวได้ดี ขึ้นอยู่กับความพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจากผลการทดสอบโครงเลี้ยงเซลล์ 14 วัน พบว่าความโตของความพรุนที่เหมาะสมมีขนาด 100-200 ไมครอน[21]

2.1.1.2 การย่อยสลายของโครงเลี้ยงเซลล์

โครงเลี้ยงเซลล์จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในช่วงกระบวนการเลี้ยงเซลล์กำลังทำงาน ดังนั้นระยะเวลาในการย่อยสลายของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้ไม่ควรจะใช้เวลาสั้น หรือยาวไป ซึ่งระยะที่เหมาะสมในการย่อยสลายต้องย่อยสลายไม่เกิน 50% ของน้ำหนักโครงเลี้ยงเซลล์ ในระยะเวลา 7 วัน โดยที่จะต้องย่อยสลายไปในระยะเวลา 14 – 30 วัน และการกำหนดระยะเวลาการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับ การเชื่อมโยงพันธะ (Cross linking) ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 3 วิธี

1. การเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพ ได้แก่ การให้ความร้อน หรือ Dehydrothermal treatment (DHT)
2. การใช้รังสี การใช้ UV-irradiation
3. การเชื่อมโยงพันธะทางเคมี ได้แก่ การนำสารเคมีจำพวกของ Aldehyde Formaldehyde, Glutaraldehyde, Glyceraldehyde)

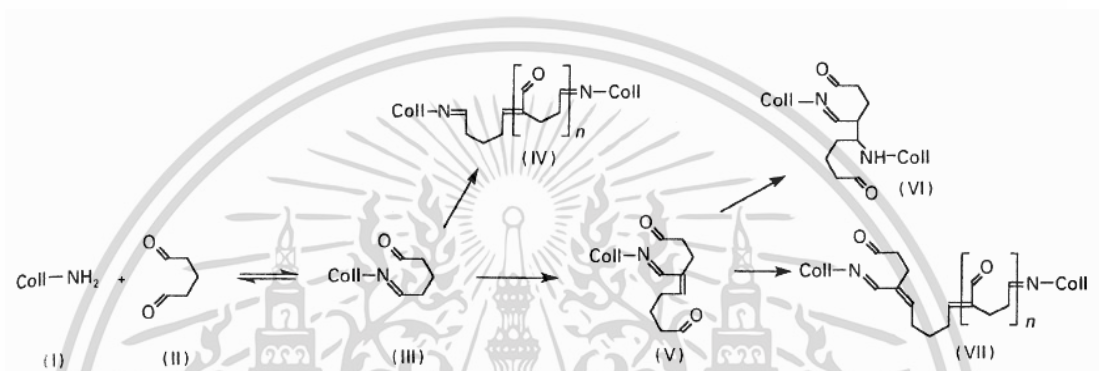
การเชื่อมโยงพันธะทางเคมี ด้วย EDC จะเกิดระหว่างจำพวกคาร์บอกซิล (Carboxyl group) ของโปรตีน (I) กับ EDC (II) ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือหมู่ O-acylisourea (III) และหลังจากนั้น O-acylisourea จะออกมาอยู่ในรูปของอนุพันธ์ยูเรียซึ่งนำไปละลายน้ำได้ (VIII) และโปรตีนจะทำปฏิกิริยาในกลุ่มจำพวกอะมิโน ของโปรตีน ตัวถัดไปจะเป็นโปรตีนที่ถูกเชื่อมโยงพันธะ (IV) และในส่วนการเติม N-hydroxysuccinimide (NHS) (VI) ซึ่งทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาในการเชื่อมโยงพันธะโดย NHS จะไปแทนที่หมู่ O-acylisourea (VII) และออกไป ซึ่งจะได้โปรตีนที่เชื่อมโยงพันธะเพียงอย่างเดียว (IV) แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ EDC และ NHS [21]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเชื่อมโยงพันธะด้วย Glutaraldehyde (GA) แสดงดังรูปที่ 2.2 จะเกิดระหว่างระหว่างหมู่จำพวก แอลดีไฮด์ (Aldehyde) ของ GA (II) กับ หมู่ ϵ -amine ของกรดอะมิโนไลซีน (Lysine) ในคอลลาเจน ชนิดที่ 1 (Collagen type I) (I) การเชื่อมโยงพันธะ จะมีด้วยกันได้หลายรูปแบบ ได้แก่ (IV), (VI) และ (VII) การเชื่อมโยงพันธะด้วยการใช้ GA จะคงอยู่ที่หมู่ที่ถูกเชื่อมโยงพันธะแล้ว โดยทั่วไปจะต้องมี ขั้นตอนการกำจัดหมู่แอลดีไฮด์ของ GA ที่หลงเหลือในโมเลกุลโดยการล้างโครงสร้างเซลล์โดยไกลซีน (Glycine) เพื่อให้ไปล้าง GA ที่ยังหลงเหลือ และยังต้องทำการล้างในน้ำต่อ เพื่อให้แน่ใจว่าจะไม่มี GA หลงเหลือแล้ว



รูปที่ 2.2 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ GA [21]

2.1.2 สมบัติเชิงกลของโครงเลี้ยงเซลล์

ในสภาวะจริงในการนำโครงเลี้ยงเซลล์ไปใช้งานจะพบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ต้องเจอกับแรงที่มากระทำในระหว่างกระบวนการเลี้ยงเซลล์จากบริเวณรอบๆของแผล ดังนั้นการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ จำเป็นต้องสร้างรองรับแรงดังกล่าวได้ เพื่อจะทำให้กระบวนการเลี้ยงเซลล์นั้นมีความสม่ำเสมอ และคงที่ จนเสร็จสิ้นกระบวนการ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาสมบัติทางกลก่อนที่จะนำไปใช้งานของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยนำไปทดสอบ ทดสอบแรงดึง (Tensile test) ทดสอบแรงกด (Compression test) และ ค่ามอดูลัสของยัง (Young's modulus) หรือ มอดูลัสความยืดหยุ่น (Modulus of elasticity)

2.1.2.1 ความเป็นพิษของโครงเลี้ยงเซลล์ต่อเซลล์

ในกระบวนการเลี้ยงเซลล์ โครงเลี้ยงเซลล์นอกจากจะต้องมีหน้าที่ให้เซลล์มายึดเกาะแล้ว โครงเลี้ยงเซลล์ต้องไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และเข้ากันได้ดี โดยสามารถทดสอบกับเซลล์นั้นๆได้ดังนี้

- การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ซึ่งสามารถทดสอบโดยนำโครงเลี้ยงเซลล์กับเซลล์ที่จะทำการศึกษามาพิจารณา หากโครงเลี้ยงเซลล์เป็นพิษกับเซลล์ เซลล์นั้นก็ตาย และวิธีดังกล่าว แบ่งออกเป็น 3 แบบได้แก่ การสัมผัสโดยอ้อม (Indirect contact) เป็นการใช้น้ำที่ผ่านการแพร่ของก๊าซ

(Diffusion layer) จำพวก อะการ์ (Agar) ชั้นระหว่างโครงเลี้ยงเซลล์กับเซลล์ การสัมผัสโดยตรง เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้มาใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

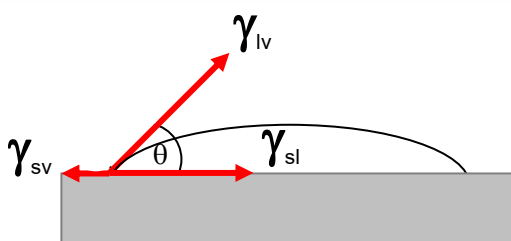
(Direct contact) โดยการนำโครงเลี้ยงเซลล์ทดสอบโดยตรงกับเซลล์ และวิธีการอีลูชัน (Elution test) โดยนำโครงเลี้ยงเซลล์แช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมและนำสารละลายนี้มาเลี้ยงเซลล์ และวิเคราะห์ผลจากความเข้มข้นของสารละลายและปริมาณที่เซลล์ตาย

- การทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรม (Genotoxicity) ซึ่งจะเกิดกับไวรัส หรือโครงเลี้ยงเซลล์ที่เมื่อนำไปใช้งานกับเนื้อเยื่อ จะแพร่สารที่ทำให้เกิดอันตรายกับมนุษย์
- การทดสอบการเกิดมะเร็ง (Carcinogenicity) ซึ่งเป็นการทดลองกับสัตว์ทดลอง โดยการนำโครงเลี้ยงเซลล์ติดบริเวณที่เกิดแผล หลังจากนั้นสังเกตการเกิดมะเร็งบริเวณดังกล่าว
- การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ (Reproductive Toxicity) ซึ่งเป็นการทดลองกับสัตว์ทดลอง โดยการนำโครงเลี้ยงเซลล์ติดบริเวณที่เกิดแผล หลังจากนั้นสังเกตช่วงกระบวนการเลี้ยงเซลล์มีการกลายพันธุ์

โดยหน้าที่ของโครงเลี้ยงเซลล์ต้องสามารถให้เซลล์ยึดเกาะและเติบโต โดยการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ดี พอลิเมอร์ที่นำมาสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ควรอยู่ในกลุ่มของ RGD จะมีรูปของบริเวณรับของอินทีกริน (Integrin receptor) เพื่อนำเซลล์มายึดเกาะ โดยปฏิกิริยานี้ระหว่างบริเวณรับของอินทีกรินกับเซลล์จะทำให้เกิดการเจริญเติบโต และการแบ่งตัวของเซลล์

2.1.3 ลักษณะพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์

การวิเคราะห์หาค่ามุมสัมผัสน้ำ (Water contact angle) โดยวิเคราะห์จากลักษณะพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจะบ่งบอกถึงความเป็นไฮโดรโฟบิก และไฮโดรฟิลิก โดยการนำหยดของเหลวลงบนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ ในขณะที่หยดต้องมีการบันทึกเป็นภาพเคลื่อนไหว หลังจากนั้นจะมีการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ซึ่งการหยดของเหลวของบนโครงเลี้ยงเซลล์ จะเกิด แรงที่ดึงดูดกันระหว่างโมเลกุลของของเหลวกับพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ (Adhesive force) และแรงที่ดึงดูดกันภายในโมเลกุลของของเหลว (Cohesive force) และหลังจากนั้นค่าพลังงานจะมีค่าต่ำสุด นั่นคือการเข้าสู่สภาวะสมดุล ซึ่งจะเป็นการสมดุลระหว่างแรงดึงของเหลวกับอากาศ (γ_{lv}) และแรงดึงที่ผิวหน้าของโมเลกุลของของเหลวกับพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ (γ_{sl}) โดยวัดได้จากค่ามุมสัมผัส (Contact angle(θ)) ของโมเลกุลของของเหลวกับพื้นผิวสัมผัส แสดงดังภาพที่ 2.3 ในกรณีที่ค่ามุมสัมผัสน้ำของพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าไม่ต่ำกว่า 65 องศา จะหมายความว่า พื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์แสดงความเป็นไฮโดรโฟบิก แต่ในกรณีค่ามุมสัมผัสน้ำที่วัดได้มีค่าน้อยกว่า 65 องศา จะหมายความว่า พื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์แสดงความเป็นไฮโดรฟิลิก



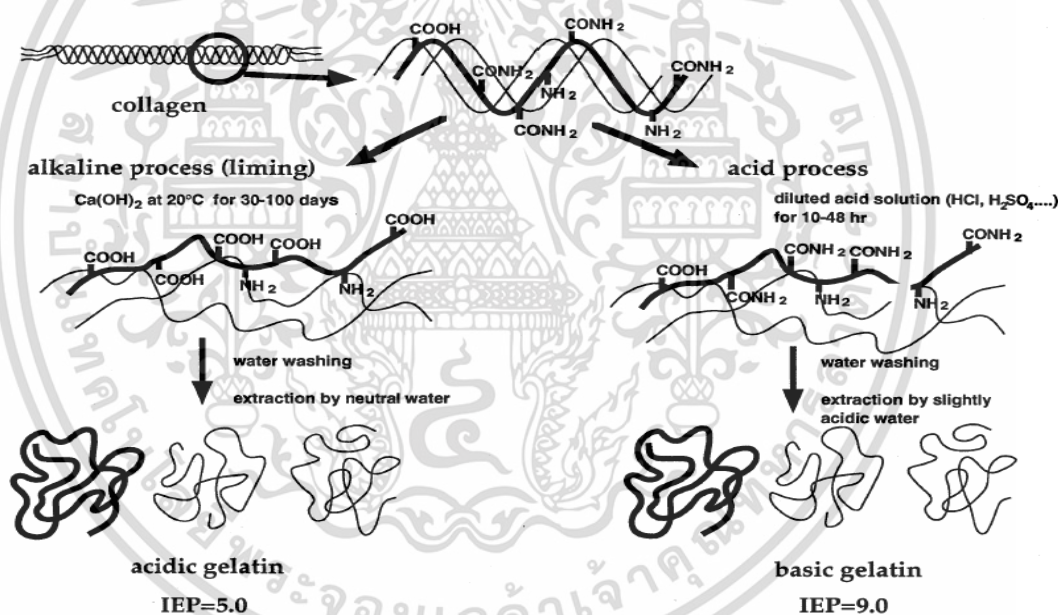
รูปที่ 2.3 การวัดค่ามุมสัมผัสน้ำแบบ Sessile drop [21]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เจลาติน

เจลาติน เป็นโปรตีนสกัดได้จากคอลลาเจนจากธรรมชาติ และมีมวลโมเลกุลประมาณ 100,000 ดาลตัน สามารถสกัดจาก กระบวนการกรด (Acidic process) และ กระบวนการด่าง (Alkaline process)[22-23] แสดงดังภาพที่ 2.4 เพื่อทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นโดยทำให้บริสุทธิ์ และทำให้แห้ง และผ่านขั้นตอนฆ่าเชื้อโรค โดยเจลาตินสามารถแบ่งเป็น 2 แบบดังนี้

- เจลาตินชนิด B (Type B gelatin หรือ Acidic gelatin) สกัดโดยกระบวนการด่าง เป็นกระบวนการย่อยสลายโดยการใช้ น้ำ จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่กลุ่มเอไมด์ (Amide) ในคอลลาเจน
- เจลาตินชนิด A (Type A gelatin หรือ Basic gelatin) สกัดโดยกระบวนการกรด มีค่า pH ประมาณ 9.0 โดยจะใกล้เคียงกับคอลลาเจน จะเหมาะกับการนำใช้งานร่วมกับโปรตีนที่มีสมบัติเป็นกรด เจลาตินมักจะนำไปใช้งานในทางการแพทย์ และทางด้านเภสัชกรรม เนื่องจากเจลาตินมีความปลอดภัย และเข้ากันได้ดีกับร่างกายของมนุษย์ อีกทั้งยังสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ดีอีกด้วย จึงนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในยา และอวัยวะทดแทนต่างๆ [24-28]



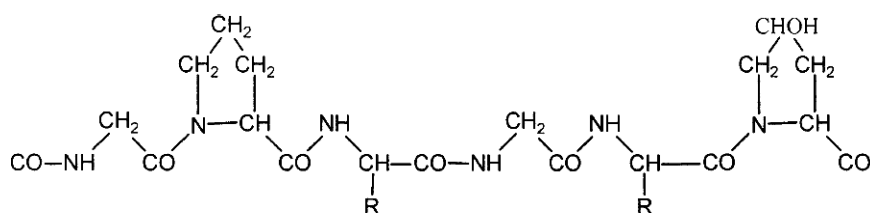
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการสกัดเจลาติน [22]

2.2.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเจลาติน

เจลาตินมีลักษณะเฉพาะ นั่นคือเป็นสารที่มีกรดอะมิโนปริมาณสูงซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 19 ชนิด เช่น ไฮดรอกซีโพรลีน ไกลซีน และโพรลีน จะเห็นได้จากโครงสร้างของเจลาตินประกอบไปด้วยหน่วยซ้ำ ของกรดอะมิโนที่มีการเรียงตัวกันคือ Gly-X-Y แสดงดังรูปที่ 2.5 โดยกรดอะมิโนในกลุ่มนี้จะแสดงพฤติกรรมเป็นไฮโดรฟิลิก จึงส่งผลให้เจลาตินละลายน้ำได้ดี ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในเจ

ลาติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



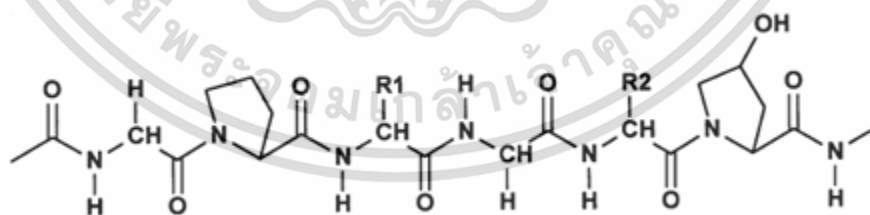
R = glycine-X-Y triplet

X และ Y คือ proline และ hydroxyl proline ตามลำดับ

รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเจลาติน [23]

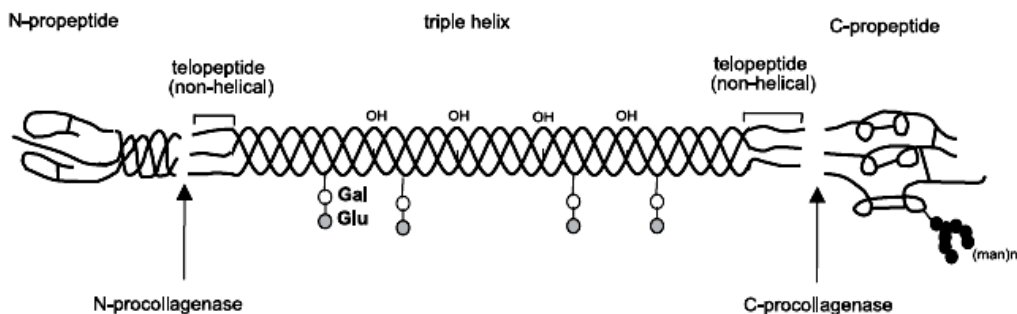
2.3 คอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนคิดเป็นร้อยละ 30 โดยประมาณของโปรตีนในร่างกายของมนุษย์และสัตว์จำพวกมีกระดูกสันหลัง ซึ่งมากกว่าร้อยละ 50 ในผิวหนังคอลลาเจนเป็นส่วนประกอบของ ECM และเป็นที่อยู่ของเซลล์ คอลลาเจนมีทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้กับส่วนต่างๆของร่างกาย เช่น กระดูก เส้นเอ็น และเนื้อเยื่อ คอลลาเจนยังมีหน้าที่ช่วยเรื่องความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ [29-30] มีนักวิจัยจำนวนมากที่นำเอาคอลลาเจน ซึ่งอยู่ในกลุ่มจะมีหน่วยซ้ำที่เหมือนกันคือ Gly-X-Y ซึ่ง Gly แทนไกลซีน (Glycine), X แทน โพรลีน (Proline) และ Y แทน 4-ไฮดรอกซีโพรลีน (4-Hydroxyproline) แสดงดังรูปที่ 2.6 มาพัฒนาในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากคอลลาเจนสามารถเข้ากันได้ดีกับเซลล์ เพราะว่ามีกลุ่ม RGD ช่วยเรื่องในการเหนี่ยวนำเซลล์มายึดเกาะ อีกทั้งไม่มีพิษกับร่างกาย โมเลกุลของคอลลาเจนประกอบไปด้วยสายโซ่โพลีเปปไทด์ (Polypeptide α -chain) 3 เส้น แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของคอลลาเจนชนิดที่ 1 [29]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



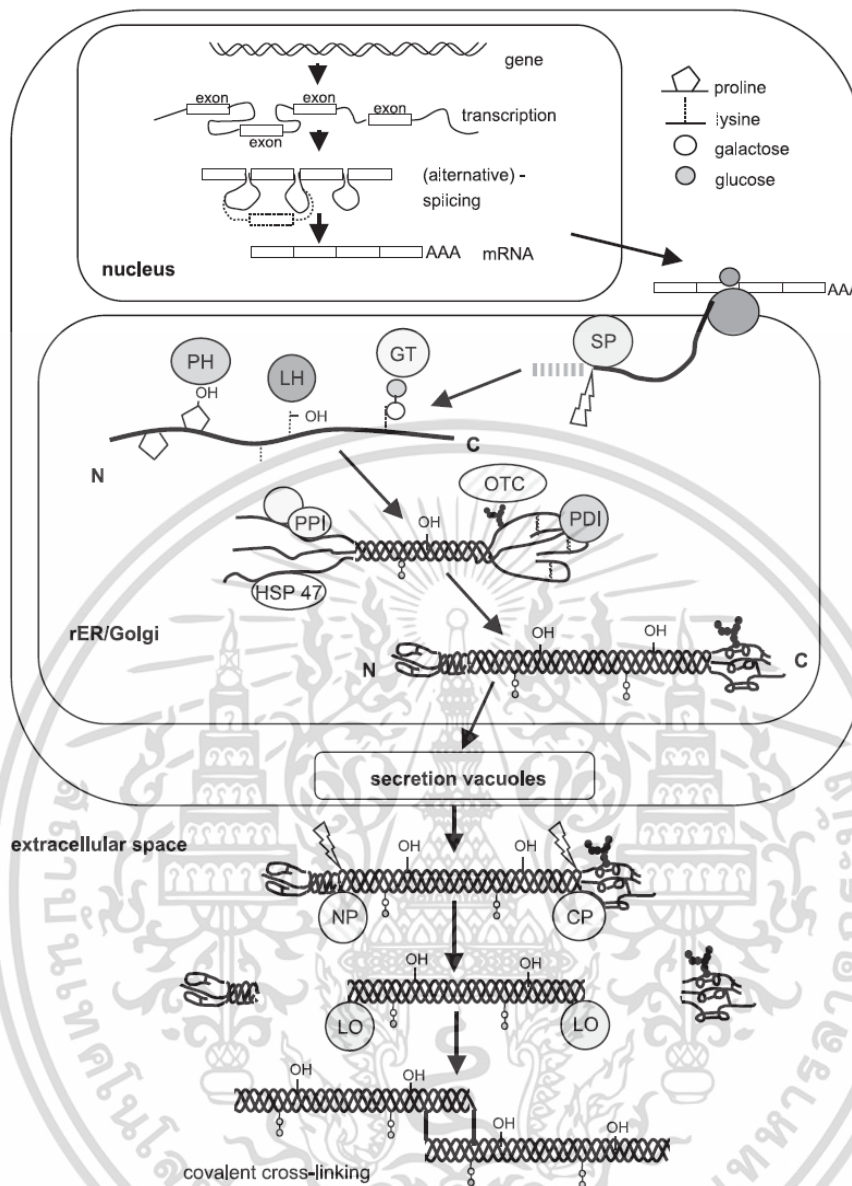
รูปที่ 2.7 โครงสร้างแบบสายเกลียว 3 สายของคอลลาเจนชนิดที่ 1 [29]

2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์คอลลาเจน

กระบวนการสังเคราะห์คอลลาเจนชนิดที่ 1 ภายในร่างกายมนุษย์ ซึ่งจะพบมากในผิวหนัง เอ็นยึด และกระดูก ประกอบไปด้วย 4 ขั้นตอน แสดงดังรูปที่ 2.8 ดังนี้

- กระบวนการลอกรหัส (Transcription) และการสังเคราะห์สายโพรตีน (Translation) เป็นกระบวนการที่ใช้ผลิตภัณฑ์เอ็นเออาร์เอส (Messenger RNA (mRNA)) ชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นนิวเคลียสของระบบ และซึ่งกำเนิดเป็น คอลลาเจน
- กระบวนการปรับแต่งภายหลังการสังเคราะห์สายโพรตีน (Post-translational modification) เป็นกระบวนการชักทอให้โดยจะเกิดเป็นโพรตีน 3 เส้น พันกันเป็นสายเกลียว 3 สาย ซึ่งมีหัวเป็น C-propeptide และท้ายเป็น N-propeptide
- การสร้างคอลลาเจน (Secretion of collagen) เป็นกระบวนการที่ตัดหัวและท้ายของสายเกลียวโพรตีน 3 สาย โดย C-propeptide ถูกตัดด้วยเอนไซม์ C-โปรตีนเนส (C-proteinase) และ N-propeptide ถูกตัดด้วยเอนไซม์ N-โปรตีนเนส (N-proteinase)
- กระบวนการสะสมของสารโครงสร้างภายนอกเซลล์ (Extracellular processing) และ การเปลี่ยนแปลง (Modification) เป็นกระบวนการสายเกลียวของโพรตีน 3 สาย และเกิดการเชื่อมโยงพันธะกันและกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 กระบวนการสังเคราะห์คอลลาเจนชนิดที่ 1 [29]

2.3.2 ปริมาณกรดอะมิโนในคอลลาเจน

คอลลาเจนมีลักษณะเด่นคือ มีปริมาณกรดอะมิโนไกลซีน โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน ที่สูง ซึ่งเป็นกรดอะมิโนอยู่ในกลุ่มจำพวกที่แสดงพฤติกรรมเป็นแบบไฮโดรโฟบิกและมีปริมาณของกรดอะมิโนไทโรซีน (Tyrosine), ทริปโตแฟน (Tryptophan), ไอโซลูซีน (Isoleucine), ซิสทีน (Cystine) และฮิสทีดีน (Histidine) ที่ต่ำ และสามารถสรุปปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่อยู่ในเจลาตินจากหนังหมู และคอลลาเจนจากหนังปลาดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในคอลลาเจนจากหนังปลาและเจลาตินจากหนังหมู

กรดอะมิโน	ปริมาณในคอลลาเจน (กรัม/ โปรตีน 100 กรัม)	ปริมาณในเจลาติน (กรัม/ โปรตีน 100 กรัม)
ไกลซีน	29.60	30.50
อะลานีน (Alanine)	9.20	9.20
ไอโซลูซีน	1.70	1.50
ลิวซีน (Leucine)	3.70	3.20
วาเลีน (Valine)	2.50	2.70
เซอรีน (Serine)	5.90	2.90
ทรีโอนีน (Threonine)	3.50	2.20
ไทโรซีน	0.86	0.69
ทริปโตเฟน	-	-
เมทไธโอนีน (Methionine)	2.30	0.80
ซิสทีน	0.12	0.09
ฮีสทีดีน	0.94	0.67
อาร์จินีน (Arginine)	9.40	8.80
ไลซีน (Lysine)	5.60	5.10
กรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid)	7.10	6.30
กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	11.50	11.70

2.4 ไททาเนียมไดออกไซด์

ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide:TiO₂) เป็นสารประกอบออกไซด์ของโลหะไททาเนียม ที่ถูกนำมาใช้มากในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เนื่องจากมีความเสถียรสูง ไม่เป็นพิษ และราคาถูก มีชื่อทางการค้า คือ ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide) ไททานิกแอนไฮไดรด์ (Titanic anhydride) และไททาเนีย (Titania) ไททาเนียมเป็นแร่ที่ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1791 ในเหมืองแร่เหมืองคอร์นวอลล์ ประเทศอังกฤษ โดยนักธรณีวิทยาชื่อ William Gregor ใช้สัญลักษณ์แทนคือ Ti มีเลขอะตอม 22 มีคุณสมบัติแข็งแรง ทนต่อสภาพกัดกร่อนของคลอรีน น้ำทะเล และกรด-ด่าง ได้ดี ไททาเนียมไดออกไซด์โดยธรรมชาติจะพบน้อยมาก ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแร่อิลเมไนต์ (ilmenite) หรือ ลิวโซซีน (leucosene) โดยทำให้บริสุทธิ์ได้โดยวิธี rutile beach sand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide:TiO₂) [30]

2.4.1 คุณสมบัติเฉพาะ

- มวลโมเลกุล 79.9 กรัม/โมล
- ความหนาแน่น 3.84-4.26 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร
- จุดเดือด 2,500 องศาเซลเซียส
- จุดหลอมเหลว 1,850 องศาเซลเซียส
- ไม่ละลายน้ำ

2.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ และเชิงกล

- สถานะภาพเป็นของแข็งสีขาว
- พื้นที่ผิว 50 ตารางเมตร/กรัม
- ขนาดอนุภาคเฉลี่ย 20 นาโนเมตร
- ความหนาแน่น 130 กรัม/ลิตร
- ความถ่วงจำเพาะ 0.7 กรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร
- Modulus of Rupture 140 MPa
- กำลังแรงกด 680 MPa
- Poisson's Ratio 0.27
- Fracture Toughness 3.2 Mpa.(m)^{1/2}
- Shear Modulus 90 GPa
- Modulus of Elasticity 230 GPa
- Microhardness (HV0.5) 880
- ค่าความต้านทาน (Resistivity, 25°C) 1012 ohm.cm
- ค่าความต้านทาน (Resistivity, 700°C) 2.5×10⁴ ohm.cm
- Dielectric Constant (1MHz) 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dissipation factor (1MHz) 5×10^{-4}
- Dielectric strength 4 kVmm^{-1}
- Thermal expansion (RT-1000°C) 9×10^{-6}
- Thermal Conductivity (25°C) 11.7 WmK^{-1}

2.4.3 ด้านความปลอดภัย

- การกินจากอุบัติเหตุ (Ingestion) มีความเป็นอันตรายต่ำ
- การสูดดม (Inhalation) ทำให้เกิดอาการคัน และอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจในระยะยาว
- การสัมผัสผิวหนัง (Skin) มีความเป็นอันตรายต่ำ สามารถล้างออกได้
- การสัมผัสสายตา (Eyes) มีความเป็นอันตรายต่ำ มีอาการแสบ คันเล็กน้อย สามารถล้างออกได้

2.4.4 ประโยชน์ไททาเนียมไดออกไซด์

ปัจจุบันไททาเนียมไดออกไซด์ที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์มาก มักใช้ในรูปของผลึกแบบ รูไทล(rutile) ที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมในด้านต่างๆ ซึ่งพบมากในธรรมชาติ ส่วนชนิดอนาเทส (anatase) นิยมใช้ในกระบวนการใช้แสงชั้นสูง การนำมาใช้ประโยชน์เกี่ยวข้องกับด้านต่างๆ ได้แก่

2.4.4.1 ใช้สำหรับสารให้สี

อุตสาหกรรมสีที่เกี่ยวข้อง มักใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นส่วนผสมของสีทาบ้าน ด้วยคุณสมบัติให้สารสีขาว สามารถดกกลืน และหักเหช่วงแสงที่ตามนุษย์มองเห็นได้สูง ขนาดอนุภาคเล็ก มีความยืดหยุ่นสูงทำให้ปกปิดรอยร้าว รอยตำหนิได้ดี และทนต่อสภาพความเป็นกรด-ด่าง ทนต่อแสง และความร้อน รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมของสีสำหรับงานพิมพ์ งานศิลปะ เนื่องจากมีคุณสมบัติให้สีขาวสว่าง

2.4.4.2 ใช้เป็นสารเคลือบผลิตภัณฑ์

มักใช้เป็นสารเคลือบในอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิ อุตสาหกรรมพลาสติก อุตสาหกรรมแก้ว กระจก อุตสาหกรรมผลิตกระเบื้อง การผลิตสุกัณฑ์ การผลิตเซรามิก อุตสาหกรรมโลหะสำหรับการเคลือบผิวโลหะ อุตสาหกรรมกระดาษสำหรับการเคลือบกระดาษเพื่อลดการทะลุผ่านของแสง ด้วยคุณสมบัติที่สามารถยึดเกาะ และเคลือบติดผิวได้ง่าย มีความทนทานต่อการกัดกร่อน รวมถึงคุณสมบัติที่กล่าวในข้างต้น นอกจากนี้ การใช้ไททาเนียมไดออกไซด์สำหรับเคลือบผิวผลิตภัณฑ์สามารถช่วยลดต้นทุนการผลิต และลดน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ได้อีกทาง

2.4.4.3 เป็นสารกึ่งตัวนำผลิตกระแสไฟฟ้า

การผลิตเซลล์แสงอาทิตย์นิยมใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบ ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์เป็นพลังงานไฟฟ้า

2.4.4.4 ใช้ในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์

อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ที่เกี่ยวข้องกับวงจรไฟฟ้ามักใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเก็บประจุไฟฟ้า ด้วยคุณสมบัติมีค่าคงที่ทางไฟฟ้า และค่าความต้านทานไฟฟ้าสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.5 ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง

เครื่องสำอางบางยี่ห้อที่มีการใช้ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นส่วนผสมสำหรับทำหน้าที่ให้ผงละเอียดสีขาว มีคุณสมบัติทึบแสง สามารถสะท้อน และหักเหแสงได้สูง และสะท้อนรังสียูวีได้ดี ไม่เป็นอันตรายต่อผิว ผลิตภัณฑ์ที่พบใช้เป็นส่วนผสมมาก ได้แก่ ครีมบำรุงผิว ครีมกันแดด แป้งรองพื้น และทาทับบ์ เป็นต้น

2.4.4.6 ใช้ในด้านการบำบัดมลพิษ

- ใช้เป็นสารดูดซับ โดยใช้งานในด้านการบำบัดมลพิษทางอากาศ และมลพิษทางน้ำ ทำหน้าที่เป็นสารตัวดูดซับมลพิษ

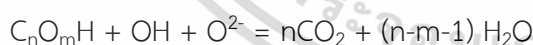
- ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสังเคราะห์แสง

ไททาเนียมไดออกไซด์เมื่อได้รับแสง และความร้อน จะแตกตัวให้สาร และรังสีที่มีคุณสมบัติหลายประการที่สามารถกำจัดของเสียหรือมลพิษในน้ำ และอากาศ รวมถึงการกำจัด และต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีกลไก ดังนี้

- สำหรับการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อแผ่นนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ได้รับแสงจะปลดปล่อยไฮดรอกซิล แรดิคัล (OH[•]) และซูเปอร์ออกไซด์ไอออน (O²⁻) ออกมาสู่อากาศ และอะตอมดังกล่าวจะเข้าดิ่งอะตอมไฮโดรเจน และคาร์บอนจากผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงสารอินทรีย์ที่ทำให้เกิดกลิ่นทำให้จุลินทรีย์ และสารมลพิษต่างๆสลายตัวไป

- สำหรับการบำบัดมลพิษทางอากาศ เช่น การกำจัดก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_x) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) และสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ด้วยการผ่านแสงอัลตราไวโอเล็ตในช่วงคลื่น 300-400 นาโนเมตร จะทำให้เกิดอนุภาคข้างต้นเข้าทำปฏิกิริยากับสารมลพิษดังกล่าวทำให้กลายเป็นกรดไนตริก และกรดซัลฟูริก ส่วนสารอินทรีย์ระเหยง่ายจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกลายเป็นสารอื่นที่มีความเป็นอันตรายน้อยลง

- สำหรับบำบัดมลพิษในน้ำ ด้วยการให้แสงแก่แผ่นตัวกลางนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่แขวนอยู่ในน้ำ เมื่อได้รับแสงจะเกิดการปลดปล่อยอนุภาคดังกล่าวข้างต้นเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ที่แขวนลอยในน้ำกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์



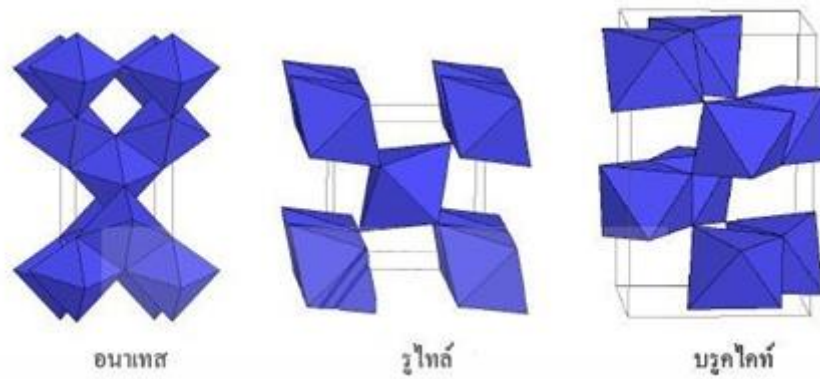
2.4.5 ชนิดไททาเนียมไดออกไซด์ แบ่งตามโครงสร้างของผลึก ได้แก่

- รูไทล์ (rutile) มีโครงสร้างผลึกแบบเทตระโกนัล (tetragonal) เป็นชนิดที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ มีความคงทน และเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงต่ออุณหภูมิที่สูง

- อนาเทส (anatase) มีโครงสร้างผลึกแบบเทตระโกนัล (tetragonal) เป็นชนิดที่พบในธรรมชาติปานกลาง หากให้ความร้อนสูงกว่า 915 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็นแบบรูไทล์

- บรูคไคท์ (brookite) มีโครงสร้างผลึกแบบออร์โธโรมบิก (orthorhombic) เป็นชนิดที่พบได้น้อยในธรรมชาติ มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่ำ หากได้รับความร้อนมากกว่า 750 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็นแบบรูไทล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 โครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide:TiO₂) [30]

2.4.6 นาโนไททาเนียมไดออกไซด์

การประยุกต์ใช้ประโยชน์จากไททาเนียมไดออกไซด์ เพื่อทำให้เกิดแผ่นฟิล์มบางๆของไททาเนียมไดออกไซด์ด้วยวิธีต่างๆ คือ

2.4.6.1 วิธีสปัตเตอร์ริง (sputtering) เป็นการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่อากาศ Ar⁺ ทำให้อิออน Ar⁺ วิ่งเข้าชนกับแผ่นไททาเนียม จนอะตอมของไททาเนียมหลุดออกไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจนแล้วฝังติดบนแผ่นฐานรองจนเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ

2.4.6.2 วิธีโกลด์ดิสชาร์จ (glow discharge) เป็นวิธีการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่พลาสมาของไททาเนียม ทำให้อะตอมไททาเนียมหลุดออกไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจน และจับตัวในตำแหน่งที่ต้องการ

2.4.6.3 วิธีการตกเคลือบด้วยไอเคมี (chemical vapor deposition: CVD) เป็นวิธีให้ความร้อนแก่ไททาเนียมจนเกิดไอของไททาเนียมเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นไททาเนียมไดออกไซด์รวมตัวกันในตำแหน่งที่ต้องการ

2.5 การสังเคราะห์สารโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล (Hydrothermal synthesis)

การสังเคราะห์สาร โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล (Hydrothermal synthesis) เป็นวิธีการสังเคราะห์สารหรือการทำให้เกิดผลึก ในสภาวะที่ใช้อุณหภูมิ และความดันสูง ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ (hydrothermal) การปลูกผลึกโดยวิธีนี้จะใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า autoclave or Teflon lined Hydrothermal Synthesis Autoclave Reactor โดยทั่วไป autoclave นี้จะประกอบด้วยกระบอกและฝาปิดอย่างหนาที่ทำด้วยสแตนเลสสตีล (Stainless steel) ซึ่งยึดกันด้วยเกลียวของฝาและกระบอกสแตนเลส หรือใช้น็อตหกเหลี่ยมที่มีเกลียวยึดฝาและกระบอกสแตนเลส ภายในกระบอกสแตนเลสจะมีภาชนะที่มีลักษณะเป็นกระบอกมีฝาปิดเช่นเดียวกัน ใช้สำหรับใส่สารเคมีและตัวทำละลายต่างๆ วัสดุที่ใช้จะต้องทนกรด-ด่าง รวมถึงทนความร้อนและความดันสูงได้ ซึ่งวัสดุนี้จะทำมาจากเทฟลอน (Teflon) และจะมียางที่ทนความร้อน (O-ring) ประกบระหว่างฝาปิดและกระบอกเทฟลอน เพื่อป้องกันไอของสารรั่วออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของการสังเคราะห์สารหรือการปลูกผลึกด้วยวิธีนี้คือ สามารถสังเคราะห์สารที่ผลึกไม่มีเสถียรภาพที่จุดหลอมเหลว, ผลึกวัสดุที่มีความดันไอสูงใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลว, สามารถควบคุมขนาดผลึกให้เล็กหรือใหญ่ได้ โดยการปรับอัตราส่วนของสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบ และผลึกที่ได้ยังมีคุณภาพดีอีกด้วย ส่วนข้อเสีย คือ ใช้อุปกรณ์ที่มีราคาสูง และ ไม่สามารถสังเกตเห็นกระบวนการเกิดผลึกในขณะที่ทำการทดลองได้

2.6 เทคนิคการขึ้นรูปโครงสร้างเซลล์

2.6.1 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dehydration หรือ Lyophilization) หมายถึงการทำแห้ง (Dehydration) ด้วยการแช่เยือกแข็ง (Freezing) ทำให้น้ำเปลี่ยนสถานะเป็นผลึกน้ำแข็งก่อน แล้วจึงลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิด (Sublimation) เป็นไอด้วยการลดความดันให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ ขณะควบคุมให้อุณหภูมิต่ำ (ที่อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส น้ำแข็งระเหิดที่ความดันเท่ากับ 4.7 มิลลิเมตรปรอทหรือต่ำกว่า) [41-42]

ขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1) การแช่เยือกแข็ง (Freezing) เป็นการลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (Freezing point) เพื่อให้เกิดผลึกน้ำแข็ง (Ice crystal formation) อัตราเร็วของการแช่เยือกแข็ง (Freezing rate) ควรเป็นการแช่เยือกแข็งแบบเร็วเพื่อให้เกิดผลึกและผลึกที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเล็ก การแช่เยือกแข็งแบบเร็วที่นิยมใช้กันมีหลายวิธี เช่น การแช่เยือกแข็งแบบใช้ลมเย็นเป่า (Air blast freezing) การแช่เยือกแข็งแบบไครโอเจน (Cryogenic freezing) และการแช่เยือกแข็งแบบจุ่มในของเหลวเย็นจัด (Immersion freezing) เป็นต้น

2) การทำแห้งขั้นต้น (Primary drying) เป็นการลดปริมาณน้ำ (Dehydration) โดยการระเหิดน้ำแข็งให้เป็นไอ โดยการลดความดันบรรยากาศ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งที่อยู่ภายในเกิดการระเหิดเป็นไอออกไปจากผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ ระดับของสุญญากาศ (Vacuum) ควรอยู่ต่ำกว่า 132 MPa การระเหิดของผลึกน้ำแข็งจึงเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ การระเหิดของชั้นน้ำแข็ง (Ice layer) จะเริ่มจากชั้นน้ำแข็งบริเวณผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ระเหิดไปเป็นไอ ทำให้บริเวณนี้กลายเป็นชั้นแห้ง (Dry layer) จากนั้นเป็นการระเหิดของชั้นน้ำแข็งที่อยู่ภายในผลิตภัณฑ์ระเหิดผ่านชั้นแห้งออกไปสู่ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ ระยะเวลาการระเหิดขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างและโครงสร้างของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด

3) การทำแห้งขั้นที่สอง (Secondary drying) เมื่อการทำแห้งขั้นต้นเสร็จสมบูรณ์น้ำแข็ง จะละลายไปหมดแต่จะมีความชื้นหลงเหลืออยู่ จึงต้องมีการทำแห้งด้วยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น เพื่อดึงเอาความชื้นที่เหลืออยู่ออกถึงระดับความชื้นที่ปลอดภัยสำหรับการเก็บรักษา

2.6.2 การแช่ล้างอนุภาค

เป็นอีกเทคนิคที่ใช้ในการผลิตโครงสร้างเซลล์ โดยใส่สารที่ทำให้เกิดรูพรุนเช่น เกลือ ผงซอร์ส ฯลฯ หรือวัสดุที่มีขนาดตามต้องการใส่เข้าไปในแม่พิมพ์ จากนั้นใส่ตัวทำละลาย เมื่อสารที่ใส่ให้เกิดรูพรุนละลาย

หมดแล้วก็จะเกิดรูพรุนตามขนาดสารที่ทำให้เกิดรูพรุนนั้นๆ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ แต่ขนาดความเป็นรูพรุนนั้นควบคุมยาก [41-42]

2.7 เทคนิคการเชื่อมโยงพันธะด้วยความร้อน

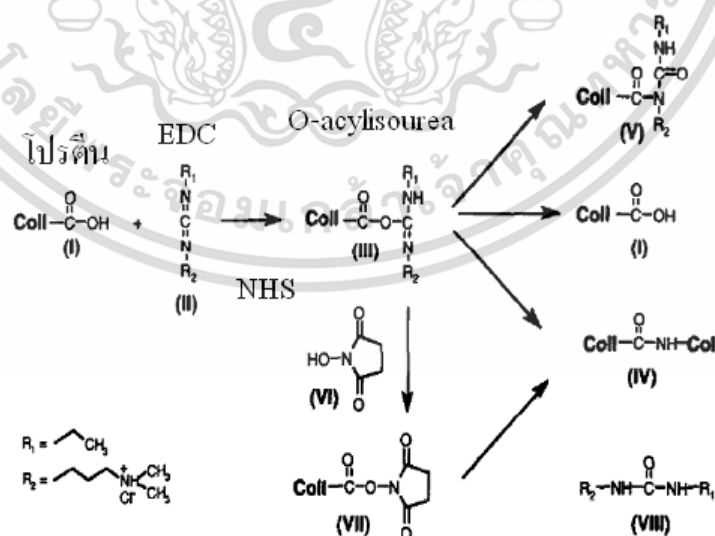
เทคนิคการเชื่อมโยงพันธะของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยโปรตีนเป็นหลักแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ [43]

1) การเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพ ได้แก่ การใช้อุณหภูมิ หรือ Dehydrothermal treatment (DHT)

2) การใช้รังสี เช่น UV-irradiation

3) การเชื่อมโยงพันธะทางเคมี ได้แก่ การใช้สารเคมีกลุ่มของ Aldehyde (Formaldehyde, Glutaraldehyde, Glyceraldehyde), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) Carbodiimide hydrochloride (EDC), Polyepoxides และ Isocyanates

