



การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์จากโอลิโกเมอร์โดปามีน
เมทาครีเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ



วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิศวกรรมมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
วิทยาลัยวิศวกรรมชีวการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2566



**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF OLIGOMER DOPAMINE
METHACRYLATE AND COLLAGEN HYDROLYSATE
SCAFFOLD FOR TISSUE ENGINEERING**

**BY
KITIPONG PASANAPHONG**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF ENGINEERING IN BIOMEDICAL
ENGINEERING
COLLEGE OF BIOMEDICAL ENGINEERING**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2023**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์จากโพลิโกเมอร์โด้ปามีน
เมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

โดย

กิตติพงษ์ ปาสาณพงศ์

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2566

รศ. ดร.ภญ.ฤดี เหมสถาปัติย์
ประธานกรรมการสอบ

ศ. ดร.สือจิตต์ เพ็ชรประสาน
กรรมการ

รศ. ดร.ณัฐพล ถนงค์ข้างแสง
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ. ดร.ศนิ บุญญกุล
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ. ร.ต. หญิง ดร. วรณี สุขสาตร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

29 กุมภาพันธ์ 2567

Thesis entitled

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF OLIGOMER DOPAMINE
METHACRYLATE AND COLLAGEN HYDROLYSATE
SCAFFOLD FOR TISSUE ENGINEERING**

by

KITIPONG PASANAPHONG

was submitted in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Master of Engineering in Biomedical Engineering

Rangsit University
Academic Year 2023

Assoc. Prof. Ruedee Hemstapat, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Prof. Suejit Pechprasarn, Ph.D.
Member

Assoc. Prof. Nuttapol Tanadchangsang, D.Eng.
Member and Advisor

Asst. Prof. Sani Boonyagul, Ph.D.
Member and Co-Advisor

Approved by Graduate School

(Asst.Prof.Plt.Off. Vanee Sooksatra, D.Eng.)

Dean of Graduate School

February 29, 2024

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้เป็นอย่างดีเนื่องมาจากได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร.ณัฐพล ถนงค์ช่างแสงและ ผศ. ดร.ศนิ บุญญกุล อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความเอาใจใส่ช่วยเหลือในการจัดหาวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ และคอยให้คำปรึกษาแนะนำเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.อชารีย์ สุขสุวรรณ หัวหน้ากลุ่มภารกิจบริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำเรื่อง การนำเรื่องการสังเคราะห์และสกัดโคปามีนเมทาคริเลตและคอยช่วยเหลือในการตรวจสอบคุณสมบัติของวัสดุที่ได้สังเคราะห์ขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. นพ.ศุภพฤกษ์ ถาวรวิสถ์รักษ์ คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำเรื่องการนำเซลล์กระดูกอ่อนมาใช้ในการทดสอบและเป็นแพทย์ผู้ที่สกัดเซลล์คอนโดโรไซต์จากคนไข้เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.ฤดี เหมสถาปัตย์ คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำเรื่องการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และช่วยจัดหาเซลล์กระดูกอ่อนมาใช้ในการทดสอบ และให้แนวทางและมุมมองหากมีความเป็นไปได้ในการนำวัสดุไปทดสอบในระดับสัตว์ทดลองในอนาคต

ขอขอบพระคุณ ดร.นันทพงศ์ ขำทอง วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำเรื่องการนำเรื่องการสังเคราะห์และสกัดโคปามีนเมทาคริเลตและคอยช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือต่าง ๆ ในการทำวิจัย

กิตติพงษ์ ปาสนาพงศ์

ผู้วิจัย

6508847 : กิตติพงษ์ ปาสาณพงศ์
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์จาก
 โอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซต
 สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ
 หลักสูตร : วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
 อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร.ณัฐพล ฤกษ์ช่างแสง
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร.ศนิ บุญญกุล

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยการตรวจสอบโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR และ FTIR เพื่อยืนยันความสำเร็จของการสังเคราะห์ และตรวจสอบ DMA ด้วยเทคนิค DSC ก่อนที่จะเปลี่ยนไปเป็น ODMA จากนั้นนำ ODMA ไปผสมกับ PEGDMA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเพื่อปรับปรุงความสามารถในการพิมพ์โครงเลี้ยงเซลล์สามมิติด้วยเทคนิคการพิมพ์แบบ DLP จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM แล้วจึงตรวจสอบสมบัติของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยเทคนิค FTIR และ DSC จากนั้นตรวจสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในระดับ *In Vitro* ที่ 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำ ODMA/PEGDMA/CH มาพิมพ์ร่วมกันแล้วนำมาทดสอบร่วมกับเซลล์คอนไดรไรต์ เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตรอดและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าสามารถสังเคราะห์ DMA ได้สำเร็จจากการยืนยันด้วย NMR และ FTIR แล้วสามารถเปลี่ยนเป็น ODMA ได้ และเมื่อนำมาผสมกับ PEGDMA ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.25% - 10% (%w/v) ทำให้สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการพิมพ์ขึ้นรูปของ PEGDMA ด้วยเทคนิคการพิมพ์แบบ DLP ให้ดีขึ้นได้ และหลังจากการทำให้ CH ปราศจากเชื้อในทุกวิธีนั้นจะไม่ทำให้ CH เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและมีความเข้ากันได้กับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ สุดท้ายเมื่อนำทั้งสามองค์ประกอบมาพิมพ์ขึ้นรูปร่วมกันแล้วนำมาทดสอบร่วมกับเซลล์คอนไดรไรต์ในระดับ *In Vitro* พบว่าเซลล์คอนไดรไรต์สามารถมีชีวิตรอดและเพิ่มจำนวนได้สูงสุด

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 63 หน้า)

คำสำคัญ: โครงเลี้ยงเซลล์, โอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลต, คอลลาเจนไฮโดรไลเซต, เครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิ่ง

6508847 : Kitipong Pasanaphong
 Thesis Title : Synthesis and characterization of oligomer dopamine methacrylate
 and collagen hydrolysate scaffold for tissue engineering
 Program : Master of Engineering in Biomedical Engineering
 Thesis Advisor : Assoc. Prof. Nuttapol Tanadchangsang, D.Eng.
 Thesis Co-Advisor : Asst. Prof. Sani Boonyagul, Ph.D.