การเชื่อมโยงพันธะทางเคมีด้วย EDC [44] จะเกิดขึ้นระหว่างกลุ่มคาร์บอกซิล (Carboxyl group) ของโปรตีน (I) กับ EDC (II) ผลลัพธ์ที่ได้คือหมู่ O-acylisourea (III) จากนั้น O-acylisourea จะหลุดออกอยู่ในรูปของอนุพันธ์ยูเรียที่สามารถละลายน้ำได้ (VIII) และโปรตีนที่ได้จะทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของโปรตีนตัวถัดไปให้อยู่ในรูปของโปรตีนที่ถูกเชื่อมโยงพันธะ (IV) ส่วนที่มีการเติม N-hydroxysuccinimide (NHS) (VI) ซึ่งช่วยเพิ่มอัตราของการเกิดปฏิกิริยาในการเชื่อมโยงพันธะ โดย NHS จะเข้าไปแทนที่หมู่ O-acylisourea (VII) และหลุดออกไป ทำให้เกิดการกระตุ้นที่กลุ่มคาร์บอกซิลให้มีการทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของโปรตีนตัวถัดไป ซึ่งจะได้เป็นโปรตีนที่เชื่อมโยงพันธะเพียงอย่างเดียว (IV) แสดงตามภาพที่ 2.11

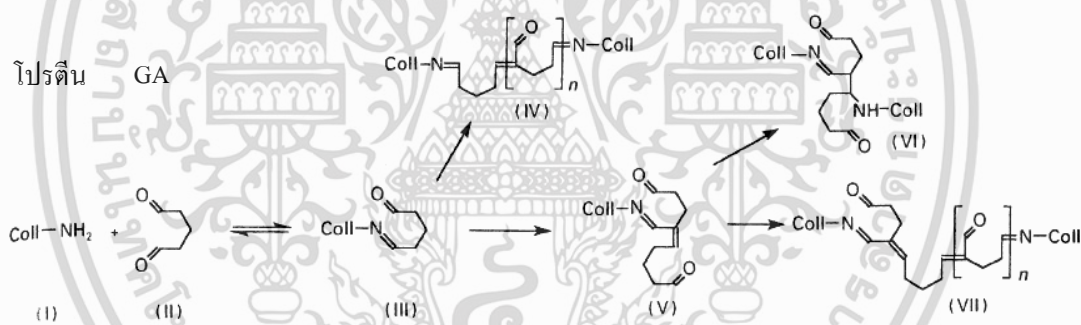


รูปที่ 2.11 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ EDC และ NHS[41]

การเชื่อมโยงพันธะด้วย Glutaraldehyde (GA) แสดงตามรูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาเกิดขึ้น

ระหว่างหมู่แอลดีไฮด์ (Aldehyde) ของ GA (II) กับ หมู่ ϵ -amine ของกรดอะมิโนไลซีน (Lysine) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือ ไฮดรอกซีไลซีน (Hydroxylysine) ในคอลลาเจนชนิดที่ 1 (Collagen type I) (I) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตีนที่เชื่อมโยงพันธะซึ่งอาจเกิดการเชื่อมโยงพันธะออกมาได้หลายรูปแบบ ได้แก่ (IV), (VI) และ (VII) ข้อแตกต่างระหว่างการใช้ EDC และ GA คือโมเลกุลของ EDC จะไม่ตกค้างอยู่ที่หมู่ที่ถูกเชื่อมโยงพันธะ เนื่องจากผลิตภัณฑ์หลังการเชื่อมโยงพันธะ คือ อนุพันธ์ของยูเรีย หรือ 1-Ethyl-3-(3-Dimethylamino propyl) urea ที่สามารถกำจัดออกได้โดยการละลายน้ำทำให้ไม่มีสารตกค้างในโมเลกุลคอลลาเจน ด้วยเหตุนี้โครมเล็งเซลล์ที่เชื่อมโยงพันธะด้วย EDC จึงมีความเป็นพิษต่ำกว่า อย่างไรก็ตาม EDC กำลังอยู่ในระหว่างกระบวนการรับรองความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยา ส่วนการเชื่อมโยงพันธะโดยใช้ GA จะมี GA จะคงอยู่ที่หมู่ที่ถูกเชื่อมโยงพันธะ ซึ่งมักจะมีกระบวนการกำจัดหมู่แอลดีไฮด์ของ GA ที่ตกค้างอยู่ในโมเลกุลโดยการล้างโครมเล็งเซลล์ด้วย ไกลซีน (Glycine) เพื่อให้ไกลซีนทำปฏิกิริยากับ GA ที่ตกค้างและล้างต่อน้ำอีกหลายๆ รอบ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเชื่อมโยงพันธะด้วย GA มีความเป็นเนื้อเดียวกันสูง เนื่องจาก GA มีการกระจายตัวของพันธะทางเคมีอย่างเป็นระเบียบในโมเลกุลซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์นั้น มีสมบัติทางกลที่สูงขึ้น ทั้งนี้ในปัจจุบัน GA ได้รับรองความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกา [45]



รูปที่ 2.12 การเชื่อมโยงพันธะของคอลลาเจน กับ GA[45]

2.8 การออกแบบการทดลอง (Design of Experiments; DOE)

การออกแบบการทดลอง (Design and Analysis of Experiment ; DOE) เป็นการวิเคราะห์ทาง สถิติขั้นสูง ที่ประยุกต์ใช้ในการหาค่าที่เหมาะสมของกระบวนการ เพื่อให้ได้ผลตอบสนองตามที่ต้องการ ซึ่งมีข้อที่แตกต่างอย่างชัดเจน ระหว่างวิธีการที่ใช้กันทั่วไปกับเทคนิคของการออกแบบการทดลอง คือ วิธีการที่ใช้กันทั่วไปจะเป็นการทดลองแบบลองผิดลองถูก หรือใช้การทดลองปรับตั้งค่าของกระบวนการทีละค่า (One-Factor-at-a-Time, OFAT) ซึ่งจะได้ผลตอบสนองตามที่ต้องการได้อย่างช้ามาก อีกทั้งสิ้นเปลืองทรัพยากรต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ การเก็บข้อมูลต้องใช้ข้อมูลเป็นจำนวนมาก และยังไม่เหมาะสมกับกระบวนการที่มีอันตรกิริยาระหว่างตัวแปรของกระบวนการด้วยตนเอง[45-48]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1 ขั้นตอนการออกแบบการทดลอง

วิเคราะห์การทดลองด้วยหลักการทางสถิติในการออกแบบ ซึ่งผู้ทำการทดลองจำเป็นต้องมีความเข้าใจในวิธีการเก็บข้อมูลจากกระบวนการ ตลอดจนการนำข้อมูลไปทำการวิเคราะห์ ซึ่งขั้นตอนของการออกแบบการมีดังนี้ [49-50]

2.8.1.1 การนิยามปัญหา (Statement of the Problem) เป็นการระบุว่าต้องการรู้อะไรบ้างในการผลิต และความต้องการในการผลิตคืออะไร ซึ่งจะเป็นการนิยามปัญหา โดยจะเกี่ยวข้องไปถึงวัตถุประสงค์ ของการทดลอง

2.8.1.2 การเลือกปัจจัย และระดับของปัจจัย (Choice of Factors, Levels, and Ranges) เป็นการนำหลักการทางทฤษฎีมาใช้ พร้อมทั้งประสบการณ์จากงานวิจัยต่างๆ เพื่อระบุปัจจัยที่น่าจะมีผลต่อ การทดลอง และในแต่ละปัจจัยนั้นจะกำหนดมีช่วงระหว่างในการทดลองเท่าไร (Range)

การกำหนดระดับของปัจจัยสามารถแบ่งได้ 3 แบบดังนี้

- แบบกำหนด (Fixed Effect) หมายถึง ระดับของปัจจัยที่กำหนดค่าได้แน่นอนโดยผู้ทดลองเป็นผู้กำหนดเอง หรือสามารถควบคุมได้
- แบบสุ่ม (Random Effect) หมายถึง ระดับของปัจจัยที่กำหนดค่าของปัจจัยได้ไม่แน่นอน หรือ ไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งจะได้ผลการทดลองที่จะเป็นตัวแทนของทั้งปัจจัย โดยไม่ได้เป็นตัวแทนของระดับใดระดับหนึ่งในการทดลอง
- แบบผสม (Mixed Effect) หมายถึง การผสมผสานระดับของปัจจัยที่เป็นการรวมกัน ทั้งแบบสุ่มและแบบกำหนดได้

1.การเลือกตัวแปรตอบสนอง (Selection of the Response Variable) แปรตอบสนองที่กำหนด ผู้วิจัยจำเป็นต้องเลือกตัวแปรของข้อมูลที่น่าสนใจในการวิเคราะห์ และที่เป็นค่าที่วัดค่าได้ ซึ่งจะต้องเป็นข้อมูลที่มีความแม่นยำ และถูกต้อง

2.การเลือกแบบการทดลอง (Choice of Experimental Design) เมื่อกำหนดทรีทเมนต์ (Treatment) และตัวแปรตอบสนอง (Response Variables) แล้วต้องทำการพิจารณาเกี่ยวกับขนาดของการทดลอง ซึ่งจะหมายถึง ความเหมาะสมของลำดับในการ ทดลองข้อจำกัดในการสุ่ม (Randomization) จำนวนซ้ำของการทดลอง (Replicate) และการบล็อก (Blocking) โดยจำเป็นต้องพิจารณาต้นทุนที่ใช้ในการทดลอง

3.การดำเนินการทดลอง (Performing the Experiment) ผู้วิจัยจำเป็นต้องปฏิบัติตามหลักการที่ไว้ออกแบบไว้ ในการดำเนินการทดลองผู้วิจัยจะต้องมีความละเอียด และดูแลอย่างใกล้ชิด

4.การวิเคราะห์ข้อมูล (Statistical Analysis of Data) ใช้หลักการสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล พร้อมทั้งสรุปผลรวม ทั้งตัดสินความถูกต้องของข้อมูลที่เกิดขึ้นก่อนที่จะตีความข้อมูลและ วิธีการทางสถิติไม่สามารถบอกได้ว่าปัจจัยมีผล (Effect) เท่าใดแน่นอน แต่เป็นเพียง เครื่องมือที่ให้แนวทางในการวิเคราะห์ภายใต้ช่วงของความเชื่อมั่นในการสรุปผล

5.การสรุปผลและข้อเสนอแนะ (Conclusions and recommendations) การสรุปผลการวิเคราะห์ เพื่อจะทำให้ข้อมูลสามารถเข้าใจได้ง่าย จำเป็นต้องแสดงในรูป ตาราง กราฟ แผนภูมิ ฯลฯ และให้ข้อเสนอแนะเพื่อจะได้นักงานวิจัยที่ทำการศึกษาไปทำการต่อยอด และปรับปรุงกระบวนการผลิตให้ดีขึ้น

2.8.2 ส่วนประกอบต่างๆ ของการทดลอง

2.8.2.1 วิธีปฏิบัติหรือทรีทเมนต์ (Treatment) คือ วิธีที่ผู้วิจัยทำการทดลองต้องปฏิบัติต่อสิ่งทดลอง เพื่อวัดผลเปรียบเทียบกับวัตถุประสงค์ของการทดลอง

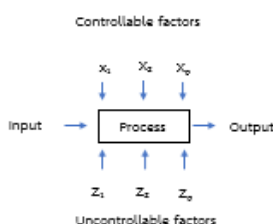
2.8.2.2 ปัจจัย (Factor) หมายถึง เป็นตัวที่มีผลต่อตัวแปรตอบสนอง และนำมาเพื่อพิจารณาในการทดลอง ปัจจัยสามารถเป็นได้ทั้งเชิงคุณภาพ หรือเชิงปริมาณ กลุ่มของทรีทเมนต์ทั้งหลายที่มีความ เกี่ยวข้องกัน (A articular Class of Related Treatment) สามารถที่จะใช้คำว่า ตัวแปรอิสระแทนก็ได้ โดยปัจจัยดังแสดงในรูปที่ 2.13 สามารถแบ่งออกได้เป็น

1.ปัจจัยที่ควบคุมได้ (Control lable Factors) หมายถึง ปัจจัยที่ผู้วิจัยสามารถกำหนดค่าของปัจจัยนั้นได้ ในการดำเนินการทดลอง

2.ปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ (Uncontrol lable Factors) หมายถึง ปัจจัยที่ผู้วิจัยไม่สามารถกำหนดค่าของปัจจัยนั้นได้ อาจจะมีสาเหตุมาจากการมีข้อจำกัดทางด้านเทคโนโลยี และต้นทุนปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ แบ่งออกเป็น

- ตัวแปรรบกวน (Noise Variable หรือ Background Variable) หมายถึง ตัวแปรที่มีผลต่อตัวแปรตอบสนอง (Response Variable) แต่ไม่ใช่ปัจจัยที่ผู้วิจัยกำลังทำการศึกษาก็จะ ได้แก่ เครื่องมือ อุปกรณ์ หรือเวลา เป็นต้น

- Nuisance Variable คือ ตัวแปรที่มีผลต่อตัวแปรตอบสนอง แต่เราไม่ทราบมาก่อน สามารถกำจัดอิทธิพลของ Nuisance Variable ได้โดยการสุ่ม



รูปที่ 2.13 ปัจจัยและพารามิเตอร์ของกระบวนการ [49]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2.3 ตัวแปรตอบสนอง (Response Variable) คือ เป็นตัวแปรที่ผู้วิจัยสนใจ หรือเป็นตัววัดของการทดลอง หรืออาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าตัวแปรตาม ซึ่งเป็นตัวที่ใช้ในการสะท้อนให้เห็นถึงอิทธิพลของตัวแปรอิสระ ของการทดลองหนึ่งๆ ซึ่งสามารถวัดค่าตัวแปรตามมากกว่า 1 ก็ได้ การเลือกตัวแปรตามที่ดีควร ความเชื่อถือได้ (Reliability) พิจารณาจากความไว (Sensitivity) นอกจากนี้ในการเลือกตัวแปรตามจะต้องพิจารณาว่า ค่าสังเกตที่ได้จาก ทริทเมนต์หนึ่งๆควรมีการแจกแจงแบบปกติโดยประมาณซึ่งข้อสมมติในเรื่องความเป็นปกติ(Normality) เป็นสิ่งจำเป็นในการออกแบบการทดลอง ซึ่งสามารถจะใช้การแปลงข้อมูล(Transformation) ค่าสังเกตที่มีการแจกแจงไม่ปกติเป็นแบบปกติได้

หลักการพื้นฐาน 3 ประการ สำหรับการออกแบบการทดลอง คือ

1. การทดลองซ้ำ (Replication) ซึ่งมีสมบัติที่สำคัญ 2 ประการคือ ประการแรก ทำให้การทดลองสามารถหาค่าของความผิดพลาดในการทดลองได้ และประการที่สอง ถ้าค่าเฉลี่ยถูกนำมาใช้เพื่อประมาณผลที่เกิดจากปัจจัยหนึ่งการทดลองเรพลีเคชันทำให้ผู้วิจัยสามารถหาตัวประมาณที่ถูกต้องยิ่งขึ้น

2.การทำแบบสุ่ม (Randomization) หมายถึง การทดลองที่มีทั้งวัสดุที่ถูกนำมาใช้ในการทดลอง และลำดับของการทดลองในแต่ละครั้งเป็นแบบสุ่ม (Random) วิธีการเชิงสถิติกำหนดว่า ข้อมูลจะต้องเป็นปัจจัยแบบสุ่มที่มีการกระจายแบบสุ่มที่มีการกระจายแบบอิสระ การที่ผู้วิจัยสุ่มการทดลองทำให้ผู้วิจัยสามารถลดผลของปัจจัยภายนอกที่สามารถเกิดขึ้นได้การทดลองได้ วัตถุประสงค์ของการสุ่มมีดังนี้

2.1 เพื่อจัดการมือคติ หรือเอนเอียงของผู้วิจัย และเพื่อให้แน่ใจได้ว่าทริทเมนต์ ต่างๆ จะอิสระต่อกันในเรื่องที่เกี่ยวกับการทดลอง การสุ่มจึงเป็นวิธีการที่นำมาใช้ ในการป้องกันการมือคติใดๆ เกิดขึ้นในการทดลอง

2.2 การทดสอบทางสถิติ และวิเคราะห์ นั้นต้องมีความคลาดเคลื่อน (Error) จะต้องเกิดขึ้น โดยสุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน การสุ่มจึงเป็นการทำให้ข้อมูลถูกจัดหรือเฉลี่ยความผันแปรภายนอกที่ผู้วิจัยควบคุมไม่ได้ให้เกิดขึ้นกับการทดลอง โอกาสเท่าๆ กันการทำแบบสุ่มยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 วิธี คือ

- การทำแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomization)
- การทำแบบสุ่มอย่างง่าย (Simple Randomization)
- การทำแบบสุ่มแบบสมบูรณ์ภายในบล็อก (Complete Randomization)

3.การบล็อก (Blocking) เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับช่วยเพิ่มเรื่องความเที่ยงตรงให้กับการทดลอง บล็อกอันหนึ่งอาจจะหมายถึง ส่วนหนึ่งของวัสดุที่นำมาใช้ในการทดลองที่ต้องมีความเป็น

อันหนึ่งอันเดียวกันมากกว่าเซตของทั้งหมดของวัสดุ การเปรียบเทียบเงื่อนไขที่น่าสนใจต่างๆ ภายในแต่ละบล็อกจะเกิดขึ้นได้จากการทำบล็อก

2.8.3 การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล

การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลเป็นที่นิยมแพร่หลายโดยใช้มากในการทดลองที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่มีหลายปัจจัยที่ต้องการจะศึกษาถึงผลรวมที่มีผลต่อผลตอบสนองที่เกิดขึ้นจากปัจจัยดังกล่าว การทดลองแบบแฟกทอเรียลเป็นวิธีการทดลองที่มีประสิทธิภาพมาก ในการตรวจสอบอิทธิพลของหลายๆ ปัจจัย (Factor) พร้อมกัน[51-53] ซึ่งคำว่าแฟกทอเรียล หมายถึง การทดลองที่สมบูรณ์ของแต่ละครั้ง หรือแต่ละซ้ำของการทดลอง นั่นคือ มีการนำระดับของปัจจัยต่างๆ ร่วมกันวิเคราะห์จึงสามารถตรวจสอบอิทธิพลต่างๆ ในการทดลองครั้งหนึ่งๆ ได้พร้อมกัน ดังแสดงในภาพที่ 2.13 เช่น ถ้าปัจจัย A มีปัจจัย B มี C ระดับ แต่ละซ้ำจะมี AB รูปแบบการทดลอง (Treatment Combination) แบ่งได้ 2 ประเภท คือ

1.อิทธิพลหลัก(Main Effect) คืออิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อตัวแปรตอบสนองด้วยตัวเอง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยเกิดขึ้น

2.อิทธิพลร่วม(Interaction Effect) คือ อิทธิพลของปัจจัยหนึ่งที่จะมีผลกับตัวแปรตอบสนอง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยร่วมกัน

(1) อิทธิพลของปัจจัยร่วมไม่มีผล (2) อิทธิพลของปัจจัยร่วมมีผล



การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลมีอยู่ด้วยกันหลายแบบ ได้แก่

(1) การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล 2 ปัจจัย เป็นการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบอย่างง่าย จะมีปัจจัย 2 ปัจจัย เช่น ปัจจัย A และปัจจัย B โดยปัจจัย A จะประกอบด้วย a ระดับ ส่วนปัจจัย B จะประกอบด้วย b ระดับ โดยในแต่ละการทดลองซ้ำของการทดลองจะประกอบด้วย การทดลองร่วมจำนวนปัจจัยทั้งหมดเท่ากับ $a \times b$ การทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 2^k เป็นการออกแบบการทดลองที่ใช้ในกรณีที่มีปัจจัย k ปัจจัย โดยแต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ และระดับเหล่านี้สามารถจะมาจากข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ความดัน อุณหภูมิ หรือสามารถจะมาจากข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น คนงาน เครื่องจักรและใน 2 ระดับจะถูกแทนโดยระดับสูงและต่ำของแต่ละปัจจัยหนึ่ง ๆ

(3) การออกแบบเศษส่วนเชิงแฟกทอเรียล แบบ 2 ระดับ หรือการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 2^k เป็นการออกแบบการทดลองที่ผู้วิจัยสามารถละเอียดอันตรกิริยาขึ้นสูงบางตัวได้ เนื่องจาก ถ้าการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 2^k แบบเต็มมีจำนวนปัจจัยมาก ดังนั้นจำนวนการทดลองอาจจะเพิ่มขึ้นมากเกินกว่าทรัพยากรที่มี การออกแบบนี้จะทำให้เกิดการทดลองจำนวนน้อยที่สุดที่สามารถทำได้ แต่ยังสามารถศึกษาถึงผลของปัจจัยทั้ง k ชนิดได้อย่างครบถ้วน

(4) การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 3 ระดับ หรือการออกแบบเชิงแฟกทอเรียล $3k$ หมายถึงการออกแบบเชิงแฟกทอเรียล ซึ่งแต่ละปัจจัยจะมี 3 ระดับ และในแต่ละระดับของทั้งสามปัจจัยจะมีค่าเป็นต่ำ ปานกลางและสูง โดยจะใช้สัญลักษณ์แทนระดับทั้งสามเป็นตัวเลข -1, 0 และ 1 ตามลำดับ ซึ่งจะสังเกตว่าการทดลองเช่นนี้จะมีระดับที่สามเพิ่มเข้ามาในการทดลอง ซึ่งทำให้สามารถผู้วิจัยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบที่สนใจ

การทดลองชนิดแฟกทอเรียลมีข้อดีและข้อเสีย ดังนี้

ข้อดี

1. เป็นการทดลองโดยใช้หน่วยทดลองทั้งหมด เพื่อทำการตรวจสอบอิทธิพลของทรีทเมนต์หลายทรีทเมนต์ พร้อมทั้งได้จึงเป็นใช้เวลาอันน้อยกว่าการทดสอบครั้งละ 1 ปัจจัย
2. ทำให้สามารถทำการตรวจสอบอิทธิพลของกิริยาร่วมระหว่างปัจจัยได้ จึงช่วยในการสรุปผลได้อย่างครอบคลุมกว่าการทดลองครั้งละ 1 ปัจจัย

ข้อเสีย

1. เนื่องจากมีรูปแบบการทดลอง (Treatment Combination) จึงจำเป็นต้องใช้หน่วยทดลองมากขึ้น และอาจมีข้อจำกัดเกี่ยวกับจำนวนหน่วยทดลอง
2. ในกรณีที่มีกิริยาร่วมเกิดขึ้น สามารถทำให้การสรุปผลที่เข้าใจง่ายได้ยาก
3. ในกรณีที่จำนวนปัจจัยมีมากขนาดของการทดลองมีจำนวนที่มากขึ้น ซึ่งทำให้เป็นการเสียค่าใช้จ่ายในการทดลองสูง

(5) ออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบบางส่วน (Fractional Factorial Designs) ความหมายและหลักการออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบบางส่วนหมายถึง วิธีที่วิจัยไม่ต้องทำการทดลองให้ครบทุกการทดลอง อาจจะเกินจากจำนวนการทดลองมีจำนวนมากเกินไป เสียค่าใช้จ่ายในการทดลองค่อนข้างสูง แต่วิธีนี้ในเรื่องความแม่นยำของผลก็ไม่เท่ากับ Full factorial ในเชิงทฤษฎี ซึ่งโดยทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้วิจัยจะทำการทดลองแบบ Full factorial แต่มีโอกาที่จะได้ผลที่มีความแม่นยำน้อยกว่า Fractional factorial สาเหตุเพราะหากยิ่งการทดลองมีหลายปัจจัย อาจจะทำให้เกิดการควบคุมการทดลองเป็นไปด้วยความลำบาก โอกาสที่จะเกิดความผิดพลาดจากกระบวนการทดลองมีสูง

ดังนั้นนักวิจัยยุคแรกๆ ได้ทำการค้นพบว่าเมื่อผู้วิจัยดำเนินการทดลองจะมีเพียงบาง Main effects และบาง Interaction เท่านั้นที่มีความสำคัญ ซึ่งถ้ามาลำดับของ Interaction สูงขึ้นก็ยังมีโอกาสจะมีนัยสำคัญน้อยลง ดังนั้นจึงได้นำเอาหลักการนี้ไปใช้ประโยชน์เพื่อลดจำนวนของการทดลอง

ตารางที่ 2.2 อัตราส่วนของผลจาก Main Effects ต่อจำนวน Effects รวมทั้งหมดในการทดลอง

จำนวน Main effects	จำนวน Interaction effects	จำนวนรวม effects	อัตราร้อยละของ Main effects
1	0	1	100
2	1	3	66.7
3	4	7	42.9
4	11	15	26.7
5	26	31	16.1
6	57	63	9.5
7	120	127	5.5
8	247	255	3.1
9	502	511	1.8
10	1013	1023	1

จากตารางที่ 2.2 จะพบว่าสัดส่วนของ Main Effects ต่อ Effects ทั้งหมดจะยิ่งลดลงเรื่อยๆ เมื่อการทดลองนั้นมีจำนวนปัจจัยมากขึ้น เช่น หากการทดลองนั้นมี 6 ปัจจัย สัดส่วนผลที่มาจาก Main Effects จะมีเพียงแค่ 9.5% ของจำนวนเท่านั้น Effects รวมที่เหลืออีก 90.5% เป็น Interaction Effects ซึ่งส่วนใหญ่ก็ไม่มีนัยสำคัญเชิงสถิติต่อการทดลองนั้นด้วย

วิธีการสร้าง Fractional Factorial แบบ 2^{k-1} Design

ความหมายคือ เมื่อออกแบบเสร็จจะได้จำนวนการทดลองเท่ากับ Full Factorial Design ของการออกแบบเมื่อจำนวนปัจจัยมีอยู่ต่ำกว่าอยู่ 1 ตัว ($k-1$) หรือจำนวนทดลองจะเท่ากับครึ่งหนึ่งของการ ออกแบบการทดลองแบบ Full Factorial Design ผู้วิจัยจึงเอาหลักการที่ว่ายิ่งอันดับ

Interaction สูงเท่าใดก็จะได้ความสำคัญน้อยเท่านั้น และนำเอา Main Effects บางตัวเข้าแทนที่

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Interaction ดังกล่าว ตัวอย่างที่ 1 มีปัจจัย 4 ตัวคือ A, B, C, D ถ้าออกแบบโดยใช้วิธี 2^k Full Factorial Design จะมีจำนวนรอบการทดลองทั้งหมด 16 Run ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 Full Factorial สำหรับ 4 ปัจจัย

Run	A	B	C	D
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	-1
3	-1	+1	-1	-1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	-1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	-1
9	-1	-1	-1	+1
10	+1	-1	-1	+1
11	-1	+1	-1	+1
12	+1	+1	-1	+1
13	-1	-1	+1	+1
14	+1	-1	+1	+1
15	-1	+1	+1	+1
16	+1	+1	+1	+1

เมื่อทำการทดลองแบบ Fractional Factorial Design โดยให้เหลือจำนวน 8 การทดลอง เท่ากับจำนวนการทดลองของ 3 ปัจจัย เราเริ่มด้วยการ เขียน 3 Main Effects และ Interaction ทั้งหมดในตารางซึ่งจะเรียก 3 Main Effects นี้ว่าตัวให้กำเนิด (Generator) ของ Factor D

ตารางที่ 2.4 Main Effects และ Interaction ของ 3 ปัจจัย

A	B	C	AB	AC	BC	ABC
-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1
+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1
-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1
-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1
+1	-1	+1	-1	+1	-1	-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-1	+ 1	+ 1	-1	-1	+ 1	-1
+ 1	+ 1	+ 1	+1	+ 1	+ 1	+ 1

และหลังจากนั้นให้นำค่าของ Interaction ที่มีอันดับสูงสุดเป็นค่าของ Main Effect ตัวที่เหลือจาก ตารางที่ 2.4 Interaction ที่มีอันดับสูงสุดคือ ABC ซึ่งจะนำมาใช้เป็นค่าของ D จึงได้ตาราง Fractional Factorial Design ของ 4 ปัจจัยตามตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 Fractional Factorial Design ของ 4 ปัจจัย

Run	A	B	C	D
1	-1	-1	-1	-1
2	+ 1	-1	-1	+ 1
3	-1	+1	-1	+1
4	+ 1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+ 1	+ 1
6	+ 1	-1	+ 1	-1
7	-1	+1	+ 1	-1
8	+ 1	+1	+ 1	+ 1

จากตารางที่ 2.5 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับตารางที่ 2.2 คือ แถวที่พื้นที่เหลือ วิธีการออกแบบแบบนี้ จะได้จำนวนการทดลองครึ่งหนึ่งของ Full Factorial Design เสมอหรือ $\frac{1}{2}$ Fraction Factorial Design ซึ่งจะเรียกวิธีการออกแบบการทดลองนี้ว่า Half Factorial Design หรือ 2^{k-1} Factorial Design เมื่อมีการทำการทดลองตามนี้ออกแบบนี้ก็เรียกว่า Half Factorial Experiment

2.8.4 Alias / Confound

เมื่อผู้วิจัยจะทำการเลือกใช้วิธี Fractional Factorial Design ผู้วิจัยจะทำการทดลองด้วยจำนวนการทดลองที่ลดลงได้ มากกว่าครึ่งหนึ่ง ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะไม่สามารถแยกแยะผลกระทบของ Effects ได้ ซึ่งจะทราบแล้วว่าตอนนี้ $D=ABC$ คือ ถ้าสมมติเราพบว่า D เป็น Main Effects ที่มีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากการวิเคราะห์แล้ว จะเกิดคำถามอยู่ที่ว่าเป็น Interaction ของตัวปัจจัย ABC หรือว่า D กันแน่ กรณีเช่นนี้เราเรียกว่า D มี Alias คือ ABC หรืออีกนัยหนึ่ง ABC คือ Alias ของ D ได้เช่นกัน กรณีเช่นนี้เราจะเรียกว่า D และ ABC เกิด Confound กันด้วยเช่นกัน ใช่เพียงแค่นี้หากเราทำการทดลองตามตารางที่ 2.6 แล้ว จะมี Alias เกิดขึ้นหลายคู่ ดังตารางที่ 2.6 นี้คือคู่ Alias ที่เกิดขึ้นลักษณะนี้จะเรียกว่า Alias structure

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 Alias structure ของ 4 ปัจจัย

A	B	C	D	AB	AC	AD	BC	BD	CD	AB	AB	AC	BC	AB
-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1
-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1
1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1
-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1
1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1
-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

และอาจจะเขียน Alias structure ได้ดังนี้

$$A=BCD$$

$$B=ACD$$

$$C=ABD$$

$$D=ABC$$

$$AB=CD$$

$$AC=BD$$

$$AD=BC$$

$$I = ABCD$$

2.8.5 Defining Word

ถ้าใช้รหัสของแต่ละ Column คุณตัวเอง (ยกกำลังสอง) จะได้รับรหัสเท่ากับ (+1) ทุกตัว เสมอ ซึ่งจะเรียก Column ที่ได้ใหม่นี้ว่า Identity หรือ I

จากตารางที่ 2.5 เมื่อ $D = ABC$

ดังนั้น ถ้านำ D คูณทั้งสองฝั่ง จะได้เป็น $DD = ABCD$

หรือ $I = ABCD$

และจะเรียก $I=ABCD$ นี้ว่า Defining relation โดยสามารถนำไปใช้ในการหา Alias ได้ โดยนำ Effect ที่เราอยากทราบ Alias คูณทั้งสองฝั่งของสมการ Defining Relation เช่น ถ้าในกรณีนี้ เราอยากทราบว่า AB จากตารางที่ 2.6 Alias อยู่กับ Effect อะไร ก็หาได้จาก

$$I(AB) = ABCD(AB)$$

$$AB = A^2B^2CD$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$AB = ICD = CD$$

นั่นคือ A Balias อยู่กับ CD นั่นเอง

2.8.6 Vertical Balance

Vertical Balance คือการทดสอบความเท่ากันของจำนวน Code (+1) และ (-1) ของแต่ละ Column ทั้งของ Main Effects และ Interaction Effects ในตารางหลังจากการออกแบบการทดลอง โดยเงื่อนไขคือ ผลรวมของแต่ละ Column จะต้องเท่ากับ 0 ซึ่งหมายความว่าเรามีการเปลี่ยนแปลงค่าของปัจจัยนั้นให้เป็น High และ Low ในจำนวนครั้งที่เท่ากัน ผู้ออกแบบจะต้องทำการทดสอบทุกครั้ง

2.8.7 Orthogonal

เมื่อนำเอา Code (+1) หรือ (-1) ของ 2 Column ที่อยู่ติดกัน และอยู่แนว Row เดียวกัน คูณกัน ทุกๆ Row ของ 2 Column ดังกล่าวแล้วนำผลลัพธ์ดังกล่าวรวมกันจะต้องได้เท่ากับ 0 เสมอ ซึ่งหมายความว่า เมื่อเราทำการวิเคราะห์ผลการทดลองแล้วจะไม่ปรากฏเหตุการณ์ที่ปัจจัย (Factor) หนึ่งแปรเปลี่ยนตามอีกปัจจัย (Factor) หนึ่ง (Dependen cytest) ถ้าสมมติว่าไม่เป็น orthogonal แล้ว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าจะต้องทำการเปลี่ยนแปลงค่าของปัจจัย (Factor) มากกว่า 1 ตัว เป็น High หรือ Low พร้อมกัน ซึ่งสามารถจะส่งผลให้เราตีความผิดพลาดแยกแยะไม่ออกว่า Response แปรค่าตามปัจจัย (Factor) ใด การออกแบบการทดลองที่ดีจะต้องได้ตารางเป็น Orthogonal ผู้ออกแบบจะต้องทำการทดสอบทุกครั้ง เช่นเดียวกับ Vertical Balance และทำให้ครบทุก Column แต่ครั้งละ 1 คู่ เท่านั้น

2.8.8 วิธีการสร้าง Fractional Factorial Design แบบ 2^{k-p} Design

ในกรณีมีปัจจัย (Factor) อยู่ 3-5 ตัว อาจจะสามารถใช้วิธี Half Factorial Design หรือ 2^{k-1} Factorial Design ได้ แต่ในกรณีที่จำนวนปัจจัย (Factor) เพิ่มมากขึ้น ก็จะเป็นการยากที่เราจะสามารถทำ การทดลองตามแบบที่ออกแบบไว้ได้ เพราะจำนวนการทดลองก็จะยิ่งเยอะเกินกว่าจะทำตามได้

ตารางที่ 2.7 จำนวน Run เทียบกับจำนวน Factor ของแต่ละ Design

จำนวน Factor	จำนวน Run Full factorial design	จำนวน Run 2^{k-1}	จำนวน Run 2^k ²	จำนวน Run 2^{k-3}
3	8	4	N/A	N/A
4	16	8	N/A	N/A
5	32	16	8	N/A
6	64	32	16	8
7	128	64	32	16
8	256	128	64	32
9	512	256	128	64

จากตารางที่ 2.7 จะพบว่าผู้ออกแบบการทดลองจำเป็นต้องใช้ค่า P ที่ไม่ต่ำกว่า 1 ในการออกแบบ เมื่อมีปัจจัย (Factor) ตั้งแต่ 6 ตัวขึ้นไป ซึ่งมีข้อกำหนดคือ ในกรณีที่มีการออกแบบ ควรจะให้จำนวนการทดลอง เริ่มต้นที่ 8 และไม่ควรงิน 32

ตัวอย่างในกรณีมี 2 ปัจจัย (Factor) ทั้งหมด 7 ตัว (A,B,C,D,E,F,G) ซึ่งในการทดลองแต่ละปัจจัย (Factor) ปรับได้ 2 ค่า (Level) จากตารางที่ 2.7 ถ้าทำการออกแบบโดยใช้วิธี Full Factorial Design จะมีจำนวนการทดลองเท่ากับ $2^7 = 128$ ซึ่งไม่มีโอกาสเป็นไปได้เลยที่จะทำการทดลองให้ได้ตามนั้น ถึงแม้แต่ Half Factorial Design ก็ยังมีถึง 64 การทดลองก็ยิ่งถือว่ามากอยู่ และในกรณีที่ต้องการออกแบบการทดลองโดยให้เหลือจำนวนการทดลองเพียง 16 เท่ากับ Full factorial ของ 4 ปัจจัย (Factor) นั่นคือ $2^4 = 16$ ดังนั้น $p=4$ นั่นคือเราเลือกการออกแบบ 2^{7-3}

ในขั้นตอนก็คล้ายกับวิธี 2^{k-1} การเขียน Full Factorial Design ของ Main Effect A,B, C, D และใช้เป็นตัวกำเนิด Main Effect E, F, G ที่เหลือ ซึ่งในที่นี้จะเลือก $E=ABC$, $F=BCD$, $G=ABD$

ตารางที่ 2.8 ผลการออกแบบโดยวิธี 2^{7-3}

Run	A	B	C	D	E=AB	F=BC	G=AB
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	-1	1	-1	-1
3	1	1	-1	1	-1	-1	1
4	1	1	-1	-1	-1	1	-1
5	1	-1	1	1	-1	-1	-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6	1	-1	1	-1	-1	1	1
7	1	-1	-1	1	1	1	-1
8	1	-1	-1	-1	1	-1	1
9	-1	1	1	1	-1	1	-1
10	-1	1	1	-1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1	1	-1	-1
12	-1	1	-1	-1	1	1	1
13	-1	-1	1	1	1	-1	1
14	-1	-1	1	-1	1	1	-1
15	-1	-1	-1	1	-1	1	1
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1

การศึกษาถึงสาเหตุของการเลือก $E=ABC$, $F=BCD$, $G=ABD$ จะเป็น $E=AB$, $F=BC$, $G=CD$ เพราะว่าข้อสมมติฐานที่ว่า Interaction ระดับที่สูงกว่า มีโอกาสมีนัยสำคัญทางสถิติน้อยกว่า Interaction ที่มีระดับต่ำกว่า นั่นคือ Interaction ของ 3 Main Effect ย่อมมีโอกาสมีนัยสำคัญทางสถิติ น้อยกว่า Interaction ของ 2 Main Effects ซึ่งการวิเคราะห์ก็จะมีโอกาสตีความ Confounding ก็จะผิด น้อยลง ซึ่งจำเป็นต้องเลือก 3 Main Effect แทนตัวของปัจจัยที่เหลือ ถ้าสาเหตุเป็นเช่นนี้ก็ต้องใช้ 4 main effect แทน แต่ที่ไม่ใช่เพราะ 4 Main Effect ในกรณีการออกแบบ ด้วยวิธี 2⁷⁻³ หากใช้เพียง 1 ก็ไม่พอที่จะใช้แทน 3 Main Effect ที่เหลือได้ ซึ่งข้อกำหนดพื้นฐานคือ ต้องใช้ระดับ Interaction เดียวกันแทน main effects ที่เหลือทุกตัว

จากการที่ต้องใช้ $E=ABC$, $F=BCD$, $G=ABD$ ในการออกแบบ ถ้าเอาตัว Main Effect คุณทั้งสองด้านจะได้

$$EE = I = ABCEFF = I = BCDFGG = I = ABDG$$

ซึ่งคือจะได้ Defining Word เริ่มต้น 3 ตัวคือ $I = ABCE = BCDF = ABDG$ เมื่อนำ Defining word เข้ามาคูณกันเอง ทีละคู่และคูณกันเองทั้งหมดจะได้เป็น $I_2 = ABCE(BCDF)$ จะได้เป็น $I = AB_2C_2DEF$ หรือ $I = ADEF$ $I_2 = ABCE(ABDG)$ จะได้เป็น $I = A_2B_2CDEG$ หรือ $I = CDEG$

$$I_2 = ABDG(BCDF) \text{ จะได้เป็น } I = AB_2D_2CFG \text{ หรือ } I = ACFG$$

$$I_3 = (ABCE)(ABDG)(BCDF) \text{ จะได้เป็น } I = A_2B_3D_2C_2EFG \text{ หรือ } I = BEFG$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น Defining Word คือ $I = BCE=BCDF=ABDG=ADEF=CDEG=ACFG=BEFG$ สามารถหา Alias ทั้งหมดได้ด้วยการนำ Effect ที่เราต้องการทราบว่า มี Alias อะไรบ้างคูณเข้ากับ Defining word ดังตัวอย่างต่อไปนี้ Alias ของ A หาได้จาก

$$I(A) = ABCE(A)=BCDF(A)=ABDG(A)=ADEF(A)=CDEG(A)=ACFG(A)=BEFG(A) \quad A = \\ BCE=ABCDF=BDG=DEF=ACDEG=CFG=ABEFG \text{ Alias ของ BCD หาได้จาก } I(BCD) \\ =ABCE(BCD)=BCDF(BCD)=ABDG(BCD)=ADEF(BCD)=CDEG(BCD)=ACFG(BCD)=BEFG(BCD) \\ BCD = ADE = F = ACG = ABCEF = BEG = ABDFG = CDEFG$$

2.8.9 Resolution (R)

Resolution คือ ระดับความละเอียดของผลลัพธ์ ของการวิเคราะห์หาได้จากความยาว ของ Alias ที่สั้นที่สุดจาก Defining Relation หมายความว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้จะมีความน่าเชื่อถือมากแค่ไหน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 2 (R_{II}) จนถึง 5 (R_V) เช่น ตัวอย่าง

$I = ACG = ABCEF = BEG = ABDFG = CDEFG$ ได้ R_{III} เพราะ Alias สั้นที่สุด คือ 3 Main Effect Interaction

$I = ABCEG = BCDF = ABDG$ ได้ R_{IV} เพราะ Alias สั้นที่สุด คือ 4

Resolution ในกรณีที่มีมากกว่าก็จะให้ความน่าเชื่อถือในผลลัพธ์มากกว่า เพราะจะได้เฉพาะ Interaction ระดับสูงๆ แทน Main Effect ในการออกแบบ ทำให้โอกาสที่ Confound ที่พบในการวิเคราะห์มีโอกาสเป็นของ Main Effect มากกว่า Interaction นั่นเอง การเลือกระดับ Resolution ต่ำ หมายความว่าคอนออกแบบใช้ค่า P ที่มาก เข้าใกล้ k มาก ทำให้ลดจำนวนการทดลองลดลงได้มาก และต้องใช้ Interaction ระดับต่ำในการแทน Main effects บางตัว

(R) ที่อยู่ในระดับที่ต่ำที่สุดที่คอนออกแบบจะเลือกใช้เหมาะสำหรับการเริ่มต้น (Screening) กรณีที่มีจำนวนปัจจัยมากๆ ไม่ควรนำ Model ใดๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์ไปใช้ และจำเป็นต้องมีการคัดกรองเอา Main effect ที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติบางตัวออก และจำเป็นต้องมีการออกแบบการทดลองอีกรอบ ที่มี Resolution มากกว่า R_{III}

(RIV) ที่อยู่ในระดับที่ต่ำปานกลางที่คอนออกแบบควรจะเลือกใช้ สามารถนำ Model ที่ได้จากการวิเคราะห์ไปใช้ในการพยากรณ์ หรือเปลี่ยนแปลงของกระบวนการตามผลการของวิเคราะห์

(RV) ที่อยู่ในระดับที่ดีที่สุดที่คอนออกแบบควรจะเลือกใช้ แต่ก็ต้องใช้ทรัพยากรมากกว่าระดับอื่นๆ ทั้งนี้เพราะ จะมีจำนวนการทดลองมากนั่นเอง

ตารางที่ 2.9 ระดับ Resolution ที่เป็นไปได้ เมื่อกำหนด Run และจำนวน Factor

Available Factorial Designs (with Resolution)		Factors													
Runs	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
4	Full	III													
8		Full	IV	III	III	III									
16			Full	V	IV	IV	IV	III	III	III	III	III	III	III	
32				Full	VI	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	
64					Full	VII	V	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	
128						Full	VIII	VI	V	V	IV	IV	IV	IV	

2.8.10 วิธีการพื้นผิวผลตอบ (Response Surface Methodology; RSM)

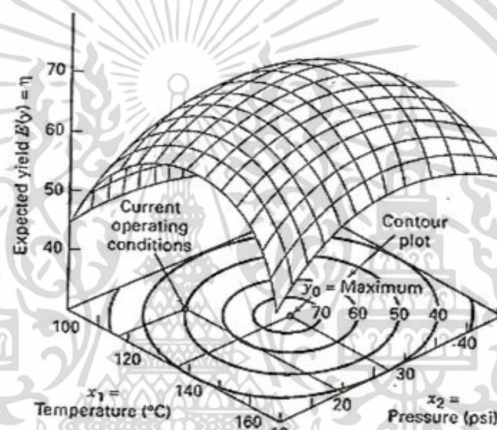
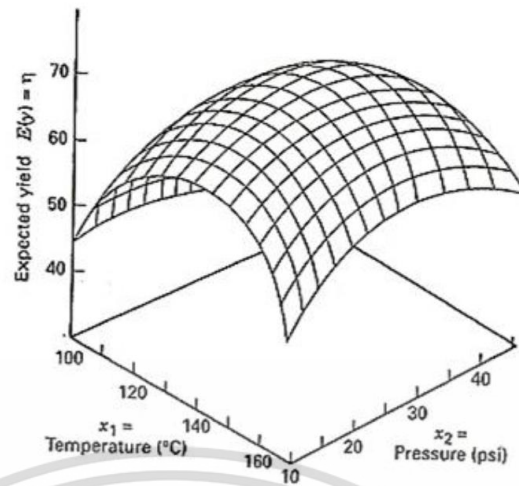
วิธีการพื้นผิวผลตอบ เป็นวิธีการที่รวบรวมเอาเทคนิคทั้งทางสถิติ และ ทางคณิตศาสตร์สร้างแบบจำลองของการวิเคราะห์ปัญหา ซึ่งมีผลตอบสองที่เราสนใจขึ้นอยู่กับหลายๆปัจจัย และผู้ทดลองก็ต้องมีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่าที่ดีที่สุด ที่เหมาะสมของผลตอบสอง เช่น ผลตอบสอง y เป็นฟังก์ชันของ x_1 และ x_2 ดังนั้นจะสามารถเขียนในรูปแบบสมการได้ดังนี้

$$y = f(x_1, x_2) + \epsilon \quad (2.1)$$

เมื่อ ϵ คือค่าความผิดพลาดของผลตอบ y ที่มีผลมาจากการทดลองถ้าเรากำหนดว่า $E(y) = f(x_1, x_2) = n$ ดังนั้นเราสามารถเขียนสมการพื้นผิวได้ คือ

$$n = f(x_1, x_2) \quad (2.2)$$

ทั่วไปแล้วจะมีการแสดงพื้นผิวผลตอบในรูปของกราฟฟิก ดังแสดงในภาพที่ 2.14 ซึ่ง n จะถูกพล็อตกับระดับของ x_1 และ x_2 เพื่อช่วยให้มองเห็นรูปร่างของพื้นผิวผลตอบได้ดีขึ้นโดยมากแล้วจะมีพล็อตเส้นโครงร่าง (Contour Plot) ของพื้นผิวผลตอบดังแสดงในภาพ และการสร้างเส้นโครงร่างเส้นที่มีค่าของผลตอบคงที่จะถูกวาดอยู่บนระนาบ x_1 และ x_2 เส้นโครงร่างแต่ละเส้นจะมีความสูงของพื้นผิวผลตอบที่เท่ากันค่าหนึ่ง



รูปที่ 2.14 เส้นโครงร่างของพื้นผิวผลตอบแทน [52]

ซึ่งปัญหาเกี่ยวกับพื้นผิวผลตอบแทนโดยทั่วไปมักจะไม่นำความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบแทนและ ตัวแปรอิสระ ซึ่งในขั้นแรก คือ ผู้ทดลองต้องหาตัวประมาณค่าที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นตัวแทนเพื่อ แสดงความสัมพันธ์ที่แท้จริงระหว่าง y และกลุ่มของตัวแปรอิสระ โดยตามปกติแล้วจะใช้ฟังก์ชันพหุนามที่จะมีกำลังต่ำ ๆ ที่อยู่ภายใต้อาณาเขตบางส่วนของตัวแปรอิสระ ในกรณีแบบจำลองของผลตอบแทนที่มีความสัมพันธ์เป็นแบบเชิงเส้นกับตัวแปรอิสระ ฟังก์ชันที่จะใช้ในการประมาณความสัมพันธ์นี้ คือ แบบจำลองพหุนามกำลังหนึ่ง

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon \quad (2.3)$$

แต่ในกรณีมีส่วนโค้งเข้ามาเกี่ยวข้องในระบบ จะใช้ฟังก์ชันพหุนามที่มีกำลังสูงขึ้น เช่น พหุนามกำลังสอง

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1, j < i}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.4)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยกำหนดให้ y = ค่าตอบสนอง

ϵ = ค่าความผิดพลาดของการทดลอง

b_0 = ค่าคงที่ของสมการ

b_i = สัมประสิทธิ์ของปัจจัย

x_i = ตัวแปรอิสระ

โดยปัญหาเกี่ยวกับพื้นผิวตอบจะพบว่าจะใช้แบบจำลองพหุนามกำลังหนึ่งหรือกำลังสองในการหาผลตอบ ซึ่งแบบจำลองทั้งสองชนิดนี้ก็ไม่อาจจะใช้เพื่อประมาณความสัมพันธ์ตลอดพื้นผิวทั้งหมด ของตัวแปรอิสระ ในกรณีที่พื้นผิวที่สนใจอยู่มีขนาดใหญ่ การออกแบบพื้นผิวผลตอบมีวิธีการที่นำมาใช้ในการหาค่าที่ดีที่สุดของผลตอบอยู่หลายวิธีด้วยกัน โดยมี วิธีการป็นขึ้นด้วยทางที่ชันที่สุด (Steepest Ascent) ดังรูปที่ 2.14 การออกแบบสำหรับพิตแบบจำลองอันดับที่หนึ่ง และอันดับที่สอง

2.9 การทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางกล

ศึกษารูปพรรณสัณฐานภายนอกและสมบัติเฉพาะของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์เช่น สี โครงสร้าง ขนาด รูปร่าง รูปแบบ

2.9.1 สัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์

ศึกษารูปพรรณสัณฐานภายนอกและสมบัติเฉพาะของโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy) หรือ SEM [54-56] เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ลักษณะชิ้นงานในหลายสาขา เช่น วัสดุศาสตร์ ไมโครอิเล็กทรอนิกส์ ธรณีวิทยา ชีววิทยา และการแพทย์ เนื่องจากสาขาวิชาต่างๆจำเป็นต้องทำงานเกี่ยวกับวัสดุและชิ้นส่วนประกอบที่มีขนาดเล็กมากซึ่งไม่สามารถวิเคราะห์ได้จากเครื่องมือธรรมดาทั่วไป SEMมีจุดเด่นที่สำคัญ3ประการ ได้แก่สามารถให้ภาพที่มีความชัดลึกสูง (Highdepthof field) สามารถให้กำลังแยกแยะเชิงระยะสูง (High spatial resolution) และสามารถใช้ร่วมกับเทคนิคอื่น เช่น Energy Dispersive Spectrometry (EDS) และ Wavelength Dispersive Spectrometry (WDS) เพื่อให้ข้อมูลเชิงเคมี

หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ส่วนประกอบและลักษณะการทำงานโดยสังเขปของเครื่อง SEM แสดงไว้ดังภาพประกอบ 8 สิ่งสำคัญอันดับแรกของเครื่อง SEM คือ อิเล็กตรอนต้องเป็นลำอิเล็กตรอนที่มีพลังงานเดียว (ความยาว คลื่นเดียว) ในส่วนบนสุดจะเป็นแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน (Electronsource) หรือ เป็นอิเล็กตรอน (Electrongun) โดยมีขดลวดทั้งสเตนรูปร่างเป็นแหล่งกำเนิดสำหรับ การใช้ SEM กับพอลิเมอร์นั้นมี ขีดจำกัดเนื่องจากความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของลำอิเล็กตรอนอาจทำลายผิวหน้าของชิ้นงานได้ นอกจากนี้ยังมีความ จำเป็นต้องเคลือบชิ้นงานพอลิเมอร์ซึ่งไม่นำไฟฟ้าด้วยตัวนำไฟฟ้า เช่น คาร์บอน หรือทองคำ อิเล็กตรอนจากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งให้เคลื่อนที่ลงมาตามคอลัมน์ด้วยความต่างศักย์ในช่วง 1 ถึง 30 กิโลโวลต์(บางเครื่องอาจสูงถึง 50 กิโลโวลต์) ชิ้นงานหรืออานอดถูกยึดไว้กับอะไรที่มีศักย์ไฟฟ้าที่เป็นศูนย์ลำอิเล็กตรอนผ่านช่องในอานอดและถูกโฟกัสลงบนชิ้นงาน โดยทิศทางการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนจะควบคุมโดยเลนส์แม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic lens) จำนวน 2 ชุดหรือมากกว่าและปริมาณของอิเล็กตรอนจะควบคุมโดยช่องเปิดที่มีขนาดต่างๆกันตามลักษณะการใช้งาน เลนส์คอนเดนเซอร์อันแรก (First condenser lens) อาจนับได้ว่าเป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญ สูงสุดต่อการควบคุมทัศนศาสตร์ของอิเล็กตรอน (Electronoptics) เนื่องจากเป็นเลนส์ที่ทำหน้าที่บีบ ลำอิเล็กตรอนที่ล่งลงมาจากแหล่งกำเนิดให้มีพื้นที่หน้าตัดเล็กลง (Demagnification) ส่วนเลนส์วัตถุ (Objective lens) ซึ่งเป็นเลนส์อันสุดท้ายนั้นทำหน้าที่โฟกัสลำอิเล็กตรอนให้ไปตกกระทบกับผิวของ วัตถุเป้าหมาย โดยมีคอยล์กวาดภาพ (Scan coil) ทำหน้าที่กวาดลำอิเล็กตรอนบนผิววัตถุในกรอบ สี่เหลี่ยม เมื่อลำอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งใหม่คุณลักษณะของสัญญาณที่ถูกวัดโดยเครื่องรับ สัญญาณต่างๆเปลี่ยนแปลงไปและแสดงผลออกมาในรูปของความมืดสว่างของภาพซึ่งสอดคล้องกับ ลักษณะพื้นผิว กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สามารถตรวจสอบตัวอย่างขนาดประมาณ 10 มิลลิเมตร ในการเตรียมชิ้นงานตัวอย่างจะติดอยู่บนสตัป (Stub) ซึ่งเคลื่อนที่ขึ้นลงบนแท่นวาง ชิ้นงานคล้ายกับการทำงานของแม่แรงยกของรถยนต์ ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่เป็นฉนวนไฟฟ้าจะถูก เหนี่ยวนำทำให้สามารถนำไฟฟ้าได้ด้วยการระเหย (Evaporation) โลหะใส่ชิ้นตัวอย่างหรือการฉาบ ด้วยโลหะ (Sputtering) เช่นทองคำทองคำผสมพลาเดียมอลูมิเนียมหรือคาร์บอนเป็นต้น ในการ ระเหยใช้หลักการให้ความร้อนกับโลหะภายใต้สุญญากาศ มักใช้ทั้งสแตนเป็นขดลวดให้ความร้อนซึ่ง สามารถต้านทานต่อความร้อนสูงที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำ โดยทั่วไปลวดโลหะเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการหลอมเหลวและค่อยๆระเหยกลายเป็นไอ ผิวหน้าของโลหะหลอมเหลวจะสัมผัสกับไ้ตลอดทั้งสแตน ด้วยแรงตึงผิวตลอดเวลา จากนั้นอะตอมของก๊าซโลหะแต่ละอะตอมเกิดการควบแน่นบนผิวชิ้นตัวอย่างภายในช่องสุญญากาศ

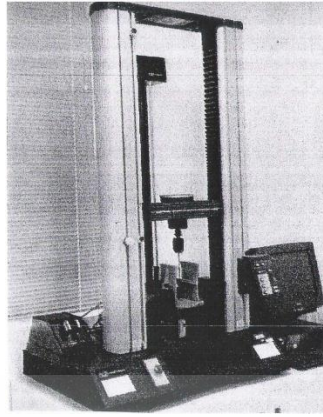
2.9.2 การทดสอบการบวมน้ำ (Swelling test) การหาอัตราการบวมตัว (Degree of swelling) เป็นการวัดความสามารถในการบวมตัวของวัสดุ [57-58] แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อหา ส่วนการหาอัตราการบวมตัว (Degree of swelling) ที่เวลาต่างๆ ดังสมการที่ 3

$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_{so} - W_0}{W_0} \quad (2.5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

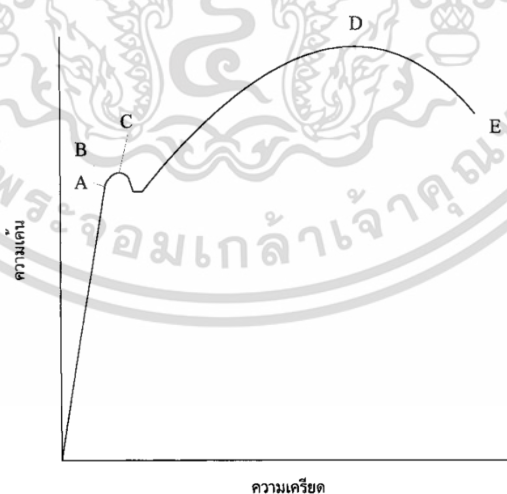
โดย W_{50} คือน้ำหนักของโครงเลี้ยงเซลล์หลังจากที่ถูกดูดซับน้ำ
และ W_0 คือน้ำหนักเริ่มต้นของโครงเลี้ยงเซลล์

2.9.3 การทดสอบแรงดึง แรงกด เครื่องมือที่ใช้วัดความเค้นและความเครียดที่นิยมใช้กัน
อย่างแพร่หลาย คือ เครื่องทดสอบ วัสดุอเนกประสงค์ (Universal tensile testing machine) แสดง
ดังภาพที่ 2.16 เครื่องมือดังกล่าว นี้ประกอบด้วย อุปกรณ์ที่ใช้ในการจับชิ้นงานหรือหัวจับ (Grip sor
jaws) สองตัว หัวจับตัวหนึ่งอยู่นิ่ง ติดกับแท่นเครื่อง ส่วนหัวจับอีกตัวหนึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้และจะ
ยึดติดกับตัววัดแรงหรือโหลดเซลล์ (Load cell) ในการทดสอบนั้นจะต้องนำชิ้นตัวอย่างที่เตรียมใส่
ระหว่างตัวหัวจับทั้งสองข้าง ส่วน ปลายของชิ้นตัวอย่างแต่ละข้างจะถูกหนีบแน่นด้วยหัวจับทั้งสอง
เมื่อหัวจับที่เคลื่อนที่ได้เคลื่อนตัว ออกห่างจากหัวจับที่อยู่กับที่ ชิ้นตัวอย่างจะถูกดึงยืดออก ระดับการ
ยืดตัวของชิ้นตัวอย่างซึ่งเท่ากับ ระยะที่หัวจับเคลื่อนที่ไปนั้นจะถูกบันทึกในคอมพิวเตอร์ [59-62]
ระยะยืดนี้สามารถนำมาคำนวณหา ความเครียดของชิ้นตัวอย่างได้หากทราบความยาวเบื้องต้น ใน
ขณะเดียวกันเมื่อชิ้นตัวอย่างยืดตัว ออกพ้นระยะภายในวัสดุออกแรงต้านซึ่งแรงต้านการยืดตัวของชิ้น
ตัวอย่างจะสมดุลกับแรงของหัวจับและ โหลดเซลล์ ทำให้สามารถวัดแรงต้านภายในชิ้นตัวอย่างได้โดย
อ่านค่าแรงของโหลดเซลล์ ค่าของแรง จะถูกบันทึกในคอมพิวเตอร์และสามารถนำมาคำนวณหาความ
เค้นได้เมื่อทราบพื้นที่หน้าตัดของชิ้น ตัวอย่าง เครื่องทดสอบแรงดึงสามารถตั้งคำสั่งต่างๆไว้ล่วงหน้า
เช่น สามารถกำหนดให้ดึงชิ้นตัวอย่าง ที่อัตราเร็วในการดึงตามต้องการ สามารถกำหนดระยะยืดที่จะ
สิ้นสุดการทดสอบ กระทั่งสามารถสั่งให้ ตัววัดแรงเคลื่อนที่กลับสู่ตำแหน่งเริ่มต้นอย่างอัตโนมัติเมื่อถึง
ระยะยืดที่กำหนด ในการทดสอบแรงดึง ชิ้นงานถูกเตรียมโดยยึดปลายแต่ละข้างของชิ้นงานไว้ด้วยหัว
หนีบ เมื่อหัวหนีบทั้งสองนี้เคลื่อนที่ออก จากกัน ชิ้นงานก็จะยืดออก ชิ้นงานที่มีลักษณะเป็นแท่ง
สี่เหลี่ยมผืนผ้าอาจไม่เหมาะสมสำหรับใช้ ทดสอบเนื่องจากมักปรากฏการแตกหักขึ้นในบริเวณใด
บริเวณหนึ่งภายนอกช่วงความยาวของชิ้นงานนั้นดังเช่นในบริเวณที่ถูกหนีบ ดังนั้นจึงนิยมเตรียม
ชิ้นงานในรูปร่างคล้ายดรัมเบลล์ (Drumbell) คือ ปลายทั้งสองด้านจะมีขนาดโตกว่าบริเวณส่วนกลาง
ของชิ้นงานทั้งนี้เพื่อให้การดึงเป็นไปอย่างสมบูรณ์แบบและขาดบริเวณตรงกลาง



รูปที่ 2.15 ภาพเครื่องทดสอบอเนกประสงค์ [59]

สำหรับวัสดุทั่วไปเส้นโค้งระหว่างความเค้น-ความเครียดมีลักษณะดังรูปที่ 2.15 เมื่อเริ่มดึงขึ้นทดสอบขึ้นทดสอบจะค่อยๆยืดออก ในช่วงแรกจากจุดเริ่มต้นจนถึงจุดหนึ่ง (จุด A) ความสัมพันธ์ระหว่างความเค้น-ความเครียดจะเป็นสัดส่วนคงที่ ทำให้ได้กราฟที่เป็นเส้นตรงตามกฎของฮุก (Hook's law) ซึ่งกล่าวว่าความเค้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเครียด ค่าคงที่ในการแปรผันตรงระหว่างความเค้นและความเครียดคือค่ามอดูลัสความยืดหยุ่น (Elastic modulus) ซึ่งเป็นปริมาณที่บอกความแข็งแรงดึงของวัสดุ จุด A นี้ เรียกว่าพิกัดสัดส่วน (Proportional Limit) และภายใต้พิกัดสัดส่วนนี้ วัสดุจะแสดงพฤติกรรมการคืนรูปแบบยืดหยุ่น (Elastic) นั่นคือเมื่อปล่อยแรงกระทำขึ้นทดสอบจะกลับไปมีขนาดเท่าเดิม



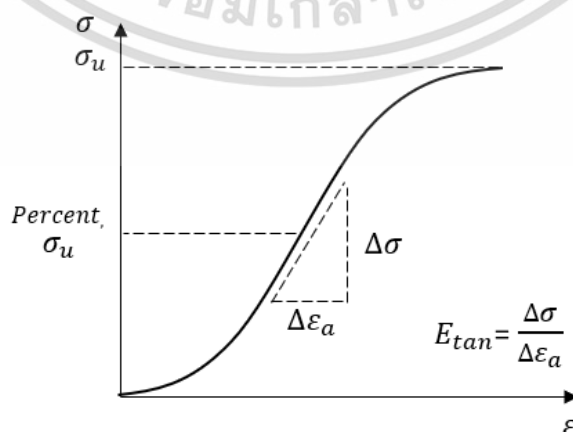
รูปที่ 2.16 เส้นโค้งความเค้น-ความเครียด (Stress-Strain Curve) [61]

เมื่อเราเพิ่มแรงกระทำต่อไปจนเกินพิกัดสัดส่วน เส้นกราฟจะค่อย ๆ โค้งออกจากเส้นตรง วัสดุหลายชนิดจะยังคงแสดงพฤติกรรมการคืนรูปได้อีกเล็กน้อยจนถึงจุด ๆ หนึ่ง (จุด B) ซึ่งเรียกว่า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิกัดยืดหยุ่น (Elastic limit) จุดนี้เป็นจุดกำหนดความเค้นสูงสุดที่จะไม่ทำให้เกิดการแปรรูปถาวร (Permanent Deformation or Offset) เมื่อผ่านจุดนี้ไปแล้ววัสดุจะมีการเปลี่ยนรูปร่างถาวรหรือแบบ พลาสติก (Plastic Deformation) ลักษณะการเริ่มต้นการเปลี่ยนรูปร่างถาวรมีความแตกต่างกันตาม ชนิดของวัสดุ จุด C เป็นจุดที่เกิดการเปลี่ยนรูปร่างพลาสติกเรียกว่าจุดคราก (Yield Point) และค่า ของความเค้นที่จุดนี้ เรียกว่า ความเค้นจุดคราก (Yield Stress) หรือ ความแข็งแรง ณ จุดคราก (Yield Strength) ความแข็งแรง ณ จุดครากนี้มีประโยชน์กับวิศวกรมากเพราะเป็นจุดแบ่งระหว่างพฤติกรรม การคืนรูปกับพฤติกรรมการเปลี่ยนรูปร่างถาวร[63-65] ในกรณีของโลหะจะเป็นค่าความแข็งแรงสูงสุดที่เรา จะใช้ประโยชน์จากวัสดุได้โดยไม่เกิดความเสียหาย หลังจากจุดครากแล้ว วัสดุจะเปลี่ยนรูปร่างถาวร โดยความเค้นจะเพิ่มอย่างช้าๆที่จนถึงจุด D ค่าความเค้นที่จุดนี้ เรียกว่า ความต้านทานแรงดึงสูงสุด (Ultimate strength) ซึ่งเป็นค่าความเค้นสูงสุดที่วัสดุจะทนได้ เนื่องจาก วัสดุหลายชนิดสามารถ เปลี่ยนรูปร่างพลาสติกได้มาก

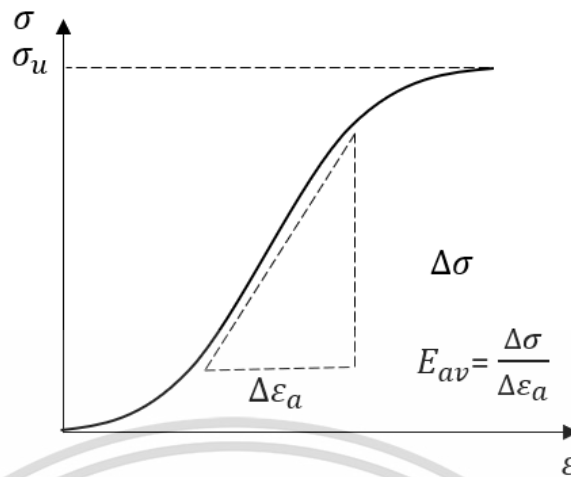
ค่าความเค้นสูงสุดนี้สามารถนำมาใช้แทนความเค้น ณ จุดครากใน การพิจารณาการใช้งานของวัสดุได้ นอกจากนี้ค่านี้ยังใช้เป็นดัชนีเปรียบเทียบคุณสมบัติของวัสดุได้ ด้วย ทั้งนี้คำว่าความแข็งแรง (Strength) ของวัสดุหรือกำลังวัสดุนั้นโดยทั่วไปจะหมายถึงค่าความเค้น สูงสุดที่วัสดุทนได้นี้เอง ที่จุดสุดท้าย (จุด E) ของกราฟเป็นจุดที่วัสดุเกิดการแตกหรือขาดออกจากกัน (Fracture) ความเค้น ณ จุดแตกหักนี้ เรียกว่า ความเค้นประลัย (Rupture strength) สำหรับโลหะ บางชนิด เช่น เหล็กกล้าคาร์บอนต่ำหรือโลหะเหนียว ค่าความเค้นประลัยนี้จะต่ำกว่าความเค้นสูงสุด เพราะเมื่อเลยจุดออกไป พื้นที่ภาคตัดขวางของชิ้นตัวอย่างลดลง ทำให้พื้นที่ที่จะต้านทานแรงดึงลดลง ด้วย

มอดูลัสของวัสดุเป็นค่าที่แสดงถึงสมบัติการต้านทานการเปลี่ยนรูปร่าง ของวัสดุเมื่อได้รับแรงกระทำ สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนระหว่างความเค้น และความเครียดที่กำหนด โดยสามารถคำนวณได้หลายวิธี ได้แก่ มอดูลัสแบบแทนเจนต์ (Tangent modulus), มอดูลัสแบบค่าเฉลี่ย (Average modulus), มอดูลัสแบบซีแคนต์ (Secant modulus) [66-67]

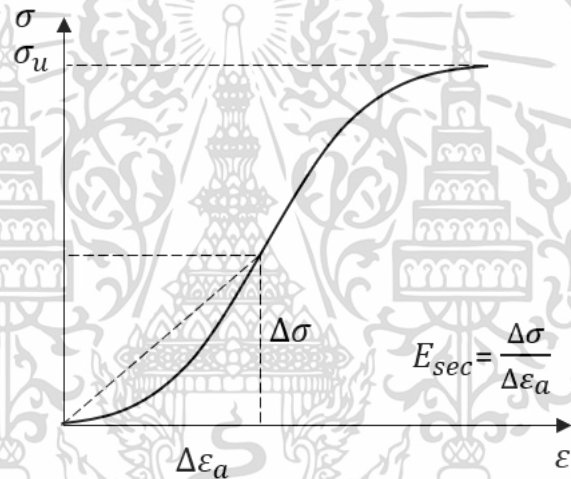


รูปที่ 2.17 มอดูลัสแบบแทนเจนต์ (Tangent modulus)[66]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.18 มอดูลัสแบบค่าเฉลี่ย (Average modulus) [66]



รูปที่ 2.19 มอดูลัสแบบซีแคนต์ (Secant modulus) [66]

มอดูลัสแบบแทนเจนต์ (Tangent modulus) จะต้องกำหนดเปอร์เซ็นต์ของค่าความเค้นและความเครียดที่ประมาณ 50% ซึ่งจะเป็นการกำหนดช่วงความชัน ของเส้นแทนเจนต์โดยเป็นสัดส่วนระหว่างความเค้นกับความเครียดตามรูปที่ 2.17 และ มอดูลัสแบบค่าเฉลี่ย (Average modulus) จะกำหนดความชันของช่วงเส้นตรงของกราฟที่สัมพันธ์ระหว่างความเค้นกับความเครียดที่ได้จากการทดสอบรูปที่ 2.18 และ มอดูลัสแบบซีแคนต์ (Secant modulus) จะกำหนดความชันจากจุดเริ่มทดสอบ หรือจุดที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของกราฟที่สัมพันธ์ระหว่างความเค้นกับความเครียดจนถึงประมาณ 50% ของความเค้นตามรูปที่ 2.19

2.9.4 การทดสอบการย่อยสลาย สามารถแบ่งกลไกการย่อยสลายของพลาสติกเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ [68-71]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.4.1 การย่อยสลายได้โดยแสง (Photo degradation) การย่อยสลายโดยแสง มักเกิดจากการเติมสารเติมแต่งที่มีความไวต่อแสงลงในพลาสติกหรือสังเคราะห์โคพอลิเมอร์ให้มี หมู่ฟังก์ชันหรือพันธะเคมีที่ไม่แข็งแรง แตกหักง่ายภายใต้รังสี (UV) เช่น หมู่คีโตน (Ketone group) อยู่ในโครงสร้าง เมื่อสารหรือหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวสัมผัสกับรังสียูวีจะเกิดการแตกของพันธะกลายเป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งไม่เสถียร จึงเข้าทำปฏิกิริยาต่ออย่างรวดเร็วที่พันธะเคมีบนตำแหน่ง คาร์บอนในสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้เกิดการขาดของสายโซ่ แต่การย่อยสลายนี้จะไม่เกิดขึ้นภายในบ่อ ฝังกบขยะ กองคอมโพสท์ หรือสภาวะแวดล้อมอื่นที่มีดี หรือแม้กระทั่งชั้นพลาสติกที่มีการด้วยหมึก ที่หนาмаกบนพื้นผิว เนื่องจากพลาสติกจะไม่ได้สัมผัสกับรังสียูวีโดยตรง

2.9.4.2 การย่อยสลายทางกล (Mechanical Degradation) โดยการให้แรงกระทำแก่ ชั้นพลาสติกทำให้ชิ้นส่วนพลาสติกแตกออกเป็นชิ้น ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้โดยทั่วไปในการทำให้พลาสติก แตกเป็นชิ้นเล็กๆ

2.9.4.3 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative Degradation) การย่อย สลายผ่าน)ปฏิกิริยาออกซิเดชันของพลาสติก เป็นปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนลงในโมเลกุลของพอลิ เมอร์ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติอย่างช้าๆ โดยมีออกซิเจน และความร้อน แสงยูวี หรือแรง ทางกลเป็นปัจจัยสำคัญ เกิดเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) ใน พลาสติกที่ไม่มีการเติม สารเติมแต่งที่ทำหน้าที่เพิ่มความเสถียร (stabilizing additive) แสงและความ ร้อนจะทำให้ ROOH แตกตัวกลายเป็นอนุมูลอิสระ RO และ OH ที่ไม่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยาต่อที่ พันธะเคมีบนตำแหน่งคาร์บอนในสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้เกิดการแตกหักและสูญเสียสมบัติเชิงกล อย่างรวดเร็ว แต่ด้วยเทคโนโลยีการผลิตที่ได้รับการวิจัยและพัฒนาขึ้นในปัจจุบันทำให้พอลิโอเลฟิน เกิดการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนได้เร็วขึ้นภายในช่วงเวลาที่กำหนด โดยการ เติมสารเติมแต่งที่เป็นเกลือของโลหะทรานสิชัน ซึ่งทำหน้าที่คะตะลิสต์เร่งการแตกตัวของ สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide, ROOH) เป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ทำ ให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการแตกหักและสูญเสียสมบัติเชิงกลรวดเร็วยิ่งขึ้น

2.9.4.4 การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolytic Degradation) การย่อย สลายของพอลิเมอร์ที่มีหมู่เอสเทอร์ หรือเอไมด์ เช่น แป้ง พอลิเอสเทอร์ พอลิแอมไฮดราต พอลิ คาร์บอเนต และพอลิยูรีเทน ผ่านปฏิกิริยาก่อให้เกิดการแตกหักของสายโซ่พอลิเมอร์ ปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิสที่เกิดขึ้น โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalytic hydrolysis) และไม่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา (Non-Catalytic Hydrolysis) ซึ่งประเภทแรกยังแบ่งออกได้ เป็น 2 แบบคือ แบบที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา จากภายนอกโมเลกุลของพอลิเมอร์เร่งให้เกิดการย่อยสลาย (External Catalytic Degradation) และแบบที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาจากภายในโมเลกุลของพอลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมอร์เองในการเร่งให้เกิดการย่อยสลาย (Internal catalytic degradation) โดยตัวเร่งปฏิกิริยาจากภายนอกมี 2 ชนิด คือ ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นเอนไซม์ต่างๆ (Enzyme) เช่น Depolymerase lipase esterase และ glycohydrolase ในกรณีนี้จัดเป็นการย่อยสลายทางชีวภาพ และคะตะลิสต์ที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Non-enzyme) เช่น โลหะแอลคาไลด์ (alkaline metal) เบส (base) และกรด(acid) ที่มีอยู่ในสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ ในกรณีนี้จัดเป็นการย่อยสลายทางเคมี สำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแบบที่ใช้คะตะลิสต์จากภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์นั้นใช้หมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl Group) ของหมู่เอสเทอร์ หรือเอไมด์บริเวณปลายของสายโซ่พอลิเมอร์ในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

2.9.4.5 การย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) การย่อยสลายของพอลิเมอร์จากการทำงานของจุลินทรีย์โดยทั่วไปมีกระบวนการ 2 ขั้นตอน เนื่องจากขนาดของสายพอลิเมอร์ยังมีขนาดใหญ่และไม่ละลายน้ำ ในขั้นตอนแรกของการย่อยสลายจึงเกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยการปลดปล่อยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ซึ่งเกิดได้ทั้งทั้งแบบใช้ endo-enzyme หรือ เอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกตัวของพันธะภายในสายโซ่พอลิเมอร์อย่างไม่เป็นระเบียบ และแบบ exo-enzyme หรือเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะที่ละหน่วยจากหน่วยซ้ำที่เล็กที่สุดที่อยู่ด้านปลายของสายโซ่พอลิเมอร์ เมื่อพอลิเมอร์แตกตัวจนมีขนาดเล็กพอจะแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเซลล์ และเกิดการย่อยสลายต่อในขั้นตอนที่ 2 ได้ผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนสุดท้าย (ultimate biodegradation) คือ พลังงานและสารประกอบขนาดเล็กที่เสถียรในธรรมชาติ (Mineralization) เช่น แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สมีเทน น้ำ เกลือแร่ธาตุต่างๆ และมวลชีวภาพ (biomass)

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องของ Chih-Hung และ คณะ(2003) [72] ได้ทำการศึกษากลไกที่เซลล์ทำการสังเคราะห์และหลั่งสารเคลือบเซลล์ (ECM) ตามลำดับโดยการควบคุมของสารเคลือบเซลล์ (ECM) จะเรียกกันว่า Dynamic Reciprocity วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้คือการสร้าง Gelatin/Chondroitin-6-Sulfate/Hyaluronan Tri-Copolymer เพื่อจำลอง Matrix กระดูกอ่อนตามธรรมชาติซึ่งจะนำมาใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์(Scaffold) ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน โครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นมาจะมีขนาดของรูพรุนที่สม่ำเสมออยู่ที่ 180 ไมโครเมตร และมีความพรุนที่พอเหมาะอยู่ที่ 75% จะมีการปลูก Porcine Chondrocyte ที่โครงเลี้ยงเซลล์แบบ Tri-Copolymer และเพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อ หรือ Spinner Flask เป็นเวลา 2, 3, 4 หรือ 5 สัปดาห์ Chondrocyte ถูกกระจายอย่างสม่ำเสมอในโครงเลี้ยงเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ใน Spinner Flask แต่ที่เลี้ยงไว้ในจาน Petri จะกระจายน้อยกว่า จากการทดสอบทางมิวชีววิทยาพบว่ามีการหลั่งสารเคลือบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ (ECM) สำหรับส่วนที่เพาะเลี้ยงไว้ใน Spinner Flask พบว่า Chondrocyte ยังคงระดับ Phenotype ไว้อย่างน้อย 5 สัปดาห์ ดังที่แสดงให้เห็นในรูปแบบทางอิมมูโนฮิสโตเคมี และมีการสังเคราะห์ Collagen ที่เป็น Type II ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า Gelatin/ChondroitinSulfate/Hyaluronan Tri-Copolymer มีศักยภาพในการใช้เพื่อสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน

งานวิจัยของ E.J.Chong และ คณะ[73] ได้ทำการออกแบบในครั้งนี้นี้สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อสร้างผิวหนังแทน (Skin Substitute) ก็คือการใช้โครงเลี้ยงเซลล์ (Scaffold) ที่สามารถย่อยสลายตามธรรมชาติกับสิ่งที่ Fibroblast สามารถที่จะเคลื่อนที่และอาศัยอยู่ได้ “ชั้นผิวหนัง (Dermal Layer)” ที่ประดิษฐ์ขึ้นจะต้องยึดเกาะและรวมตัวกับบาดแผล ซึ่งผิวหนังประดิษฐ์ที่มีอยู่ในปัจจุบันก็ไม่ค่อยประสบความสำเร็จเท่าใดนัก ราคาที่ค่อนข้างสูงของผิวหนังประดิษฐ์ยังสร้างข้อจำกัดแก่การนำไปใช้ในการผ่าตัดและใช้กับผู้ป่วย งานวิจัยนี้นำเสนอสิ่งประดิษฐ์ที่มีราคาถูกลงซึ่งเป็นส่วนประกอบระหว่างโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Nanofibrous ที่ถูกปั่นด้วยไฟฟ้าโดยตรงเข้ากับผ้าปิดแผล Polyurethane (Tegaderm, 3M Medical) - ซึ่งเราเรียกกันว่า Tegaderm-Nanofiber (TG-NF) Construct- ที่ใช้เพื่อการรักษาบาดแผลทางผิวหนัง มีการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ทั้งสองฝั่งของโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Nanofibrous และทดสอบการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนของ Fibroblast เป็นที่คาดหวังกันไว้ว่าการศึกษานี้จะให้ผลลัพธ์ที่เป็นผิวหนังสามมิติที่มี Fibroblast อาศัยอยู่ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการสร้างชั้นผิวหนังเพื่อสร้างความหนาของ

ผิวหนังก่อนที่จะมีการการขยายตัวของเยื่อผิวหนังใหม่ ผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าทั้ง ทั้ง TG-NF Construct และ Nanofiber Construct แบบ 2 ด้านและมี Fibroblast สามารถที่จะยึดเกาะกับเซลล์ได้ดี มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน นี่คือก้าวแรกที่ประสบความสำเร็จของ Nanofiber Construct ในการสร้างตัวเองในรูปแบบของโครงเลี้ยงเซลล์สามมิติที่เหมาะสมสำหรับประชากร Fibroblast ที่เกิดขึ้นเอง และมีศักยภาพที่เยี่ยมยอดในการรักษาแผลทางผิวหนังด้วยวิธีการสร้างชั้นผิวหนัง

งานวิจัยของ Jin Shu Mao และคณะ (2002)[74] คณะได้ทำการศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ประเภท Chitosan-Gelatin Hybrid Polymer Network ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยใช้ Micro particle ของน้ำแข็งเป็น Porogen โครงเลี้ยงเซลล์แบบชั้นเดียวและสองชั้นถูกสร้างขึ้นโดยใช้วิธีการทำเยือกแข็งที่ต่างกัน โครงเลี้ยงเซลล์แบบสองชั้นรุ่นใหม่ถูกเตรียมขึ้นโดยการสัมผัสโดยตรงกับงาน Lyophilizing ที่อุณหภูมิ -56 องศาเซลเซียส แล้วจึงเข้าสู่สภาวะการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีการศึกษาในส่วนของคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ประเภท Chitosan-Gelatin อย่างเช่น โครงสร้างจุลภาค, คุณสมบัติการย่อยสลายทางด้านกายภาพและกลศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลลัพธ์ที่ได้แสดงให้เห็นว่าความพรุนและขนาดของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์จะลดลงได้โดยพารามิเตอร์ด้านอุณหพลศาสตร์และจลศาสตร์ของการก่อตัวของน้ำแข็ง โครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นจาก Chitosan และ Gelatin จะถูกนำมาใช้เป็น Matrix ที่มีประสิทธิภาพสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

งานวิจัยของ Y.Z. Zhang และคณะ(2006)[75] ได้ทำการศึกษา Gelatin Nanofiber ที่ถูกเตรียมขึ้นด้วยกระบวนการปั่นทางไฟฟ้าในการศึกษาครั้งก่อนหน้า ในงานนี้ เพื่อที่จะปรับปรุงประสิทธิภาพด้านการกั้นน้ำและสมรรถนะด้านความร้อนเชิงกลสำหรับการนำไปใช้งานทางด้านชีวการแพทย์ที่สำคัญ ในบทความนี้ Gelatin Nanofiber ที่ถูกปั่นทางไฟฟ้าจะถูกเชื่อมโยงกับไอระเหยของ Glutaraldehyde (GTA) แบบอิมมัลชันที่อุณหภูมิห้อง การสัมผัสกันระหว่างสาร Nanofibrous และไอระเหยของ GTA เป็นเวลา 3 วันจะสร้างขอบเขตการเชื่อมโยงที่เพียงพอจะรักษาสถิตฐานของ Fibrous ซึ่งทดสอบโดยการจุ่มลงในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในทางตรงกันข้าม การเชื่อมโยงยังนำไปสู่ความเสถียรต่อความร้อนที่ดีขึ้นและมีการสร้างเสริมคุณสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น อุณหภูมิการแปรสภาพที่เกิดจากการส่งผ่านตัวอย่างที่ถูกทำแห้งด้วยอากาศจากเกลียวถึงคอยล์เพิ่มขึ้น 11 องศาเซลเซียส ความทนแรงดึงและมอดูลัสเพิ่มขึ้นเกือบ 10 เท่าเมื่อเทียบกับ Gelatin Fiber ที่ผ่านการปั่นทางไฟฟ้า นอกจากนั้น ความเป็นพิษต่อเซลล์ยังได้รับการประเมินโดยพิจารณาจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยการเพาะเลี้ยง Fibroblast ของผิวหนังมนุษย์ (HDF) ในโครงเลี้ยงเซลล์แบบ Gelatin Fibrous ที่มีการเชื่อมโยงแล้ว เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน พบว่ามีการขยายตัวของเซลล์ขึ้นและเกือบจะมีการเพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรงระหว่างระยะเวลาทั้งหมดของการเพาะเลี้ยงเซลล์ การยับยั้งการขยายขนาดเริ่มต้นของเซลล์ในสสาร Gelatin Fibrous ที่เชื่อมโยงแล้ว แสดงให้เห็นว่าเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ในภาคว่า GTA ที่มีอยู่ในเซลล์

งานวิจัยของ ฟ่ำใส วิวัฒน์วงศ์วนา (2012) [76] ศึกษาผลของการผสมเจลาตินและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่อัตราส่วนต่างๆระหว่างเจลาติน และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส พร้อมทั้งมีการเชื่อมโยงพันธะด้วยวิธีการใช้ความร้อนด้วยอุณหภูมิ 140 องศา (DHT) และสารเคมี (dimethylamino propyl carbodiimide dehydro chloride/N-hydroxy succinimide; EDC/NHS) และนำมาศึกษาสมบัติเชิงกายภาพและเชิงกลของ ผลของการศึกษาพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ถูกเชื่อมโยงพันธะมีรูพรุนใกล้เคียงกัน ขนาดเฉลี่ยที่ 120-134 ไมครอน ซึ่งผิวของเลี้ยงเซลล์ขณะพื้นผิวไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์เจลาติน ขนาดรูพรุนเฉลี่ย ของโครงเลี้ยงเซลล์เจลาติน/คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เชื่อมโยงพันธะ มีค่าอยู่ในช่วง 95-136 ไมครอน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในโครงเลี้ยงเซลล์ทำให้ขนาดรูพรุนมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์ เจลาติน และเมื่อทำการเชื่อมโยงพันธะโครงเลี้ยงเซลล์ทางเคมีใช้ EDC/NHSในส่งผลให้ขนาดรู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พูนเฉลี่ยของ โครงเลี้ยงเซลล์ทุกแบบอยู่ในช่วง 132-164 ไมครอน ซึ่งรูพูนจะมีขนาดใหญ่กว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมโยงพันธะด้วยอุณหภูมิจึงและโครงเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ถูกเชื่อมโยงพันธะ การศึกษาการตอบสนองเชิงกล ค่ามอดูลัสของการทนทานต่อแรงกดด้วยใช้เครื่องทดสอบวัสดุเอนกประสงค์ (Universal Testing Machine) ค่ามอดูลัสการทนทานต่อแรงกดที่สูงสุดที่ 0.70 KPa พบใน G82 ที่มีการ DHT ซึ่งมีค่าสูงกว่าโครงเลี้ยง เซลล์เจลาตินที่วัดได้ 0.21 KPa นั้นแสดงให้เห็นว่าการเชื่อมโยงพันธะทางเคมี ด้วยการใช้ EDC/NHS ส่งผลให้ค่ามอดูลัสการทนทานต่อแรงกดของโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งเห็นได้ชัดเจน ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการเติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เข้าไปในโครงเลี้ยง เซลล์เจลาตินโดยการผสมที่อัตราส่วน 80:20 (เจลาติน:คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส) และการเชื่อมโยงพันธะทางเคมี ด้วยการใช้ EDC/NHS ทำให้โครงเลี้ยงเซลล์ได้มีความแข็งแรงขึ้นเช่นกัน

งานวิจัยของ Qiang Zhang และคณะ (2005) [77] ได้ทำการศึกษาการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับใช้ในกระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยใช้คอลลาเจนที่สกัดจากผิวหนังของปลาไนและวัสดุพอลิคาโพรแลคโตน (PCL) ด้วยกรรมวิธีการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตผู้วิจัยศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM), เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี, เทคนิคการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์, เทคนิคการวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เส้นผ่านศูนย์กลางของโครงเลี้ยงเซลล์วัสดุผสมพีซีแอล/คอลลาเจน (PCFS) ลดลงจากระหว่าง 987 ± 274 เหลือ 689 ± 299 นาโนเมตร ตามปริมาณคอลลาเจนที่เพิ่มขึ้น, ความเป็ผลึกอยู่ในระดับต่ำ และขนาดของผลึกที่เกิดขึ้นมีขนาดค่อนข้างเล็กผู้วิจัยตรวจพบคุณลักษณะประจำตัวทั้งหมดของทั้งวัสดุพีซีแอลและคอลลาเจนในวัสดุพีซีเอฟเอส นอกจากนี้, วัสดุพีซีเอฟเอสยังมีค่าระดับอุณหภูมิจึงสูญเสียน้ำในระดับที่ค่อนข้างสูงกว่า (ระหว่าง 50-60 องศาเซลเซียส) เมื่อเทียบกับวัสดุคอลลาเจนอย่างเดียว (32.5 องศาเซลเซียส)ค่าความทนแรงดึงสูงสุดของวัสดุพีซีเอฟเอส นั้นเพิ่มขึ้นตามปริมาณคอลลาเจนที่เพิ่มขึ้นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Circular dichroismและการทดสอบการสลายตัวในหลอดทดลองบ่งชี้ว่าวัสดุพีซีเอฟเอสนั้นมีความคงตัวในระดับที่ค่อนข้างดีและมีอัตราการสลายตัวในระดับต่ำผู้วิจัยตรวจสอบพฤติกรรมเชิงเซลล์ของวัสดุพีซีเอฟเอสโดยใช้เทคนิคการทดสอบแบบ MTT, SEM, และกล้องจุลทรรศน์แบบโฟลโคที่ใช้ลำแสงเลเซอร์ผลการตรวจสอบบ่งชี้ว่าวัสดุพีซีเอฟเอสสามารถนำเสนอสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ได้, ช่วยคงรักษาการเกาะตัวของเซลล์ที่ดีเอาไว้, และช่วยคงรักษาสภาพความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดีเอาไว้ผลการศึกษาบ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ที่ค่อนข้างสูงในการนำเอาวัสดุพีซีเอฟเอสมาใช้ในกระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

งานวิจัยของ Elisabetta Ceretti และคณะ (2017)[78]ได้ทำการศึกษาและนำเสนอคุณลักษณะเชิงสัณฐานวิทยา, คุณลักษณะเชิงกลและคุณลักษณะเชิงไฟฟ้าของเส้นใยที่ผลิตขึ้นจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่ใช้สารละลาย poly-ε-caprolactone polymer ผสมกับ สารผสมกราฟีน นาโนเฟลต ที่อัตราส่วนผสมระดับต่างๆกัน ผู้วิจัยศึกษาคุณลักษณะเชิงสัณฐานวิทยา ของเส้นใยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาดในการ ตรวจสอบการปฏิสัมพันธ์ของวัสดุทั้งชนิดในเส้นใยที่ผลิตขึ้น ผู้วิจัยศึกษาโครงสร้างเซลล์เพื่อระบุ ผลกระทบของกราฟีนที่มีต่อคุณสมบัติภายในของวัสดุงานวิจัยชิ้นนี้ค้นพบว่าขั้นตอนการเตรียมสาร แขนวลอยในระดับที่เหมาะสมของกราฟีนในสารละลายนั้นเป็นปัจจัยหลักสำหรับการเพิ่มพูน ความสามารถในการนำไปใช้งานของเส้นใยที่ผลิตขึ้นได้