Abstract

This study involves creating scaffolds, which includes the examination of the structure and chemical composition of ODMA using NMR and FTIR techniques to confirm the success of the synthesis and the examination of DMA using DSC technique before it is converted to ODMA. Subsequently, ODMA is mixed with PEGDMA at different concentrations to improve the ability to print scaffolds using the DLP printing technique. Then, the fabricated ODMA/PEGDMA scaffolds are examined using SEM, followed by the examination of the properties of CH after sterilization using various methods using FTIR and DSC techniques. Subsequently, the viability of fibroblast cells is examined at *in vitro* for 24 hours. Then, ODMA/PEGDMA/CH are printed together and tested with chondrocyte cells to examine their viability and proliferation at 24, 48, and 72 hours. The experimental results show that DMA can be successfully synthesized, as confirmed by NMR and FTIR, and then converted to ODMA. When mixed with PEGDMA at concentrations ranging from 1.25% to 10% (%w/v) that can improve the printability of PEGDMA using the DLP printing technique. Moreover, after sterilizing CH by all methods, it does not alter the chemical properties of CH and remains compatible with fibroblast cells. Finally, when all three components are printed together and tested with chondrocyte cells *in vitro*, it was found that chondrocyte cells can survive and proliferate maximally.

(Total 63 pages)

Keywords: Cell scaffold, Oligomer dopamine methacrylate, Collagen hydrolysate, Digital light processing (DLP) 3D printer

Student's Signature Thesis Advisor's Signature
 Thesis Co-Advisor's Signature

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1	บทนำ
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา
1.2	วัตถุประสงค์การวิจัย
1.3	สมมติฐานการวิจัย
1.4	กรอบแนวคิดการวิจัย
1.5	นิยามศัพท์
บทที่ 2	ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง
2.1	วิศวกรรมเนื้อเยื่อ
2.2	วัสดุชีวภาพ
2.3	การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ
2.4	โพลิโกลิเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลต
2.5	คอลลาเจนไฮโดรไลเซต
2.6	พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต
2.7	การเชื่อมขวางด้วยแสง
2.8	การพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิง
2.9	การทำให้ปราศจากเชื้อ
2.10	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3	ระเบียบวิธีการวิจัย	หน้า
	3.1 วัสดุและอุปกรณ์	19
	3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	19
	3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	20
	3.1.3 เซลล์ อาหารเลี้ยงเซลล์ และสารที่ใช้ในการทดสอบระดับ	21
	ห้องปฏิบัติการ (<i>In Vitro</i>)	
	3.2 กระบวนการดำเนินงานวิจัย	22
	3.2.1 การสังเคราะห์ DMA	22
	3.2.2 การตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR	22
	3.2.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR	23
	3.2.4 การตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค	24
	DSC	
	3.2.5 กระบวนการเตรียมเรซิน ODMA-PEGDMA	24
	3.2.6 การทดสอบความสามารถในการพิมพ์ร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติ	25
	DLP	
	3.2.7 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์	25
	ODMA/PEGDMA ด้วย SEM	
	3.2.8 การทำให้ CH ปราศจากเชื้อ	26
	3.2.8.1 เอทิลีนออกไซด์	26
	3.2.8.2 รังสีเบต้า	27
	3.2.8.3 รังสีแกมมา	27
	3.2.9 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้	28
	ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR	
	3.2.10 การตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังจากการทำให้	29
	ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC	
	3.2.11 การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.11.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับการทดลอง (Cell Culture)	29
3.3.11.2 การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell Viability)	30
บทที่ 4 ผลการวิจัย	34
4.1 ผลการสังเคราะห์ DMA	34
4.1.1 ลักษณะทางกายภาพของ DMA	34
4.1.2 ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR	35
4.1.3 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR	36
4.1.4 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC	37
4.2 ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของเรซิน ODMA/PEGDMA	37
4.2.1 ผลการเตรียมเรซิน ODMA/PEGDMA	37
4.2.2 ผลการทดสอบความสามารถในการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP	38
4.2.3 ผลการตรวจสอบฐานวิทยัพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM	39
4.3 ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ	39
4.3.1 ผลลักษณะทางกายภาพของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ	40
4.3.2 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR	40
4.3.3 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC	41
4.3 ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 คอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วย วิธีการต่าง ๆ ร่วมกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์	42
4.3.2 โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันร่วมกับเซลล์คอนโดร ไซต์	43
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	45
5.1 สรุปผลการวิจัย	45
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก	51
ภาคผนวก ก เอกสารประกอบสารเคมี	52
ภาคผนวก ข ผลการทดลองเพิ่มเติม	58
ประวัติผู้วิจัย	61

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงองค์ประกอบของวิศวกรรมเนื้อเยื่อซึ่งประกอบด้วย เซลล์ โครงเลี้ยง เซลล์ และ โกรทแฟกเตอร์	7
2.2	แสดงแนวทางการศึกษาและวิจัยทางวัสดุชีวภาพ	9
2.3	แสดงลำดับขั้นตอนของการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ	10
2.4	กระบวนการเปลี่ยนจาก DMA เป็น ODMA	11
2.5	กระบวนการเปลี่ยนจากคอลลาเจนเป็นคอลลาเจนไฮโดรไลเซต	12
2.6	แสดงโครงสร้างทางเคมีของ PEGDMA	13
2.7	แสดงการเชื่อมขวางด้วยแสงของพอลิเมอร์	14
2.8	แสดงเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลท์โปรเซสซิง (Digital Light Processing (DLP)-Based Printing) ยี่ห้อ Phrozen รุ่น Sonic Mighty 12K ที่ใช้ในงานวิจัยนี้	15
2.9	แสดงไดอะแกรมของวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อแบบต่าง ๆ	17
3.1	แสดงกระบวนการสังเคราะห์และสกัด DMA	22
3.2	แสดงกระบวนการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR	23
3.3	แสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR	23
3.4	แสดงกระบวนการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค DSC	24
3.5	แสดงกระบวนการเปลี่ยน DMA เป็น ODMA	24
3.6	แสดงการพิมพ์ขึ้นรูปของ ODMA/PEGDMA ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลท์โปรเซสซิง	25
3.7	แสดงกระบวนการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM	26
3.8	แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์	27
3.9	แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้า	27
3.10	แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีแกมมา	28

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.11	แสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR	28
3.12	แสดงกระบวนการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC	29
3.13	แสดงกระบวนการทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ร่วมกับคอลลาเจนไฮโดรไลเซต	32
3.14	แสดงกระบวนการทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโดโรไซต์ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์	33
4.1	แสดงภาพของ DMA ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น	34
4.2	แสดงผลของการใช้เทคนิค NMR ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA	35
4.3	แสดงผลของการใช้เทคนิค FTIR เพื่อตรวจสอบตรวจสอบโครงสร้างของ DMA	36
4.4	แสดงผลเทอร์โมแกรมจากตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC	37
4.5	แสดงเรซิน PEGDMA ที่มีความเข้มข้นของ ODMA ที่ 10% 5% 2.5% 1.25% และ 0.625 % (w/v) ตามลำดับ	38
4.6	แสดงผลความสามารถในการขึ้นรูปของเรซิน ODMA/PEGDMA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	38
4.7	แสดงผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย SEM	39
4.8	แสดงผลลักษณะทางกายภาพของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ	40
4.9	แสดงผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH ก่อนและหลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยที่แกน X เป็นเลขคลื่น (cm-1) และแกน Y เป็น %Transmittance (%T)	41