งานวิจัยของ Shanshan Yan และคณะ(2017)[79] ได้ทำการศึกษาการปฏิสัมพันธ์กัน ระหว่างเซลล์กับวัสดุนาโนในระหว่างกระบวนการเปลี่ยนแปลงเซลล์แบบ epithelial-mesenchymal transition(EMT) ของเซลล์ A549 และเส้นใยนาโนที่ผลิตขึ้นด้วยวิธีการปั่นเส้นใย ด้วยไฟฟ้าสถิต โดยใช้วัสดุพอลิไวนิล แอลกอฮอล์ (PVA) ผสมกับโพรตีนไหม (เซรีซิน) (SS) ผู้วิจัย ผลิตเส้นใยนาโนด้วยวิธีการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในกระบวนการปั่นและ ใช้กลูตาไรลดีไฮด์เป็นตัวเชื่อมโยงเชิงเคมี ผู้วิจัยปรับแต่งความเข้มข้นของสารละลาย, แรงดันไฟฟ้าที่ ใช้และระยะห่างการปั่น และปรับแต่งค่าตัวแปรอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลการผลิตเส้นใยนาโนที่มีพื้นผิวที่ราบ ลื่นและมีความเป็นแบบเดียวกันสม่ำเสมอดีผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง กวาด (SEM) แสดงให้เห็นว่าเส้นใยนาโนนี้มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยที่ 200 นาโนเมตรกระบวนการ เปลี่ยนแปลงเซลล์แบบ epithelial-mesenchymal transition(EMT) นั้นเป็นกระบวนการซึ่งเซลล์ เยื่อบุผิวสูญเสียสภาพเชิงขั้วของเซลล์ไปเพื่อแปลงสภาพกลายเป็นสเต็มเซลล์มีเซนไคน์แทน กระบวนการดังกล่าวได้รับอิทธิพลจากปัจจัยเชิงชีวเคมีและปัจจัยเชิงกายภาพหลายๆ ตัวด้วยกันใน ระหว่างการลดลงเชิงกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ในที่นี้, ผู้วิจัยตรวจสอบผลกระทบเชิงชีว กายภาพของเส้นใยนาโนที่มีต่อกระบวนการ EMT ของเซลล์ A549 โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ขึ้นบน แผ่นรองเส้นใยนาโน โดยจัดภูมิภาคและองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไปผู้วิจัยประเมิน ความสามารถในการมีชีวิตรอดของเซลล์ด้วยวิธีการตรวจสอบเชิงชีวเคมี และตรวจสอบคุณลักษณะ เชิงสัณฐานวิทยาของเซลล์ด้วยกล้อง SEM ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าเซลล์มีการเกาะตัวอย่างเหมาะสม เข้ากับแผ่นรองเส้นใยนาโน โดยแสดงให้เห็นถึงสัญญาณวิทยาที่แผ่ขยายออกมาในส่วนของ filopodia ผู้วิจัยดำเนินการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนส์โดยใช้เทคนิคเรียลไทม์ พีซีอาร์ และกำหนดมาร์กเก อร์หลายๆ ชุดเพื่อการตรวจจับกระบวนการ EMT อันได้แก่ N-cadherin (NCad), Vimentin (Vim), Fibronectin (Fib) และ Matrix metalloproteinase (MMP9) ผู้วิจัยสังเกตพบรูปแบบการ แสดงออกที่เพิ่มขึ้นในส่วนของ NCad, Vim, และ Fib โดยเฉพาะในส่วนของกลุ่มควบคุมแบบลบ ใน ระหว่างที่เพาะเลี้ยงเซลล์ขึ้นบนจานเพาะเชื้อโพลิสไตรีนผลลัพธ์ดังกล่าวบ่งชี้ว่าเส้นใยนาโนผสมวัสดุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PVA/SS ขนาด 200 นาโนเมตร นั้นอาจจะสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ A549 เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงแบบ epithelial-mesenchymal transition(EMT) ในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้

งานวิจัยของ Marc Rabionet และคณะ (2017) [80] ได้ทำการศึกษาเซลล์และมีเซลล์จำนวนไม่มากนักในเนื้องอกในเต้านมที่มีคุณลักษณะของสเต็มเซลล์ และดังนั้นจึงถูกเรียกว่าสเต็มเซลล์มะเร็งเต้านม นั่นคือเซลล์ก่อกำเนิดเนื้องอกที่มีความต้านทานต่อคีโม อันสามารถเจริญเติบโตขึ้นเป็นกลุ่มเซลล์ต่อมน้ำนม (Mammosphere) ที่ไม่อยู่ต่อติดกันการศึกษาสเต็มเซลล์มะเร็งเต้านม นั้นเป็นเรื่องที่ค่อนข้างยาก เนื่องจากมีการค้นพบเซลล์ชนิดนี้ค่อนข้างน้อย และการที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ชนิดนี้โดยหลีกเลี่ยงไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้งานวิจัยหลายๆ ชิ้นก่อนหน้านี้ได้แสดงให้เห็นว่า ตัวแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติ อย่างเช่น การใช้โครงเลี้ยงเซลล์ นั้นช่วยเพิ่มพูนการก่อตัวของสเต็มเซลล์มะเร็งเต้านม ในงานวิจัยชิ้นนี้, ผู้วิจัยสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตโดยมีการกำหนดค่าแรงดันไฟฟ้าเอาไว้สำหรับการผลิตเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตขนาด 7.5 และกำหนดค่าการไหลของสารละลาย 15% poly (H-caprolactone) (PCL) เอาไว้ตามสภาพความคงตัวของกระบวนการโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชุดซึ่งได้รับการเพาะขึ้นโดยใช้เซลล์มะเร็งหน้าอก MCF-7 และเต้านมขนาด 7.5 เพอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในระดับที่ต่ำกว่า เมื่อเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์ขนาด 15 เพอร์เซ็นต์เซลล์ที่เพาะเลี้ยงขึ้นในโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชุดนี้แสดงให้เห็นถึงคุณลักษณะค่าดัชนีการก่อตัวของกลุ่มเซลล์ต่อมน้ำนม (MFI) ที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงบ่งชี้ถึงปริมาณของสเต็มเซลล์มะเร็งเต้านม ที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติโดยใช้โครงเลี้ยงเซลล์วัสดุพอลิคาโพรแลคโตนขนาด 15 เพอร์เซ็นต์ที่สร้างขึ้นด้วยวิธีการผลิตเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้นอาจจะมีประโยชน์ในการเพิ่มจำนวนสเต็มเซลล์มะเร็งเต้านม อันจะเป็นการอำนวยความสะดวกของการพัฒนากลยุทธ์การบำบัดรักษาใหม่ๆ ขึ้นมาในอนาคต สำหรับการรักษาเนื้องอกชนิดพบน้อยชนิดนี้

งานวิจัยของ Kazunori Shimomura และคณะ (2019) [81] ศึกษาความเสียหายต่อโครงสร้างรูปทรงแท่งของหมอนรองกระดูกส่งผลให้เกิดการสูญเสียการใช้งานเชิงชีวกลศาสตร์ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปสู่ภาวะหมอนรองกระดูกเคลื่อนออกจากส่วนรับน้ำหนักอย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มีแนวทางการบำบัดรักษาที่แน่นอนและได้ผลสำหรับอาการบาดเจ็บลักษณะดังกล่าว วัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้คือการตรวจสอบความสามารถในการนำไปใช้งานจริง ของโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโนที่เพาะขึ้นจากเซลล์ ในการนำไปใช้ซ่อมแซมโครงสร้างรูปทรงแท่งของหมอนรองกระดูกที่เสียหาย รวมถึงความสามารถในการนำไปใช้ในการป้องกันการเสื่อมสภาพของกระดูกอ่อน โดยเทคนิค Rabbit Model งานวิจัยชิ้นนี้ทดสอบการรักษาอาการผิดปกติความเสียหายในแนว radial ของหมอนรองกระดูก (ความกว้าง 5 มิลลิเมตร) ในส่วนหมอนรองกระดูกด้านใน โดยใช้วิธีการหุ้มและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เย็บส่วนที่เสียหาย ด้วยโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโนที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต อย่างเดียว หรือรักษาโดยใช้โครงเส้นใยร่วมตัวกันกับโครงสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (TEC) ที่ผลิตขึ้นจากสเต็มเซลล์ของเซลล์ (MSC) โดยที่มีการจัดวางแนวทิศทางของเส้นใยของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ประสานกันกับเส้นใยรอบวงของหมอนรองกระดูกโครงสร้าง TEC ที่ผลิตขึ้นจากเซลล์ MSC อันผสมผสานเข้ากับโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโน มีส่วนช่วยอย่างมากในการป้องกันภาวะหมอนรองกระดูกเคลื่อน ทั้งยังส่งผลเสริมในการช่วยปกป้องกระดูกอ่อน (chondroprotective) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โครงเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียว หรือกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการรักษา นอกจากนี้, ภาวะผิดปกติของหมอนรองกระดูกที่ได้รับการรักษาด้วยโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโนที่ผสมผสานเข้ากับโครงสร้าง TEC นั้น ยังได้รับการรักษาอย่างสม่ำเสมอด้วยเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนชนิดเยื่อเหนียว (Fibro cartilaginous tissue) ในงานวิจัยชิ้นนี้, ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการผสมผสานโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโนกับโครงสร้าง TEC ในการซ่อมแซมโครงสร้างรูปทรงแท่งของหมอนรองกระดูกและความเป็นไปได้ในการป้องกันอาการเสื่อมสภาพของกระดูกอ่อนในฐานะของวิธีการหนึ่งที่มีความเป็นไปได้สูงของเทคนิควิศวกรรมเนื้อเยื่อ

งานวิจัยของ Jinglei Wu และ Yi Hong (2016)[82] ได้ศึกษาเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้นเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับเทคนิควิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งประกอบขึ้นจากเส้นใยขนาดนาโนถึงขนาดเล็กกว่าไมเลกุลที่ช่วยกระตุ้นแมทริกซ์นอกเซลล์ดั้งเดิม อย่างไรก็ตามข้อจำกัดกังวลหลักประการหนึ่งเกี่ยวกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตขึ้นด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการนำไปใช้ในการซ่อมแซมและฟื้นฟูเนื้อเยื่อ คือข้อที่ว่าโครงเลี้ยงเซลล์แบบนี้มีรูขนาดเล็ก อันเกิดจากกลุ่มของเส้นใยที่จับตัวกันแน่นซึ่งอาจจะไปขัดขวางการแทรกซึมของเซลล์และการเจริญเติบโตเข้าด้านในของเนื้อเยื่อในการจัดการกับปัญหาข้อนี้ นักวิจัยหลายๆ ท่านได้พัฒนาและศึกษาวิธีการต่างๆ หลายวิธีในการจัดการกับโครงเลี้ยงเซลล์โครงเลี้ยงเซลล์ เพื่อที่จะเพิ่มขนาดขนาดรูหรือทำให้โครงเลี้ยงเซลล์มีสภาพยืดหยุ่นมากขึ้น วิธีการต่างๆ เหล่านี้ก็ได้แก่ การใช้วิธีการปรับสภาพทางกายภาพ, ยกตัวอย่างเช่น, การชะละลายเกลือออก (salt leaching), gas foaming, และตัว collector ที่ทำขึ้นเป็นพิเศษและรวมถึงการผสมผสานเทคนิคต่างๆ เข้าด้วยกัน เพื่อให้ได้โครงเลี้ยงเซลล์ผลิตด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตที่มีโครงเลี้ยงเส้นใยที่ยืดหยุ่นและรูขนาดใหญ่บทความชิ้นนี้นำเสนอรายละเอียดสรุปเกี่ยวกับเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตแบบต่างๆ ดังกล่าว เพื่อปรับปรุงความสามารถในการแทรกซึมของเซลล์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตขึ้นด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ซึ่งเทคนิคต่างๆ เหล่านี้อาจจะช่วยสร้างแรงบันดาลใจในการคิดค้นเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตแบบใหม่ๆ และแนวทางใหม่ๆ ในการนำไปประยุกต์ใช้งานในเชิงชีวการแพทย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Zahra Asvar และคณะ (2017)[83] ได้ศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ที่จะช่วยให้การ สร้างเนื้อเยื่อสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (TE) โดยโครงเลี้ยงเซลล์จะผลิต ด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้นได้ถูกนำมาใช้ในการประยุกต์ใช้งานเชิง TE กันอย่างมาก อันเนื่องมาจากสมบัติเชิงกายภาพ, สมบัติทางเคมีและสมบัติเชิงกลที่สามารถปรับแต่งได้ของวัสดุ ดังกล่าว และรวมถึงคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์แบบใหม่ที่ค่อนข้างใกล้เคียงกับแมทริกซ์นอกเซลล์ แม้ว่าสมบัติเชิงกลของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้นจะอิงอยู่อย่าง มากกับตัวแปรต่างๆ ในระหว่างกระบวนการแปรรูป กลับมีงานวิจัยเพียงไม่กี่ชิ้นเท่านั้นที่ได้ศึกษา หัวข้อดังกล่าวอย่างเป็นระบบงานวิจัยชิ้นนี้ศึกษาผลกระทบของตัวแปรหลักต่างๆของเทคนิคการปั่น เส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่มีต่อแรงต้านทานการดึงและความแข็งแรงในการคงสภาพของรอยเย็บของ โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตขึ้นจากวัสดุพอลิคาโพรแลคโตน (PCL) โดยใช้กระบวนการวิธีพื้นผิวดูดซับสอง ในการศึกษาผู้วิจัยยังได้ตรวจสอบคุณลักษณะเชิงสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์และการปฏิสัมพันธ์ กันระหว่างเซลล์-โครงเลี้ยงเซลล์เอาไว้ด้วยเช่นกันตามแบบจำลองที่ประมาณขึ้น,ความเข้มข้นของวัสดุ พอลิเมอร์และอัตราการป้อนนั้นส่งอิทธิพลเชิงบวกที่มีนัยสำคัญมากที่สุด ต่อทั้งแรงต้านทานการดึง และความแข็งแรงในการคงสภาพของรอยเย็บในขณะที่แรงดันไฟฟ้าที่ใช้ส่งผลกระทบเชิงลบต่อทั้งแรง ต้านทานการดึงและความแข็งแรงในการคงสภาพของรอยเย็บผลกระทบของระยะห่างที่มีต่อแรง ต้านทานแรงดึงนั้นอยู่ในระดับที่ไม่มีนัยสำคัญแต่ว่ามีผลกระทบในระดับที่แตกต่างกันไปในการคง สภาพของเย็บ ขึ้นอยู่กับค่าระยะห่างการเปลี่ยนแปลงในสมบัติเชิงชีวเคมีนั้นเกี่ยวข้องกับการ ปรับเปลี่ยนในระดับที่สูงมากในคุณลักษณะเชิงสัณฐานวิทยาของเส้นใยและในการปฏิสัมพันธ์ระหว่าง เซลล์-โครงเลี้ยงเซลล์โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีแรงต้านทานการดึงในระดับที่ต่ำที่สุดนั้นมีลักษณะเป็นเม็ด (beaded) ในเชิงสัณฐานวิทยา ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีแรงต้านทานการดึงสูงกว่านั้นมีลักษณะที่ไม่ เป็นเม็ด (beadless) ในเชิงสัณฐานวิทยาและมีเส้นใยลักษณะคล้ายตัวหนอนการเพิ่มขึ้นของแรง ต้านทานการดึงนั้นเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นในขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยและขนาดของรู บนเนื้อวัสดุผลของการศึกษาเพาะเลี้ยงเซลล์แสดงให้เห็นว่าเซลล์ไฟโบรบลาสต์มีการแผ่ขยายและเพิ่ม จำนวนได้มากกว่าบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่แรงต้านทานการดึงในระดับต่ำตัวแบบที่สร้างขึ้นนี้อาจจะเป็น ประโยชน์หากว่ามีความต้องการโครงเลี้ยงเซลล์วัสดุพีซีแอลที่มีค่าแรงต้านทานการดึงและความ แข็งแรงในการคงสภาพของรอยเย็บระดับจำเพาะนอกจากนี้,ผลลัพธ์ยังบ่งชี้ว่าควรจะต้องมีการ พิจารณาการเปลี่ยนแปลงในเชิงสัณฐานวิทยาและการปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์-โครงเลี้ยงเซลล์เมื่อทำ การปรับเปลี่ยนสมบัติเชิงชีวเคมีเหล่านี้ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม

งานวิจัยของ Akram R. Jabur และคณะ(2017)[84] ได้จัดเตรียมเนื้อเยื่อสังเคราะห์อัน สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นเนื้อเยื่ออ่อนได้ จากวัสดุพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้เองทางชีวภาพด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตวัสดุเทอร์โมพลาสติกพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้เองทางชีวภาพที่ใช้ในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต คือวัสดุพอลิคาโพรแลคโตน (PCL) โดยนำมาใช้ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำหนัก/ปริมาตรของวัสดุพีซีแอลที่สามระดับ (10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์) ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของวัสดุพอลิคาโพรแลคโตน (PCL) ในสารละลายที่จัดเตรียมขึ้นเป็นวัตถุดิบในการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตจากนั้นผู้วิจัยศึกษาการเจริญเติบโตในหลอดทดลองของสเต็มเซลล์มีเซนไคน์ ที่สกัดจากเซลล์เนื้อเยื่อไขมันของม้า โดยดำเนินการศึกษาการเจริญเติบโตบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่จัดเตรียมขึ้นเป็นเวลานาน 21 วัน โดยแยกศึกษาระหว่างการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ได้ถูกแช่และไม่ถูกแช่ในซีรัมของตัวอ่อนลูกวัวเพื่อที่จะศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์และการเพิ่มจำนวนของเซลล์บนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด (SEM) แสดงให้เห็นถึงอัตราการเจริญเติบโตในระดับสูงของสเต็มเซลล์ที่เลี้ยงบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่จัดเตรียมขึ้นจากวัสดุพีซีแอลระดับความเข้มข้น 15% w/v ซึ่งสามารถรองรับการเจริญเติบโตของสเต็มเซลล์ได้เป็นอย่างดี แม้ว่าจะไม่ได้ถูกนำไปแช่ในซีรัมมาก่อนการวิเคราะห์เชิงจุลกายวิภาคแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการกระจายตัวและการแทรกซึมของเซลล์นั้นพบได้ในโครงเลี้ยงเซลล์ที่จัดเตรียมจากวัสดุพีซีแอลที่ระดับความเข้มข้น 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยสรุป, โครงเลี้ยงเซลล์ที่จัดเตรียมขึ้นเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ ดังนั้นจึงสามารถประยุกต์ใช้ได้ทางเวชศาสตร์ชะลอวัย

งานวิจัยของ Perumalsamy Balaji และคณะ (2019)[85] ได้ทำการศึกษาตัวแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิตินำเสนอระดับการปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์-เซลล์ และเซลล์-ECM ที่ดีกว่าและนำเสนอข้อมูลที่เชื่อถือได้มากกว่าเมื่อเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบชั้นเดียวในตัวแบบสามมิติ โครงเลี้ยงเซลล์จะถูกนำมาใช้เพื่อสะท้อนถึงสภาพแวดล้อมที่เลียนแบบสภาพตามธรรมชาติของเซลล์งานวิจัยชิ้นนี้มุ่งความสนใจไปที่การจัดเตรียมระบบโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความประหยัด สำหรับการใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สามมิติงานวิจัยชิ้นนี้ใช้ไขขาวซึ่งมีราคาถูกและมีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาเป็นวัสดุพอลิเมอร์ในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ โดยใช้วิธีการไครโอเจลเลชัน (cryogelation) โดยมีการใช้สารละลายกลูตารัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน (0.25, 0.5, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์) เป็นตัวเชื่อมโยงผู้วิจัยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ในการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวของขนาดรูของพื้นผิวของไครโอเจลผู้วิจัยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ FT-IR เพื่อที่จะวิเคราะห์กลุ่มหน้าที่การทำงานต่างๆ ที่ก่อตัวขึ้นระหว่างการเชื่อมโยง ผู้วิจัยวัดปริมาตรความจุของการดูดซึมน้ำและสภาพความเป็นรูพรุน เพื่อที่จะวิเคราะห์สมบัติเชิงชีวกายภาพของไครโอเจลจากนั้นผู้วิจัยทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อบุผิวแบบ HepG2 และ MCF7 ขึ้นบนโครงเลี้ยงเซลล์ไครโอเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหล่านี้ โดยเพาะเลี้ยงทั้งในแบบสามมิติและแบบสองมิติแบบดั้งเดิมผู้วิจัยวิเคราะห์ความสามารถในการอยู่รอดของเซลล์และประสิทธิภาพการแพร่กระจายตัวของเซลล์ในช่วงระยะเวลาที่กำหนด โดยใช้เทคนิค MTT เซลล์ที่เพาะขึ้นมาบนโครงเลี้ยงเซลล์ถูกนำไปย้อมสี แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ข้อมูลบ่งชี้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ชีวภาพที่สกัดได้จากไข่ขาว นั้นสามารถถูกนำมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติ เมื่อพิจารณาข้อดีต่างๆ ของโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุชนิดนี้, กล่าวคือ, ขนาดของรูที่สม่ำเสมอ, พันธะเอไมด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการเชื่อมโยง, และระดับความเป็นรูพรุนที่สูงดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงได้นำเสนอความสำเร็จในการพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ราคาถูกที่ผลิตขึ้นจากโครโอเจลที่ใช้ไข่ขาวเป็นวัตถุดิบสำหรับการนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สามมิติเพื่อนำไปใช้งานในเชิงพิษวิทยาและเชิงเภสัชวิทยา

งานวิจัยของ Kyuyoung Shim และคณะ(2017)[86] ได้ทำการศึกษาในโครงเลี้ยงเซลล์แบบไฮโดรเจลที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิตินั้นโครงสร้างที่มีรูพรุนนั้นมีบทบาทที่สำคัญในการคงรักษาระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์ โดยช่วยนำเสนอปัจจัยเชิงชีวเคมีต่างๆ ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ ดังนั้น โครงสร้างที่มีรูพรุนอย่างเพียงพอจึงควรจะเป็นปัจจัยการออกแบบที่สำคัญ สำหรับการจัดเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในที่นี้ได้นำเสนอแนวทางที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ในการควบคุมสภาพความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์วัสดุเจลลาติน โดยใช้เทคนิค porogen leaching กล่าวคือ, ผู้วิจัยได้จัดทำไฮโดรเจลที่สามารถเชื่อมโยงได้ด้วยการกระตุ้นของแสง (photo crosslinkable hydrogel (gelatin methacrylate)) ซึ่งมี porogen เป็นส่วนประกอบในส่วนโครงสร้างช่องทางไหลจุลภาค (micro fluidic channel) แล้วจากนั้นจึงละลาย porogen ออกไป แนวทางของวิธีนี้เอื้อให้สามารถสร้างรูพรุนในระดับไมโครเมตร และเพิ่มความสามารถในการรอดอยู่ของเซลล์ให้สูงขึ้นงานวิจัยชิ้นนี้สามารถนำไปใช้เป็นคู่มือสำหรับการปรับแต่งสภาพความเป็นรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติต่อไปได้

งานวิจัยของ Yan Xiao และคณะ (2019)[87] ศึกษาการพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีรูพรุนสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติ เพื่อใช้ในกระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อโดยมุ่งความสนใจหลักไปที่การปรับแต่งคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยพฤติกรรมของเซลล์โดยใช้เทคนิคการแช่เยือกแข็งอิมัลชัน (Emulsion freeze-drying method) ผู้วิจัยได้จัดเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีรูพรุนขึ้นมาสี่ชนิด จากวัสดุผสมระหว่าง amorphous poly(4-methy-**E**-caprolactone) (PMCL) และ semi-crystalline poly(**E**-caprolactone) (PCL) โดยมีอัตราส่วนน้ำหนักส่วนผสมที่แตกต่างกันไป, กล่าวคือ PMCL0, PMCL30, PMCL50 และ PMCL70, ตามลำดับผลการสังเกตลักษณะที่มองเห็นของภาพตัดขวางของโครงเลี้ยงเซลล์ แสดงให้เห็นถึงวัสดุที่มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ ซึ่งมีลักษณะเชิงสัณฐานวิทยาเป็นแบบสามมิติและมีโครงสร้างที่เป็นรูพรุนจำนวนมากอย่างไรก็ตามขนาดของรูพรุน,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความพรุน และภาวะการเปื่อยของสารผสมนั้นกลับไม่ได้ลดลงตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณวัสดุ amorphous PMC สารผสม PMCL50 นั้นมีลักษณะที่แตกต่างจากสารผสม PMCL30 หรือ PMCL70 ในข้อที่ว่าสารผสมนี้มีวัสดุ PCL ในรูปคริสตัลกระจายตัวอยู่ในแมทริกซ์อสัญฐาน (Amorphous matrix) อันส่งผลให้ได้ค่าโมดูลัสของยัง (E) ในระดับที่ต่ำที่สุดและค่าภาวะการเปื่อยในระดับที่ค่อนข้างสูงจากการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ในหลอดแก้ว, ผู้วิจัยสังเกตเห็นว่าโครงเลี้ยงเซลล์สร้างจากสารผสม PMCL50 สามารถรองรับการแพร่กระจายตัวของเซลล์ต้นที่ได้จากมนุษย์ (Human induced hepatocytes – hiHeps) และมีระดับการรักษาหน้าที่การทำงานได้ดีที่สุดในหมู่โครงเลี้ยงเซลล์ทั้งหมดเซลล์ hiHeps ในโครงเลี้ยงเซลล์แบบ PMCL50 มีแนวโน้มที่จะรับเอาคุณลักษณะเชิงสัญญาณวิทยาของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ แต่กลับแสดงคุณลักษณะเชิงสัญญาณวิทยาของเซลล์ spheroidal แทนในโครงเลี้ยงเซลล์แบบ PMCL0 ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีสมบัติตามการปรับแต่งแบบต่างๆ นี้ แสดงให้เห็นถึงความสามารถที่โดดเด่นในการรองรับการแพร่กระจายของเซลล์ hiHep และการแสดงออกถึงความสามารถในการทำงาน

งานวิจัยของ Giró-Perafita และคณะ (2016)[88] ใช้เทคนิคการสร้างตัวแบบด้วยการฉีดวัสดุหลอมละลาย (Fused Deposition Model – FDM) ร่วมกับเทคโนโลยีผลิตแบบเพิ่มเนื้อวัสดุ (Additive manufacturing – AM) อาจจะนำเสนอทางเลือกที่เป็นไปได้และเรียบง่ายกว่าในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับรองรับวัตถุประสงค์ต่างๆ กัน ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อและการเพาะเลี้ยงเซลล์เครื่อง FDM ที่มีจำหน่ายเชิงพาณิชย์ในปัจจุบันก็กำลังได้รับการปรับปรุงความแม่นยำ, ขีดความสามารถและขอบเขตการนำไปใช้ให้ดียิ่งขึ้นอย่างไรก็ตาม, สำหรับการใช้งานกับวัสดุที่เข้ากันได้กับร่างกาย และ/หรือ วัสดุที่สามารถติดตั้งฝังตัวได้กับร่างกาย อย่างเช่น Poly (ϵ -caprolactone) PCL นั้นยังต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มอีกมากในการที่จะกำหนดตัวแปรกระบวนการต่างๆ ที่ผ่านมากกระบวนการเพาะเลี้ยงเซลล์กระทำกันแบบสองมิติโดยเจริญเติบโตออกไปทุกทิศทาง ก่อนกลายเป็นเครือข่ายอันเข้มแข็งเนื่องจากการตอบสนองของเซลล์ต่อโปรตีนหรือยานั้นเป็นสิ่งสำคัญ สำหรับการที่จะทราบถึงการแพร่กระจายหรือการเติมสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในระบบสามมิติ งานวิจัยชิ้นนี้มุ่งเน้นไปที่การศึกษาและปรับแต่งระบบการทำงานของเครื่องพิมพ์สามมิติระบบโอเพ่นซอร์ส อันมีชื่อเรียกว่า เร็ปเร็ป (RepRap) ซึ่งนำมาใช้ในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเข้ากันได้กับร่างกาย สำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งหน้าอกชนิด Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบสามมิติ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยใช้โครงเลี้ยงเซลล์ สามารถเพิ่มพูนจำนวนประชากรสเต็มเซลล์ของเซลล์มะเร็ง (Cancer Stem Cell – CSC) ซึ่งมีส่วนรับผิดชอบต่อการกลับมาปรากฏซ้ำของเนื้องอกหลังการบำบัดด้วยคีโม ค่าดัชนีการก่อตัวของกลุ่มเซลล์ต่อมน้ำนม (Mamosphere Forming Index

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- MFI) ได้ถูกวัดขึ้นในทุกเซลล์ต่อเนื่อง (Cell line) เพื่อที่จะประเมินความไวและความต้านทานของเซลล์ต่อเนื่องนี้ในเซลล์ TNBC การเพิ่มปริมาณเซลล์ CSC ในกลุ่มเซลล์ TNBC หลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยโครงเลี้ยงเซลล์ จะช่วยสนับสนุนในการศึกษาหาแนวทางการบำบัดรักษาใหม่ๆ สำหรับกลุ่มเซลล์นี้ งานวิจัยชิ้นนี้ได้ศึกษาตัวแปรกระบวนการหลายๆ ตัวที่ใช้ในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์และทดลองการเพาะเลี้ยงเซลล์ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยด้านความพรุนนั้นมีบทบาทที่สำคัญยิ่งในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ ที่มีการผนึกกันของเซลล์ (cells adhesion) และการเจริญเติบโตในระดับต่ำ ควรจะต้องมีการทดสอบกับค่าความพรุนในระดับที่ต่ำกว่านี้เพื่อที่จะตรวจสอบค่าดัชนี MFI หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยโครงเลี้ยงเซลล์ เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของเซลล์

งานวิจัยของ Mohammad Foad Abazari และคณะ(2018)[89] ได้ทำการศึกษาการแบ่งตัวของสเต็มเซลล์ของเซลล์ตับอ่อน จะมีส่วนช่วยสนับสนุนการรักษาผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานประเภท 1 (Type 1 Diabetes Mellitus – T1DM) การประยุกต์ใช้วัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพสังเคราะห์ช่วยให้แมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix – ECM) และสมบัติอื่นๆ อันเป็นที่ต้องการ ในการทดลองในหลอดทดลองเพื่อเพิ่มพูนสภาพที่เอื้อต่อการแพร่กระจายของ, การเกาะตัวและการแบ่งตัวของสเต็มเซลล์ โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตขึ้นจากสารผสมระหว่างพอลิคาโพรแลคโตน (poly caprolactone) และพอลิไวโนล แอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) (PCL/PVA) นั้นสามารถทำได้ในตัวอย่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ในแบบสามมิติในหลอดทดลองวัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้คือการศึกษาความสามารถในการแบ่งตัวของสเต็มเซลล์ที่พัฒนาได้หลายแบบที่ชักนำจากมนุษย์ (human induced pluripotent stem cells - hiPSCs) ในการกลายเป็นเซลล์ผลิตอินซูลิน (insulin producing cells – IPCs) ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธี แบบสามมิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสองมิติแบบดั้งเดิม โดยประเมินจากระดับ mRNA และระดับโปรตีน โดยใช้เทคนิค quantitative PCR และ Immune fluorescence assay, ตามลำดับความสามารถในการทำงานของเซลล์ IPCs ที่แบ่งตัวขึ้นมาถูกประเมินโดยใช้ C-peptide และประเมินจากการปลดปล่อยอินซูลินเมื่อได้รับการกระตุ้นในการทดสอบการกระตุ้นด้วยกลูโคสผลลัพธ์จากการทดสอบด้วยวิธี Real-Time PCR แสดงให้เห็นว่าเซลล์ IPCs ที่ผลิตขึ้นจากเซลล์ hiPSCs นั้นแสดงให้เห็นถึงปัจจัยการถอดรหัส (transcription factor) จำเพาะของเซลล์ตับอ่อน (Insulin, Pdx1, Glucagon, Glut2 และ Ngn3) การแสดงออกของปัจจัยการถอดรหัสเหล่านี้มีระดับที่สูงกว่าในโครงเลี้ยงเซลล์แบบ PLC/PVA เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสองมิติ นอกจากนี้ ยังมีการตรวจพบตัวชี้วัดจำเพาะจาก IPCs โดยการทดสอบด้วยเทคนิคเคมีภูมิคุ้มกันเซลล์เหล่านี้จะการเพาะเลี้ยงในทั้งสองกลุ่มต่างขั้วอินซูลิน และ C-peptide ออกมาในการทดสอบด้วยกลูโคส โดยใช้เทคนิค ELISA ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตเต็มที่ในหลอดทดลองผลลัพธ์ของงานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่าระดับการแบ่งตัวที่เพิ่มพูน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั้นของเซลล์ IPCs ที่ได้จาก hiPSCs นั้นอาจจะเป็นผลมาจากการใช้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากวัสดุผสม PCL/PVA ก็เป็นไปได้ กล่าวโดยสรุปงานวิจัยชิ้นนี้สามารถนำเสนอแนวทางใหม่ในกระบวนการบำบัดรักษาเพื่อเปลี่ยนแทน betalike cell และกระบวนการวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อซ่อมแซมตับอ่อนสำหรับผู้ป่วย T1DM ในอนาคตได้

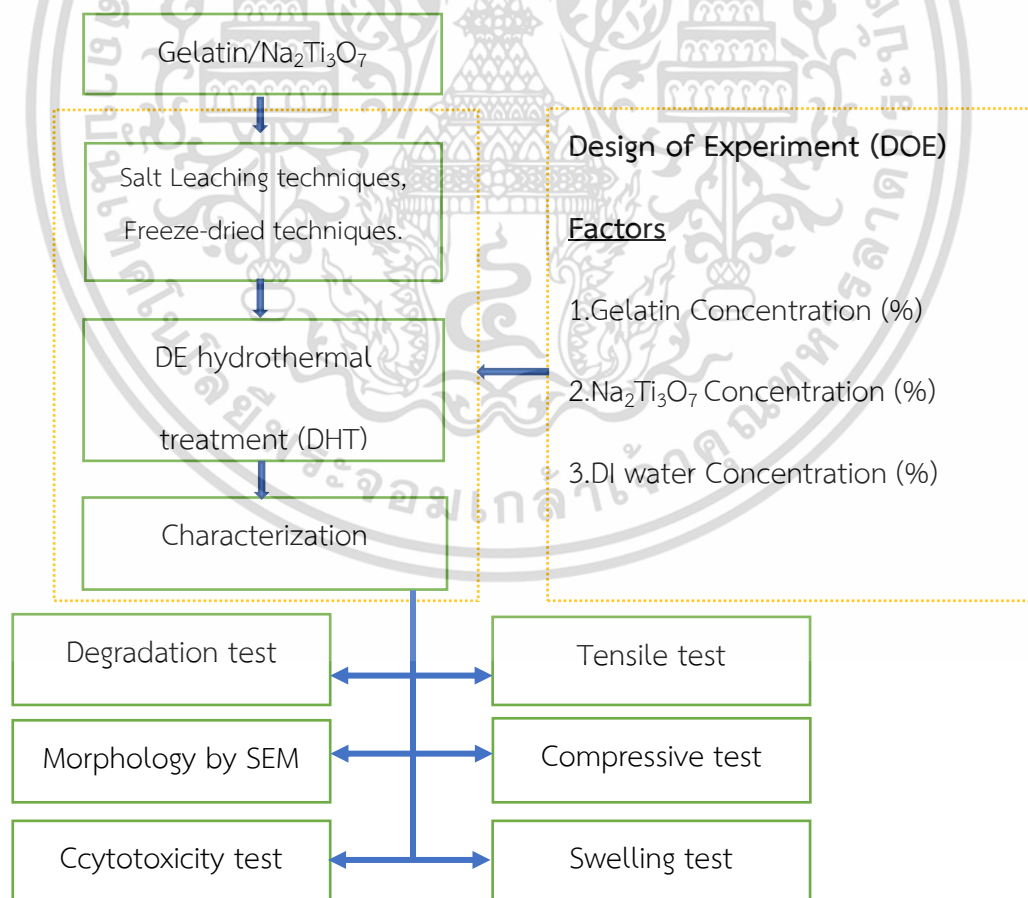
งานวิจัยของ Urszula Stachewicz และคณะ (2019)[90] ได้ทำการศึกษาเส้นใยนาโนผลิตขึ้นด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตโดยใช้กระบวนการวิเคราะห์ผสมผสานแบบสองมิติและสามมิติกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตขึ้นจากการปั่นเส้นใยนาโนด้วยไฟฟ้าสถิตที่ใช้วัสดุ polylactide-co-glycolide acid (PLGA) โดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็นสามส่วนเส้นใยนาโนที่มีการจัดเรียงตามแนวเดียวกันและเส้นใยนาโนที่มีการจัดเรียงแบบสุ่ม ขนาดของรูพรุนและขนาดของเส้นใย, รูปร่างของรูพรุนและความพรุน, ทั้งก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงเซลล์, ถูกตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด (SEM) และการผสมผสานกันของเทคนิค Focus ion beam (FIB) และ SEM เพื่อให้ได้ตัวอย่างจำลองแบบสามมิติออกมาโดยใช้ข้อมูลคุณลักษณะที่ศึกษาด้วยเทคนิค FIB-SEM สำหรับการสร้างแบบจำลองสามมิติและการวิเคราะห์สองมิติช่วยให้ผู้วิจัยได้ข้อมูลจำเพาะที่เอื้อต่อการทำความเข้าใจกับกลไกการแพร่กระจายของเซลล์เข้าไปในโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตที่สำคัญคือ, การแพร่กระจายของเซลล์เข้าไปในเครือข่ายของเส้นใยนาโนนั้นอิงอยู่อย่างมากกับรูปร่างของรูพรุนและการเชื่อมต่อติดกันของรูพรุน, ซึ่งช่วยให้มีการประสานเข้าด้วยกันอย่างแน่นหนา ระหว่างเซลล์และเส้นใยนาโนการแพร่กระจายของเซลล์ภายในเครือข่ายของเส้นใยนาโนนั้นอยู่ในระดับที่ค่อนข้างจำกัด ในโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีเส้นใยนาโนจัดเรียงตามแนวเดียวกันเมื่อเทียบกับแบบที่มีเส้นใยนาโนจัดเรียงแบบสุ่ม เนื่องจากเครือข่ายเส้นใยนาโนแบบสุ่มนั้นนำเสนอหนทางที่ง่ายกว่าในการประสานเข้าไปภายในโครงเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากสภาพความกลมของรูและขนาดของรูพรุนนั้นใหญ่กว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีเส้นใยจัดเรียงตัวตามแนวเดียวกันเพื่อที่จะตอบสนองความต้องการในเชิงวิศวกรรมเนื้อเยื่อสถาปัตยกรรมอันสลับซับซ้อนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้นจะต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงเซลล์และวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม เพื่อที่จะเพิ่มพูนการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในสภาพการทดลองในหลอดทดลองให้สูงที่สุด

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททานาต (Na₂Ti₃O₇) เป็นวัสดุรองที่ใช้เป็นตัวที่ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือ (Salt Leaching techniques) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried techniques) พร้อมทั้งศึกษา ลักษณะสมบัติทางกายภาพได้แก่การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา ทางกลได้แก่การทดสอบสมบัติ การทนทานต่อแรงดึง แรงกด และทางชีวภาพ ได้แก่การทดสอบการย่อยสลาย การทดสอบการบวมน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินที่มีส่วนประกอบของไททานาต (Na₂Ti₃O₇) โดยเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินที่เป็นส่วนประกอบเพียงอย่างเดียว เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของการวิจัย ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิจัยทดลองตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1 ขั้นตอนการวิจัย



รูปที่ 3.1 ภาพรวมขั้นตอนการทำวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.1 แสดงแผนผังขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยจากเริ่มจนจบ โดยมีขั้นตอนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำงานดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง โดยมีทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยดังต่อไปนี้

1. โคร่งเลี้ยงเซลล์
2. เจลลาติน
3. คอลาเจน
4. ไททานेट ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$)
5. ทฤษฎีการขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
6. ทฤษฎีการทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล
7. ทฤษฎีการออกแบบการทดลอง
8. การทดสอบสมบัติทางกายภาพ และ ทางกล
 - 8.1 สัณฐานวิทยา
 - 8.2 การทดสอบการบวมน้ำ
 - 8.3 การทดสอบสมบัติการทนทานต่อแรงดึง แรงกด
 - 8.4 การทดสอบการย่อยสลาย
 - 8.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

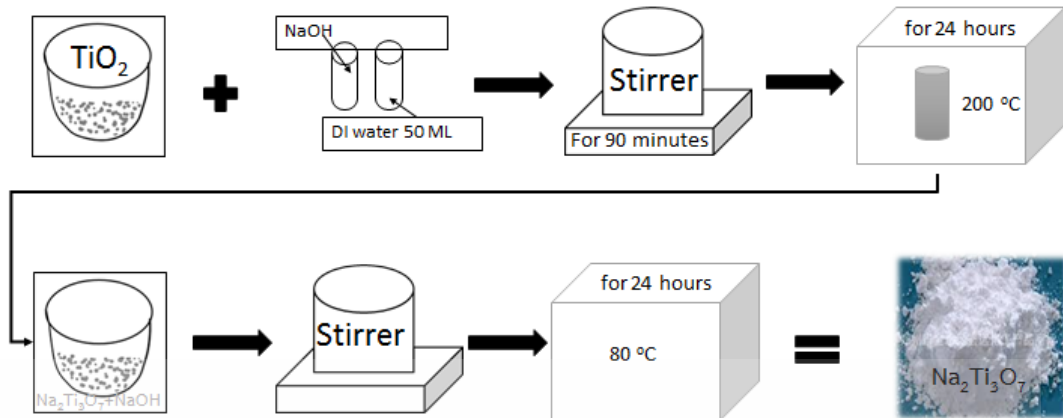
ขั้นตอนที่ 2 จัดเตรียมสถานที่ทำการทดลอง สาร และอุปกรณ์ โดยจัดสถานที่และการติดตั้งอุปกรณ์ในส่วนต่างๆ เพื่อทำการทดลอง

ขั้นตอนที่ 3 ทำการทดลอง

1. การสังเคราะห์ไททานียมไดออกไซด์ (TiO_2) เป็นไททานेट ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$)

ไททานेटนาโนริบบอนถูกสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรเทอร์มอล (Alkaline hydrothermal reaction) โดยมีไททานียมไดออกไซด์ (TiO_2) 0.5 กรัม เป็นสารตั้งต้นร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 20 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 10 โมลาร์ สารผสมไททานียมไดออกไซด์ (TiO_2) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ถูกปั่นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 90 นาที หลังจากนั้นนำไปใส่ในกระบอกทนแรงดันซึ่งเคลือบด้วยเทฟลอน (Teflon Lined autoclave) แล้วนำเข้าเตาอบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารที่ได้มาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน จนได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 7 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนไททานเนตนาโนริบบอนถูกสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรเทอร์มอล (Alkaline hydrothermal reaction)

2. ออกแบบการทดลองส่วนผสมเพื่อหาสัดส่วนในการทดลองโดยหาสมบัติการทนทานต่อแรงดึงของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผสมกันระหว่างสารละลายเจลาตินและสารละลายไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ที่อัตราส่วนต่างๆโดยการขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำผลการทดลองเปรียบเทียบกันแล้วเลือกใช้วิธีการขึ้นรูปที่ให้ผลดีที่สุดโดยใช้วิธี Central Composite Designs (CCD) of Response Surface Methodology (RSM) และเนื่องด้วยเจลาตินเป็นไบโอโพลิเมอร์ธรรมชาติที่ได้จากคอลลาเจนซึ่งพบได้จากผิวหนัง เนื้อ และกระดูก จากสัตว์และมีคุณสมบัติพิเศษซึ่งสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ดี งานวิจัยนี้จึงใช้ตัวทำละลายที่สามารถทำละลายกับเจลาตินได้นั่นคือ 2,2,2-ไตรฟลูออโรเอทานอลพร้อมทั้งทำการเปลี่ยนแปลงวิธีการเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพเพื่อความแข็งแรงของคุณสมบัติเชิงกล จึงใช้วิธีการเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพโดยการใช้อุณหภูมิ หรือ Dehydrothermal treatment (DHT) เป็นกระบวนการทางการภาพโดยให้ความร้อนสูงภายใต้สุญญากาศ โดยปกติใช้อุณหภูมิสูงกว่า 140 องศาเซลเซียสกระบวนการทั้งหมดจะทำให้น้ำถูกดึงออกจากโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ทำให้เกิดปฏิกิริยาการควบแน่นและส่งผลให้เกิดการเชื่อมโยงพันธะและทำให้โครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ แข็งแรงขึ้น

การวิเคราะห์ใช้โปรแกรม Minitab V.21 โดยใช้ 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของเจลาติน (A) จากผลการศึกษา[41-42] การใช้เจลาตินไม่ควรเกิน 20 กรัม, ความเข้มข้นของไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) (B) และน้ำปราศจากไอออน (DI water)(C) จากผลการทดลองเบื้องต้นใช้ประมาณ 2 กรัมและ 87.8 มิลลิลิตร [52-53] ซึ่งทำการออกแบบการทดลองตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 Parameters for experimental design.