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.10	แสดงผลเทอร์โมแกรมจากการใช้เทคนิค DSC ตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตก่อนและหลังทำหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ	42
4.11	แสดงผลกราฟแท่งผลค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง	43
4.12	แสดงภาพถ่ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เรืองแสงจากการย้อมสารเรืองแสงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง	43
4.13	แสดงผลกราฟแท่งผลค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโดโรไซต์ที่ระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	44
4.14	แสดงภาพถ่ายของเซลล์คอนโดโรไซต์ที่เรืองแสงจากการย้อมสารเรืองแสงที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การฟื้นฟูกระดูกอ่อน (Cartilage Regeneration) เป็นสิ่งสำคัญของเวชศาสตร์ออร์โธปิดิกส์ (Orthopedic) ซึ่งมีที่มาจากความต้องการในการจัดการความเสียหายของกระดูกอ่อนอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากกระดูกอ่อนไม่มีเส้นเลือด เส้นประสาท และระบบน้ำเหลืองทำให้ไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อได้รับความเสียหาย (Sophia Fox, Bedi, & Rodeo, 2009) ซึ่งตรงกันข้ามกับเนื้อเยื่ออื่น ๆ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการปวดเรื้อรังและปัญหาการเคลื่อนไหว (Sophia Fox et al., 2009) ความเสียหายที่เกิดขึ้นมักมีสาเหตุมาจากสถานะต่าง ๆ เช่น โรคข้อเข่าเสื่อม การบาดเจ็บจากอุบัติเหตุ หรือการสึกหรอตามอายุ โดยวิธีการรักษาแบบดั้งเดิมมักเกี่ยวข้องกับการจัดการความเจ็บปวดหรือการทำอาร์throplast เพื่อเปลี่ยนข้อเทียม (Arthroplasty) (Putti, 1921) ซึ่งแตกต่างจากเทคนิคการฟื้นฟูกระดูกอ่อนที่มีจุดมุ่งหมายเพื่อฟื้นฟูการทำงานตามธรรมชาติของข้อต่อโดยการปลูกถ่ายหรือซ่อมแซมกระดูกอ่อนที่เสียหาย ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีกระบวนการพัฒนาการรักษาแบบต่าง ๆ ขึ้นมาเช่น การปลูกถ่ายกระดูกอ่อนจากผู้อื่น (Allograft) (Bugbee, Pallante-Kichura, Görtz, Amiel, & Sah, 2016) การปลูกถ่ายกระดูกอ่อนจากตนเอง (Autograft) (Redondo, Beer, & Yanke, 2018) การทำไมโครแฟรคเจอร์ (Microfracture) (Mithoefer, McAdams, Williams, Kreuz, & Mandelbaum, 2009) การปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนจากตนเอง (Autologous Chondrocyte Implantation; ACI) (Davies & Kuiper, 2019) และการปลูกถ่ายกระดูกอ่อนจากตนเองบนเมทริกซ์ช่วยเหลือ (Matrix-associated Autologous Chondrocyte Implantation; MACI) (Kon, Filardo, Di Matteo, Perdisa, & Marcacci, 2013) อย่างไรก็ตามเทคนิคการรักษากระดูกอ่อนในอดีตที่กล่าวมานั้นมีการรุกรานของการผ่าตัดที่มาก ใช้ระยะเวลาที่ค่อนข้างนาน และบริเวณที่บาดเจ็บไม่สามารถทนต่อแรงที่มากระทำในระหว่างกระบวนการรักษาทำให้ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บซ้ำเพิ่มเติมหรือเรื้อรังได้ ดังนั้นวิศวกรรมเนื้อเยื่อจึงถูกนำมาใช้เพื่อสร้างโครงสร้างเซลล์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการฟื้นฟูกระดูกอ่อน

วิทยานิพนธ์นี้ใช้โอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลต (Oligomer Dopamine Methacrylate; ODMA) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ช่วยส่งเสริมการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ และใช้พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต (Polyethylene Glycol Dimethacrylate; PEGDMA) ช่วยส่งเสริมความแข็งแรงของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยการใช้สารทั้งสองนี้เป็นเรซินสามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคการพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิง (Digital Light Processing; DLP) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวสามารถที่จะผลิตโครงเลี้ยงเซลล์เพื่อใช้งานแบบจำเพาะบุคคลได้ด้วยการสแกนลักษณะของบริเวณที่บาดเจ็บแล้วนำมาสร้างแบบจำลองก่อนการพิมพ์ขึ้นรูปขึ้นงาน เมื่อสามารถพิมพ์ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุทั้งสองชนิดได้แล้วจึงนำมาผสมกับคอลลาเจนไฮโดรไลเซต (Collagen Hydrolysate; CH) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compound) และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) เพื่อสร้างเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีเสถียรภาพที่สามารถรองรับการยึดเกาะและการเจริญของเซลล์กระดูกอ่อน มีความแข็งแรงเชิงกลที่สามารถทนต่อความเค้นและความเครียดที่เกิดขึ้นบริเวณที่เสียหาย ซึ่งเป็นการพัฒนาแนวทางการรักษาแบบใหม่ด้วยการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีคุณสมบัติที่ดีขึ้นและสามารถใช้เป็นวัสดุรองรับสำหรับการฟื้นฟูเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน ในท้ายที่สุดคาดว่าวิทยานิพนธ์นี้น่าจะมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้หลักการของวิศวกรรมเนื้อเยื่อและเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่ต้องการฟื้นฟูเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

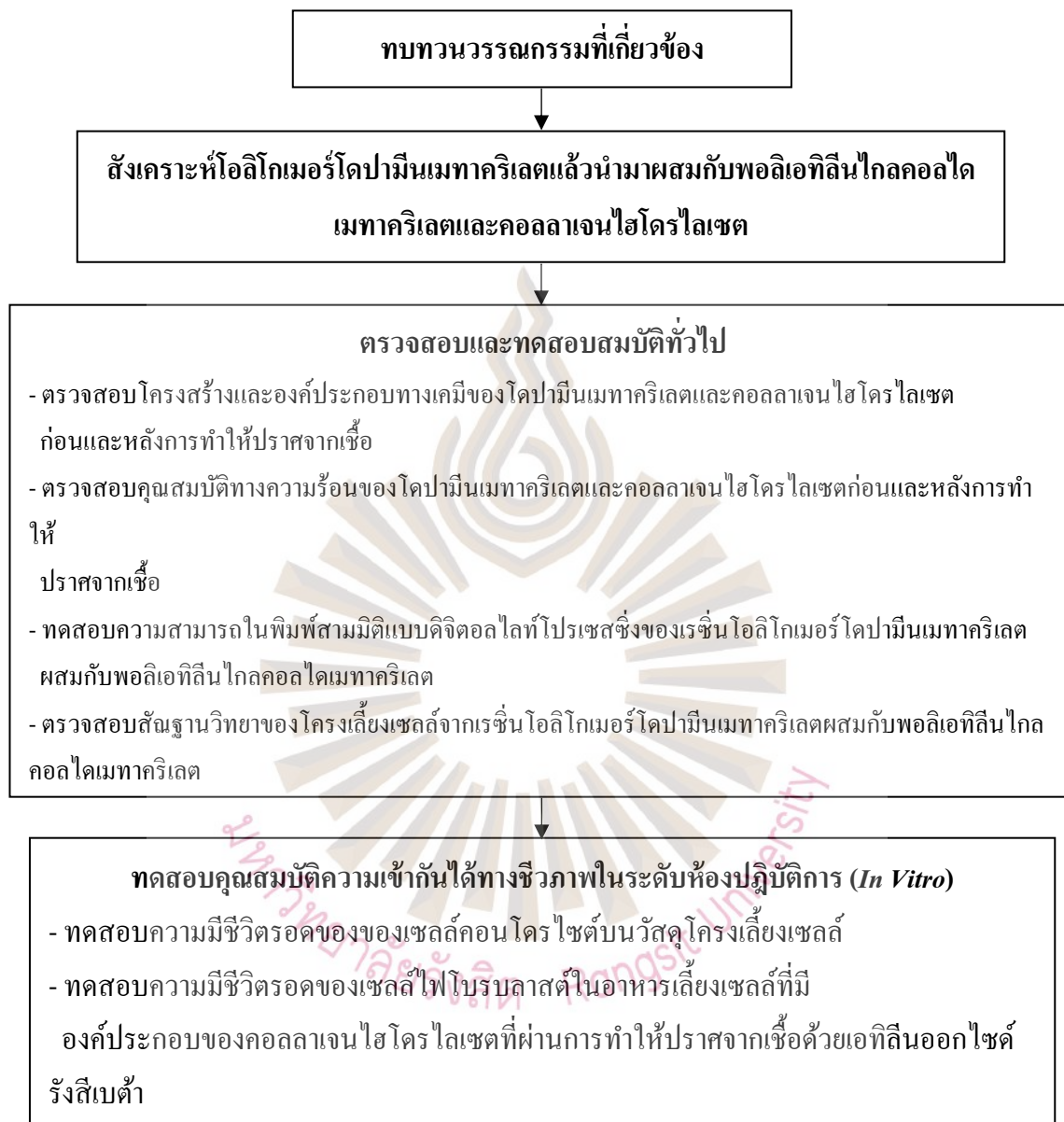
- 1) เพื่อสังเคราะห์โดปามีนเมทาคริเลตสำหรับประยุกต์ใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกอ่อน
- 2) เพื่อตรวจสอบและทดสอบคุณสมบัติของโดปามีนเมทาคริเลต โอลิโกเมอร์โดปามีน-เมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต และคอลลาเจนไฮโดรไลเซต
- 3) เพื่อผลิตเรซินโอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตเพื่อใช้งานร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิง
- 4) เพื่อศึกษาและทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (In Vitro) ของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์รังสีเบต้า และรังสีแกมมาพร้อมกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์
- 5) เพื่อศึกษาและทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (In Vitro) ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตจากเรซินโอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอล-ไดเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตร่วมกับเซลล์คอนไดรโรไซต์

1.3 สมมติฐานการวิจัย

- 1) สามารถสังเคราะห์โคปามีนเมทาคริเลตเพื่อเป็นองค์ประกอบของโครงเลี้ยงเซลล์ได้
- 2) เรซินโอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตสามารถนำมาใช้ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซึ่งได้
- 3) การทำให้ปราศจากเชื้อคอลลาเจนไฮโดรไลเซตด้วยเอทิลีนออกไซด์ รังสีเบต้า และรังสีแกมมา ไม่ทำให้วัสดุเสียสภาพและมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)
- 4) โครงเลี้ยงเซลล์ที่ถูกผลิตขึ้นจากโอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลตที่ผสมกับคอลลาเจนไฮโดรไลเซตมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์คอนโดโรไซต์ในการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)



1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย



1.5 นิยามศัพท์

โครงเลี้ยงเซลล์ (Scaffold) เป็นโครงร่างที่ออกแบบมาเพื่อรองรับการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ โดยเลียนแบบเมทริกซ์นอกเซลล์ซึ่งมีสภาพแวดล้อมแบบสามมิติที่เซลล์สามารถขยายจำนวนและสร้างเนื้อเยื่อใหม่ได้ ซึ่งจำเป็นสำหรับเวชศาสตร์ฟื้นฟูและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ

โอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลต (Oligomer Dopamine Methacrylate; ODMA) เป็นโมเลกุลสังเคราะห์ที่เป็นการรวมโดปามีน (Dopamine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทกับเมทาคริเลต (Methacrylate) ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ที่เป็นหน่วยที่เล็กของโดปามีนเมทาคริเลต (Dopamine Methacrylate; DMA) โดยใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติการยึดเกาะของโดปามีน และศักยภาพในการพอลิเมอไรเซชัน (Polymerization) ของเมทาคริเลตเพื่อวัตถุประสงค์ด้านวิศวกรรมชีวการแพทย์

พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต (Polyethylene Glycol Dimethacrylate; PEGDMA) เป็นสารเชื่อมขวางที่เป็นการรวมพอลิเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene Glycol; PEG) กับหมู่เมทาคริเลตซึ่งใช้ในเคมีพอลิเมอร์เพื่อสร้างไฮโดรเจลที่มีคุณสมบัติเชิงกลที่ปรับได้ ซึ่งมักใช้ในสาขาชีวการแพทย์สำหรับการส่งยาและวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