ปัจจัย (Factors)	ระดับปัจจัย (Factors levels)	
	ระดับต่ำ (Low level)	ระดับสูง (High level)
A: เจลาติน (กรัม)	0	20
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (กรัม)	0	2
C: DI water (มิลลิลิตร)	0	87.8

3. การเตรียมวัสดุเชิงประกอบของเจลาตินและไททานิต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) โดยใช้ 2,2,2-ไตรฟลูออโรเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3.1 เตรียมสารละลายเจลาตินเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรโดยใช้ 2,2,2-ไตรฟลูออโรเอทานอลเป็นตัวทำละลายทำการกวนให้เข้ากันในอุณหภูมิห้อง

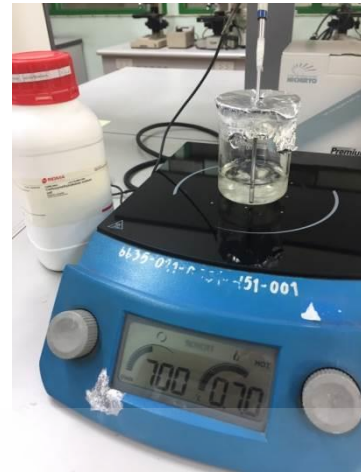


รูปที่ 3.3 ชั่งเจลาติน



รูปที่ 3.4 Gelatin solution

3.2 เตรียมสารละลายไททานิต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรโดยใช้ 2,2,2-ไตรฟลูออโรเอทานอลเป็นตัวทำละลายทำการกวนให้เข้ากันในอุณหภูมิห้อง

รูปที่ 3.5 ชั่งไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$)รูปที่ 3.6 ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) solution

3.3 นำสารละลายเจลาติน (Gelatin solution) โดยนำ gelatin powder ผสมกับ DI Water ด้วยความเข้มข้น 20 %w/v กวนให้เข้ากันด้วยอุณหภูมิตั้งที่ 50 องศา เป็นเวลา 30 นาที

3.4 ไททานเนต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) solution โดยการนำไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) powder ผสมกับ DI Water ด้วยความเข้มข้น 5 %w/v [2] กวนให้เข้ากันด้วยอุณหภูมิตั้งที่ 50 องศา เป็นเวลา 30 นาที

3.5 นำสารละลายเจลาตินและสารละลายไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ที่เตรียมได้มาผสมให้เข้ากันดังรูปที่ 3.7

รูปที่ 3.7 นำสารละลายเจลาตินและสารละลายไททานเนต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ที่เตรียมได้มาผสมกัน

กรณีที่ 1 ขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือ (Salt Leaching techniques) หลังจากได้วัสดุผสมเจลาตินและไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) จากขั้นตอนที่ 3.5 ปล่อยให้วัสดุผสมเจลาตินและไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) เย็นตัวที่ อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นใส่เกลือลงไปคนให้เข้ากัน นำวัสดุที่ผสมเกลือที่มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 300 x 300 x 300 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไปเก็บในชุด Desiccator ที่มีซิลิกาเจลเพื่อช่วยในการดูดความชื้นจากชิ้นงานจนแห้งสนิท นำวัสดุที่ผสมไปอบที่อุณหภูมิที่ 50 องศา ใช้บไล้ความชื้น 30 นาทีและอบเพื่อเชื่อมโยงพันธะ(ตามหัวข้อที่4.)

กรณีที่ 2 ขึ้นรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried techniques) หลังจากได้วัสดุผสมเจลาตินและไททานเตต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) จากขั้นตอนที่ 3.5 หลังจากนั้นก็นำไปเข้าเครื่อง Freeze-dried ที่อุณหภูมิติดลบ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเสร็จแล้วนำไปเข้าเครื่อง Freeze-dried ที่อุณหภูมิติดลบ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมงและอบเพื่อเชื่อมโยงพันธะ(ตามหัวข้อที่ 4.)

4. วิธีการเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพโดยการใช้อุณหภูมิหรือ Dehydrothermal treatment (DHT) โดยนำโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจลในกล่องสุญญากาศเป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นนำโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ เข้าในตู้อบสุญญากาศด้วยอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 3.8 ดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจล

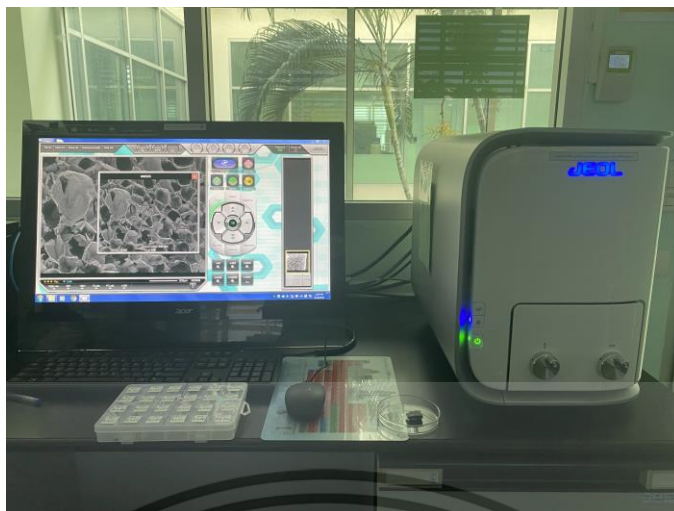


รูปที่ 3.9 ตู้อบสุญญากาศ

ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) การศึกษาสัณฐานวิทยาของวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น (JEOL Scanning electron microscope JSM-5410LV) กำลังขยาย 10,000 เท่า โดยตัวอย่างชิ้นงานถูกเคลือบทองเพื่อให้มีสภาพนำไฟฟ้าก่อนนำไปวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)

4.2 การศึกษาการบวมตัวของวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ไปหาผลต่างของน้ำหนักแห้งและน้ำหนักเปียกของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ คิดเป็นร้อยละ โดยทำการชั่งโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ตอนแห้ง หลังจากนั้นนำโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ไปแช่ในสารละลาย PBS buffer ที่ pH 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักที่โครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ออกทั้งสองด้านและชั่งน้ำหนักของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ทันที นำน้ำหนักแห้งและน้ำหนักเปียกของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ คำนวณตั้งสมการที่ 1 โดยจะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate)

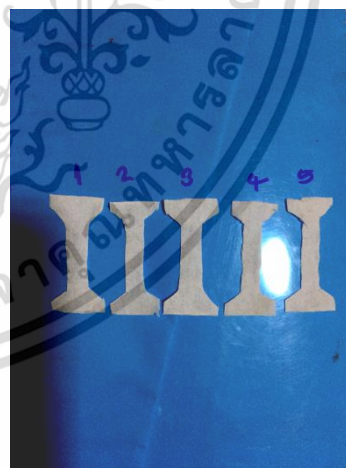
$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_{so} - W_0}{W_0} \quad (1)$$

โดย W_{so} คือน้ำหนักของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ หลังจากที่ถูกดูดน้ำ และ W_0 คือน้ำหนักเริ่มต้นของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$



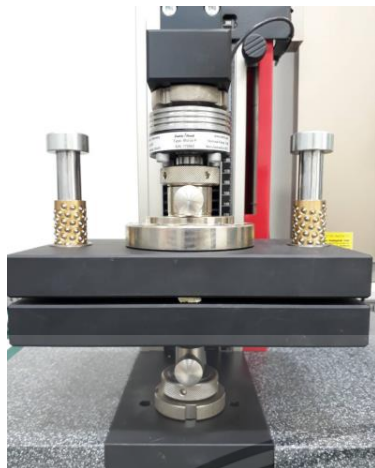
รูปที่ 3.11 โครจเลี้ยงเซลล์ไปแช่ใน PBS buffer รูปที่ 3.12 ชั่งน้ำหนักแห้งและน้ำหนักเปียก

4.3 การศึกษาสมบัติทางกลด้านความแข็งแรงดึง (Tensile Testing) ของโครจเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ โดยทำการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D3574 Test E. ด้วยเครื่องทดสอบแรงดึง (Universal Testing Machine) ใช้ความเร็วในการดึงเท่ากับ 5 มิลลิเมตรต่อนาทีโดยตัวอย่างที่ใช้ทดสอบมีขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร และความยาว 4 เซนติเมตร และขนาดของน้ำหนักกดเท่ากับ 5 กิโลนิวตัน โดยตัวอย่างที่ใช้ทดสอบมีขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร และความยาว 1 เซนติเมตร ในการทดสอบจะใช้ชิ้นงานจำนวน 5 ชิ้นต่อตัวอย่าง

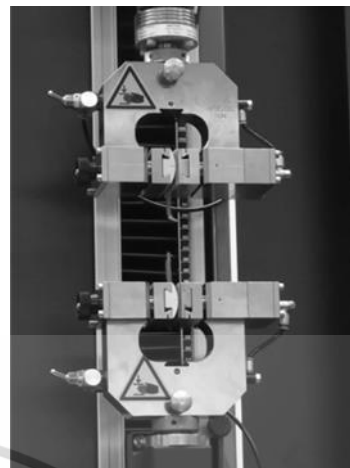


รูปที่ 3.13 ตัวอย่างชิ้นงานที่ใช้ทดสอบการกด 1 x 1 ซม. รูปที่ 3.14 ตัวอย่างชิ้นงานที่ใช้ทดสอบการดึง 1 x 4 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.15 การทดสอบการต้านทานแรงกด



รูปที่ 3.16 การทดสอบการต้านทานแรงดึง

4.4 การทดสอบการย่อยสลายเตรียมสารละลายไลโซไซม์(Bio Basic Inc.) จากไข่ไก่ขาวเข้มข้น 31.2 u/ml (0.1 mg/ml PBS buffer) เปรอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นนำวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ แขนในสารละลายไลโซไซม์และทิ้งไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 54 ชั่วโมง ตัวอย่างชิ้นงานจะถูกความคุมไม่ให้เกิดเอนไซม์ ตัวอย่างจะค่อยๆมีปริมาณลดลงและเมื่อถึงเวลาจำนวนชั่วโมงที่กำหนด 0.5, 1, 1.5, 24, 48 และ 54 ชั่วโมง ต้องทำการนำสารละลายไลโซไซม์ออกจากชิ้นงาน และล้างเอนไซม์ที่ยังหลงเหลือด้วยน้ำ หลังจากนั้นทำให้แห้งโดยการนำไปอบในตู้อบอีกครั้งทิ้งไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการทั้งหมดแล้วนำน้ำหนักตัวอย่างก่อน และหลัง ทำการแขนในสารละลาย ไลโซไซม์มาคำนวณดังสมการที่ 2 โดยจะทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

$$\text{Weight remain (\%)} = 100 - \left[\frac{(w_0 - w_f)}{w_0} \times 100 \right] \quad (2)$$

Where: W₀ is initial weight of the scaffold

W_f is final weight of the scaffold

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.17 การแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในโลโซไซม์

รูปที่ 3.18 ชั่งน้ำหนักก่อนหลังแช่โลโซไซม์

4.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity test) ด้วยวิธี MTT assay เพื่อศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์โดยศึกษาผลการตอบสนองของเซลล์เซลล์ไฟโบบลาสที่มีต่อวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ซึ่งเซลล์ไฟโบบลาส คือ เซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของชั้นผิวหนังทำหน้าที่สร้างคอลลาเจนและอีลาสติน ซึ่งช่วยรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังและช่วยยึดเหนี่ยวให้ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นแก่ผิวหนัง ในการทดสอบเตรียมการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยนำเซลล์มากระจายตัวในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและมีการควบคุมระยะเวลาในการให้อาหารเลี้ยงเซลล์เมื่อได้เซลล์ที่ต้องการแล้วนำตัวอย่างลงไปเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานที่เตรียมไว้ในหลุมเลี้ยงเซลล์ (well plate) ตามเวลาที่กำหนดจากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรนำค่ามาเขียนกราฟความสัมพันธ์เพื่อดูความเป็นพิษต่อเซลล์

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ประกอบไปด้วยอุปกรณ์และเครื่องมือ ดังต่อไปนี้

3.2.1 เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1.1 Magnetic stirrer

3.2.1.2 Thermometer

3.2.1.3 เครื่องทดสอบแรงดึง (Universal Testing Machine)

3.2.1.4 Scanning Electron Microscope

3.2.1.5 Syringe pump

3.2.1.6 High voltage power supply

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนเวลาหรับการเชิงวิชาการเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.7 Needle spinneret #20

3.2.1.8 เครื่องชั่ง

3.2.1.9 เครื่อง Freeze-dried

3.2.1.10 เครื่องทดสอบแรงกด

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 เจลาติน (Gelatin from Porcine Skin Type B (Fluka Analytical))

3.2.2.2 ไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$)

3.2.2.3 ตัวทำละลาย (2,2,2-trifluoroethanol (TFE) (purity 99.0%) (Sigma-Aldrich)

3.3.2.4 สารละลายไลโซไซม์ (Lysozyme (Bio Basic Inc.))

3.3.2.5 ไททานเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide: TiO_2)

3.3.2.6 เครื่อง X-Ray Diffraction (XRD)

3.3.2.7 เครื่องทดสอบความพรุน (Mercury Intrusion Porosimeter (MIP))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

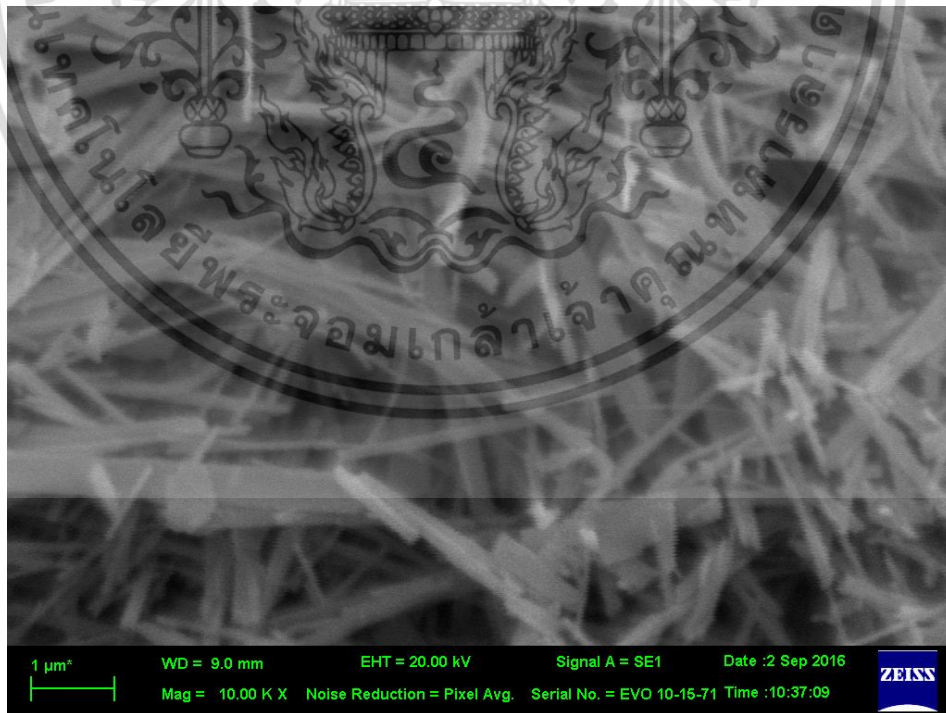
ผลการทดลอง

ผลการทดลองในบทนี้จะกล่าวถึงผลการศึกษาสสมบัติทางกายภาพและทางกลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ซึ่งมีทั้งหมด 4 ส่วนได้แก่ 1. โครงสร้างจุลภาคของไททานेट (Na₂Ti₃O₇) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ผ่านการสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่จากไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO₂) [13-14] 2. อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงดึงกับการย่อยสลายทางชีวภาพ 3. อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการบวมน้ำ 4. อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกดและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.1 โครงสร้างจุลภาคของไททานेट (Na₂Ti₃O₇) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ผ่านการสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่จากไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO₂)

4.1.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของไททานेट (Na₂Ti₃O₇)

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) พบว่า โครงสร้างมีการจัดเรียงเป็นชั้น (Layered structure) มีรูปร่างเป็นริบบอนที่สมบูรณ์



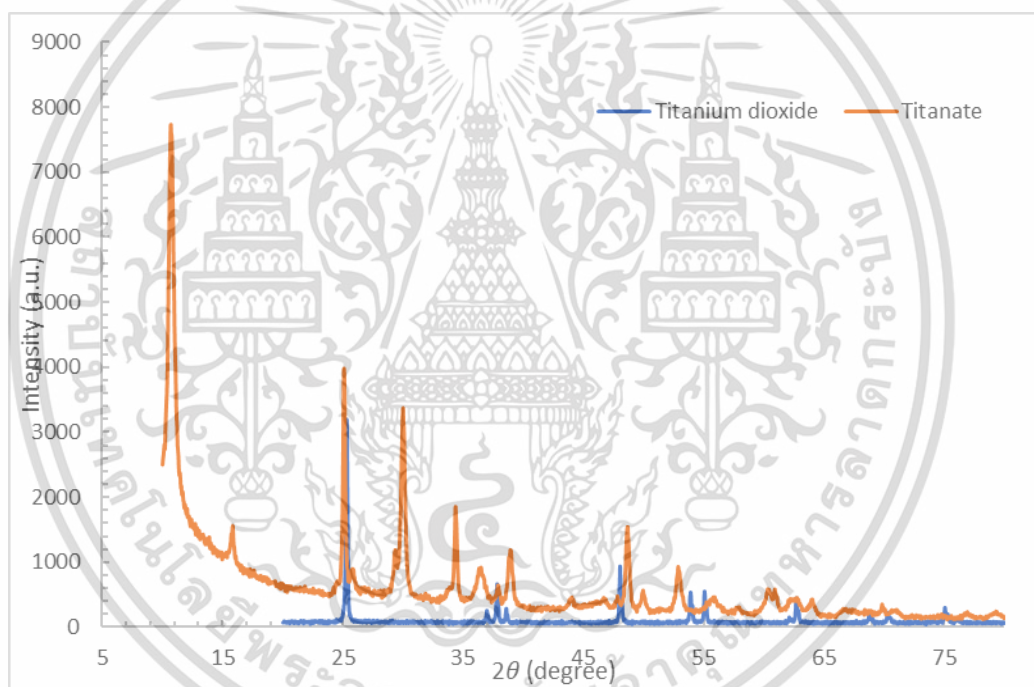
รูปที่ 4.1 โครงสร้างจุลภาคของไททานेट (Na₂Ti₃O₇) จากเทคนิค SEM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลการวิเคราะห์แถบสเปกตรัมจากการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ TiO_2 และ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$

จากการศึกษาโครงสร้างผลึก TiO_2 (เกรดอุตสาหกรรม) ด้วยเครื่อง X-Ray Diffraction (XRD) ยี่ห้อ SHIMADZU/Japan รุ่น XRD - 6100 เพื่อศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะโครงสร้างผลึกของแต่ละเฟสที่เกิดขึ้น พบว่าโครงสร้าง TiO_2 ที่นำมาใช้เป็นแบบอะนาเทส (Anatase) ที่ตำแหน่งมุม $2\theta = 25.3^\circ$

ทำการเปรียบเทียบโครงสร้างผลึกของไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) จากการสังเคราะห์ผ่านกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล (Hydrothermal process) ที่อุณหภูมิ 200°C พบว่า จากกราฟความสูงของพีคบ่งบอกถึงความเป็นผลึกของไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ที่ตำแหน่ง $2\theta = 10.72^\circ$ และสมมาตรความเป็นผลึกมีแนวโน้มใกล้เคียงกับโครงสร้าง TiO_2 ตั้งต้นที่นำมาใช้



รูปที่ 4.2 ผลการทดสอบ XRD ของ TiO_2 และ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$

4.2 อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงดึงกับการย่อยสลายทางชีวภาพ

งานวิจัยนี้ใช้หลักการออกแบบการทดลองแบบส่วนผสม (Mixture design) แบบมีข้อจำกัดหรือแบบ Extreme vertices เพื่อศึกษาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ โดยกำหนดปัจจัยที่ใช้สำหรับการทดลองทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัย A (เจลาติน) ปัจจัย B ไททานต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และปัจจัย C (DI water) ส่วนผลตอบสนองในการทดลองคือ ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength, KPa)

ตารางที่ 4.1 แสดงปัจจัยและระดับของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลอง

ปัจจัย (Factors)	ระดับปัจจัย (Factors levels)	
	ระดับต่ำ (Low level)	ระดับสูง (High level)
A: เจลาติน (กรัม)	0	20
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (กรัม)	0	2
C: DI water (มิลลิลิตร)	0	87.8

ผลออกแบบการทดลองตามเงื่อนไขข้างต้นได้อัตราส่วนผสมทั้งหมด 27 การทดลอง (runs) ทำการทดลองซ้ำ (Replicate) ทั้งหมด 3 ครั้ง ต่อเงื่อนไขการทดลองแสดงดังตารางที่ 2 หลังจากนั้นทำการเก็บข้อมูลนำไปประมวลผลทางสถิติเพื่อวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองและหาระดับที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัย

ตารางที่ 4.2 Experimental design and results

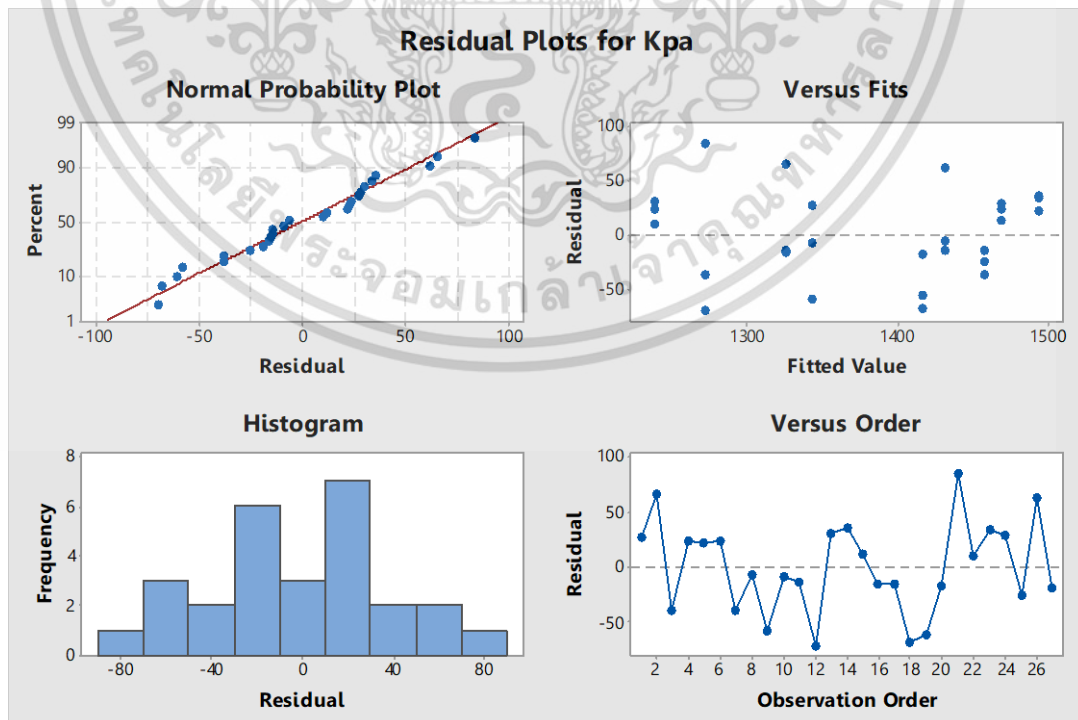
RunOrder	Factors			Tensile Testing (Kpa)
	A: Gelatin	B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	C: DI water	
1	0.120	0.002	0.878	1370.372
2	0.120	0.008	0.872	1391.098
3	0.180	0.002	0.818	1233.898
4	0.180	0.008	0.812	1262.019
5	0.150	0.005	0.845	1515.289
6	0.135	0.004	0.862	1493.043
7	0.135	0.007	0.859	1419.788
8	0.165	0.004	0.832	1425.541
9	0.165	0.007	0.829	1359.31
10	0.120	0.002	0.878	1334.372
11	0.120	0.008	0.872	1311.098
12	0.180	0.002	0.818	1201.898
13	0.180	0.008	0.812	1268.506
14	0.150	0.005	0.845	1529.289
15	0.135	0.004	0.862	1481.043
16	0.135	0.007	0.859	1443.324
17	0.165	0.004	0.832	1416.839

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18	0.165	0.007	0.829	1348.72
19	0.120	0.002	0.878	1282.372
20	0.120	0.008	0.872	1309.098
21	0.180	0.002	0.818	1355.898
22	0.180	0.008	0.812	1248.506
23	0.150	0.005	0.845	1527.289
24	0.135	0.004	0.862	1497.043
25	0.135	0.007	0.859	1432.963
26	0.165	0.004	0.832	1493.541
27	0.165	0.007	0.829	1397.634

4.2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง

นำผลการทดลองที่ได้มาทำการตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลว่ามีความเหมาะสมหรือไม่ด้วยการวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองหากข้อมูลมีความเหมาะสมจึงนำมาวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลอง หากข้อมูลมีความเหมาะสมจึงนำมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (R-Square) และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) การตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลมี 3 ขั้นตอนคือ (1) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (2) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล และ (3) การตรวจสอบความเสถียรภาพของความแปรปรวน ดังนั้นสรุปได้ว่าข้อมูลมีคุณสมบัติทั้ง 3 ประการ แสดงดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 การตรวจสอบคุณภาพข้อมูลของความทนแรงดึง (tensile strength)
เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นการตรวจสอบความแข็งแรงดึง (tensile strength) จาก การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และ DI Water ที่ ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ในตารางที่ 4.3 พบว่าค่า P-value น้อยกว่าระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 คือ น้ำหนักเจลาติน น้ำหนักไททานต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำหนักของ DI Water ไม่มีความสัมพันธ์กับส่วนผสมหลักคือเจลาตินและไททานต ซึ่งค่า สัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (R-Sq) เป็นค่าที่ใช้บอกร้อยละการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามที่สามารถ อธิบายได้ด้วยตัวแปรอิสระในการทดลอง จากการวิเคราะห์การทดลองของพื้นที่ตอบสนอง ในตาราง ที่ 4.3 จะเห็นว่าค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 86.88 % หมายความว่า ตัวแปรอิสระ (น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และ DI Water) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของ ตัวแปรตาม (น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และ DI Water) ได้ร้อยละ 83.76 แสดง ว่าแบบจำลองสามารถนำไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

ตารางที่ 4.3 ผลวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของผลทดสอบความแข็งแรงดึง

Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	1493.8	12.8	117.02	0.000	
A: Gelatin	30.42	7.90	3.85	0.001	1.06
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	-99.9	35.3	-2.83	0.010	21.26
A: Gelatin*A: Gelatin	179.7	67.2	2.67	0.014	50.54
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ *B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	-472	132	-3.58	0.002	150.97
C: DI Water*C: DI Water	177.1	67.2	2.64	0.015	50.54

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
39.0415	86.88%	83.76%	75.45%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	5	211994	42399	27.82	0.000
A: Gelatin	1	22623	22623	14.84	0.001
B: Na ₂ Ti ₃ O ₇	1	12211	12211	8.01	0.010
A: Gelatin*A: Gelatin	1	10897	10897	7.15	0.014
B: Na ₂ Ti ₃ O ₇ *B: Na ₂ Ti ₃ O ₇	1	19546	19546	12.82	0.002
C: DI Water*C: DI Water	1	10586	10586	6.94	0.015
Error	21	32009	1524		
Total	26	244003			

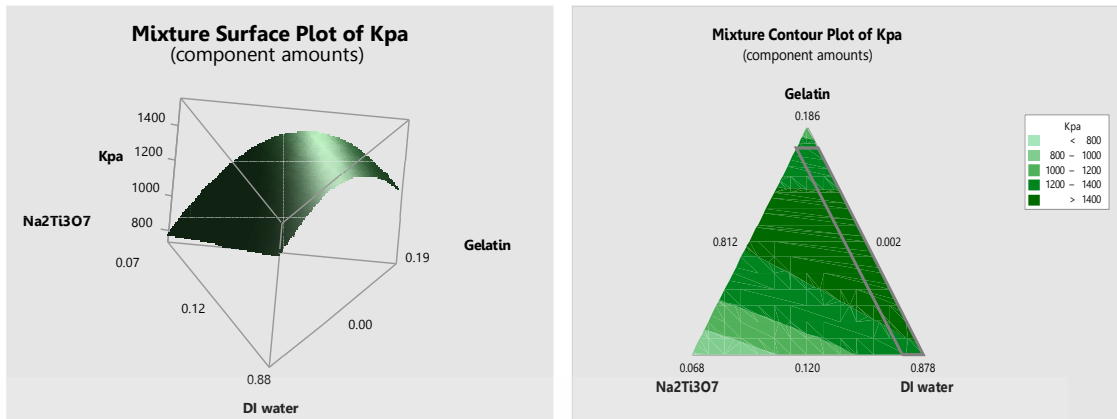
นำปัจจัยจากการทดลองแบบผสม (Mixture Design) มาทำการวิเคราะห์การถดถอยต่อเพื่อสร้างสมการถดถอยประมาณค่าโดยรวมและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Tensile} = 1493.8 + 30.42 \text{ A: Gelatin} - 99.9 \text{ B: Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7 + 179.7 \text{ A: Gelatin} * \text{A: Gelatin} - 472 \text{ B: Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7 * \text{B: Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7 + 177.1 \text{ C: DI Water} * \text{C: DI Water}$$

โดยมีสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ R² เท่ากับ 86.88 % หมายความว่าในความผันแปรของค่าโดยรวมทั้งหมด 100% สมการถดถอยนี้สามารถพยากรณ์ได้ถูกต้องถึง 86.88 %

4.2.3 ผลการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง

นำสมการ Mixture regression ของผลตอบสนองความแข็งแรงดึงที่ได้มาใช้ในการหา Mixture Surface และ Mixture contour plot รูปที่ 4.4 พื้นผิวผลตอบค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength) ในกระบวนการขึ้นรูปชิ้นงานระหว่างน้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานเตต (Na₂Ti₃O₇) และ DI Water พบว่าค่าเพิ่มขึ้น เมื่อน้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานเตต (Na₂Ti₃O₇) มีปริมาณสูงขึ้น

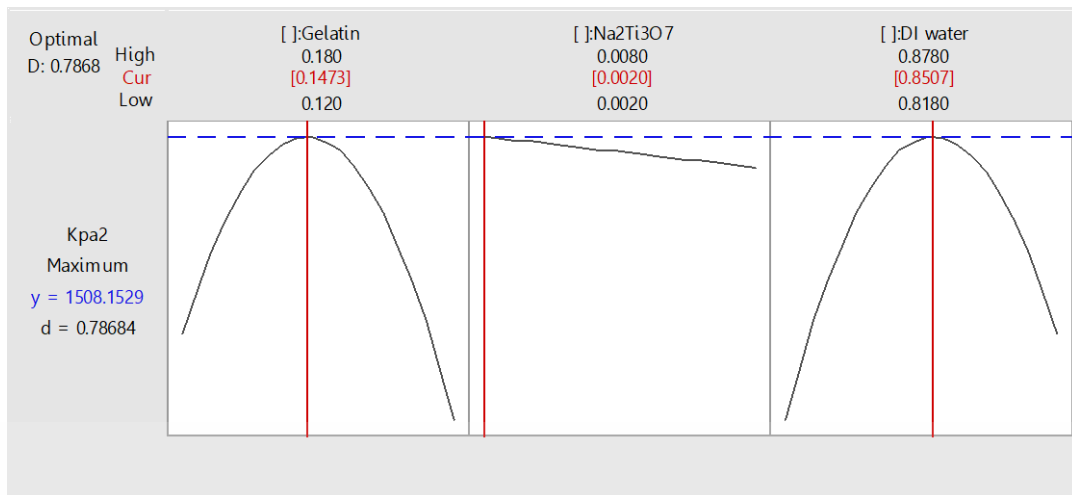


รูปที่ 4.4 Mixture Surface และ Mixture contour plot

4.2.4 การหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด

ในการหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการความแข็งแรงดึง (tensile strength) โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ซึ่งเป็นฟังก์ชันที่ใช้หาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยและใช้วัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (composite desirability :D) ซึ่งค่าความพึงพอใจของผลตอบมีค่าระหว่าง 0-1 ถ้า D มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึงผลตอบนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ จากการหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมโดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer พบว่าการหาความแข็งแรงดึง (tensile strength) ในกระบวนการขึ้นรูป น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานเนต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) และ DI Water ที่เหมาะสมที่สุด คือ ต้องใช้น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานเนต($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ DI Water ที่ 85.07 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้ค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength) สูงที่สุดคือ 1,508.15 Kpa. แสดงดังรูปที่ 5 ทั้งนี้ค่าความแข็งแรงดึงสำหรับโครงเลี้ยงเซลล์นั้นในการนำไปใช้งานจริงอาจไม่ได้เลือกสูตรที่ให้ค่าความแข็งแรงดึงที่ดีที่สุดเพราะค่านั้นอาจส่งผลในด้านลบต่อการย่อยสลายของโครงเลี้ยงเซลล์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 การวิเคราะห์ระดับที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength)

4.2.5 ผลทดสอบการย่อยสลาย

การทดสอบการย่อยสลายโดยเตรียมสารละลายไลโซไซม์จากไข่ไก่ขาวเข้มข้น 31.2 u/ml (0.1 mg/ml PBS buffer) เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักหลังจากนั้นนำวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ แขนงในสารละลายไลโซไซม์และทิ้งไว้ในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 54 ชั่วโมง ตัวอย่างชิ้นงานจะถูกควบคุมไม่ให้เกิดเอนไซม์ตัวอย่างจะค่อยๆมีปริมาณลดลง และเมื่อถึงเวลาจำนวนชั่วโมงที่กำหนด 0.5, 1, 1.5, 24, 48 และ 54 ชั่วโมง ต้องทำการนำสารละลายไลโซไซม์ออกจากชิ้นงาน และล้างเอนไซม์ที่ยังหลงเหลือด้วยน้ำหลังจากนั้นทำให้แห้งโดยการนำไปอบในตู้บัพอีกครั้งทิ้งไว้ในตู้บัพอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการทั้งหมดแล้วนำน้ำหนักตัวอย่างก่อน และหลังตาม ทำการแขวนสารละลายไลโซไซม์ จำนวนดังสมการที่ 4.1 โดยจะทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง [68]

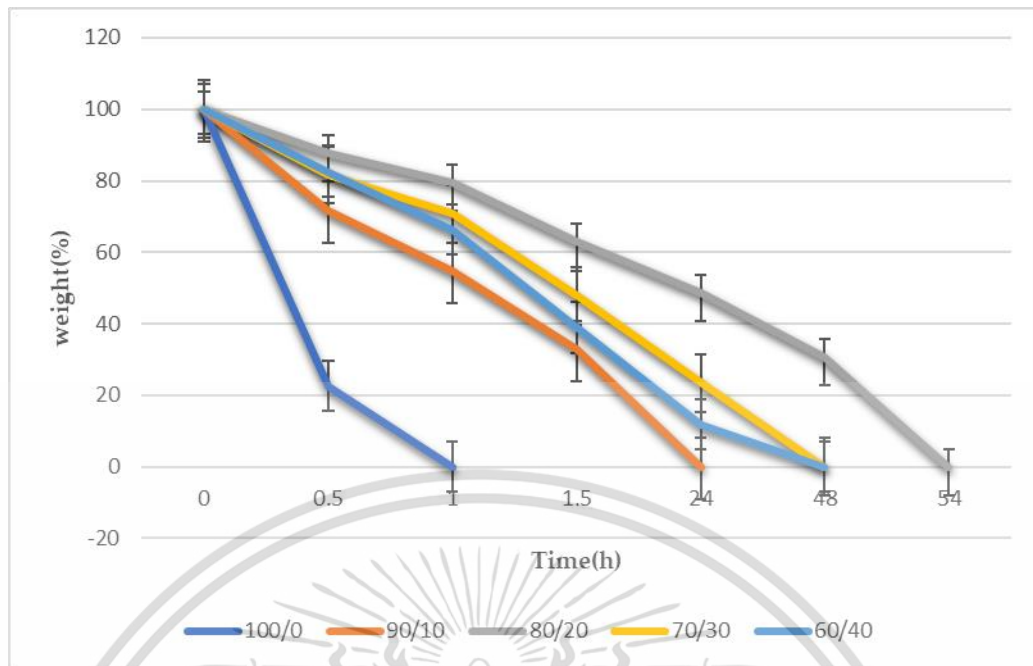
$$\text{Weight remain (\%)} = 100 - \left[\frac{(w_0 - w_f)}{w_0} \times 100 \right] \quad (4.1)$$

โดย : w_0 คือน้ำหนักของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ก่อนแขวนในสารละลายไลโซไซม์

w_f คือน้ำหนักของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่เหลือหลังอบแห้ง

ทำการเปรียบเทียบโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินบริสุทธิ์และโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ตามการวิเคราะห์วิธีการย่อยสลาย [16] และพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ของเจลาตินบริสุทธิ์ (อัตราส่วนของ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ คือ 100/0) ถูกย่อยสลายในหนึ่งชั่วโมง แต่โครงเลี้ยงเซลล์ของส่วนผสม Gelatin/Na₂Ti₃O₇ (อัตราส่วน 90/10) ต้องใช้เวลา 24 ชั่วโมงในการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ ส่วนผสมของ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่ 60/40 และ 70/30 จะถูกย่อยสลายใน 48 ชั่วโมง และส่วนผสมของ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ในอัตราส่วน 80/20 จะถูกย่อยสลายใน 54 ชั่วโมง ดังรูปที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



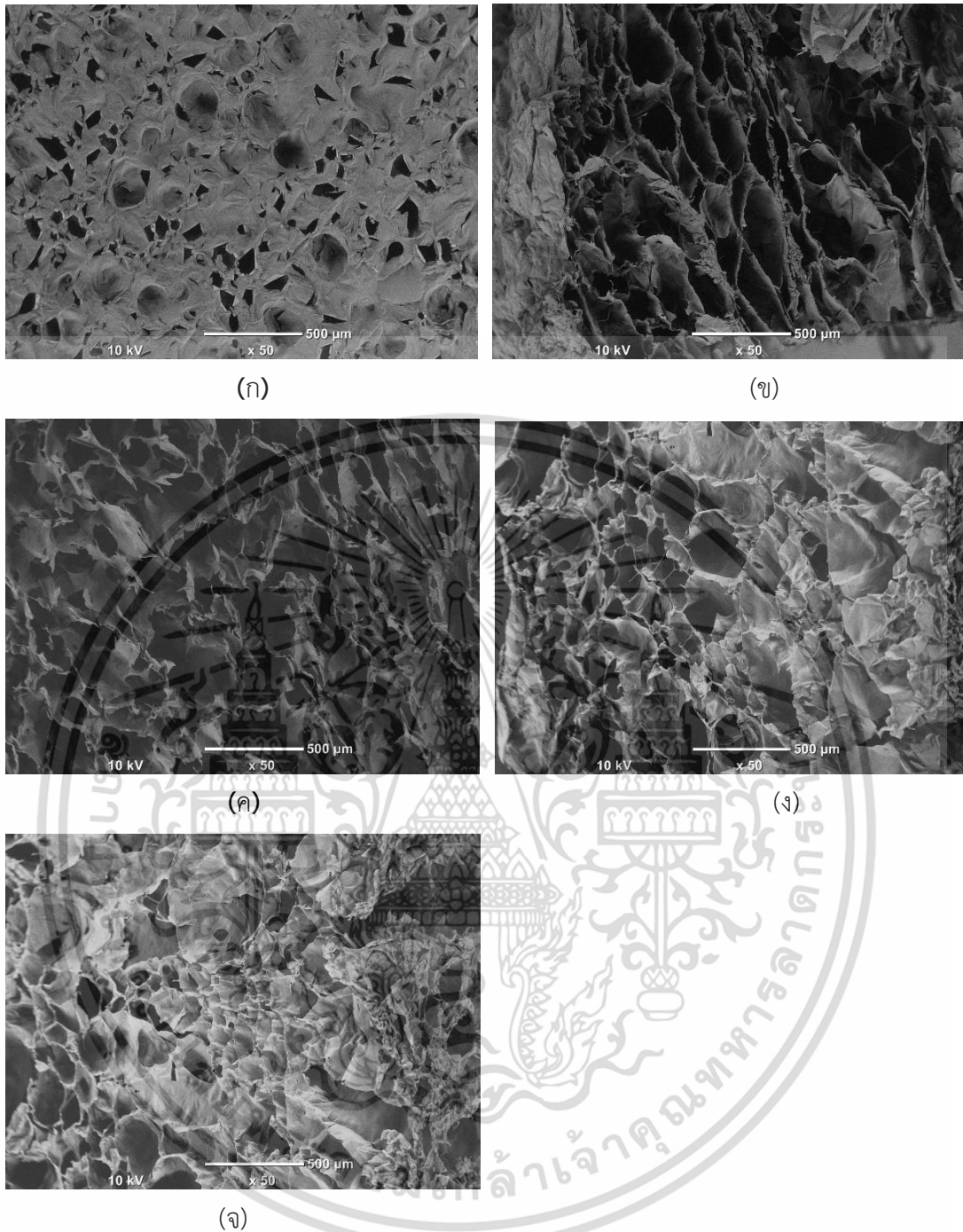
รูปที่ 4.6 ผลของการย่อยสลายโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ($n = 20$) (พิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ เทียบกับ 100/0)

4.3 อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการบวมน้ำ

4.3.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) พบว่าสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ได้รับการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM, JSM-5610LV, JEOL) (แรงดันไฟฟ้า: 20 kV) หลังจากเคลือบผิวตัวอย่างด้วยทองคำ [56] วัดขนาดรูพรุนอย่างน้อย 20 ครั้ง และคำนวณเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยตามที่แสดงในตารางที่ 4 ภาพของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ และการเชื่อมโยงพันธะทางกายภาพโดยการใช้อุณหภูมิ (DHT) ที่อุณหภูมิ 140 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 7 เส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ก็เปลี่ยนไปเช่นกัน จากการประเมินด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) โครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ แสดงขนาดรูพรุน รูปที่ 7 เมื่อเติม $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ จำนวนมากลงในส่วนผสม ขนาดรูพรุนจะลดลง รูปที่ 7จ แสดงขนาดรูพรุนที่แปรผันได้สูง และรูปที่ 7ก, ข, ค, ง, และ จ แสดงให้เห็นว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ อยู่ในช่วงตั้งแต่ 120 ถึง 240 μm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7. SEM images of the scaffold obtained via the freeze-dry technique with gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixed in a ratio of (ก) 100/0, (ข) 90/10, (ค) 80/20, (ง) 70/30 และ (จ) 60/40

4.3.2 ผลการศึกษาความพรุนและขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$

ผลการศึกษาความพรุนและขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ สร้างขึ้นโดยเทคนิคการทำแห้งเยือกแข็งพบว่ามีความพรุนตามขนาดของเครือข่ายรูพรุนที่เชื่อมต่อกัน ลักษณะพื้นฐานวิทยาที่มีความพรุนเป็นเนื้อเดียวกัน ความพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ความพรุนไม่ต่ำกว่าเกณฑ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณโดยใช้สมการ (3) ผลการวิจัยพบว่าความพรุนของตัวอย่างมีค่าตั้งแต่ 67 เปอร์เซ็นต์ ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 8) ความพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ คือ >85 เปอร์เซ็นต์ และสิ่งนี้เอื้อต่อการเติบโตของเซลล์ [16–18] โครงสร้างจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ และเจลาตินบริสุทธิ์แสดงในรูปที่ 7ก-จ ลักษณะรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินบริสุทธิ์พบว่า มีลักษณะเป็นรูพรุนและเชื่อมต่อกันตลอดโครงเลี้ยงเซลล์ไม่ทราบขนาด ในโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ พบว่าวัสดุที่มีรูพรุนที่กระจายอย่างสม่ำเสมอ (ประมาณ 120-240 μm) ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเติบโตของเซลล์กระดูก [60] นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดรูพรุนของวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ ที่เตรียมไว้มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์กำจัดสารพิษและการส่งผ่านของสารอาหารภายในวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการเตรียมตัวอย่างในการทดลองนี้ อย่างไรก็ตาม ความพรุนของตัวอย่างแสดงให้เห็นว่ามีความเชื่อมโยงในระดับหนึ่ง ซึ่งความพรุนของโครงสร้างที่ดีจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ [16-18] เมื่อนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์ความพรุนและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ มีการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน เมื่อเติม ไททานเนต(Na₂Ti₃O₇) มากเกินไปหรือบริสุทธิ์ลงในส่วนผสมเนื่องจากผลลัพธ์ของขนาดรูพรุนที่เล็กลง [51–52] ผลลัพธ์ของเส้นผ่านศูนย์กลางของขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไม่เล็กและใหญ่ทีเดียว

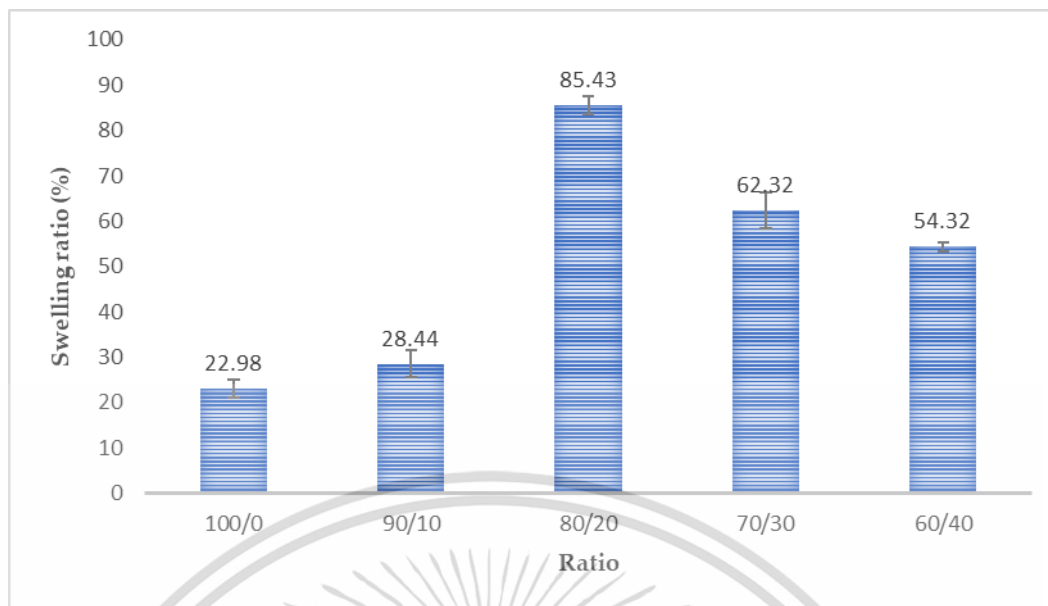
ตารางที่ 4.4. Porosity percent and pore size of the scaffold. at $p < 0.05$.

Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇	pore size (μm)	Porosity (%)
100/0	124.23 ± 2.65	67.96 ± 2.77
90/10	195.32 ± 2.52	83.43 ± 0.82
80/20	278.71 ± 2.52	86.42 ± 1.08
70/30	257.79 ± 2.08	85.44 ± 1.20
60/40	234.56 ± 3.51	84.63 ± 2.30

4.3.3 ผลการศึกษาการบวมน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇

ผลการศึกษาการบวมน้ำพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ที่ได้จากเทคนิคทำแห้งเยือกแข็งที่มีอัตราส่วนผสม 100/0 มีอัตราการพองตัว 22.98 เปอร์เซ็นต์อัตราส่วนการพองตัวสูงสุด 85.43 เปอร์เซ็นต์ ได้มาจากเทคนิคทำแห้งเยือกแข็งสำหรับส่วนผสมเจลาตินและไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) โดยผสมในอัตราส่วน 80/20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8. Swelling ratio of gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold via freeze-dry technique. (n = 5) at $p < 0.05$.

4.4 อิทธิพลของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกดและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

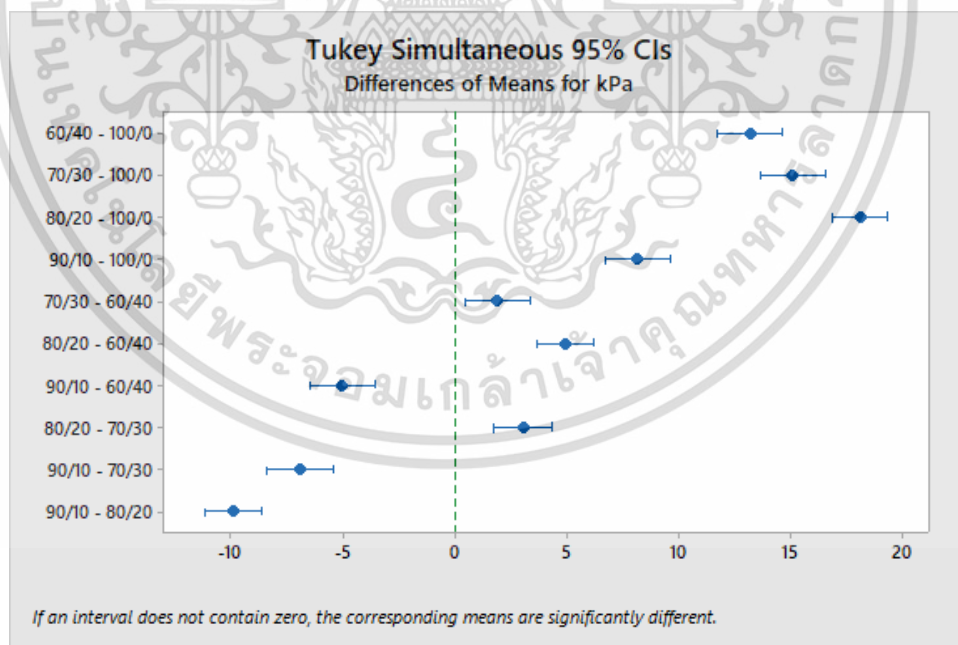
4.4.1 ผลการศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกด

ผลการศึกษาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่มีต่อสมบัติการทนทานต่อแรงกดพบว่า ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยสำหรับ kPa แสดงไว้ในรูปที่ 10 ตัวอย่างที่เตรียมในอัตราส่วน 100/0, 90/10, 80/20, 70/30 และ 60/40 (เจลาติน/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ได้รับการทดสอบตาม โมดูลัสแรงอัด (ตารางที่ 1) โมดูลัสแรงอัดของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ เท่ากับ 14.16 ± 0.03 kPa, 22.29 ± 0.06 kPa., 32.23 ± 3.04 kPa., 29.21 ± 0.04 kPa. และ 27.33 ± 0.07 kPa ตามลำดับ ข้อมูลเฉลี่ยถูกนำมาเปรียบเทียบโดยใช้วิธีทดสอบ A ของ Tukey ([60/40–100/0], [70/30–100/0], [80/20–100/0], [90/10 – 100/0], [70/30–60/40], [80/20–60/40], [90/10–60/40], [80/20–70/30], [90/10–70/30] และ [90/10–80/20]) ผลการวิจัยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากช่วงความเชื่อมั่นของผลต่างไม่ครอบคลุมค่า 0 (รูปที่ 9) สรุปได้ว่า ตัวอย่าง 80/20 แสดงโมดูลัสแรงอัดที่ดีที่สุด

เมื่อเติมไททานเนต ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) ลงในโครงสร้างโมดูลัสแรงอัดจะเพิ่มขึ้น ผลลัพธ์นี้เห็นด้วยกับผลลัพธ์ที่รายงานก่อนหน้านี้ซึ่งระบุว่าความต้านทานแรงดึงของระบบคอลลาเจนได้รับอิทธิพลจากคุณสมบัติเชิงกลที่ดีของไคโตซานและเอไมด์หรือพันธะไฮโดรเจนระหว่างคอลลาเจนและไคโตซาน การเพิ่มเนื้อหาของ nano- TiO_2 จะทำให้ความต้านทานแรงดึงของโครงสร้างค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสูงสุดที่เนื้อหาของ nano-TiO₂ ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ พันธะไฮโดรเจนระหว่างระบบนาโน TiO₂ กับ คอลลาเจนและโคโตซานช่วยปรับปรุงความต้านทานแรงดึงของโครงเลี้ยงเซลล์ [10–12]. ผลการวิจัย พบว่า Na₂Ti₃O₇ สกัดด้วยปากกาได้อย่างละเอียดถี่ถ้วนจากโครงสร้างชีวการแพทย์ และความต้านทานแรงดึงของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ นั้นสูงกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่สร้างจากเจลาตินบริสุทธิ์ เทคนิคการออกแบบส่วนผสมใช้สำหรับการเตรียมตัวอย่างโดยใช้เจลาติน 14.73 เปอร์เซ็นต์, Na₂Ti₃O₇ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ DI 85.07 เปอร์เซ็นต์ ความต้านทานแรงดึงสูงสุด (1508.15 kPa) ถูกบันทึกไว้ภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้ แรงดึงที่บันทึกภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้สูงกว่าความต้านทานแรงดึงของระบบที่ประดิษฐ์ขึ้นโดยใช้ TiO₂ ประมาณ 4.88 เปอร์เซ็นต์ [26–27]. ดังนั้น ตัวอย่างจึงมีลักษณะเป็นโมดูลัสแรงอัดสูง นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของปริมาณของไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ส่งผลให้ โมดูลัสการอัดของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ เพิ่มขึ้น เมื่อใช้ไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) มากเกินไป การรวมตัวของไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ถูกสังเกตและความสามารถในการเสริมกำลังได้รับผลกระทบในทางลบ ภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้ โมดูลัสแรงอัดจะลดลง โมดูลัสแรงอัดมีความสัมพันธ์กับความต้านทานแรงดึงและความต้านทานต่อการเสื่อมสภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ โมดูลัสการอัดลดลงเมื่อเนื้อหาของนาโน TiO₂ อยู่ที่ > 5 เปอร์เซ็นต์ นี่เป็นผลมาจากความจริงที่ว่า การรวมตัวของ nano-TiO₂ ส่งผลให้ความเป็นไปได้ของการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับคอลลาเจนหรือโคโตซานลดลง [11–12].

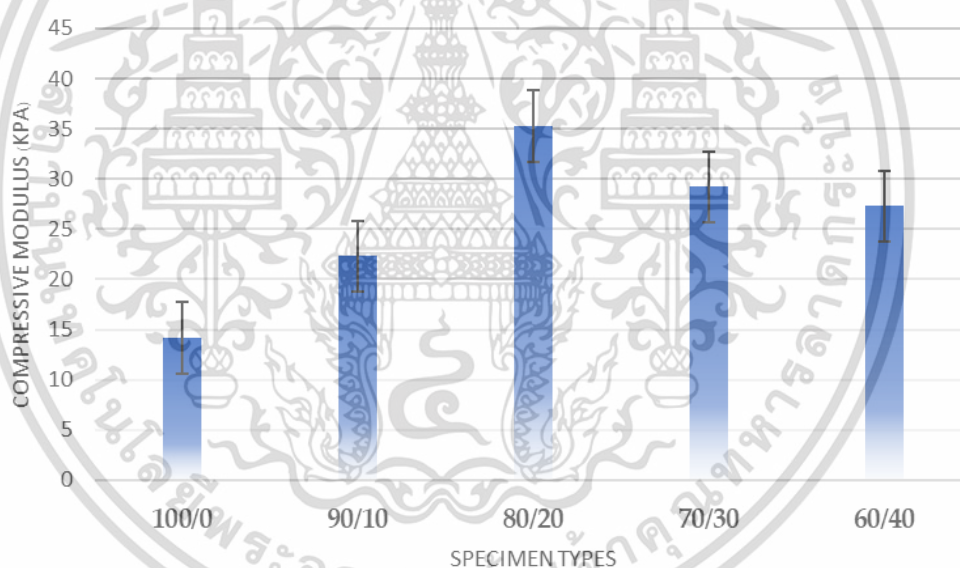


รูปที่ 4.9. Tukey Simultaneous 95% CIs (differences of Means for kPa).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5. Compressive modulus recorded for the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold

Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	Average compressive modulus(kPa) \pm SD
100/0	14.16 \pm 0.03
90/10	22.29 \pm 0.06
80/20	32.23 \pm 3.04
70/30	29.21 \pm 0.04
60/40	27.33 \pm 0.07

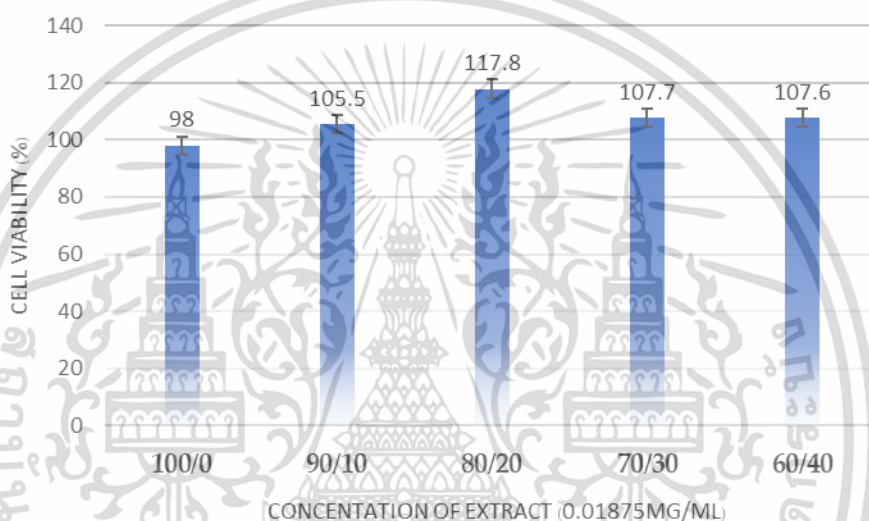


รูปที่ 4.10. Compressive test conducted for the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold (*Significant differences were observed between the scaffolds at $p < 0.05$).

4.4.2 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์

ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าการทดสอบความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อสามารถทำได้ โดยการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ที่ประเมินโดย MTT assay เป็นดังรูปที่ 11 ตัวอย่างทั้งหมดแสดงเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ประมาณ 98-108 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม 80 เปอร์เซ็นต์ สิ่งนี้ออกสารนี้เป็นเอกสารทสวงนเวส้าหรับการชงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้บ่งชี้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาหลายชิ้น [1, 10-12] เกี่ยวกับการใช้วัสดุคอมโพสิตที่มีส่วนประกอบของไททานเนียมร่วมกับเจลาติน ไคโตซาน และอื่นๆ ซึ่งเข้ากันได้กับเซลล์และเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับโครงร่างเจลาติน โครงร่างไคโตซาน และโครงร่างไททานเนียมไดออกไซด์ ผลการศึกษาพบว่าไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ และเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกสร้างขึ้นเพื่อหยุดเลือด สิ่งนี้ได้รับการพิจารณาสำหรับการรักษาบาดแผล [10] ดังนั้น ผลการทดสอบของเราสามารถบ่งชี้ได้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ และยังเป็นวัสดุทางเลือกสำหรับการใช้งานทางการแพทย์และการวิจัยเพิ่มเติม



รูปที่ 4.11. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ประเมินโดยการตรวจ MTT * สังเกตความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

5.1.1 สรุปผลการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ซึ่งสังเคราะห์ใหม่จากสารตั้งต้นไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO₂) เป็นวัสดุรอง

พบว่าการศึกษาและพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์โดยใช้เจลาตินเป็นวัสดุหลักและใช้ไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ซึ่งสังเคราะห์ใหม่จากสารตั้งต้นไททานเนียมไดออกไซด์ (TiO₂) เป็นวัสดุรองใช้วิธีขึ้นรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dry technique) ซึ่งพบว่า ไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพโดยรวม มีความเป็นรูพรุนที่อยู่ในช่วงประมาณ 75-81 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเติมไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ในสัดส่วน 80/20 ทำให้ค่าโมดูลัสที่ดีที่สุดได้เท่ากับ 35.25 kPa เมื่อเทียบกับตัวอย่างโครงเลี้ยงเซลล์เจลาตินบริสุทธิ์ 100/0 พบว่าค่าการทดสอบแรงอัดเพิ่มขึ้น 59.8 เปอร์เซ็นต์และผลจากการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของตัวอย่างทั้งหมดโดยผลแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่สังเกตได้ประมาณ 98-108 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม 80 เปอร์เซ็นต์ สิ่งเหล่านี้บ่งชี้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ อาจเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการรักษาบาดแผลและการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไปได้

5.1.2 สรุปผลการศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์เซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ เพื่อให้ได้ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางกล และ ทางชีวภาพ ที่เหมาะสม

พบว่าการศึกษาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์โดยวิธีการออกแบบการทดลองส่วนผสม เพื่อให้ได้ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางกล และ ทางชีวภาพ ที่เหมาะสมโดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer พบว่า ในกระบวนการขึ้นรูป น้ำหนักเจลาติน, น้ำหนักไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) และ DI Water ที่เหมาะสมที่สุด คือ ต้องใช้น้ำหนักเจลาติน 14.73 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำหนักไททานเนต (Na₂Ti₃O₇) ที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ DI Water ที่ 85.07 เปอร์เซ็นต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เนื่องจากด้วยข้อจำกัดต่างๆสำหรับผลจากงานวิจัยนี้ในส่วนของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้นเท่านั้นถ้าจะนำผลการศึกษานี้ไปใช้ต่อควรทำการทดลองในเชิงลึกต่อไปหรือนำโครมเลียงเซลล์ Gelatin/Na₂Ti₃O₇ ไปทดลองใช้สำหรับสัตว์ทดลองหรือการเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อดูการเจริญเติบโตของเซลล์ได้

5.2.2 การเตรียมสารสำหรับการทดลองเพื่อให้เกิดความคลาดเคลื่อนของข้อมูลน้อยที่สุดและประหยัดงบประมาณในการใช้สารประกอบการทดลองควรเตรียมสารให้เพียงพอในการทดลองในแต่ละรอบนั้นๆ เนื่องจากบางสูตรการทดลองมีสารเหลือใช้ในกระบวนการทดลอง

5.2.3 ปัญหาที่พบในการทดลองถ้าเป็นกรณีการขึ้นรูปแบบการชะล้างด้วยเกลือ (Salt Leaching techniques) คือการชะล้างเอาเกลือออกจากวัสดุผสมเจลาตินและไททานิต (Na₂Ti₃O₇) ไม่หมดจึงทำให้ต้องเริ่มกระบวนการผสมสารใหม่ทั้งหมด

5.2.4 ปัญหาที่พบในการทดลองถ้าเป็นกรณีการขึ้นรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried techniques) คือการควบคุมเวลาในการ Freeze-dried ให้เหมาะสมสำหรับวัสดุโครมเลียงเซลล์นั้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] F.Wang, R.Y.Hong, W.G.Feng, D.Badami, K.Zeng. “Electrical and mechanical properties of ABS/EPDM composites filled with carbon black.” *Materials Letters* 125 (2014)48–50
- [2] Shao-Yun Fu and Bernd Lauke., “Characterization of tensile behavior of hybrid short glass fiber/calcite particle/ABS composites.” *Composites Parr A* 29A (1998) 575-583
- [3] S.-M. Lai, H.-C. Li, Y.-C. Liao., “Properties and preparation of compatibilized nylon 6 Nano composites/ABS blends.” Part II – Physical and thermal properties. *European Polymer Journal* 43 (2007) 1660–1671
- [4] Mohammad Yousefi , Masoud Salavati-Niasari , Forozan Gholamian , Davood Ghanbari ,Alireza Aminifazl ., “Polymeric nanocomposite materials: Synthesis and thermal degradation of acrylonitrile–butadiene–styrene/tin sulfide (ABS/SnS).” *Inorganica Chimica Acta* 371 (2011) 1–5
- [5] Jie Chen, Xue-Chong Du, Wen-Bin Zhang, Jing-Hui Yang, Nan Zhang, Ting Huang, Yong Wang., “Synergistic effect of carbon nanotubes and carbon black on electrical conductivity of PA6/ABS blend.” *Composites Science and Technology* 81 (2013) 1–8
- [6] Mohammad Rahimi, Mohsen Esfahanianb, Mehran Moradi., “Effect of reprocessing on shrinkage and mechanical properties of ABS and investigating the proper blend of virgin and recycled ABS in injection molding.” *Journal of Materials Processing Technology* 214(2014) 2359–2365
- [7] Xu, M. F., Lin, S., Chen. X. and Peng, Y., “Studies on characteristics of Nanostructure of N-TiO₂ thin films and photo-bactericidal action. *J.Zhejiang Univ Science B*. 7(7): 586-590.
- [8] Zhang, L., Wang, X., Liu, P., Su., “Low Temperature Deposition of TiO₂ Thin Film on Polyvinyl Alcohol Fibers with Photocatalytic and Antibacterial Activities.” *Applied Surface science* .2008, 254.1771-1774.
- [9] Kim, K.D., Han, D.N., Lee, J.B., Kim, H.T., “Formation and Characterization of Ag Deposited TiO₂ Nanoparticles by Chemical Reduction Method.” *Scripta Materia Lia* 2005, 54 143-146

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [10] Bruton, A.R, Manufacturing and performance of titanium dioxide ultra-high molecular weight polyethylene nanocomposite materials; MSc thesis; University of Delaware;USA; 2006.
- [11] Giraldo, L.F.; Echeverri, M.; López, B.L.; Reinforcement of Polyamide 6 with Nanoparticles; Macromolecular Symposium 2007, 258, 119-128.
- [12] Zhang, Z.; Yang, J.L.; Friedrich, K.; Creep resistant polymeric nanocomposites; Polymer 2004, 45, 3481-3485.
- [13] Matsuyama, T., Tomoda, R., Nakajima, T. and Wake, H., Photo electrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders, FEMS Microbial. Lett. 1985, 29: 211-214.
- [14] Kiema G. K., Colgan M. J., Brett M. J. “Dye sensitized solar cells incorporating obliquely deposited titanium oxide layers” Sol. Energy Mater. Sol. Cells 85: 2005.321-331.
- [15] Walsh F. C., Bavykin D. V., Torrente-Murciano L., Lapkin A. A., Cressey B. A. “Synthesis of novel composite materials via the deposition of precious metals onto protonated titanate (TiO₂) nanotubes”. Transactions of the Institute of Metal Finishing. 2006.6(84): 293-299.
- [16] Bavykin D. V., Parmon V. N., Lapkin A. A., Walsh F. C. “The effect of hydrothermal condition on the mesoporous structure of TiO₂ nanotube”. J. Mater. Chem. 14: 2004.3370-3377.
- [17] Fu Y., Wei Z. D., Chen S. G., Li L., Feng Y.C., Wang Y. Q., Ma X. L., Liao M. J. Shen P. K., Jiang S. P. “Synthesis of Pd/TiO₂ nanotubes/Ti for oxygen reduction reaction in acidic solution”. J Power Sources. 2009.189: 982-987.
- [18] Dechakiatkrai C., Chen J., Lynam C., Phanichphant S., Wallace G. G. “Photocatalytic degradation of methanol using titanium dioxide/single walled carbon nanotube composite”, J. Electrochem. Soc. 154(5), 2007.A407- A411.
- [19] Madhugiri S., Sun B., Smirniotis P. G., Ferraris J. P., Balkus Jr. K. J. “Electrospun mesoporous titanium dioxide fibers”. Microporous and Mesoporous Materials. 69:2004.77-83.
- [20] Saujanya, C.; Radhakrishnan, S.; Structure development and crystallization behavior of PP/nanoparticulate composite; Polymer 2001, 42, 6723-6731.
- [21] Zheng, Y.; Zhengb, Y.; Ning, R.; Effects of nanoparticles SiO₂ on the performance of nanocomposites; Materials Letters 2003, 57, 2940-2944.

- [22] Esthappan, S.K.; Kuttappan, S.K.; Joseph, R.; Effect of titanium dioxide on the thermal ageing of polypropylene; *Polymer Degradation and Stability* 2012, 97, 615-620.
- [23] Akkapeddi, M.K; Glass fiber reinforced polyamide-6 nanocomposites; *Polymer Composites* 2000, 21, 576-585.
- [24] T. Kasuga, M. Hiramatsu, A. Hoson, T. Sekino, and K. Niihara, "Formation of titanium oxide nanotube," *Langmuir*, vol. 14, pp. 3160-3163, 1998.
- [25] T. Kasuga, M. Hiramatsu, A. Hoson, T. Sekino, and K. Niihara, "Titania nanotubes prepared by chemical processing," *Advanced Materials*, vol. 11, pp. 1307-1311, 1999.
- [26] Q. Chen, W. Zhou, G. H. Du, and L. M. Peng, "Trititanate nanotubes made via a single alkali treatment," *Advanced Materials*, vol. 14, 2002.
- [27] K. Kiatkittipong, J. Scott, and R. Amal, "Hydrothermally synthesized titanate nanostructures: Impact of heat treatment on particle characteristics and photocatalytic properties," *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 3, pp. 3988-3996, 2011.
- [28] Z. Y. Yuan, J. F. Colomer, and B. L. Su, "Titanium oxide nanoribbons," *Chemical Physics Letters*, vol. 363, pp. 362-366, 2002.
- [29] K. Kiatkittipong, C. Ye, J. Scott, and R. Amal, "Understanding Hydrothermal Titanate Nanoribbon Formation," *Crystal Growth & Design*, vol. 10, pp. 3618-3625, 2010.
- [30] Y. X. Zhang, G. H. Li, Y. X. Jin, Y. Zhang, J. Zhang, and L. D. Zhang, "Hydrothermal synthesis and photoluminescence of TiO₂ nanowires," *Chemical Physics Letters*, vol. 365, pp. 300-304, 2002.
- [31] R. Yoshida, Y. Suzuki, and S. Yoshikawa, "Syntheses of TiO₂ (B) nanowires and TiO₂ anatase nanowires by hydrothermal and post-heat treatments," *Journal of Solid-State Chemistry*, vol. 178, pp. 2179-2185, 2005.
- [32] A. R. Armstrong, G. Armstrong, J. Canales, and P. G. Bruce, "TiO₂ -B nanowires," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 43, pp. 2286-2288, Apr 2004.
- [33] K. Byrappa and M. Yoshimura, *Handbook of Hydrothermal Technology - A Technology for Crystal Growth and Materials Processing*. William Andrew Publishing/Noyes, 2001.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [34] R. Ma, Y. Bando, and T. Sasaki, "Nanotubes of lepidocrocite titanates," *Chemical Physics Letters*, vol. 380, pp. 577-582, 2003.
- [35] G. Centi and S. Perathoner, "Catalysis by layered materials: A review," *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 107, pp. 3-15, 2008.
- [36] K. I. Shimizu, Y. Tsuji, T. Hatamachi, K. Toda, T. Kodama, M. Sato, et al., "Photocatalytic water splitting on hydrated layered perovskite tantalate $A_2SrTa_2O_7 \cdot nH_2O$ ($A = H, K, \text{ and } Rb$)," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 6, pp. 1064-1069, 2004.
- [37] A. Kudo and Y. Miseki, "Heterogeneous photocatalyst materials for water splitting," *Chemical Society Reviews*, vol. 38, pp. 253-278, 2009.
- [38] M. Kitano and M. Hara, "Heterogeneous photocatalytic cleavage of water," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 20, pp. 627-641, 2010.
- [39] A. Kudo, "Photocatalyst materials for water splitting," *Catalysis Surveys from Asia*, vol. 7, pp. 31-38, 2003.
- [40] V. Vamathevan, R. Amal, D. Beydoun, G. Low, and S. McEvoy, "Silver metallisation of titania particles: Effects on photoactivity for the oxidation of organics," *Chemical Engineering Journal*, vol. 98, pp. 127-139, 2004.
- [41] Muhammad Umar Aslam Khan, Sajjad Haider, Saqlain A. Shah, Saiful Izwan Abd Razaq, Shukur Abu Hassan, Mohammed Rafiq Abdul Kadir, Adnan Haider "Arabinoxylan-co-AA/HAp/TiO₂ Nanocomposite Scaffold a Potential Material for Bone Tissue Engineering: An Invitro Study" *International Journal of Biological Macromolecules* .BIOMAC 14759. S0141-8130(19)40144-X
- [42] Mohan Vedhanayagam, Sureshkumar Anandasadagopan, Balachandran Unni Nair, Kalarical Janardhanan Sreeram "Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO-TiO₂ nanocomposites" *Materials Science & Engineering C*. MSC 110378. S0928-4931(18)31980-5
- [43] Kolathupalayam Shanmugam Balu, Rangaraj Suriyaprabha, Subramani Karthik, Srinivasan Surendhiran, Wilhelm K. Aicher, Venkatachalam Rajendran "Biomimetic TiO₂-chitosan/sodium alginate blended nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications" *Materials Science & Engineering C*. MSC 110710. S0928-4931(19)32965-0

- [44] Kim, K.D., Han, D.N., Lee, J.B., Kim, H.T., 2005. Formation and Characterization of Ag Deposited TiO₂ Nanoparticles by Chemical Reduction Method. *Scripta Materialia* 2005, 54 143-146
- [45] Bruton, A.R, Manufacturing and performance of titanium dioxide ultra-high molecular weight polyethylene nanocomposite materials; MSc thesis; University of Delaware;USA; 2006.
- [46] Giraldo, L.F.; Echeverri, M.; López, B.L.; Reinforcement of Polyamide 6 with Nanoparticles; *Macromolecular Symposium* 2007, 258, 119-128.
- [47] Zhang, Z.; Yang, J.L.; Friedrich, K.; Creep resistant polymeric nanocomposites; *Polymer* 2004, 45, 3481-3485.
- [48] Saujanya, C.; Radhakrishnan, S.; Structure development and crystallization behavior of PP/nanoparticulate composite; *Polymer* 2001, 42, 6723-6731.
- [49] Zheng, Y.; Zhengb, Y.; Ning, R.; Effects of nanoparticles SiO₂ on the performance of nanocomposites; *Materials Letters* 2003, 57, 2940-2944.
- [50] Esthappan, S.K.; Kuttappan, S.K.; Joseph, R.; Effect of titanium dioxide on the thermal ageing of polypropylene; *Polymer Degradation and Stability* 2012, 97, 615-620.
- [51] Akkapeddi, M.K; Glass fiber reinforced polyamide-6 nanocomposites; *Polymer Composites* 21 (2000) 576-585.
- [52] S. RITTICHAJ, S. WIPOO and K. KUNLANAN “Antibacterial and Mechanical Properties of the TiO₂/ABS Composites” *Key Engineering Materials* ISSN:1662-9795, Vol.737, pp209-213
- [53] S. RITTICHAJ, S. WIPOO and K. KUNLANAN “Preparation and Characterization of the Na₂Ti₃O₇: ABS/ Na₂Ti₃O₇ Composites” *Key Engineering Materials* ISSN:1662-9795,9795, Vol.753, pp39-43
- [54] Jorge Angulo-Rocha, Oscar Velarde-Escobar, Cristo Yee-Rendón, Gelacio Atondo-Rubio, Roberto Millan-Almaraz, Enrique CamarilloGarcía, Manuel García-Hipólito,Francisco RamosBrito. “Morphological, structural and optical properties of ZnO thin solid films conformed by nano leafs or micron/submicron cauliflowers.” *Journal of luminescence*. January 2017. pp.0022-2313
- [55] Paulo Bartolo , Jean-Pierre Kruth, Jorge Silva, Gideon Levy, Ajay Malshe, Kamlakar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Rajurkar , Mamoru Mitsuishi , Joaquim Ciurana, Ming Leu. “Biomedical production of implants by additive electro-chemical and physical processes.” CIRP Annals -Manufacturing Technology 61. 2012. pp. 635–655
- [56] K. Thangavel , A. Balamurugan , T. Venkatachalam , E. Ranjith Kuma. “Structural morphological and optical properties of ZnO nanofibers.” Superlattices and Microstructures 90. December 2015. pp. 45-52
- [57] Weipeng Lu, Ming Ma, Haitao Xu, Bing Zhang, Xiaofeng Cao, Yanchuan Guo. “Gelatin nanofibers prepared by spiral-electrospinning and cross-linked by vapor and liquid-phase glutaraldehyde.” Materials Letters 140. November 2014. pp. 1–4
- [58] Bor-Sen Chiou, Haani Jafri, Roberto Avena-Bustillos, Kay S. Gregorski, Peter J. Bechtel, Syed H. Imam, Greg M. Glenn, William J. Orts. “Properties of electrospun pollock gelatin/poly(vinyl alcohol) and Pollock gelatin/poly(lactic acid) fibers.” International Journal of Biological Macromolecules 55. January 2013. pp. 214–220
- [59] Mohamad Pezeshki-Modaress, Hamid Mirzadeh, Mojgan Zandi. “Gelatin–GAG electrospun nanofibrous scaffold for skin tissue engineering: Fabrication and modeling of process parameters.” Materials Science and Engineering C 48. December 2014. pp. 704–712
- [60] Rubaiya Yunus Basha, Sampath Kumar T.S, Mukesh Doble. “Design of biocomposite materials for bone tissue regeneration.” Materials Science and Engineering C 57. July 2015. pp. 452–463
- [61] Balendu S. Jha, Raymond J. Colello, James R. Bowman, Scott A. Sell, Kangmin D. Lee, John W. Bigbee, Gary L. Bowlin, Woon N. Chow, Bruce E. Mathern, David G. Simpson. “Two pole air gap electrospinning: Fabrication of highly aligned, three-dimensional scaffolds for nerve reconstruction.” Acta Biomaterial 7. August 2010. pp. 203–215
- [62] Sherif Soliman , Stefania Pagliari, Antonio Rinaldi , Giancarlo Forte, Roberta Fiaccavento, Francesca Pagliari, Ornella Franzese, Marilena Minieri, Paolo Di Nardo, Silvia Licocchia, Enrico Traversa. “Multiscale three-dimensional scaffolds for soft tissue engineering via multimodal electrospinning.” Acta biomaterial IA 6. November 2009. pp.1227–1237

- [63] Yuni Kusumastuti, Nur Rofiqoh Eviana Putri and Ahmad Raihan Dary. "Electrospinning Optimization and Characterization of Chitosan/Alginate/Polyvinyl Alcohol Nanofibers." AIP Conference Proceedings 1755.
- [64] Ying Li, Jian Liu, John R. de Bruyn, and Wankei Wan. "Optimization of the Electrospinning Process for Core-Shell Fiber Preparation." Journal of Biomaterials and Tissue engineering. Vol. 4, 2014. pp.973-980
- [65] H. Albetran, Y. Dong, I.M. Low. "Characterization and optimization of electrospun TiO₂/PVP nanofibers using Taguchi design of experiment method." Journal of Asian Ceramic Societies 3. May 2015. pp.292-300
- [66] Piotr Malkowski, Lukasz Ostrowski. "The Methodology for the Young Modulus Derivation for Rocks and Its Value." Procedia Engineering 191. May 2017. pp.134 - 141
- [67] Piotr Malkowska, Lukasz Ostrowskia, Jaroslaw Brodny. "Analysis of Young's modulus for Carboniferous sedimentary rocks and its relationship with uniaxial compressive strength using different methods of modulus determination." Journal of Sustainable Mining 17. July 2018. pp.145-157
- [68] Michal Dziadek, Ewa Stodolak-Zych, Katarzyna Cholewa-Kowalska. "Biodegradable ceramic-polymer composites for biomedical applications: A review." Materials Science and Engineering C 71. October 2016. pp. 1175-1191
- [69] Dennis A. Oriero, Isaiah O. Gyan, Benjamin W. Bolshaw, I. Francis Cheng, D. Eric Aston. "Electrospun biocatalytic hybrid silica-PVA-tyrosinase fiber mats for electrochemical detection of phenols." Microchemical Journal 118. September 2014. pp.166-175
- [70] M. Nieuwland, P. Geerdink, P. Brier, P. van den Eijnden, Jolanda T.M.M. Henket, Marloes L.P. Langelaan, Niki Stroeks, Henk C. van Deventer, Anneke H. Martin. "Food-grade electrospinning of proteins." Innovative Food Science and Emerging Technologies 20. October 2013. pp. 269-275
- [71] M. Nieuwland, P. Geerdink, P. Brier, P. van den Eijnden, Jolanda T.M.M. Henket, Marloes L.P. Langelaan, Niki Stroeks, Henk C. van Deventer, Anneke H. Martin. "Reprint of "Foodgrade electrospinning of proteins"." Innovative Food Science and Emerging Technologies 24. July 2014. pp.138-144

- [72] Chih-Hung Chang, Hwa-Chang Liua, Chien-Cheng Lina, Cheng-Hung Choua, Feng-Huei Lin. “Gelatin–chondroitin–hyaluronan tri-copolymer scaffold for cartilage tissue engineering.” *Biomaterials* 24. May 2003. pp. 4853–4858
- [73] E.J. Chong, T.T. Phan, I.J. Lim, Y.Z. Zhang, B.H. Bay, S. Ramakrishna, C.T. Lim “Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution” *ActaBiomaterialia* 3. 2007. pp. 321–330
- [74] Jin Shu Mao, Li Guo Zhao, Yu Ji Yin, Kang De Yao. “Structure and properties of bilayer chitosan–gelatin scaffolds.” *Biomaterials* 24. September 2002. pp.1067–1074
- [75] Y.Z. Zhang, J. Venugopal, Z.-M. Huang, C.T. Lim, S. Ramakrishna “Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers” *Polymer* 47. 2006. pp. 2911–2917
- [76] Fasai Wiwatwongwana, NattawitPromma “Evaluation of Gelatin/Carboxymethylcellulose Scaffolds Using Mooney-Rivlin Model” *KMITL Sci. Tech. J.* Vol. 15 No. 2 Jul. - Dec. 2015
- [77] Qiang Zhang, Shun Lv, Jianfeng Lu, Shaotong Jiang, Lin Lin. “Characterization of polycaprolactone/collagen fibrous scaffolds by electrospinning and their bioactivity.” *International Journal of Biological Macromolecules* 76. February 2015. pp. 94–101
- [78] Elisabetta Ceretti, Paola S. Ginestra, Maziar Ghazinejad, Antonio Fiorentino, Marc Madou. “Electrospinning and characterization of polymer–graphene powder scaffolds.” *CIRP Annals - Manufacturing Technology* 66. May 2017. pp. 233–236
- [79] Shanshan Yan, Xiuchun Li, Jing Dai, Yiqun Wang, Binbin Wang, Yi Lu a, Jianlin Shi, Pengyu Huang, Jinkang Gong, Yuan Yao. “Electrospinning of PVA/sericin nanofiber and the effect on the epithelial-mesenchymal transition of A549 cells”. *Materials Science and Engineering C* 79. May 2017. pp.436–444
- [80] Marc Rabioneta, Teresa Puig, Joaquim Ciurana. “Electrospinning parameters selection to manufacture polycaprolactone scaffolds for three-dimensional breast cancer cell culture and enrichment.” *Procedia CIRP* 65. 2017. pp.267 – 272
- [81] Kazunori Shimomura, Benjamin B. Rothraff, David A. Hart, Shuichi Hamamotoa,

- Masato Kobayashia, Hideki Yoshikawaa, Rocky S. Tuanb, Norimasa Nakamura. “Enhanced repair of meniscal hoop structure injuries using an aligned electrospun nanofibrous scaffold combined with a mesenchymal stem cell-derived tissue engineered construct.” *Biomaterials* 192. November 2018. pp.346-354
- [82] Jinglei Wu, Yi Hong. “Enhancing cell infiltration of electrospun fibrous scaffolds in tissue regeneration.” *Bioactive Materials* 1. July 2016. pp. 56-64
- [83] Zahra Asvara, Esmaeil Mirzaeia, Negar Azarpirab, Bita Geramizadeh, Milad Fadaie. “Evaluation of electrospinning parameters on the tensile strength and suture retention strength of polycaprolactone nanofibrous scaffolds through surface response methodology.” *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 75. August 2017. pp.369-378
- [84] Akram R. Jabur, Emad S. Al- Hassani, Ahmed M. Al- Shammari, Manar A. Najim, Aymen A. Hassan, Aesar A. Ahmed. “Evaluation of Stem Cells’ Growth on Electrospun Polycaprolactone (PCL) Scaffolds Used for Soft Tissue Applications.” *International Conference on Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES17*, April 2017, pp.61-71
- [85] Perumalsamy Balaji, Anbazhagan Murugadas, Sellathamby Shanmugaapriya, Mohammad Abdulkader Akbarsha. “Fabrication and characterization of egg white cryogel scaffold for three-dimensional (3D) cell culture.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17. December 2018. pp. 441-446
- [86] Kyuyoung Shima, So Hyun Kimb, Dongwook Leea, Bumsang Kima, Tae Hee Kim, Youngmee Junge, Nakwon Choib,f, Jong Hwan Sung. “Fabrication of micrometer-scale porous gelatin scaffolds for 3D cell culture.” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 50. February 2017. pp.183–189
- [87] Yan Xiaoa, Miaomiao Zhou, Mi Zhang, Wei Liu, Yan Zhou, Meidong Lang. “Hepatocyte culture on 3D porous scaffolds of PCL/PMCL.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 173. September 2018. pp. 185-193
- [88] Giró-Perafita Ariadna, Rabionet Marc, Puig Teresband Ciurana Joaquim. “Optimization of Poli(**ε**-caprolactone) scaffolds suitable for 3D cancer cell culture.” *Procedia CIRP* 49. 2016. pp. 61 – 66

- [89] Mohammad Foad Abazaria, Fatemeh Soleimanifar, Maryam Nouri Aleagha, Sepehr Torabinejad, Navid Nasiric, Gholamreza Khamisipour, Javad Amini Mahabadi, Hossein Mahboudi, Seyed Ehsan Enderami, Ehsan Saburi, Javad Hashemi, Mousa Kehtar. "PCL/PVA nanofibrous scaffold improves insulin-producing cells generated from human induced pluripotent stem cells." *Gene* 671. May 2018. pp.50-57
- [90] Urszula Stachewicza, Piotr K. Szewczyk, Adam Kruk, Asa H. Barber, Aleksandra Czyska- Filemonowicz. "Pore shape and size dependence on cell growth into electrospun fiber scaffolds for tissue engineering: 2D and 3D analyses using SEM and FIB-SEM tomography." *Materials Science & Engineering C* 95. August 2017. pp.397-480



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Scopus

Source details

Polymers CiteScore 2022
Open Access 6.6

Scopus coverage years: from 2009 to Present

Publisher: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) SJR 2021
E-ISSN: 2073-4360 0.726

Subject area: Materials Science: Polymers and Plastics Chemistry: General Chemistry SNIP 2021
Source type: Journal 1.170

[View all documents >](#) [Set document alert](#) [Save to source list](#)

[CiteScore](#) [CiteScore rank & trend](#) [Scopus content coverage](#)

CiteScore 2022
6.6 - 100,096 Citations 2019 - 2022
15,057 Documents 2019 - 2022
Calculated on 05 May, 2023

CiteScore rank 2022

Category	Rank	Percentile
Materials Science		
Polymers and Plastics	#138/163	76th
Chemistry		
General Chemistry	#98/407	76th

[View CiteScore methodology >](#) [CiteScore FAQ >](#) [Add CiteScore to your site >](#)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Polymers

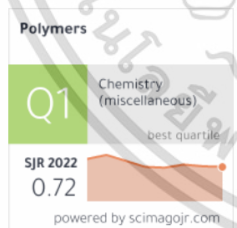
Polymers is a **peer-reviewed**, open access journal of polymer science published semimonthly online by MDPI. **Belgian Polymer Group (BPG)**, **European Colloid & Interface Society (ECIS)**, **National Interuniversity Consortium of Materials Science and Technology (INSTM)** and **North American Thermal Analysis Society (NATAS)** are affiliated with *Polymers* and their members receive a discount on the article processing charges.

- **Open Access** — free for readers, with **article processing charges (APC)** paid by authors or their institutions.
- **High Visibility:** indexed within **Scopus**, **SCIE (Web of Science)**, **Ei Compendex**, **PubMed**, **PMC**, **FSTA**, **CAPLus / SciFinder**, **Inspec**, and other databases.
- **Journal Rank:** **JCR - Q1 (Polymer Science)** / **CiteScore - Q1 (Polymers and Plastics)**
- **Rapid Publication:** manuscripts are peer-reviewed and a first decision is provided to authors approximately 12.4 days after submission; acceptance to publication is undertaken in 3.6 days (median values for papers published in this journal in the second half of 2022).
- **Recognition of Reviewers:** reviewers who provide timely, thorough peer-review reports receive vouchers entitling them to a discount on the APC of their next publication in MDPI journals, in appreciation of the work.
- **Companion journals for *Polymers* include:** *Polysaccharides* and *Macromol.*
- **Testimonials:** See what our authors and editors say about *Polymers*.

Impact Factor: 4.967 (2021); **5-Year Impact Factor:** 5.063 (2021)

[Imprint Information](#)
[Journal Flyer](#)
[Open Access](#)
 ISSN: 2073-4360

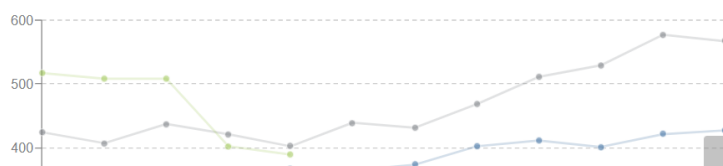
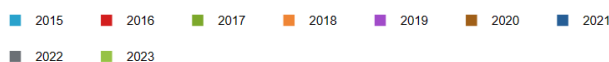
SJR data from SCImago



Find more statistics from SCImago [here](#).

Statistics

Papers Monthly Papers Yearly Papers per Country/Territory



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Article

Optimization of Salt-Leaching Parameters for Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Scaffolds Using a Mixture Design Experiment

Rittichai Sangkatip^{1,*}, Wipoo Sriseubsai^{1,*}, Kunlanan Kiatkittipong² and Kaona Jongwuttanaruk³¹ Department of Industrial Engineering, School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand; 58601034@kmitl.ac.th² Department of Chemical Engineering, School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand; kunlanan.kia@kmitl.ac.th³ Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Chiang Mai 12110, Pathum Thani, Thailand; kaona.j@en.mutt.ac.th

* Correspondence: wipoo.sr@kmitl.ac.th

Abstract: The purpose of this research was to learn the formation of biomedical scaffold material from gelatin by using titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), which is a newly synthesized derivative of titanium dioxide (TiO_2) with gelatin. It was prepared by mixed several solutions and cross-linked molecules by heating and salt-leaching. The biomedical scaffold was formed, and its porosity depended on the size of the salt crystal. The mixture was designed by using a mixture design with three factors: gelatin, titanate, and deionized water to determine the optimal mixture for the tensile strength of the biomedical scaffold. The microstructure of the biomedical scaffold was studied using scanning electron microscopy (SEM). The findings revealed that $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ thoroughly pen-extracted the biomedical scaffold, and the tensile strength of the gelatin/titanate scaffold was higher than the biomedical scaffold, which was formed using pure gelatin. By using the mixture design technique, the 14.73% gelatin, 0.2% $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and 85.07% DI water got the highest yield of tensile strength (1508.15 KP). This was an about 4.88% increase in the tensile strength property when compared with using TiO_2 .