คอลลาเจนไฮโดรไลเสต (Collagen Hydrolysate; CH) เป็นคอลลาเจนที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลง ทำให้สามารถย่อยและดูดซึมได้ง่าย ใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลิตภัณฑ์ดูแลผิวเพื่อประโยชน์ที่เป็นไปได้ในการปรับปรุงสุขภาพข้อต่อ ความยืดหยุ่นของผิวหนัง และสุขภาพโดยรวมเนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นสูง

เครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิง (Digital Light Processing; DLP 3D-Printer) เป็นเครื่องพิมพ์สามมิติประเภทหนึ่งที่ใช้เทคโนโลยีดิจิตอลไลท์โปรเซสซิงเพื่อฉายแสงเรซินโฟโตพอลิเมอร์ โดยจะเลือกฉายแสงตำแหน่งที่กำหนดในเรซินเพื่อเชื่อมขวางซึ่งทำให้เรซินแข็งตัวทีละชั้นเพื่อสร้างชิ้นงานสามมิติที่มีรายละเอียดสูงและแม่นยำ

เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast Cell) เป็นเซลล์ที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการซ่อมแซมและการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ พวกมันผลิตคอลลาเจนและเป็นส่วนประกอบเมทริกซ์ภายนอกเซลล์อื่น ๆ ซึ่งให้การสนับสนุนโครงสร้างและมีบทบาทสำคัญในการรักษาบาดแผล ไฟโบรบลาสต์สามารถเปลี่ยนแปลงสภาพเป็นเซลล์จำเพาะประเภทต่าง ๆ เพื่อตอบสนองต่อการบาดเจ็บ

เซลล์คอนโดโรไซต์ (Chondrocyte Cell) เป็นเซลล์จำเพาะที่พบในกระดูกอ่อน ซึ่งมีหน้าที่ในการรักษาสุขภาพของเมทริกซ์กระดูกอ่อน พวกมันผลิตและควบคุมเมทริกซ์นอกเซลล์ รวมถึงคอลลาเจนและโปรตีโอไกลแคน (Proteoglycans) ซึ่งจำเป็นต่อโครงสร้างและการทำงานของกระดูกอ่อน อีกทั้งยังมีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนไหวน้ำของข้อต่อ

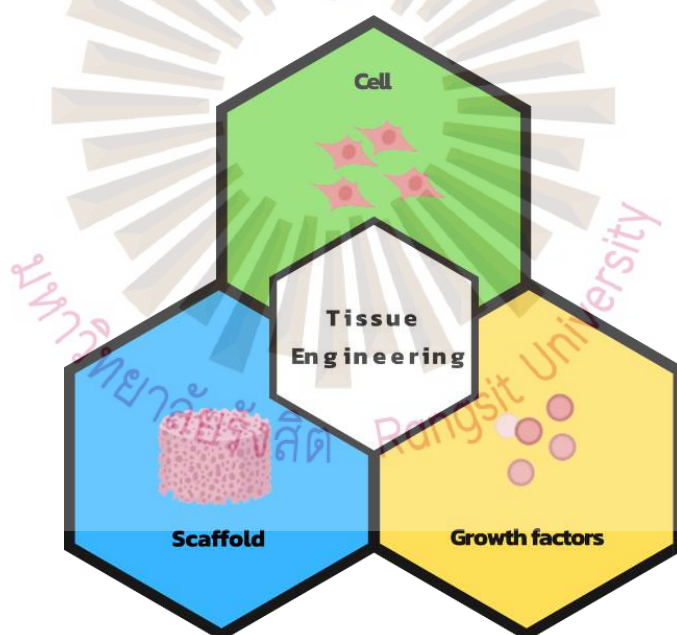
บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 วิศวกรรมเนื้อเยื่อ

สาขาวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineering) เป็นการบูรณาการของสหสาขาวิชาทั้ง วิศวกรรมศาสตร์ การแพทย์ และชีววิทยา โดยการพัฒนาเนื้อเยื่อหรืออวัยวะเทียมที่มีชีวิตเพื่อฟื้นฟู หรือทดแทนเนื้อเยื่อและอวัยวะที่สูญเสียฟังก์ชันการทำงานเป็นเป้าหมายหลักของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยโครงสร้างทางชีววิทยาสามมิติจะถูกสร้างขึ้น วิศวกรรมเนื้อเยื่อมีศักยภาพในการเปลี่ยนแปลง วิธีการรักษาผู้ป่วยได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งวิธีการรักษาแบบดั้งเดิม เช่น การปลูกถ่ายอวัยวะเทียมหรือ การปลูกถ่ายอวัยวะ นั้นไม่เพียงพอ แนวคิดที่ว่าสามารถสร้างเนื้อเยื่อใหม่ได้โดยใช้เซลล์ ที่มีชีวิต เป็นหัวใจสำคัญของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยแหล่งที่มาของเซลล์นั้นมีดังนี้ เซลล์จากผู้อื่น (Allogeneic cells) เซลล์จากร่างกายของผู้ป่วยเอง (Autologous cells) หรือเซลล์จากสัตว์ (Xenogeneic cells) ลักษณะการทำงานของเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นนั้นถูกกำหนดโดยเซลล์ที่ใช้ ดังนั้นการคัดเลือกจึงเป็นสิ่ง สำคัญ หลังจากนั้นเซลล์เหล่านี้มักเติบโตในสภาวะควบคุมเพื่อให้สามารถเพิ่มจำนวนและพัฒนา เป็นเนื้อเยื่อที่ต้องการได้ องค์ประกอบที่สำคัญของวิศวกรรมเนื้อเยื่ออีกประการหนึ่งนั่นคือโครง เลียงเซลล์ ซึ่งเป็น โครงร่างสามมิติที่มีความสามารถในการเป็นเมทริกซ์ชั่วคราวที่เซลล์สามารถยึด เกาะ เพิ่มจำนวน และจัดเรียงตัวเพื่อสร้างเนื้อเยื่อ เมทริกซ์นอกเซลล์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเนื้อเยื่อ ถูกเลียนแบบโดยโครงเลี้ยงเซลล์ซึ่งให้การสนับสนุนและสัญญาณทางชีวเคมีที่จำเป็นสำหรับการ เจริญของเซลล์ โดยปกติแล้วจะประกอบด้วยวัสดุที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพและมีความเข้ากันได้ทาง ชีวภาพ ซึ่งจะย่อยสลายในที่สุดเมื่อเนื้อเยื่อใหม่เจริญและรวมเข้ากับร่างกาย การใช้โกรทแฟกเตอร์ (Growth factors) และสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ (Bioactive compounds) ในงาน วิศวกรรมเนื้อเยื่อเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอีกประการหนึ่ง สารประกอบเหล่านี้มีบทบาทสำคัญใน การควบคุมการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสภาพ (Differentiation) ไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่มี ความจำเพาะ และการเจริญเติบโตเต็มที่ของเซลล์ (Cell maturation) ซึ่งช่วยในการประสาน กระบวนการที่ซับซ้อนของการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ เพื่อให้แน่ใจว่าเนื้อเยื่อที่ออกแบบมี คุณสมบัติและความสามารถที่เหมาะสม นอกจากนี้อาจใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactors) ซึ่งเป็นอุปกรณ์พิเศษที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่มีการควบคุมสำหรับการเจริญเติบโตและพัฒนา

ฟังก์ชันการทำงานของเนื้อเยื่อก็มีความสำคัญต่อวิศวกรรมเนื้อเยื่อเช่นกัน การก่อตัวของเนื้อเยื่อทำงานขึ้นอยู่กับการรักษาสภาพแวดล้อมในอุดมคติ รวมถึงอุณหภูมิ สารอาหาร และความเครียดเชิงกล ซึ่งทั้งหมดนี้เกิดจากเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ พวกมันมีความสำคัญอย่างยิ่งในการเพิ่มการสร้างเนื้อเยื่อคัดแปลง การปรับปรุงประสิทธิภาพและเพิ่มความสามารถในการทำซ้ำ วิศวกรรมเนื้อเยื่อมีการใช้งานที่หลากหลาย ตั้งแต่การฟื้นฟูอวัยวะที่มีความซับซ้อน เช่น ตับหรือหัวใจ ไปจนถึงการปลูกถ่ายผิวหนังสำหรับผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บขนาดใหญ่ ผู้ป่วยที่ต้องการการปลูกถ่ายอวัยวะไม่เพียงแต่มีความหวังในการได้รับการรักษาด้วยวิธีการใหม่ ๆ แต่ยังสามารถสร้างแบบจำลองเนื้อเยื่อเพื่อการทดสอบยาเพื่อศึกษาวิจัยก่อนนำไปใช้จริง โดยสรุปวิศวกรรมเนื้อเยื่อนั้นสามารถเป็นวิธีการรักษาที่มีความจำเพาะต่อบุคคล (Personalized medicine) และมีประสิทธิภาพในการนำมาใช้งานในทางคลินิก (Lanza, Langer, Vacanti, & Atala, 2020) จากรูปที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

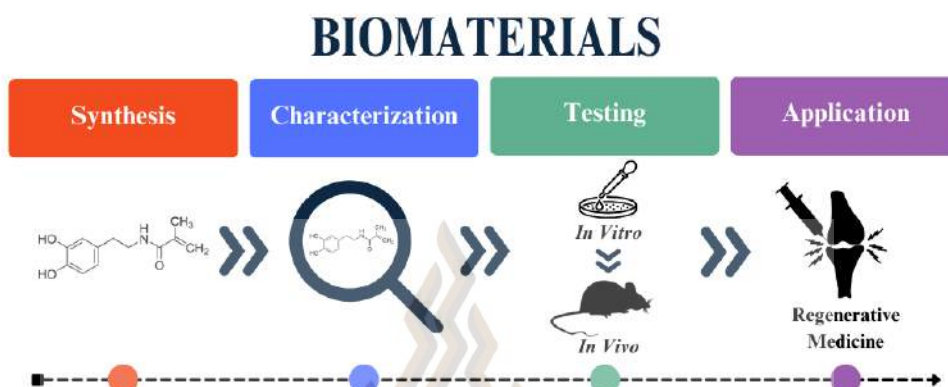


รูปที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ
ซึ่งประกอบด้วย เซลล์ โครงเลี้ยงเซลล์ และโกรทแฟกเตอร์
ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.2 วัสดุชีวภาพ

วัสดุชีวภาพ (Biomaterial) เป็นการบูรณาการของสหสาขาทั้ง ชีววิทยา เคมี การแพทย์ และวัสดุศาสตร์เข้าด้วยกัน เพื่อสร้างวัสดุที่สามารถมีอันตรกิริยากับเนื้อเยื่อของมนุษย์ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพถือเป็นหัวใจสำคัญของสาขานี้และมีความสำคัญต่อความก้าวหน้าของการแพทย์ วัสดุชีวภาพเหล่านี้กำลังเปลี่ยนแปลงวิธีการรักษาผู้ป่วยด้วยการนำไปใช้ในการใช้งานที่หลากหลาย เช่น ระบบการนำส่งยา การรักษาเนื้อเยื่อ และการปลูกถ่ายทางการแพทย์ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพหรือความสามารถของวัสดุในการทำงานกับอันตรกิริยาของโฮสต์ (Host) ที่เพียงพอในการนำมาใช้งานโดยเฉพาะ ถือเป็นข้อพิจารณาหลักในการสร้างและคัดเลือกวัสดุชีวภาพ คุณภาพนี้จำเป็นต่อการรับประกันว่าวัสดุเหล่านี้จะไม่ก่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ไม่พึงประสงค์เมื่อปลูกฝังในร่างกายมนุษย์ วัสดุชีวภาพสามารถผลิตได้โดยใช้วัสดุที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน เจลาติน อัลจิเนต และกรดไฮยาลูโรนิก ทั้งหมดนี้มักถูกนำมาใช้เพื่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้น เช่น คอลลาเจนเมทาคริเลต เจลาตินเมทาคริเลต พอลิเอทิลีน ไกลคอลไโดเมทาคริเลต และโพลิโกเมอร์โศปามีนเมทาคริเลต ทั้งหมดนี้มักถูกนำมาใช้เนื่องจากความทนทานและคุณสมบัติที่ปรับเปลี่ยนได้ การออกแบบวัสดุเหล่านี้เพื่อเลียนแบบสภาพแวดล้อมดั้งเดิมของเนื้อเยื่อถือเป็นองค์ประกอบสำคัญของการวิจัยวัสดุชีวภาพ สิ่งนี้เกี่ยวข้องกับโครงร่างเซลล์ ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เนื่องจากช่วยในการสนับสนุนโครงร่างแก่เซลล์ที่จำเป็นในการเพิ่มจำนวนและจัดเรียงตัว เนื้อเยื่อใหม่ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายแบบค่อยเป็นค่อยไปของโครงร่างเซลล์นี้และรวมเข้ากับร่างกายในที่สุด นั้นมีจุดมุ่งหมายเพื่อรับประกันว่าเนื้อเยื่อธรรมชาติจะค่อย ๆ เข้ามาแทนที่วัสดุโครงร่างเซลล์ ปัญหาคือการออกแบบอัตราการย่อยสลายให้สอดคล้องกับกระบวนการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ นอกเหนือจากการให้การสนับสนุนด้านโครงร่าง วัสดุชีวภาพสามารถนำมาใช้ในระบบนำส่งยา โดยการกำหนดเป้าหมายไปที่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายด้วยวัสดุที่สามารถนำส่งและปลดปล่อยยา รักษาในอัตราที่ ได้รับการควบคุมเมื่อรักษาโรคเรื้อรัง เช่น มะเร็งและโรคหัวใจ ซึ่งการปลดปล่อยยาที่แม่นยำสามารถช่วยในการรักษาผู้ป่วยได้เป็นอย่างมาก แนวทางที่มุ่งเน้นนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งความต้องการได้รับการรักษาพยาบาลที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพมากขึ้น สิ่งที่น่าสนใจประการหนึ่งคือการพัฒนาวัสดุชีวภาพอัจฉริยะ ซึ่งสามารถตอบสนองต่อสัญญาณทางชีวภาพและปรับเปลี่ยนพฤติกรรมได้ตามสภาวะนั้น ๆ วัสดุเหล่านี้สามารถใช้เพื่อพัฒนาวิธีการรักษาทางการแพทย์ที่มีการตอบสนองและปรับเปลี่ยนได้มากขึ้น ซึ่งยังช่วยเพิ่มขีดความสามารถของการรักษาทางการแพทย์ได้เป็นอย่างมาก และทำให้มีความเข้าใจมากยิ่งขึ้นเกี่ยวกับอันตรกิริยาระหว่างเนื้อเยื่อและวัสดุชีวภาพ