Keywords: gelatin; titanium dioxide; mixture design



Citation: Sangkatip, R.; Sriseubsai, W.; Kiatkittipong, K.; Jongwuttanaruk, K. Optimization of Salt-Leaching Parameters for Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Scaffolds Using a Mixture Design Experiment. *Polymers* **2022**, *14*, 559. <https://doi.org/10.3390/polym14030559>

Academic Editor:

Nektaria-Marianthi Barkoula

Received: 26 November 2021

Accepted: 27 January 2022

Published: 29 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Tissue engineering is a new and exciting technique which has the potential to create tissues and organs de novo. It involves the in vitro seeding and attachment of human cells onto a scaffold. These cells then proliferate, migrate, and differentiate into specific tissue while secreting the extracellular matrix components required to create the tissue. It is evident, therefore, that the choice of scaffold is crucial to enable cells to behave in the required manner to produce tissues and organs of the desired shape and size. Current scaffolds, made by conventional scaffold fabrication techniques, are generally foams of synthetic polymers. The cells do not necessarily recognize such surfaces, and most importantly, cells cannot migrate more than 500 μm from the surface. The lack of oxygen and nutrient supply governs this depth. Solid freeform fabrication (SFF) uses layer-manufacturing strategies to create physical objects directly from computer-generated models. It can improve current scaffold design by controlling scaffold parameters such as pore size, porosity, and pore distribution, as well as incorporating an artificial vascular system, thereby increasing the mass transport of oxygen and nutrients into the interior of the scaffold and supporting cellular growth in that region [1–3]. The process of tissue formation is based on three major principles, which include material engineering, cell biology, and biochemical engineering. Tissue formation starts from the development of biomaterials (i.e., materials well suited to work in human tissues) that serve as a biomedical scaffold; natural biomaterials such as collagen and gelatin are the most popular biomaterials [4]. Biomedical scaffolds are used to

culture isolated cells, regulate cells to achieve sufficient numbers, and induce change in tissues during differentiation. Recently, research on the development of medical materials from natural biomaterials, such as collagen, gelatin, chitosan bacteria, cellulose, seaweed extract, etc., has gained popularity. Mechanical properties of materials are important for developing reliable and effective medical materials [5]. Titanium dioxide (TiO_2) is one of the most popular materials used to make medical materials; for example, titanium dioxide mixed with chitosan collagen can be used to make biomedical scaffolds for wound repair [4,6]. Titanium dioxide is suitable for making biomedical scaffolds, has mechanical properties that are well suited to the body, and is highly porous, nontoxic to cells, and protects against *Staphylococcus aureus* infection [7–9].

Therefore, we were interested in studying the use of titanate, a derivative synthesized from titanium dioxide (TiO_2) as a filler material [10,11]. We wanted to determine the suitability of the material to form a cell scaffold after being mixed with gelatin. We aimed to use this mixture to increase the tensile strength of various polymers [12–14].

It is important to design a matrix with mechanical properties (stress and strain) that mimic the properties of tissue in the immediate surrounding area of the defect. In bone tissue engineering, for instance, an over-designed matrix around the implant site can actuate bone resorption, while an under-designed matrix may fail as a mechanical support to the framework. The mechanical properties can be varied through the proper selection of material, critical development of composite structures, and the general porosity of the framework [15].

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Powdered gelatin from porcine skin, 180 G Bloom, Type B from Fluke Analytical, and 2,2,2-trifluoroethanol (TFE) (purity 99.0%) from Sigma-Aldrich, Bangkok, Thailand were used. Commercial titanium dioxide (TiO_2) was used as the raw material to synthesize titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), which was used for the experiment. Titanate was synthesized through alkaline hydrothermal reaction with 0.5 g of titanium dioxide (TiO_2) as a precursor and 20 mL of sodium hydroxide (NaOH) at the concentration of 10 molar. The titanium dioxide mixture and sodium hydroxide were blended for 90 min, then put in cylinder pressure, which was a Teflon-lined autoclave, and put into the oven at 200°C for 24 h. Finally, they were allowed to cool to room temperature. Then, the substance was washed with deionized water until the acidity and alkalinity (pH) was approximately 7, and then it was baked at a temperature of 80°C for 24 h [11]. The synthesized titanate had a specific surface area (BET) of $10\text{ m}^2/\text{g}$ and an average primary particle size of 197 nm; 100% of the titanate was in the form of anatase.

2.2. Mixture Design

This study was based on a constrained mixture design principle or vertex model. The experimental design had three parameters, which consisted of gelatin, $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and DI water. We used the Minitab 17 software for statistical analyses. We customized the software to display three factors denoted as A, B, and C. A: Gelatin: Gelatin and collagen were used to produce the scaffold for fibroblast cell culture. The properties of scaffolds obtained from type A and type B gelatin were compared to the scaffold obtained from collagen, which is widely used as a skin substitute. B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$: Titanate Ribbon ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) was synthesized to study the mechanical properties and C: DI water. The ratio in which the three substances were mixed is presented in Table 1.

Table 1. List of the raw materials used to synthesize the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold.

Factors	Factor Levels	
	Low Level	High Level
A: Gelatin (g)	0	20
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (g)	0	2
C: DI water (ml)	0	87.8

2.2.1. Sample Preparation

Based on the principles of mixture design, the three raw materials (gelatin, titanate, and DI water) were stirred for 30 min at 50 °C at a definite ratio, followed by the addition of sodium chloride. The mixture was stirred well and poured into a mold to cool down to room temperature. Then, the mixture was washed with deionized water to remove NaCl, dried, and subjected to dehydrothermal treatment (DHT), where it was baked at 140 °C for 48 h.

2.2.2. Mechanical Characterization

Tensile strength is the main mechanical property of scaffolds made from $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ with gelatin, which is discussed. The methods to measure mechanical properties are also presented in this brief review article. Finally, some perspectives are given for the future development of $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ in tissue engineering. Tensile tests were performed using a universal tensile machine (Zwick Z010) at room temperature, according to the range of tests described by ASTM D3574. The speed of the crosshead was maintained at 10 mm/min. The tests were repeated three times, and the average was considered for further analysis.

3. Results and Discussion

3.1. Experimental Design and Results

Based on the conditions mentioned above, the 27 experimental trials were performed with three replicates per test condition. The results of the tensile tests are shown in Table 2.

Table 2. Experimental design and results.

Run Order	Factors			Tensile Test (KPa)
	A: Gelatin	B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	C: DI Water	
1	0.120	0.002	0.878	1370.372
2	0.120	0.008	0.872	1391.098
3	0.180	0.002	0.818	1233.898
4	0.180	0.008	0.812	1262.019
5	0.150	0.005	0.845	1515.289
6	0.135	0.004	0.862	1493.043
7	0.135	0.007	0.859	1419.788
8	0.165	0.004	0.832	1425.541
9	0.165	0.007	0.829	1359.31
10	0.120	0.002	0.878	1334.372
11	0.120	0.008	0.872	1311.098
12	0.180	0.002	0.818	1201.898
13	0.180	0.008	0.812	1268.506
14	0.150	0.005	0.845	1529.289
15	0.135	0.004	0.862	1481.043
16	0.135	0.007	0.859	1443.324
17	0.165	0.004	0.832	1416.839
18	0.165	0.007	0.829	1348.72
19	0.120	0.002	0.878	1282.372
20	0.120	0.008	0.872	1309.098
21	0.180	0.002	0.818	1355.898
22	0.180	0.008	0.812	1248.506
23	0.150	0.005	0.845	1527.289
24	0.135	0.004	0.862	1497.043
25	0.135	0.007	0.859	1432.963
26	0.165	0.004	0.832	1493.541
27	0.165	0.007	0.829	1397.634

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1. List of the raw materials used to synthesize the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold.

Factors	Factor Levels	
	Low Level	High Level
A: Gelatin (g)	0	20
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (g)	0	2
C: DI water (ml)	0	87.8

2.2.1. Sample Preparation

Based on the principles of mixture design, the three raw materials (gelatin, titanate, and DI water) were stirred for 30 min at 50 °C at a definite ratio, followed by the addition of sodium chloride. The mixture was stirred well and poured into a mold to cool down to room temperature. Then, the mixture was washed with deionized water to remove NaCl, dried, and subjected to dehydrothermal treatment (DHT), where it was baked at 140 °C for 48 h.

2.2.2. Mechanical Characterization

Tensile strength is the main mechanical property of scaffolds made from $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ with gelatin, which is discussed. The methods to measure mechanical properties are also presented in this brief review article. Finally, some perspectives are given for the future development of $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ in tissue engineering. Tensile tests were performed using a universal tensile machine (Zwick Z010) at room temperature, according to the range of tests described by ASTM D3574. The speed of the crosshead was maintained at 10 mm/min. The tests were repeated three times, and the average was considered for further analysis.

3. Results and Discussion

3.1. Experimental Design and Results

Based on the conditions mentioned above, the 27 experimental trials were performed with three replicates per test condition. The results of the tensile tests are shown in Table 2.

Table 2. Experimental design and results.

Run Order	Factors			Tensile Test (KPa)
	A: Gelatin	B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	C: DI Water	
1	0.120	0.002	0.878	1370.372
2	0.120	0.008	0.872	1391.098
3	0.180	0.002	0.818	1233.898
4	0.180	0.008	0.812	1262.019
5	0.150	0.005	0.845	1515.289
6	0.135	0.004	0.862	1493.043
7	0.135	0.007	0.859	1419.788
8	0.165	0.004	0.832	1425.541
9	0.165	0.007	0.829	1359.31
10	0.120	0.002	0.878	1334.372
11	0.120	0.008	0.872	1311.098
12	0.180	0.002	0.818	1201.898
13	0.180	0.008	0.812	1268.506
14	0.150	0.005	0.845	1529.289
15	0.135	0.004	0.862	1481.043
16	0.135	0.007	0.859	1443.324
17	0.165	0.004	0.832	1416.839
18	0.165	0.007	0.829	1348.72
19	0.120	0.002	0.878	1282.372
20	0.120	0.008	0.872	1309.098
21	0.180	0.002	0.818	1355.898
22	0.180	0.008	0.812	1248.506
23	0.150	0.005	0.845	1527.289
24	0.135	0.004	0.862	1497.043
25	0.135	0.007	0.859	1432.963
26	0.165	0.004	0.832	1493.541
27	0.165	0.007	0.829	1397.634

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3. Summary of the analysis of variance (ANOVA).

Source	DF	Seq SS	Adj MS	F	p
Regression	4	200,642	200,642	25.45	0.001
Linear	2	25,681	177,327	44.98	0.001
Quadratic	2	174,961	174,961	44.38	0.003
Gelatin * Na ₂ Ti ₃ O ₇	1	201	3141	1.59	0.220
Gelatin * DI water	1	174,759	174,759	88.67	0.005
Residual Error	22	43,362	1971		
Lack-of-Fit	4	16,271	4068	2.70	0.063
Pure Error	18	27,091	1505		
Total	26	244,004			

R-Sq = 92.23% R-Sq (pred) = 90.47% R-Sq (adj) = 99.00% * is physical mixing

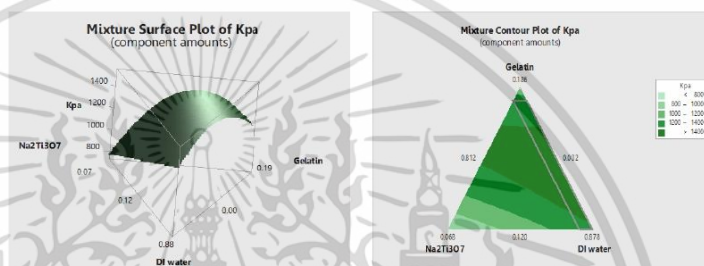


Figure 2. Mixture surface and mixture contour plot.

3.5. Analysis of the Experiment

A response optimizer function to determine the most appropriate value of the factors was used to efficiently obtain the tensile strength. We also used a function to find the most appropriate parameter of the factors and measure composite desirability (D). Composite desirability ranged from 0 to 1. When D was equal to 1, the result was favorable for the overall response. The response optimizer function was used to determine the most appropriate value of the factors. The results showed that 14.73% gelatin, 0.2% titanate (Na₂Ti₃O₇), and 85.07% DI water, or gelatin/Na₂Ti₃O₇ in the ratio of 80/20 yielded the highest tensile strength of 1508.15 kPa, and desirability at 0.786, as shown in Figure 3.

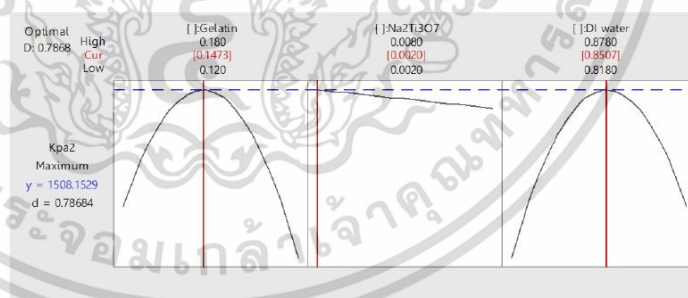


Figure 3. Multiple response prediction.

Gelatin and Na₂Ti₃O₇ consisting of ratios of 100/0, 90/10, 80/20, 70/30, and 60/40 have been studied using the degradation test and swelling test and by analyzing the surface morphology and pore size.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6. Degradation of Gelatin/Na₂Ti₃O₇ Biomedical Scaffolds

Lysozyme from chicken egg white (Bio Basic Inc., Markham ON, Canada), at a concentration of 31.2 u/mL (0.1 mg/mL PBS buffer), was added to the biomedical scaffolds for degradation. Then, the mixture was incubated in an oven at 37 °C for 54 h. The sample was incubated in an enzyme-free buffer. After incubation, the sample was thoroughly rinsed with purified water to remove the enzymes, dried, and weighed multiple times, i.e., after 0.5, 1, 1.5, 24, 48, and 54 h. We calculated the degree of enzymatic degradation [16,17] from the following equation:

$$\text{Weight remain (\%)} = 100 - \left[\frac{(W_0 - W_f)}{W_0} \times 100 \right] \quad (1)$$

where:

W_0 is the initial weight of the biomedical scaffold;

W_f is the final weight of the biomedical scaffold.

The pure gelatin biomedical scaffolds and gelatin/Na₂Ti₃O₇ biomedical scaffolds were compared based on the analysis of the degradation method [18,19], and it was found that the biomedical scaffolds made of pure gelatin (ratio of gelatin/Na₂Ti₃O₇ is 100/0) were degraded in one hour, but the biomedical scaffolds made of the gelatin/Na₂Ti₃O₇ mixture (90/10 ratio) required 24 h for complete degradation. Moreover, mixtures of gelatin/Na₂Ti₃O₇ at 60/40 and 70/30 degraded in 48 h, and the mixture of gelatin/Na₂Ti₃O₇ ratio at 80/20 degraded in 54 h, as shown in Figure 4.

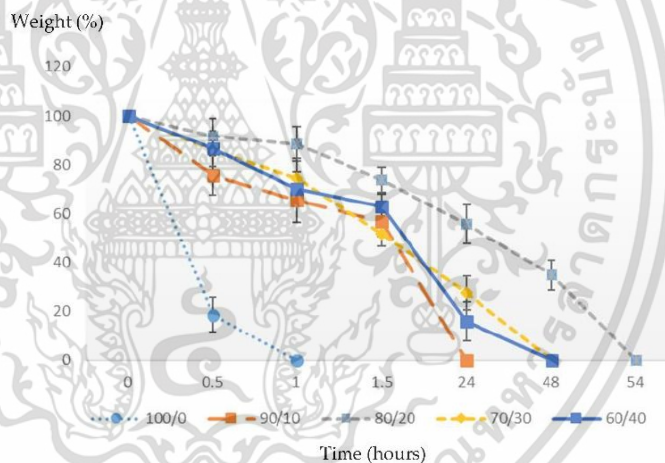


Figure 4. Result of the degradation of gelatin/Na₂Ti₃O₇ biomedical scaffolds. (n = 20).

3.7. Swelling Test

To evaluate the percentage difference in the dry weight and wet weight of the biomedical scaffold, the swelling test was performed. The dried biomedical scaffold was weighed and soaked in a PBS buffer solution at a pH of 7.4 and 37 °C for three hours [20,21]. Then, both sides of the scaffold were wiped with low lint paper for 10 s per side and weighed

immediately. The dry weight and wet weight were then used to calculate the swelling ratio using the following formula:

$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_{s0} - W_0}{W_0} \quad (2)$$

where:

W_{s0} is the weight of the scaffold after its water content is absorbed;
 W_0 is the initial weight of the biomedical scaffold.

Figure 5 shows that the biomedical scaffolds obtained using the salt-leaching technique with a mixture ratio of 100/0 had a swelling ratio of 12.98%. The highest swelling ratio of 65.43% was obtained from the salt-leaching technique for the gelatin and $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture, mixed at a ratio of 80/20.

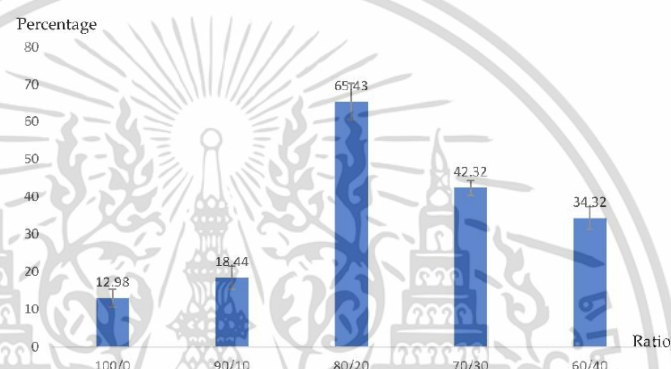


Figure 5. Swelling ratio of gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold via salt-leaching technique. ($n = 20$).

3.8. Surface Morphology of Biomedical Scaffolds

The morphology of the biomedical scaffold was analyzed via scanning electron microscopy (SEM, JSM-5610LV, JEOL) at a voltage of 20 kV after coating the surface of the sample with gold. The pore size was measured at least 20 times, and the average diameter was calculated as shown in Table 4. The images of the pores of the biomedical scaffolds were revealed after they underwent dehydrothermal treatment (DHT) at 140 °C for 48 h as shown in Figure 6. The diameter of the pores of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ changed as well. When a greater amount of $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ was added to the mixture, the pores sized was reduced. Figure 6d shows that the biomedical scaffold does not have any pores. Figure 6c shows highly variable pore sizes, and Figure 6a,b show that the diameter of the pores of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ biomedical scaffolds ranged from 409.6 to 580.4 μm .

Table 4. The pore size of the scaffolds produced via the salt-leaching technique.

Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$	Range of Diameter (μm)	Average Diameter (μm) \pm SD
90/10	498.3–580.4	532.2 \pm 54.3
80/20	409.6–528.9	440.3 \pm 64.2
70/30	576.4–1207.4	704.34 \pm 97.3
60/40	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

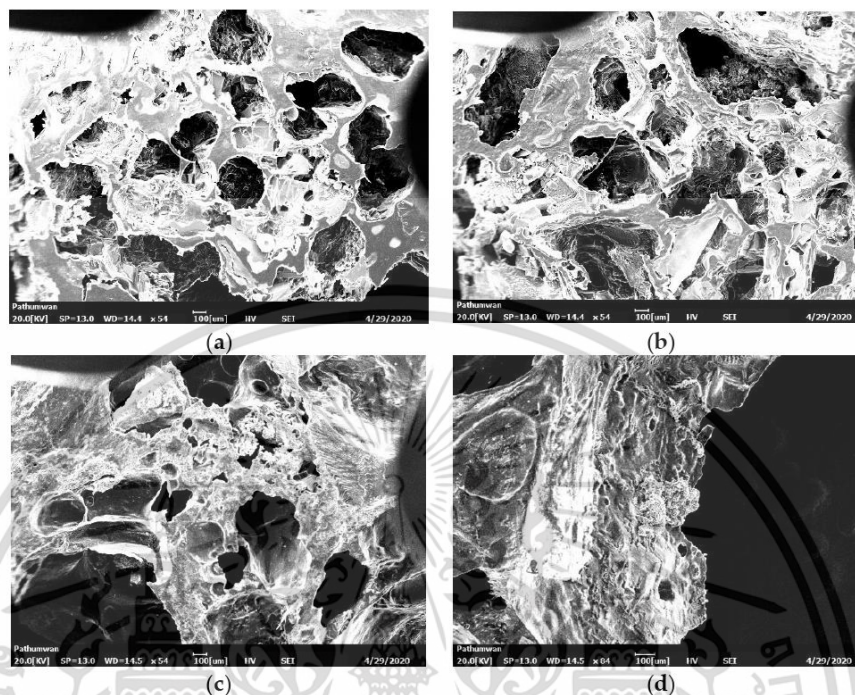


Figure 6. SEM images of the scaffold obtained via the salt-leaching technique with gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixed in a ratio of (a) 90/10, (b) 80/20, (c) 70/30, and (d) 60/40; all biomedical scaffolds underwent dehydrothermal treatment for 48 h.

4. Conclusions

The formation of a cell scaffold was studied by mixing gelatin with titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), a derivative synthesized from titanium dioxide (TiO_2). The solutions were mixed, and the molecules were cross-linked using heating and salt-leaching methods to obtain porous cell biomedical scaffolds. The porosity of the scaffolds was related to the size of the salt crystals. A mixture design was used for the experiment with three factors, which included gelatin, titanate, and deionized water. Based on the conditions mentioned above, mixtures were prepared for 27 experimental trials (runs) with three replicates. Model verification demonstrated that the model was appropriate, with data showing a normal distribution, independence, and variance stability. The variance analysis of the amount of gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water showed that the interaction term between the amount of gelatin and titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) was significant ($p = 0.220$). However, the amount of gelatin and DI water were not significantly related. The regression analysis for the response surface methodology indicated that the coefficient of determination was high (0.9223), which implied that the independent variables (the amounts of gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water) explained the variation in the dependent variables (the amounts of gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water) by 90.47%. Thus, the model could be used to make a prediction equation to find an accurate and appropriate response value. To find the most appropriate value of the factors to efficiently determine the tensile strength, we used a response optimizer function. We also used a function to find the most appropriate parameter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

of the factors and measure composite desirability (D). Composite desirability ranged from 0 to 1. When D was equal to 1, the results were favorable for the overall response. The response optimizer function, which was used to determine the most appropriate value of the factors, showed that 14.73% gelatin, 0.2% titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and 85.07% DI water, or gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ in a ratio of 80/20 yielded the highest tensile strength (1508.15 kPa). Regarding the surface morphology of biomedical scaffolds gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ biomedical scaffolds, the distribution of portion of matter was found on the structure of gelatin. In comparison, the porosity of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold at an 80/20 ratio was 440.3 μm (on average), with a tensile strength of 1508.15 kPa and 60/40 ratio; pores could not be seen, and it could not be used as a biomedical scaffold. The difference in the porosity of these two substances affected the pore size and the tensile strength. Our study revealed that the biomedical scaffolds derived from the salt-leaching technique with pure gelatin (mixture ratio of 100/0) had a swelling ratio of 12.98%. The highest swelling ratio was 65.43%. Additionally, it was found that the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffolds, mixed at a ratio of 80/20, degraded in 54 h.

Titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) was mixed with gelatin to improve the mechanical properties of the cell scaffold. There were some literatures showed that the increasing of nano- TiO_2 content in gelatin and chitosan mixture improved the tensile strength of the scaffold gradually up to 1438 kPa [22]. When compared with this study, it is shown that adding $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ and gelatin to a biomedical scaffold in the ratio of gelatin 80% and $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ 20% could improve the mechanical tensile strength to 1508.15 kPa, or an increase of 4.88%. The biomedical scaffold had large pores and was mechanically stronger; therefore, it can be applied for tissue engineering via the salt-leaching technique. Thus, the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffold (salt-leaching using powder) technique may be a promising method for fabricating a scaffold in lab-scale experiments, because it is easy to use and facile to fabricate a well-interconnected scaffold with well-defined geometry. Composite scaffolds could be promising candidates for use in wound-healing dressings. Finally, an optimization analysis was carried out to select the best conditions for the process.

Author Contributions: Conceptualization, R.S., W.S., K.K. and K.J.; methodology, R.S., W.S. and K.K.; writing—original draft preparation, R.S.; writing—review and editing, W.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, grant number 2564-02-01-059 and the APC was funded by the School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available in this article.

Acknowledgments: The authors gratefully thank Industrial Engineering Department, School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Thailand.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Sachlos, E.; Czernuszka, J.T. Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur. Cells Mater.* **2003**, *5*, 29–40. [[CrossRef](#)]
2. Burg, K.J.L.; Porter, S.; Kellam, J.F. Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials* **2000**, *21*, 2347–2359. [[CrossRef](#)]
3. Agrawal, C.M.; Ray, R.B. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *55*, 141–150. [[CrossRef](#)]
4. Hoque, M.E.; Nuge, T.; Yeow, T.K.; Nordin, N.; Prasad, R.G.S.V. Gelatin Based Scaffolds for Tissue Engineering—A Review. *Polym. Res. J.* **2015**, *9*, 15–32.
5. Nguyen-Truong, M.; Li, Y.V.; Wang, Z. Mechanical Considerations of Electrospun Scaffolds for Myocardial Tissue and Regenerative Engineering. *Bioengineering* **2020**, *7*, 122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Negut, I.; Dorcioman, G.; Grumezescu, V. Scaffolds for Wound Healing Applications. *Polymers* **2020**, *12*, 2010. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Khan, M.U.A.; Haider, S.; Shah, S.A.; Abd Razak, S.I.; Hassan, S.A.; Kadir, M.R.A.; Haider, A. Arabinoxylan-co-AA/HAp/TiO₂ Nanocomposite Scaffold a Potential Material for Bone Tissue Engineering: An Invitro Study. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *151*, 584–594. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Vedhanayagam, M.; Anandasadagopan, S.; Nair, B.U.; Sreeram, K.J. Polymethyl methacrylate (PMMA) grafted collagen scaffold reinforced by PdO–TiO₂ nanocomposites. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *108*, 110378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Shanmugam, B.K.; Rangaraj, S.; Subramani, K.; Srinivasan, S.; Aicher, W.K.; Venkatachalam, R. Biomimetic TiO₂-chitosan/sodium alginate blended nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *110*, 110710. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Sangkatip, R.; Sriseubsai, W.; Kiatkittipong, K. Antibacterial and Mechanical Properties of the TiO₂/ABS Composites. *Key Eng. Mater.* **2017**, *737*, 209–213. [[CrossRef](#)]
11. Sangkatip, R.; Sriseubsai, W.; Kiatkittipong, K. Preparation and Characterization of the Na₂Ti₃O₇: ABS/Na₂Ti₃O₇ Composites. *In Key Eng. Mater.* **2017**, *753*, 39–43. [[CrossRef](#)]
12. Kim, K.D.; Han, D.N.; Lee, J.B.; Kim, H.T. Formation and Characterization of Ag Deposited TiO₂ Nanoparticles by Chemical Reduction Method. *Scr. Mater.* **2005**, *54*, 143–146. [[CrossRef](#)]
13. Bruton, A.R. Manufacturing and Performance of Titanium Dioxide Ultra-High Molecular Weight Polyethylene Nanocomposite Materials. Master's Thesis, University of Delaware, Newark, DE, USA, 2006.
14. Giraldo, L.F.; Echeverri, M.; López, B.L. Reinforcement of Polyamide 6 with Nanoparticles. *Macromol. Symp.* **2007**, *258*, 119–128. [[CrossRef](#)]
15. Sultana, N. Mechanical and biological properties of scaffold materials. *In Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds*; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2018; pp. 1–21.
16. Zhang, Z.; Yang, J.L.; Friedrich, K. Creep resistant polymeric nanocomposites. *Polymer* **2004**, *45*, 3481–3485. [[CrossRef](#)]
17. Saujanya, C.; Radhakrishnan, S. Structure development and crystallization behavior of PP/nanoparticulate composite. *Polymer* **2001**, *42*, 6723–6731. [[CrossRef](#)]
18. Zheng, Y.; Zheng, Y.; Ning, R. Effects of nanoparticles SiO₂ on the performance of nanocomposites. *Mater. Lett.* **2003**, *57*, 2940–2944. [[CrossRef](#)]
19. Esthappan, S.K.; Kuttappan, S.K.; Joseph, R. Effect of titanium dioxide on the thermal ageing of polypropylene. *Polym. Degrad. Stab.* **2012**, *97*, 615–620. [[CrossRef](#)]
20. Akkapeddi, M.K. Glass fiber reinforced polyamide-6 nanocomposites. *Polym. Compos.* **2000**, *21*, 576–585. [[CrossRef](#)]
21. Cho, Y.S.; Kim, B.S.; You, H.K.; Cho, Y.S. A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder). *Curr. Appl. Phys.* **2014**, *14*, 371–377. [[CrossRef](#)]
22. Fan, X.; Chen, K.; He, X.; Li, N.; Huang, J.; Tang, K.; Li, Y.; Wang, F. Nano-TiO₂/collagen-chitosan porous scaffold for wound repairing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *91*, 15–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Article

Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffolds: Mechanical Properties and Characterization for Tissue Engineering Applications

Rittichai Sangkatip ¹, Kaona Jongwuttanaruk ² and Wipoo Sriseubsai ^{1,*}

¹ Department of Industrial Engineering, School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

² Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

* Correspondence: wipoo.sr@kmitl.ac.th

Abstract: Materials and manufacturing technologies are necessary for tissue engineering and developing temporary artificial extracellular matrices. In this study, scaffolds were fabricated from freshly synthesized titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) and its precursor titanium dioxide and their properties were investigated. The scaffolds with improved properties were then mixed with gelatin to form a scaffold material using the freeze-drying technique. To determine the optimal composition for the compression test of the nanocomposite scaffold, a mixture design with three factors of gelatin, titanate, and deionized water was used. Then, the scaffold microstructures were examined by scanning electron microscopy (SEM) to determine the porosity of the nanocomposite scaffolds. The scaffolds were fabricated as a nanocomposite and determined their compressive modulus values. The results showed that the porosity of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds ranged from 67% to 85%. When the mixing ratio was 100:0, the degree of swelling was 22.98%. The highest swelling ratio of 85.43% was obtained when the freeze-drying technique was applied to the mixture of gelatin and $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ with a mixing ratio of 80:20. The specimens formed (gelatin:titanate = 80:20) exhibited a compressive modulus of 30.57 kPa. The sample with a composition of 15.10% gelatin, 2% $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and 82.9% DI water, processed by the mixture design technique, showed the highest yield of 30.57 kPa in the compression test.

Keywords: scaffold; freeze-drying technique; characterization; mixture design technique



Citation: Sangkatip, R.; Jongwuttanaruk, K.; Sriseubsai, W. Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffolds: Mechanical Properties and Characterization for Tissue Engineering Applications. *Polymers* **2023**, *15*, 2322. <https://doi.org/10.3390/polym15102322>

Academic Editors: Wang Guo, Hui You, Pei Feng and Yu Long

Received: 11 March 2023

Revised: 1 May 2023

Accepted: 9 May 2023

Published: 16 May 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The scaffold is a structure required for cell growth. When living cells are in the scaffold, they multiply. Collagen, gelatin, silk, and synthetic PLA/PCL materials might be used for biomaterial scaffold development. In most cases, the biomaterial scaffold is used in experiments with various methods. [1] Currently, research is being conducted to develop biomaterials for medical applications. However, while developing material properties, the improvement of the mechanical properties of materials should be considered. The mechanical properties of materials can respond positively to real applications, especially the mechanical properties of gelatin. The mechanical properties of gelatin must be improved before it is used. [2] Gelatin consists of protein molecules composed of amino acid chains. Gelatin can be obtained from bones and animal skins. When gelatin is melted at 32 °C, it is in a viscous liquid state. Then, it becomes a gel within a few minutes. Gelatin is mainly used as an ingredient in cosmetics, medicines, foods, photographic films, and coated tablets. However, gelatin is too expensive for commercial use. Therefore, the properties of gelatin were investigated in several studies. The improvement of the properties of gelatin is usually performed by mixing it with other materials to reduce the material cost [2–7]. The use of titanium oxide (TiO_2) in the culture of muscle cells (C2C12 myoblasts),

fibroblasts, and keratinocytes has been extensively studied. These cultured cells showed good adhesive properties and could be efficiently used in tissue engineering [8,9]. Nano titanium dioxide is a biocompatible material with high tensile strength and nontoxic effects [10–12]. It can improve the antibacterial properties of the scaffold material and promote the wound-healing performance of the material [13–15]. Scaffolds have also been prepared by salt leaching [16–18], solvent casting [19], phase separation [20], gas foaming [21], freeze drying, electrospinning, and fiber bonding [22,23]. The gas foaming technique offers several advantages in the fabrication of scaffolds, such as no need for aggressive organic solvents during the fabrication process, and the pore size and fiber diameter can be adjusted. However, this technique also has some disadvantages, such as the absence of pore interconnections, which in turn depend on the expansion mechanism of the gas during scaffold formation. The electrospinning processes offer simple advantages such as cost efficiency, wide pore size distribution, high porosity, and large surface areas. Therefore, electrospinning processes are used to produce samples with small pores and inhomogeneous pore distribution. However, the process leads to the formation of scaffolds with a low volume. Highly porous samples with interconnected pores can be produced using the fiber-bonding technique. However, a major limitation of this technique is that the prepared samples are toxic to cells, and this toxicity cannot be eliminated [24]. Additionally, several devices, a large room, and numerous protective systems are required to perform the gas foaming, electrospinning, and fiber-bonding techniques. In comparison, the freeze-drying technique is a simple and inexpensive choice because only solvents are required in this method [25]. A mixture of titanium dioxide (TiO_2) and polymers forms a framework that is more powerful due to an improvement in mechanical properties. A mixture of titanium dioxide (TiO_2) and polymers results in better performance compared to the use of a normal polymer regarding size and texture [26–28]. Several studies have demonstrated the effectiveness of titanium dioxide (TiO_2) in killing bacteria [29–35]. Some studies have shown that the use of nanoparticles along with a polymer improves the properties of the scaffold. The use of nanoparticles in a proportion of 5% mixed with 25–40% microcomposites can improve the properties [36–39]. The physical properties of titanium dioxide, such as structure, particle size, specific surface area, etc., directly affect the reaction mechanism. These physical properties depend on the synthesis method and conditions. In this study, the hydrothermal method was used to synthesize the material. In this method, the shape of the compounds can be controlled. Compounds with various shapes have been reported, including those with nanostructures such as nanotubes [40–43], nanoribbons [44–47], and nanowires [48,49]. The hydrothermal synthesis method increases chemical homogeneity without the need for further combustion or comminution. Additionally, the hydrothermal method allows the synthesis of compounds with a layered structure, especially a layered structure in which ions move between layers [40,49]. The hydrothermal synthesis method uses titanium dioxide (TiO_2), and thus, the synthesis process must be performed under highly alkaline conditions and at high temperatures. However, such alkaline conditions and high temperatures can accelerate the process of structural changes in the compound. For example, one study reported that the layered structure of titanium dioxide (TiO_2) changes to $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ [50].

Some studies [51,52] reported the preparation of a gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold by mixing titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) and gelatin. A salt leaching technique was used to synthesize titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) from titanium dioxide (TiO_2). The prepared gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold showed the best results concerning tensile strength and pore size. In this study, a mixture-design method was used to fabricate the scaffold instead of the freeze-drying technique. Then, the porosity, compression modulus, biodegradability, and swelling of the prepared samples were investigated.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Two main materials were used in the experiments. The first was gelatin which comprised porcine skin, 180 G Bloom, Type B from Fluke Analytical, and 2,2,2-trifluoroethanol (TFE) (purity 99.0%). Powdered gelatin was obtained from Sigma-Aldrich Corporation, Bangkok, Thailand.

The other material was titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) synthesized from titanium dioxide and sodium hydroxide as precursors. A solution of sodium hydroxide (20 mL) was mixed with 0.5 g of titanium dioxide and then stirred with a magnetic stirrer (mixing time: 90 min). The mixture was then placed in an alkaline hydrothermal reactor at 200 °C for 24 h. The slurry was then purified with deionized water until the pH reached 7 and titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) was formed. Then, the titanate was dried in an oven at 80 °C for 24 h to obtain titanate (v). The titanate had a specific surface area (BET) of 10 m²/g, an average primary particle size of 197 nm, and a catalytic activity equivalent to that of 100% anatase.

2.2. Mixture Design

The mixture design experiment involves analyzing the result as a function of the percentage of components [53]. The objective is to explore the possible results by estimating the parameters of each component to be prepared to achieve the best value or the value desired by the experimenter. In the present study, the constrained mixture design principle or the vertex model was used. The experimental design was based on three parameters: gelatin, $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and DI water. Minitab 21 software was used for statistical analyses. The software was customized to display the three factors as A, B, and C, where A was gelatin, B was $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and C was DI water. Gelatin and collagen were used for fabricating the scaffold for the fibroblast cell culture. The properties of the scaffolds obtained from type A and type B gelatin were compared to the scaffolds obtained from collagen, which is used widely as a skin substitute. Titanate ribbon ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) was synthesized to study the compressive modulus. Table 1 presents the ratio in which the three substances (A, B, and C) were mixed.

Table 1. The raw materials used for synthesizing the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds.

Factors	Factor Levels	
	Low Level	High Level
A: Gelatin (g)	0	20
B: $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ (g)	0	2
C: DI water (mL)	0	87.8

2.3. Preparation of the Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffold Samples Using the Freeze-Drying Technique

According to the principles of mixture design, the three raw materials (gelatin, titanate, and DI water) were mixed in a definite ratio and stirred for 30 min at 50 °C. The mixtures were then poured into the wells of a five-well culture plate, with each well containing equal volumes, followed by freezing treatment overnight at −30 °C. After vacuum freeze-drying at −50 °C, all the samples were stored at −20 °C until further use [10]. The mass ratios and the designations of the prepared samples are listed in Table 2. Some of the mixtures are shown in Figure 1.

2.4. Compressive Test

Pressure resistance is one of the key properties of scaffolds. Therefore, the impact of the prepared gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds was investigated by employing the universal testing machine (UTM, Instron No. 5566, Norwood, MA, USA) using the 10 kN load cells (Figure 2). The flexible cellular materials slab and the bonded and molded urethane foams were evaluated using the respective standard ASTM D 3574 methods [18].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The testing was conducted in a dry state at 25 °C at a speed maintained at 0.5 mm/min. The load was applied until the samples were compressed to approximately 100% of their original height. The stiffness of the scaffolds was assessed at the stress-point region. The yield strength was considered the stress-strain kPa yield point. The dimensions of the prepared samples were diameter, 1 cm and thickness, 1 cm. Each sample was tested five times. Subsequently, the average and standard deviations were determined for all samples.

Table 2. The experimental design and results.

Run Order	Factors			Compressive Test (kPa.)
	A: Gelatin	B: Na ₂ Ti ₃ O ₇	C: DI Water	
01	0.200	0.000	0.800	27.407
02	0.200	0.002	0.798	26.764
03	0.122	0.000	0.878	24.678
04	0.120	0.002	0.878	25.240
05	0.161	0.001	0.839	30.306
06	0.180	0.001	0.819	29.861
07	0.180	0.002	0.818	28.396
08	0.141	0.001	0.858	28.511
09	0.140	0.002	0.858	27.186
10	0.200	0.000	0.800	26.687
11	0.200	0.002	0.798	26.222
12	0.122	0.000	0.878	24.038
13	0.120	0.002	0.878	25.370
14	0.161	0.001	0.839	30.586
15	0.180	0.001	0.819	29.621
16	0.180	0.002	0.818	28.866
17	0.141	0.001	0.858	28.337
18	0.140	0.002	0.858	26.974
19	0.200	0.000	0.800	25.647
20	0.200	0.002	0.798	26.182
21	0.122	0.000	0.878	25.170
22	0.120	0.002	0.878	24.970
23	0.161	0.001	0.839	30.546
24	0.180	0.001	0.819	29.941
25	0.180	0.002	0.818	28.659
26	0.141	0.001	0.858	29.871
27	0.140	0.002	0.858	27.953

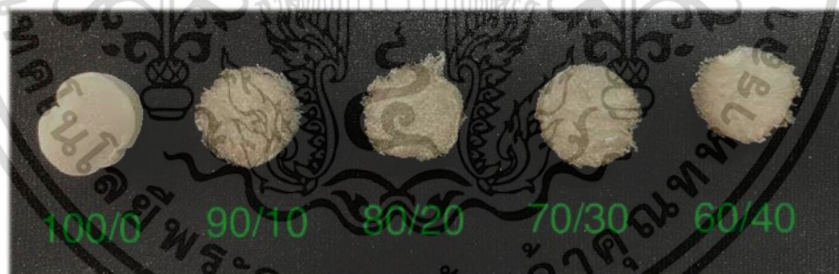


Figure 1. The gelatin/Na₂Ti₃O₇ nanocomposite scaffold samples prepared using the freeze-drying technique.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

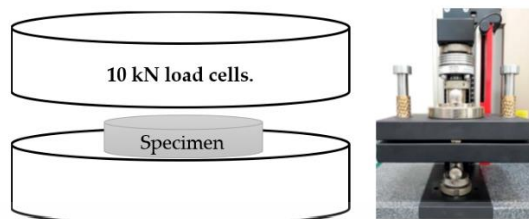


Figure 2. The testing of the prepared gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold samples using the universal testing machine.

2.5. Biodegradation of the Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffold Samples

The bioavailability of the prepared gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold samples was determined through the in vitro weight biodegradation analysis of the samples. The sample fragments were first incubated in the PBS solution (pH 7.4) containing 104 U/mL of lysozyme in an oven at 37°C for 54 h. Afterwards, the samples were incubated in an enzyme-free buffer, followed by curing and then thoroughly washing the samples with pure water to remove the enzymes. The samples were then dried and weighed several times, i.e., the degree of enzymatic biodegradation was determined after 0.5, 1, 1.5, 24, 48, and 54 h [16,17] using the following equation:

$$\text{Weight remain (\%)} = 100 - \left[\frac{(W_0 - W_f)}{W_0} \times 100 \right] \quad (1)$$

where:

W_0 denotes the initial weight of the nanocomposite scaffold;
 W_f denotes the final weight of the nanocomposite scaffold.

2.6. Swelling Test

The swelling test of scaffolds is an important tool to investigate the diffusion of water or liquid into the scaffold. In the present study, the swelling test was performed to evaluate the percentage difference between the dry weight and wet weight of the prepared biomedical scaffold. The dried nanocomposite scaffold was weighed and then soaked in a PBS buffer solution (pH 7.4) at 37°C for 3 h [20,21]. Afterwards, both sides of the scaffold were wiped using low-lint paper for 10 s on each side, followed by weighing the scaffold immediately. The dry weight and wet weight values were then utilized to calculate the swelling ratio using the following formula:

$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_{s0} - W_0}{W_0} \quad (2)$$

where:

W_{s0} denotes the weight of the scaffold absorbing the water content;
 W_0 denotes the initial weight of the nanocomposite scaffold.

2.7. Statistical Analysis

The quantitative results were evaluated for data normality using Explore software and subjected to Tukey's A test. The results were presented as the mean standard error (SE). In the case of significant result values obtained ($p = 0.05$), post hoc tests were conducted. Post hoc tests are an integral part of ANOVA. When ANOVA is performed to compare the means of a minimum of three groups, obtaining statistically significant results indicates

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

that all the compared group means are not equal. However, the ANOVA results do not identify which particular differences between the pairs of means are significant. In this context, using post hoc tests enables exploring the differences among multiple groups while controlling the experiment-wise error rate. Tukey's method is a single-step multiple-comparison procedure and statistical test, which may be used to identify the means that are significantly different from each other. Therefore, Tukey's multiple-comparison test was also conducted for analysis in the present study. All descriptive and inferential statistical analyses were conducted using MINITAB Statistical Software (v. 21).

3. Results and Discussion

3.1. Experimental Design and Results

A simplex axial design experiment was conducted for the mixture design of gelatin (A), titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) (B), and DI water (C) using the conditions stated above. In total, 27 experimental trials were performed, with three replicates in each trial condition. The results of the compressive test are presented in Table 2.

3.2. Residual Plots for Response

The quality of the result data was evaluated using the (1) normal distribution test, (2) the data independence test, and (3) the test of variance stability (Figure 3). As depicted in Figure 3, the data distribution did not have a specific pattern, indicating data independence, i.e., the data were collected randomly. In addition, the plot in which a straight line indicated the normality of the data obtained in the experimental work demonstrated that the experimental data had a stable variance as per the design. Therefore, it was concluded that the obtained data had all three properties.

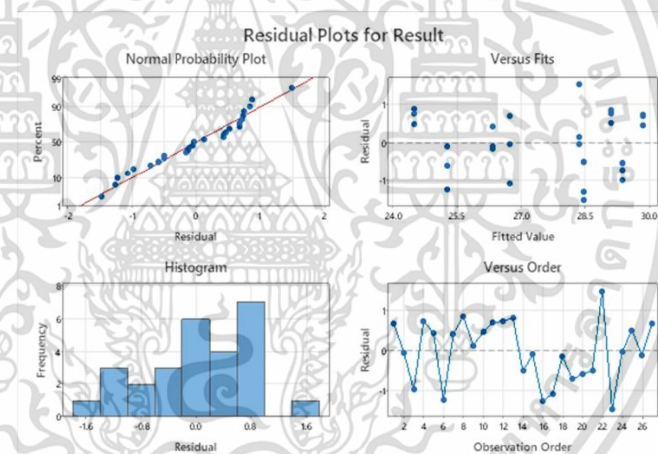


Figure 3. The residual plots for response average (kPa).