ชนิดนั้น ๆ (Mitragotri & Lahann, 2009) จากรูปที่ 2.2 แสดงแนวทางการศึกษาและวิจัยทางวัสดุชีวภาพ



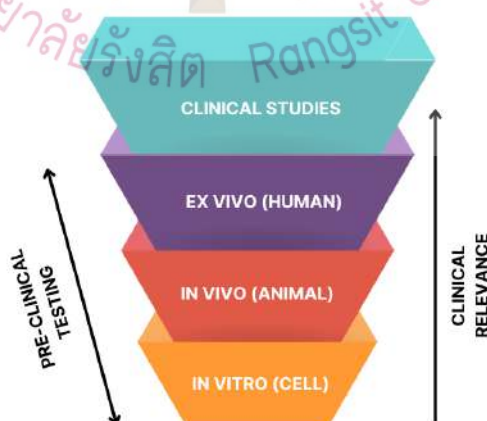
รูปที่ 2.2 แสดงแนวทางการศึกษาและวิจัยทางวัสดุชีวภาพ

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.3 การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) เป็นความสามารถของวัสดุในการเกิดอันตรกิริยากับโฮสต์สำหรับการใช้งานที่จำเพาะ และเป็นสมบัติที่สำคัญของวัสดุชีวภาพและการพัฒนาอุปกรณ์ทางการแพทย์ เพื่อให้แน่ใจว่าวัสดุเหล่านี้ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาเชิงลบใด ๆ เมื่อสัมผัสกับเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกายซึ่งเป็นเป้าหมายหลักของความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การประเมินความเข้ากันได้ทางชีวภาพมีความซับซ้อนและคำนึงถึงตัวแปรหลายประการ รวมถึงภูมิคุ้มกัน ความเป็นพิษ และโอกาสที่จะทำให้เกิดอาการแพ้หรือการอักเสบ วัสดุที่เข้ากันได้ทางชีวภาพไม่ควรเป็นพิษหรือกระตุ้นให้เกิดอันตรกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่อาจส่งผลให้เกิดการปฏิเสธ การปลูกถ่ายหรือปัญหาอื่น ๆ เนื่องจากวัสดุชีวภาพหลายชนิดถูกสร้างให้ค่อย ๆ สลายตัวในร่างกาย การประเมินนี้ไม่เพียงแต่ครอบคลุมเพียงตัววัสดุเท่านั้น แต่ยังรวมถึงผลพลอยได้ (By Product) ของวัสดุที่เกิดจากการสลายตัวด้วย ก่อนที่จะนำวัสดุใหม่มาใช้งานในทางการแพทย์ องค์กรกำกับดูแลมักจะกำหนดให้วัสดุนั้นผ่านกระบวนการที่เข้มงวดที่เรียกว่าการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การทดสอบเหล่านี้รวมถึงการวิจัยในสิ่งมีชีวิตโดยใช้แบบจำลองจากการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*) ร่วมกับเซลล์สิ่งมีชีวิตและในระดับสัตว์ทดลอง (*In Vivo*) การประเมินอันตรกิริยาของวัสดุกับเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลกระทบต่อภูมิคุ้มกันของเซลล์ การเพิ่มจำนวน

และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์เป็นจุดมุ่งหมายของการทดลองเหล่านี้ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพไม่ใช่เพียงแค่การที่วัสดุและร่างกายมีอันตรกิริยาเชิงบวกกันในระยะสั้นเพียงอย่างเดียว ความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระยะยาวเป็นสิ่งสำคัญมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการปลูกถ่ายที่ต้องอยู่ในร่างกายเป็นเวลานาน สภาพแวดล้อมของร่างกายอาจทำให้วัสดุเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลา เช่น การกัดกร่อนหรือการสึกหรอ ซึ่งอาจส่งผลเสียได้ ดังนั้นองค์ประกอบสำคัญของการวิจัยความเข้ากันได้ทางชีวภาพคือการค้นหาและรับประกันความเสถียรและความเข้ากันได้ในระยะยาว วัสดุชีวภาพชนิดใหม่ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดีขึ้นได้รับการพัฒนาอันเป็นผลมาจากการพัฒนาในด้านวัสดุศาสตร์และวิศวกรรมชีวภาพ ด้วยการเลียนแบบคุณลักษณะโดยธรรมชาติของเนื้อเยื่อชีวภาพ วัสดุเหล่านี้จึงลดโอกาสที่จะถูกปฏิเสธและเข้ากันกับเนื้อเยื่อของโฮสต์ ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลชนิดต่าง ๆ ที่ถูกนำมาใช้ร่วมกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นวัสดุที่แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติส่งเสริมความเข้ากันได้ทางชีวภาพสำหรับการใช้งานทางการแพทย์หลายประเภท โดยสรุปการพัฒนาอุปกรณ์ทางการแพทย์และวัสดุชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับความเข้ากันได้ทางชีวภาพรับประกันว่าวัสดุที่ใช้ทางการแพทย์มีความปลอดภัย ปลอดภัย และร่างกายดูดซึมได้ การศึกษาวิจัยทางด้านนี้ทำให้เกิดความก้าวหน้าอย่างมากในเทคโนโลยีทางการแพทย์ และช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Black, 2005) จากรูปที่ 2.3 แสดงลำดับขั้นของการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพซึ่งมี 4 ระดับ การทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ การทดสอบในระดับสัตว์ทดลอง การทดสอบในระดับเนื้อเยื่อภายนอกร่างกายของมนุษย์ การทดสอบในระดับคลินิก ตามลำดับ