3.3. Analysis of Variance (ANOVA)

The analysis of variance, or ANOVA, is a linear modeling method for evaluating the relationship data [16]. In the present study, an ANOVA was performed to determine the compressive modulus. The results were considered statistically significant at $p < 0.05$ (Table 3). The ANOVA results revealed that the interaction term between the amount of gelatin used and the amount of titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) used was statistically significant ($p = 0.000$). The amounts of gelatin and DI water were also significantly related ($p < 0.05$). The coefficient of determination (R^2) indicates the percentage variation in the dependent

variables that is explained by the independent variables in a regression analysis. The results for the regression analysis conducted in the present study for the response surface methodology results presented in Table 3 revealed a high coefficient of determination ($R^2 = 84.55\%$). This observation indicated that the independent variables [the amounts of gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water] could explain 82.54% of the variation in the independent variables [the amounts of gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water]. Therefore, the model was used to obtain a prediction equation to determine an accurate and appropriate response value.

Table 3. Summary of the results obtained in the analysis of variance (ANOVA).

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F-Value	p-Value	
Regression	3	87.933	87.933	29.3110	41.96	0.000	
Linear	2	10.864	75.028	37.5141	53.70	0.000	
Quadratic	1	77.069	77.069	77.0688	110.32	0.000	
A*C	1	77.069	77.069	77.0688	110.32	0.000	
Residual Error	23	16.067	16.067	0.6986			
Lack of Fit	5	11.408	11.408	2.2817	8.82	0.000	
Pure Error	18	4.659	4.659	0.2588			
Total	26	104.000					
S		R-sq		R-sq(adj)	PRESS	R-sq(pred)	
		0.835807		84.55%	82.54%	21.6100	79.22%

3.4. Results of the Response Surface Methodology Analysis

The response surface methodology analysis is an effective method for optimizing the process conditions. It may also be used for determining the influence of various factors. As depicted in Figure 4, the response surface revealed for the compressive test of the nanocomposite scaffold-forming process involving gelatin, titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and DI water increased with the increase in the amounts of gelatin and $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$.

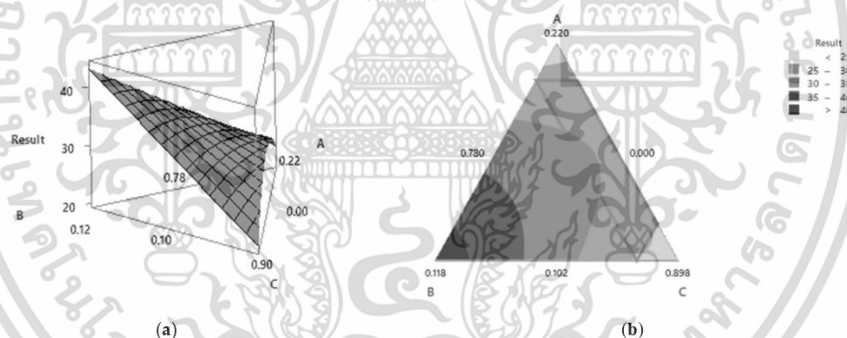


Figure 4. The mixture surface plot (a) and the mixture contour plot (b).

3.5. Optimization

A response optimizer function was adopted to determine the most appropriate value of the factors and thereby efficiently obtain the tensile strength. In addition, another function was adopted to identify the most appropriate parameter among the factors and measure composite desirability (D). The value of composite desirability ranged from 0 to 1. When D was equal to 1, the result was favorable for the overall response. The results revealed that 15.10% gelatin, 2% titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$), and 82.90% DI water, or gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ in the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ratio of 80/20, yielded the highest tensile strength of 30.57 kPa and the highest desirability of 1 (Figure 5).

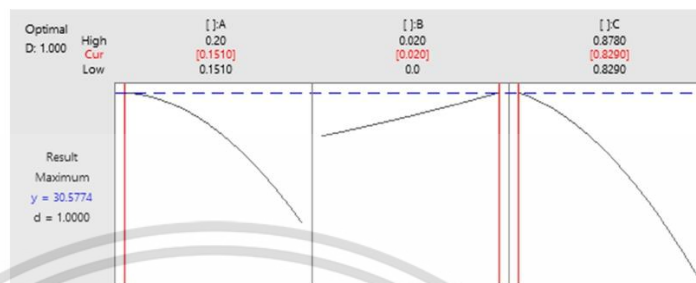


Figure 5. Optimization chart.

The samples with gelatin and $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixed in ratios of 100/0, 90/10, 80/20, 70/30, and 60/40 were investigated using the degradation test and the swelling test and also by analyzing the surface morphology and the pore size of the samples.

3.6. Biodegradation of the Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffold Samples Results

Figure 6 depicts a comparison of the pure gelatin nanocomposite scaffolds and the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds based on the results of the biodegradation analysis [18,19]. It was observed that the nanocomposite scaffolds prepared from pure gelatin (gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ratio—100/0) degraded in just one hour, while the nanocomposite scaffolds prepared from the 90/10 gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture required 24 h for degradation. Moreover, the 60/40 and 70/30 gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixtures degraded in 48 h, while the 80/20 gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture degraded in 54 h.

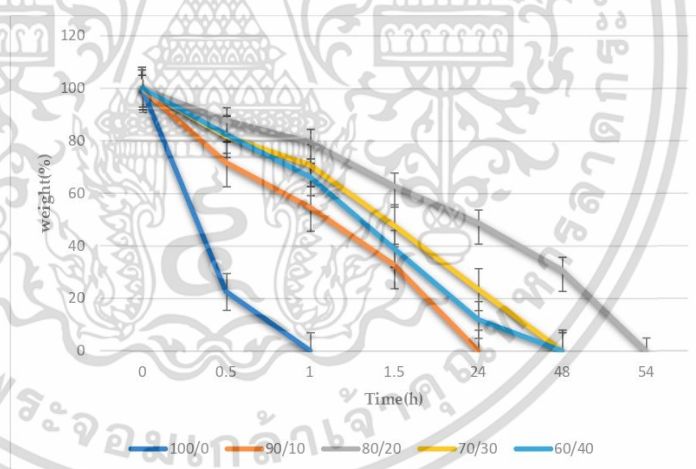


Figure 6. Results of the biodegradation of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds. ($n = 20$) at $p < 0.05$.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7. Swelling Test Results

Figure 7 depicts the nanocomposite scaffolds obtained using the freeze-drying technique. The swelling ratio of the scaffold with a gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture ratio of 100:0 was 22.98%. The highest swelling ratio of 85.43% was obtained for the scaffold with a gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture ratio of 80:20. This corresponded to the porosity value of the mixing ratio of 80:20, i.e., when the workpiece had high porosity, there was more space for water absorption, and thus, the rate of swelling increased.

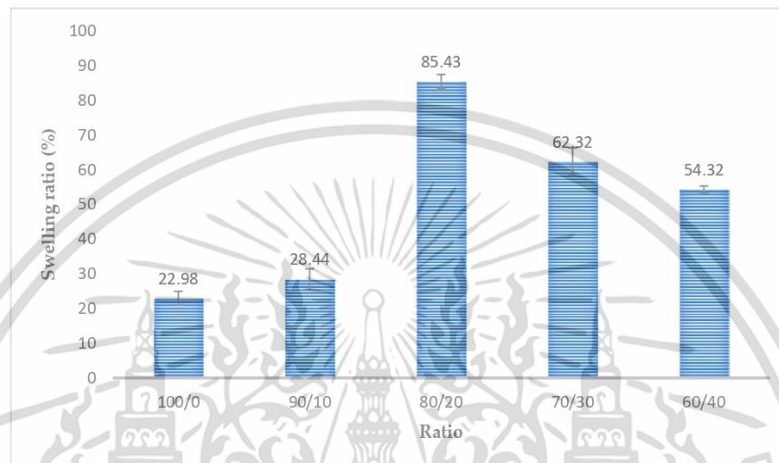


Figure 7. The swelling ratios of the different gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds prepared using the freeze-drying technique. ($n = 20$) at $p < 0.05$.

3.8. Porosity Percent and Pore Size of the Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffolds Prepared Using the Freeze-Drying Technique

The porosity of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds was determined using the following equation [25]:

$$\text{Porosity (\%)} = \frac{V_{\text{pore}}}{V_{\text{compact}}} \times 100 \quad (3)$$

where V_{pore} denotes the volume of the pores in the cellular scaffold material and V_{compact} denotes the volume of the nonporous workpiece.

The porous nature of the character scaffolds prepared using the freeze-drying technique depends on the size of the pore networks that are interconnected. In the present study, the scaffolds presented a homogeneous porous morphology. The porosity of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold was subject to the conditions of the freeze-drying technique. The porosity was calculated using Equation (3). The result revealed that the porosity of the samples ranged from 67% to 85% (Figure 6). The porosity of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds was >85%, which is conducive to cell growth [16–18]. The microstructures of the pure gelatin and gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds are depicted in Figure 8a–e. The pure gelatin scaffolds were observed to be spongy, with interconnected pore networks of indeterminate sizes distributed throughout the scaffold. The gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ scaffolds had a porous material, with evenly-distributed pores of sizes in the approximate range of 250–425 μm , which is the optimal size for the growth of bone cells [54]. However, this variation in the pore size of the prepared scaffolds could affect the movement of toxins for removal from the cells and the transmission of

nutrients through the scaffold material. Despite the afore-stated limitation of the prepared scaffold samples, the fact that all prepared samples exhibited a certain degree of porosity indicated that these scaffolds would influence cell growth upon application [16–18].

The porosity percentage and the pore diameter (pore size) of the gelatin/Na₂Ti₃O₇ nanocomposite scaffolds prepared in the present study were determined, and the result values are listed in Table 4. As evident, the pore size decreased when excessive or pure Na₂Ti₃O₇ was added to the material composition [51,52]. In addition, the diameters of the pores (pore size) in the different gelatin/Na₂Ti₃O₇ scaffolds were not extremely small or large.

Table 4. The porosity percentage and pore size of the scaffolds (significance level— $p < 0.05$).

Gelatin/Na ₂ Ti ₃ O ₇	Pore Size (μm)	Porosity (%)
100/0	124.23 ± 2.65	67.96 ± 2.77
90/10	195.32 ± 2.52	83.43 ± 0.82
80/20	278.71 ± 2.52	86.42 ± 1.08
70/30	257.79 ± 2.08	85.44 ± 1.20
60/40	234.56 ± 3.51	84.63 ± 2.30

3.9. Surface Morphology of the Prepared Nanocomposite Scaffolds

The scanning electron microscope (SEM) [1,11] was invented by M. Von Ardenne in 1957. In SEM analysis, the sample preparation step is crucial for obtaining the representative material and ensuring that the results truly refer to the structure. However, the samples are not required to be of the same size. In the present study, only the surfaces of the sample scaffold structures were examined using SEM. Therefore, the number of electrons passing through the scaffold to the transmission electron microscope was not determined. Scanning electron microscopy may, therefore, be performed for analyzing the surfaces of cells and skin samples. A high-energy electron beam was aimed at the surface of the scaffold sample. When the electron beam strikes the outer surface of the sample at higher angles of incidence, the scanning electron microscope produces secondary electrons. The signals from these secondary electrons are then recorded and converted to electronic signals. The electronic signals are then projected onto a television which produces a 3D image of the sample scaffold structures. A scanning electron microscope has a lower vision capability and a lower magnification compared to a transmission electron microscope. Therefore, a scanning electron microscope is suitable for the investigation, analysis, morphological structure study, and detailed examination of the sample scaffold surfaces, such as the surface of a cell, a skin sample, the external surface of a tissue, the external surface of a cell, a metal cross-section, and the cross-section of a nonmetal material, among others.

The morphology of the nanocomposite scaffold was examined using a scanning electron microscope (SEM; JSM-5610LV, JEOL) at a voltage of 20 kV. The sample surface was first coated with gold [55]. The sample was then examined under SEM, and the pore size was measured at least 20 times. The calculated average-diameter values are listed in Table 4. The images of the pores in the prepared nanocomposite scaffold samples were obtained after the dehydrothermal treatment (DHT) of the samples at 140 °C for 48 h (Figure 6). The diameters of the pores of the gelatin/Na₂Ti₃O₇ nanocomposite scaffold were observed to have changed. The fabricated scaffold exhibited varied pore sizes (Figure 6). When a greater amount of Na₂Ti₃O₇ was added to the scaffold composition, the sizes of the pores were reduced. Figure 8c depicts the high variation in the pore sizes. As depicted in Figure 8a–f, the diameters of the pores in the prepared gelatin/Na₂Ti₃O₇ nanocomposite scaffolds ranged from 120 to 240 μm. However, the SEM cross-section of the 80/20 sample shown in Figure 8f also indicates uniform porosity characteristics. This indicates that when titanate (Na₂Ti₃O₇) is added, samples can have more porosity. There is a network of interconnections between the pores compared to the 100/0 sample.

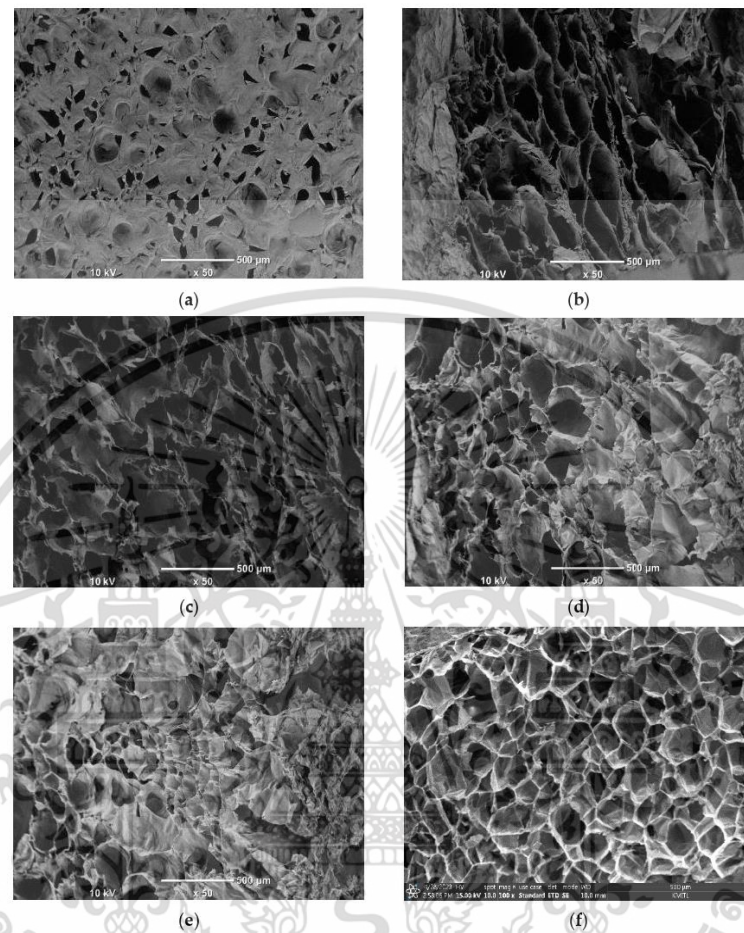


Figure 8. The SEM images of the scaffolds prepared using the freeze-drying technique, with the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ mixture ratio of (a) 100/0, (b) 90/10, (c) 80/20, (d) 70/30, (e) 60/40 and cross-sectional (f) 80/20.

3.10. Characterization of the Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Nanocomposite Scaffolds

The FTIR spectra were obtained by analyzing the structure and molecular composition of the sample gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold using a Fourier transform infrared spectrometer (Brand: PerkinElmer Scientific Model: Spectrum Two FT-IR Spectrometer (Universal ATR Sampling Accessory)). By measuring the absorbance of substances in the infrared range (Figure 9), we found that in the wavelength range of $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$, aliphatic C-H stretching signals were found in the range of about $3100\text{--}2700\text{ cm}^{-1}$. Additionally, in the wavelength range of $1620\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$, C = bonds were found. O stretching of amide groups was observed in the wavelength range of $1640\text{--}1590\text{ cm}^{-1}$; N-H bending signals were observed in the wavelength range of $1365\text{--}1455\text{ cm}^{-1}$; and C-H bending signals were

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

observed in the wavelength range of 1256–1332 cm^{-1} . Signs of C-N stretching were also found [56,57].

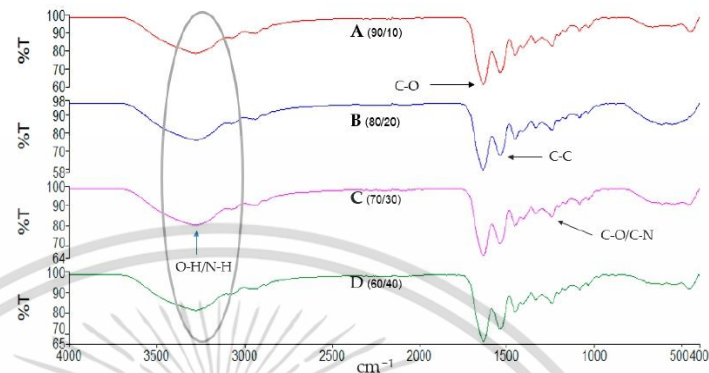


Figure 9. The FTIR spectrum of the gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffold.

However, no new peaks were observed, indicating that the added titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) did not react with glutaraldehyde. Titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) can act as a reinforcing agent, dispersed in the hydrogel or matrix [58]. It can enhance the properties of the matrix and the composite materials.

3.11. Effects of the Different Techniques Used for the Fabrication of a Scaffold: Freeze-Drying Technique and Salt-Leaching Technique

The scaffolds prepared using the salt-leaching technique exhibit a porous nature that depends on the size of the salt crystals used. The porous networks in these scaffolds are interconnected, and the porous morphology is homogeneous. According to the results of the present study, the porosity of the prepared samples ranged from 75% to 81%. Previous studies [59–61] have not reported any scaffolds with a porosity exceeding 85%. Moreover, the porosity of the prepared scaffold was reported to be lower than that of the sample with added salt (at 85%) [62]. This resulted in the agglomeration of salt particles and a loss of salt particles during the sedimentation process. The results obtained in the present study using the freeze-drying technique for scaffold preparation were comparable to those of the previous studies [51]. The freeze-drying technique produced scaffolds with similar shapes and hole sizes. The pores were also well connected, while the porosity and the pore size could be controlled better using this technique.

4. Conclusions

The gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds were fabricated using the freeze-drying technique, and then, they were characterized. The gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ nanocomposite scaffolds were prepared from gelatin and titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$). The mixture experimental-design technique was adopted as a statistical analysis tool. The results showed that titanate ($\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$) played an important role in improving the porosity, compressive test results, biodegradation, swelling test outcomes, porosity percentage, and pore-size values of the prepared nanocomposite scaffolds. A good porosity range of 67–85% was observed. In the compressive test, the prepared samples (gelatin:titanate = 80:20) showed a yield value of 30.57 kPa. The sample prepared using the mixture design technique (15.10% gelatine, 2% $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$, and 82.9% DI water) resulted in the highest yield in the compressive test. Theoretically, a scaffold must be highly porous and have a three-dimensional shape. The pores should be interconnected to form networks throughout the scaffold to ensure adequate cell growth and the appropriate transport of nutrients and wastes. This is

important because the transport of nutrients and wastes also controls the degradation rate and the water absorption capacity of the scaffold. Therefore, if the scaffold has a greater porous volume, cell-adhesion efficiency, and cell-growth volume are affected, which is consistent with the results of this study.

Author Contributions: Conceptualization, R.S., W.S. and K.J.; methodology, R.S. and W.S. writing—original draft preparation, R.S.; writing—review and editing, W.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, grant number 2564-02-01-017, and the APC was funded by the School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available in this article.

Acknowledgments: The authors thank the Industrial Engineering Department, School of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Thailand.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Khan, M.U.A.; Haider, S.; Shah, S.A.; Abd Razak, S.I.; Hassan, S.A.; Kadir, M.R.A.; Haider, A. Arabinoxylan-co-AA/HAp/TiO₂ Nanocomposite Scaffold a Potential Material for Bone Tissue Engineering: An Invitro Study. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *151*, 584–594. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Mao, J.S.; Zhao, L.G.; Yin, Y.J.; De Yao, K. Structure and properties of bilayer chitosan–gelatin scaffolds. *Biomaterials* **2003**, *24*, 1067–1074. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Gomes, S.R.; Rodrigues, G.; Martins, G.G.; Henriques, C.M.R.; Silva, J.C. In vitro evaluation of crosslinked electrospun fish gelatin scaffolds. *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, *33*, 1219–1227. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Pezeshki-Modaress, M.; Mirzadeh, H. Gelatin–GAG electrospun nanofibrous scaffold for skin tissue engineering: Fabrication and modeling of process parameters. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *48*, 704–712. [\[CrossRef\]](#)
5. Zeugolis, D.I.; Khew, S.T.; Yew, E.S.Y.; Ekaputra, A.K.; Tong, Y.W.; Yung, L.-Y.L.; Huttmacher, D.W.; Sheppard, C.; Raghunath, M. Electrospinning of pure collagen nano-fibers [just an expensive way to make gelatin]. *Biomaterials* **2008**, *29*, 2293–2305. [\[CrossRef\]](#)
6. Huang, Z.-M.; Zhang, Y.Z.; Ramakrishna, S.; Lim, C.T. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer* **2004**, *45*, 5361–5368. [\[CrossRef\]](#)
7. Pek, Y.S.; Spector, M.; Yannas, I.V.; Gibson, L.J. Degradation of a collagen–chondroitin-6-sulfate matrix by collagenase and by chondroitinase. *Biomaterials* **2004**, *25*, 473–482. [\[CrossRef\]](#)
8. Genchi, G.; Nuhn, H.; Liakos, I.; Marino, A.; Marras, S.; Athanassiou, A.; Mattoli, V.; Desai, T. Titanium dioxide nanotube arrays coated with laminin enhance C2C12 skeletal myoblast adhesion and differentiation. *RSC Adv.* **2016**, *22*, 18502–18514. [\[CrossRef\]](#)
9. Smith, B.S.; Yoriya, S.; Johnson, T.; Papat, K.C. Dermal fibroblast and epidermal keratinocyte functionality on titania nanotube arrays. *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 2686–2696. [\[CrossRef\]](#)
10. Fan, X.; Chen, K.; He, X.; Li, N.; Huang, J.; Tang, K.; Li, Y.; Wang, F. Nano-TiO₂/collagen–chitosan porous scaffold for wound repairing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *91*, 15–22. [\[CrossRef\]](#)
11. Cordero-Arias, L.; Cabanas-Polo, S.; Gilbert, J.; Goudouri, O.M.; Sanchez, E.; Virtanen, S.; Boccacini, A.R. Electrophoretic deposition of nanostructured TiO₂/alginate and TiO₂-bioactive glass/alginate composite coatings on stainless steel. *Adv. Appl. Ceram.* **2014**, *113*, 42–49. [\[CrossRef\]](#)
12. Kulkarni, M.; Mazare, A.; Gongadze, E.; Perutkova, S.; Kralj-Iglic, V.; Milosev, L.; Schmuki, P.; Iglic, C.; Mozetic, M. Titanium nanostructures for biomedical applications. *Nanotechnology* **2015**, *26*, 062002. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Fu, S.-Y.; Lauke, B. Characterization of tensile behavior of hybrid short glass fiber/calcite particle/ABS composites. *Compos. Part A: Appl. Sci. Manuf.* **1998**, *29*, 575–583. [\[CrossRef\]](#)
14. Lai, S.-M.; Li, H.-C.; Liao, Y.-C. Properties and preparation of compatibilized nylon 6 Nanocomposites/ABS blends: Part II—Physical and thermal properties. *Eur. Polym. J.* **2007**, *43*, 1660–1671. [\[CrossRef\]](#)
15. Yousefi, M.; Salavati-Niasari, M.; Gholamian, F.; Ghanbari, D.; Aminifazl, A. Polymeric nanocomposite materials: Synthesis and thermal degradation of acrylonitrile–butadiene–styrene/tin sulfide (ABS/SnS). *Inorg. Chim. Acta* **2011**, *371*, 1–5. [\[CrossRef\]](#)
16. Rezwan, K.; Chen, Q.Z.; Blaker, J.J.; Boccacini, A.R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* **2006**, *27*, 3413–3431. [\[CrossRef\]](#)
17. Nam, Y.J.; Stöver, T.; Hartman, S.S.; Altschuler, R.A. Upregulation of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in the rat cochlea following noise. *Hear. Res.* **2000**, *146*, 1–6. [\[CrossRef\]](#)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18. Hou, Q.; Grijpma, D.W.; Feijen, J. Porous polymeric structures for tissue engineering prepared by coagulation, compression molding, and salt leaching technique. *Biomaterials* **2003**, *24*, 1937–1947. [[CrossRef](#)]
19. Mikos, A.G.; Thorsen, A.J.; Czerwonka, L.A.; Bao, Y.; Langer, R.; Winslow, D.N.; Vacanti, J.P. Preparation and characterization of poly (L-lactic acid) foams. *Polymer* **1994**, *35*, 1068–1077. [[CrossRef](#)]
20. Lo, H.; Ponticciello, M.S.; Leong, K.W. Fabrication of Controlled Release Biodegradable Foams by Phase Separation. *Tissue Eng.* **1995**, *1*, 18–25. [[CrossRef](#)]
21. Mooney, D.J.; Baldwin, D.F.; Suh, N.P.; Vacanti, J.P.; Langer, R. A novel approach to fabricate porous sponges of poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials* **1996**, *17*, 1417–1422. [[CrossRef](#)]
22. Leong, K.F.; Cheah, C.M.; Chua, C.K. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. *Biomaterials* **2003**, *24*, 2363–2378. [[CrossRef](#)]
23. Whang, K.; Thomas, C.H.; Healy, K.E.; Nuber, G. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds. *Polymer* **1995**, *36*, 837–842. [[CrossRef](#)]
24. Hoque, M.E.; Nuge, T.; Yeow, T.K.; Nordin, N.; Prasad, R.G.S.V. Gelatin Based Scaffolds for Tissue Engineering—A review. *Polym. Res. J.* **2015**, *9*, 15–32.
25. Cho, Y.S.; Kim, B.S.; You, H.K.; Cho, Y.S. A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder). *Curr. Appl. Phys.* **2014**, *14*, 371–377. [[CrossRef](#)]
26. Bruton, A.R. Manufacturing, and Performance of Titanium Dioxide Ultra-High Molecular Weight Polyethylene nanocomposite Materials. Master's Thesis, University of Delaware, Newark, DE, USA, 2006.
27. Giraldo, L.F.; Echeverri, M.; López, B.L. Reinforcement of Polyamide 6 with Nanoparticles. *Macromol. Symp.* **2007**, *258*, 119–128. [[CrossRef](#)]
28. Zhang, Z.; Yang, J.L.; Friedrich, K. Creep resistant polymeric nanocomposites. *Polymer* **2004**, *45*, 3481–3485. [[CrossRef](#)]
29. Matsuyama, T.; Tomoda, R.; Nakajima, T.; Wake, H. Photo electrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiol. Lett.* **1985**, *29*, 211–214. [[CrossRef](#)]
30. Kiema, G.K.; Colgan, M.J.; Brett, M.J. Dye-sensitized solar cells incorporating obliquely deposited titanium oxide layers. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2005**, *85*, 321–331. [[CrossRef](#)]
31. Walsh, F.C.; Bavykin, D.V.; Torrente-Murciano, L.; Lapkin, A.A.; Cressey, B.A. Synthesis of novel composite materials via the deposition of precious metals onto protonated titanate (TiO₂) nanotubes. *Trans. Inst. Met. Finish.* **2006**, *6*, 293–299. [[CrossRef](#)]
32. Bavykin, D.V.; Parmon, V.N.; Lapkin, A.A.; Walsh, F.C. The effect of hydrothermal condition on the mesoporous structure of TiO₂ nanotube. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 3370–3377. [[CrossRef](#)]
33. Fu, Y.; Wei, Z.D.; Chen, S.G.; Li, L.; Feng, Y.C.; Wang, Y.Q.; Ma, X.L.; Liao, M.J.; Shen, P.K.; Jiang, S.P. Synthesis of Pd/TiO₂ nanotubes/Ti for oxygen reduction reaction in acidic solution. *J. Power Sources* **2009**, *189*, 982–987. [[CrossRef](#)]
34. Dechakiatkrai, C.; Chen, J.; Lynam, C.; Phanichphant, S.; Wallace, G.G. Photocatalytic degradation of methanol using titanium dioxide/single walled carbon nanotube composite. *J. Electrochem. Soc.* **2007**, *154*, A407–A411. [[CrossRef](#)]
35. Madhugiri, S.; Sun, B.; Smirniotis, P.G.; Ferraris, J.P.; Balkus, K.J., Jr. Electrospun mesoporous titanium dioxide fibers. *Microporous Mesoporous Mater.* **2004**, *69*, 77–83. [[CrossRef](#)]
36. Saujanya, C.; Radhakrishnan, S. Structure development and crystallization behavior of PP/nanoparticulate composite. *Polymer* **2001**, *42*, 6723–6731. [[CrossRef](#)]
37. Zheng, Y.; Zhengb, Y.; Ning, R. Effects of nanoparticles SiO₂ on the performance of nanocomposites. *Mater. Lett.* **2003**, *57*, 2940–2944. [[CrossRef](#)]
38. Esthappan, S.K.; Kuttappan, S.K.; Joseph, R. Effect of titanium dioxide on the thermal aging of polypropylene. *Polym. Degrad. Stab.* **2012**, *97*, 615–620. [[CrossRef](#)]
39. Akkapeddi, M.K. Glass fiber reinforced polyamide-6 nanocomposites. *Polym. Compos.* **2000**, *21*, 576–585. [[CrossRef](#)]
40. Kasuga, T.; Hiramatsu, M.; Hoson, A.; Sekino, T.; Niihara, K. Formation of titanium oxide nanotube. *Langmuir* **1998**, *14*, 3160–3163. [[CrossRef](#)]
41. Kasuga, T.; Hiramatsu, M.; Hoson, A.; Sekino, T.; Niihara, K. Titania nanotubes prepared by chemical processing. *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 1307–1311. [[CrossRef](#)]
42. Chen, Q.; Zhou, W.; Du, G.H.; Peng, L.M. Titanate nanotubes made via a single alkali treatment. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 1208–1211. [[CrossRef](#)]
43. Kiatkittipong, K.; Scott, J.; Amal, R. Hydrothermally synthesized titanate nanostructures: Impact of heat treatment on particle characteristics and photocatalytic properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 3988–3996. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Yuan, Z.Y.; Colomer, J.F.; Su, B.L. Titanium oxide nanoribbons. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *363*, 362–366. [[CrossRef](#)]
45. Kiatkittipong, K.; Ye, C.; Scott, J.; Amal, R. Understanding Hydrothermal Titanate Nanoribbon Formation. *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 3618–3625. [[CrossRef](#)]
46. Zhang, Y.X.; Li, G.H.; Jin, Y.X.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Zhang, L.D. Hydrothermal synthesis and photoluminescence of TiO₂ nanowires. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *365*, 300–304. [[CrossRef](#)]
47. Yoshida, R.; Suzuki, Y.; Yoshikawa, S. Syntheses of TiO₂ (B) nanowires and TiO₂ anatase nanowires by hydrothermal and post-heat treatments. *J. Solid-State Chem.* **2005**, *178*, 2179–2185. [[CrossRef](#)]
48. Armstrong, A.R.; Armstrong, G.; Canales, J.; Bruce, P.G. TiO₂-B nanowires. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2286–2288. [[CrossRef](#)]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

49. Byrappa, K.; Yoshimura, M. *Handbook of Hydrothermal Technology—A Technology for Crystal Growth and Materials Processing*; William Andrew Publishing/Noyes: Norwich, NY, USA, 2001.
50. Ma, R.; Bando, Y.; Sasaki, T. Nanotubes of lepidocrocite titanates. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *380*, 577–582. [[CrossRef](#)]
51. Sangkatip, R.; Sriseubsai, W.; Kiatkittipong, K.; Jongwuttanaruk, K. Optimization of Salt-Leaching Parameters for Gelatin/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Scaffolds Using a Mixture Design Experiment. *Polymers* **2022**, *14*, 559. [[CrossRef](#)]
52. Sangkatip, R.; Sriseubsai, W.; Kiatkittipong, K. Preparation, and Characterization of the $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$: ABS/ $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ Composites. *Key Eng. Mater.* **2017**, *753*, 39–43. [[CrossRef](#)]
53. Myers, R.H.; Montgomery, D.C. *Response Surface Methodology Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, 2nd ed.; John Wiley and Son, Inc.: New York, NY, USA, 2002.
54. Hajiali, H.; Karbasi, S.; Hosseinalipour, M.; Rezaie, H. Preparation of a novel biodegradable nanocomposite scaffold based on poly (3-hydroxybutyrate)/bioglass nanoparticles for bone tissue engineering. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2010**, *21*, 2125–2132. [[CrossRef](#)]
55. Chen, H.; Huang, J.; Yu, J.; Liu, S.; Gu, P. Electrospun chitosan-graft-poly (ϵ -caprolactone)/poly (ϵ -caprolactone) cationic nanofibrous mats as potential scaffolds for skin tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* **2011**, *48*, 13–19. [[CrossRef](#)]
56. Mohd Amin, M.C.I.; Ahmad, N.; Halib, N.; Ahmad, I. Synthesis and characterization of thermo- and pH-responsive bacterial cellulose/acrylic acid hydrogels for drug delivery. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *88*, 465–473. [[CrossRef](#)]
57. Rokhade, A.P.; Agnihotri, S.A.; Patil, S.A.; Mallikarjuna, N.N.; Kulkarni, P.V.; Aminabhavi, T.M. Semi-interpenetrating polymer network microspheres of gelatin and sodium carboxymethyl cellulose for controlled release of ketorolac tromethamine. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *65*, 243–252. [[CrossRef](#)]
58. Ooi, S.Y.; Ahmad, I.; Amin, M.C.I.M. Cellulose nanocrystals extracted from rice husks as a reinforcing material in gelatin hydrogels for use in controlled drug delivery systems. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *93*, 227–234. [[CrossRef](#)]
59. Wiwatwongwana, F.; Promma, N. Characterization of Gelatin-Carboxymethylcellulose Scaffolds. In Proceedings of the 4th International Conference on Chemical Materials and Process (ICCMP 2018), 100th Building, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 23–25 May 2018. (Oral presentation).
60. Jongwuttanaruk, K.; Surin, P.; Wiwatwongwana, F. Characterization of Gelatin/CMC Scaffolds by Electrospinning and Comparison with Freeze Dry Techniques. In Proceedings of the 4th International Conference on Chemical Materials and Process (ICCMP 2018), 100th Building, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 23–25 May 2018. (Oral presentation).
61. Ma, J.; Wang, H.; He, B.; Chen, J. A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human no fetal dermal fibroblasts. *Biomaterials* **2001**, *22*, 331–336. [[CrossRef](#)]
62. Leea, S.B.; Kima, Y.H.; Chonga, M.S.; Hong, S.H.; Leea, Y.M. Study of gelatin-containing artificial skin V: Fabrication of gelatin scaffolds using a salt-leaching method. *Biomaterials* **2005**, *26*, 1961–1968. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข.

ผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 ผลการทดสอบสมบัติการต้านทานต่อแรงดึง

RUN	ตัวอย่าง					เฉลี่ย (kpa)	ความ เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	4	5		
1	1370.3	1371.14	1369.79	1370.16	1370.45	1370.37	0.50
2	1390.4	1390.89	1391.05	1391.15	1392	1391.10	0.58
3	1233.51	1233.4	1233.94	1233.84	1234.8	1233.90	0.55
4	1261.42	1261.64	1262.75	1262.23	1262.05	1262.02	0.52
5	1515.07	1515.59	1515.52	1515.17	1515.08	1515.29	0.25
6	1493.09	1493.04	1492.9	1493.08	1493.07	1493.04	0.08
7	1419.5	1419.89	1419.81	1419.97	1419.79	1419.79	0.18
8	1425.32	1425.56	1425.61	1425.52	1425.71	1425.54	0.14
9	1359.14	1359.48	1359.34	1359.22	1359.36	1359.31	0.13
10	1334.32	1334.64	1334.22	1334.22	1334.47	1334.37	0.18
11	1310.88	1310.98	1311.18	1311.2	1311.24	1311.10	0.16
12	1202.17	1201.78	1201.85	1201.89	1201.81	1201.90	0.16
13	1268.33	1268.68	1268.7	1268.45	1268.37	1268.51	0.17
14	1529.2	1529.18	1529.38	1529.41	1529.3	1529.29	0.10
15	1480.9	1481.08	1481.06	1481.1	1481.07	1481.04	0.08
16	1443.17	1443.25	1443.51	1443.38	1443.29	1443.32	0.13
17	1416.93	1416.9	1416.78	1416.81	1416.78	1416.84	0.07
18	1348.7	1348.68	1348.81	1348.85	1348.54	1348.72	0.12
19	1282.4	1282.22	1282.35	1282.47	1282.39	1282.37	0.09
20	1308.81	1309.15	1309.13	1309.2	1309.19	1309.10	0.16
21	1355.84	1356.29	1356.01	1355.94	1355.4	1355.90	0.32
22	1248.36	1248.57	1248.58	1248.5	1248.55	1248.51	0.09
23	1527.18	1527.25	1527.18	1527.34	1527.49	1527.29	0.13
24	1497.11	1496.89	1496.97	1497.08	1497.14	1497.04	0.10
25	1432.85	1433.19	1432.94	1432.85	1432.97	1432.96	0.14
26	1493.38	1493.48	1493.67	1493.57	1493.58	1493.54	0.11
27	1397.58	1397.68	1397.68	1397.64	1397.58	1397.63	0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข2 ผลการทดสอบสมบัตินาครุพูน

ตัวอย่าง	ตัวอย่าง1	ตัวอย่าง2	ตัวอย่าง3	ตัวอย่าง4	ตัวอย่าง5	เฉลี่ย	SD
100/0	125.23	122.24	125.26	123.8	124.6	124.23	1.26
90/10	197.65	192.65	195.5	195.2	195.6	195.32	1.78
80/20	278.38	281.38	276.42	278.72	278.65	278.71	1.77
70/30	258.26	255.16	259.16	259.25	257.1	257.79	1.70
60/40	238.23	231.28	234.23	235.32	233.74	234.56	2.53

ตารางที่ ข3 ผลการทดสอบสมบัตินาครุพูน

ตัวอย่าง	ตัวอย่าง1	ตัวอย่าง2	ตัวอย่าง3	ตัวอย่าง4	ตัวอย่าง5	เฉลี่ย	SD
100/0	67.93	65.83	68.1	69.24	68.73	67.97	1.26
90/10	83.17	82.65	84.23	84.27	82.81	83.43	0.81
80/20	86.37	85.34	87.52	86.42	86.46	86.42	1.09
70/30	85.45	86.62	84.24	85.45	85.43	85.44	1.19
60/40	84.68	86.9	82.3	84.62	84.63	84.63	2.30

ตารางที่ ข4 ผลการทดสอบสมบัตินาครุพูน

ตัวอย่าง	ตัวอย่าง1	ตัวอย่าง2	ตัวอย่าง3	ตัวอย่าง4	ตัวอย่าง5	เฉลี่ย	SD
100/0	14.1	14.43	14.2	14.19	13.95	14.17	0.16
90/10	22.3	22.4	22.5	21.9	22.38	22.30	0.21
80/20	35.1	34.56	35.2	35.6	35.8	35.25	0.43
70/30	29	29.2	29.3	29.23	29.4	29.23	0.13
60/40	27	27.5	27.34	27.4	27.3	27.31	0.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล	นายฤทธิชัย สังขทิพย์
วัน เดือน ปีเกิด	22 มีนาคม 2529
ที่อยู่	8/11 หมู่บ้านสตอร์ (วงแหวน-อ่อนนุช) แขวงดอกไม้ เขตประเวศ จังหวัด กรุงเทพมหานคร 10250
ประวัติการศึกษา	2548 ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้น (ปวช.) สาขาวิชาช่างกลโรงงาน แผนก ช่างกลโรงงาน วิทยาลัยการอาชีพร้อยเอ็ด 2552 วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วศ.บ.) สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน 2555 วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วศ.ม.) สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ประสบการณ์การทำงาน	2553 –2555 ตำแหน่งอาจารย์อัตราจ้าง หลักสูตรวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน 2555 - 2556 ตำแหน่งวิศวกรที่ปรึกษา บริษัท ซีเอ็มเอส เอ็นจิเนียริ่ง แอนด์ แมเนจเม้นท์ จำกัด 2556 ตำแหน่งวิศวกรอุตสาหกรรม บริษัท ไพรม์บ็อกซ์ เอ็ม เอฟ จี จำกัด 2556-ปัจจุบัน ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำหลักสูตรวิศวกรรมการ ผลิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน
ผลงานทางวิชาการ	Atthakorn Chanchana, Manus Sriswat, Rittichai Sangkatip, Witoon Obrom and Pitak Panawan “ Influence of Welding Speed on Hard-facing Deposited by MIG Welding” Materials Science Forum, Vol. 1042, pp 47-52, 2021.
	ก้าวหน้า จงวัฒนารักษ์,เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, และฤทธิชัย สังขทิพย์ “การหาค่าที่เหมาะสมของ กระบวนการย้ายทางปลา A-2435 กับสายไฟขนาด 0.5 sq.mm2 โดยประยุกต์วิธีพื้นผิวตอบสนอง” การประชุมวิชาการราชชมงคลด้านเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการ ครั้งที่ 6 วันที่ 1-3 กันยายน 2564 :436-445

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, ก้าวหน้า จงวัฒนารักษ์,และฤทธิชัย สังขทิพย์ “การพยากรณ์ความต้องการสินค้าสำหรับการวางแผนการสั่งซื้อ กรณีศึกษาร้านขายของชำ” การประชุมวิชาการราชชมงคลด้านเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการ ครั้งที่ 6 วันที่ 1-3 กันยายน 2564 :181-187

ฤทธิชัย สังขทิพย์, มนัส ศรีสวัสดิ์, ก่อสุชน ศาตะโยธิน, วัฒนชัย ประสงค์ “การปรับปรุงกระบวนการผลิตพัสดุมโดยประยุกต์ใช้เทคนิคลีนซิกซ์ซิกซ์มา” Pathumwan Academic Journal, Vol. 9, No. 26, September - December 2019: 14 – 24

ก้าวหน้า จงวัฒนารักษ์, เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, ฤทธิชัย สังขทิพย์ “การจัดเส้นทางเดินรถขนส่งสินค้าเพื่อลดต้นทุนในการขนส่ง กรณีศึกษา โรงงานผลิตชุดสายไฟรถยนต์” การประชุมและนำเสนอผลงานทางวิชาการนวัตกรรม และการจัดการอุตสาหกรรมอย่างยั่งยืน ครั้งที่ 8 ประจำปี 2562 : 71-76

ฤทธิชัย สังขทิพย์, ยุทธณรงค์ จงจันทร์, ยอดนภา เกษเมือง, “การประยุกต์ใช้เทคนิคการออกแบบการทดลองในการผสมพอลิพลอฟิลีนกับยางอนุภาคนาโน”วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยธนบุรี ปีที่ 8 ฉบับที่ 16 เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม 2557 : 93-100

เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, ก้าวหน้า จงวัฒนารักษ์, วัชรุทธิ์ ชิววิริยะนนท์, ฤทธิชัย สังขทิพย์, “การปรับปรุงผังโรงงาน กรณีศึกษาโรงงานผลิตชิ้นส่วนเครื่องจักร”การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2557, 30-31 ตุลาคม 2557, 2557. : 51-57

ฤทธิชัย สังขทิพย์, วิฑูรย์ อบรม, ประยูร สุรินทร์, วัชรุทธิ์ ชิววิริยะนนท์, เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์ “การลดเวลาการผลิตกระบวนการเชื่อมชิ้นส่วนยานยนต์ด้วยเทคนิค ECRS”การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2556, 16-18 ตุลาคม 2556, 2556. : 836-841

เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, ฤทธิชัย สังขทิพย์, วัชรุทธิ์ ชิววิริยะนนท์, วิฑูรย์ อบรม, พิทักษ์ พนาวัน “การปรับปรุงระบบการบริหารวัตถุดิบคงคลัง กรณีศึกษาโรงงานผลิตตู้คอนโทรล”การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2556, 16-18 ตุลาคม 2556, 2556. : 842-848

ฤทธิชัย สังขทิพย์, เฉลิมศักดิ์ ถาวรวัตร์, ประยูร สุรินทร์, "การหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการตัดสแตนเลส เกรด 304 ด้วยเครื่องเลเซอร์ Co2" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2555, 17-19 ตุลาคม 2555, 2555. : 1405-1410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุนทร มุลทา, บัญชา เวฬุวนารักษ์, ฤทธิชัย สังฆทิพย์, "การศึกษาอิทธิพลของปริมาณความชื้นของลวดเชื่อม E6013 ที่ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกล" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2555, 17-19 ตุลาคม 2555, 2555. : 1721-1726

ฤทธิชัย สังฆทิพย์, ประยูร สุรินทร์, "การศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นวัสดุก่อสร้างจากเส้นใยมะพร้าวผสมซีเมนต์กับผงคอนกรีตโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลอง" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2554, 20-21 ตุลาคม 2554, 2554

ฤทธิชัย สังฆทิพย์, ประยูร สุรินทร์, "การขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอัดความหนาแน่นปานกลางจากผักตบชวาโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลอง" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ. 2554, 20-21 ตุลาคม 2554, 2554.

ฤทธิชัย สังฆทิพย์, พิทักษ์ พนาวัน, ประยูร สุรินทร์, "การศึกษาสมบัติเชิงกลและกายภาพของแผ่นรองสินค้าที่ทำจากเส้นใยทะเลลายปาล์มและแป้งข้าวเหนียวที่สามารถย่อยสลายได้" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2553, 13-15 ตุลาคม 2553, 2553.

มนัส ศรีสวัสดิ์, ฤทธิชัย สังฆทิพย์, ประยูร สุรินทร์, "การศึกษาสมบัติของเส้นใยอัดความหนาแน่นปานกลางจากผักตบชวา" การประชุมข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี พ.ศ.2553, 13-15 ตุลาคม 2553, 2553.