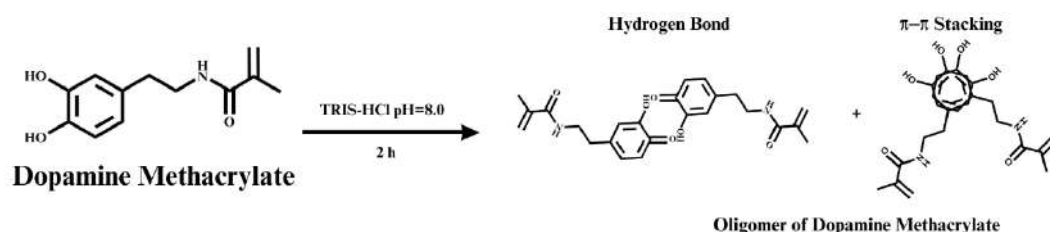


รูปที่ 2.3 แสดงลำดับขั้นของการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.4 โอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลต

โอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลต (Oligomer dopamine methacrylate; ODMA) เป็นการพัฒนาวัสดุชีวภาพที่สำคัญที่ผสมผสานคุณสมบัติการยึดเกาะของโดปามีนซึ่งได้มาจากโปรตีนที่มีความเหนียวของกาวหอยแมลงภู่เข้ากับความสามารถในการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติของเมทาคริเลต (Methacrylate) ผลิตภัณฑ์จากการสังเคราะห์นี้เป็นสารที่สามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อชีวภาพได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุอื่น ๆ คุณสมบัติดังกล่าวมีประโยชน์อย่างมากในการพัฒนาการยึดเกาะของการปลูกถ่ายวัสดุและอุปกรณ์ทางการแพทย์อื่น ๆ องค์ประกอบของโดปามีนใน ODMA จำลองกลไกการยึดเกาะตามธรรมชาติของหอยแมลงภู่ เนื่องจากสารนี้ช่วยให้หอยแมลงภู่ยึดเกาะได้ดีแม้ในสถานะที่เปียกชื้นและยังสามารถเคลื่อนไหวยได้ นอกจากนี้การกราฟต์กึ่งเมทาคริเลตบนโดปามีนยังช่วยให้การเกิดพอลิเมอร์เซชันสามารถควบคุมได้ ซึ่งช่วยในการออกแบบวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีลักษณะบางอย่างเช่น ความสามารถในการยึดเกาะของเซลล์ ความแข็งแรงเชิงกล ความยืดหยุ่น และความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังนั้น ODMA จึงเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การใช้ ODMA นั้นยังสามารถช่วยลดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และสามารถบรรจุสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือยาที่ใช้ในการรักษาโรคเข้ากันได้ยังสามารถช่วยในการนำส่งยาตามเป้าหมาย ณ ตำแหน่งที่ปลูกถ่าย ช่วยลดโอกาสการติดเชื้อและปัญหาหลังการผ่าตัด ด้วยเป้าหมายของการพัฒนาวัสดุชนิดนี้ที่ไม่เพียงตอบสนองความต้องการทางกายภาพและทางเคมีในการใช้งานทางการแพทย์เท่านั้น แต่ยังสามารถทำงานร่วมกับระบบชีวภาพของโฮสต์ได้ โดยสรุป ODMA เป็นความก้าวหน้าที่สำคัญของวัสดุทางการแพทย์เนื่องจากคุณสมบัติที่หลากหลายเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อและช่วยพัฒนาวิธีการรักษาผู้ป่วยให้ดียิ่งขึ้น (Gan et al., 2019) จากรูปที่ 2.4 แสดงกระบวนการเปลี่ยนจากโดปามีนเมทาคริเลตเป็นโอลิโกเมอร์โดปามีนเมทาคริเลต

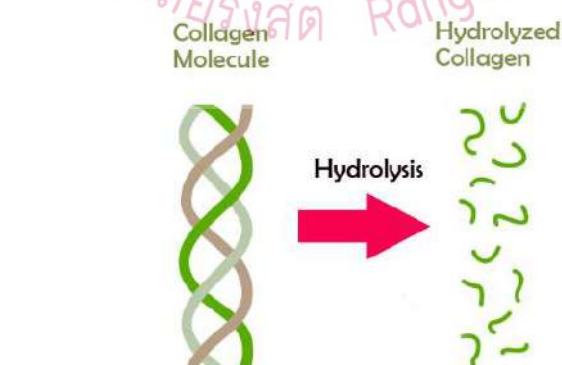


รูปที่ 2.4 กระบวนการเปลี่ยนจาก DMA เป็น ODMA

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.5 คอลลาเจนไฮโดรไลเซต

คอลลาเจนไฮโดรไลเซต (Collagen Hydrolysate; CH) เป็นสารที่มีรายงานว่าถูกนำมาใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เนื่องจากมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับเมทริกซ์นอกเซลล์ที่พบตามธรรมชาติในเนื้อเยื่อของมนุษย์ คอลลาเจนไฮโดรไลเซตเกิดขึ้นเมื่อคอลลาเจนถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysate) ทำให้ได้โครงสร้างเป็นเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กกว่าคอลลาเจนรูปแบบเดิมดังรูปที่ 2.5 จึงมีความสามารถในการละลายน้ำได้มากกว่าและร่างกายดูดซึมได้ง่ายกว่า คอลลาเจนไฮโดรไลเซตสามารถใช้เป็นวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อรองรับการยึดเกาะ การเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ การทำให้เซลล์อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงสภาวะจริงในเมทริกซ์นอกเซลล์จะเอื้ออำนวยทำให้ง่ายต่อการออกแบบโครงสร้างเนื้อเยื่อประเภทต่าง ๆ เช่น ผิวหนัง กระดูกอ่อน กระดูก และเนื้อเยื่อหลอดเลือด นอกจากนี้ คุณสมบัติโดยธรรมชาติของคอลลาเจนไฮโดรไลเซต เช่น ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradable) และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันที่ต่ำ (Low Immunity Response) ทำให้คอลลาเจนไฮโดรไลเซตเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการสร้างโครงสร้างที่นำไปปลูกถ่ายในร่างกายเนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไปวัสดุจะถูกร่างกายดูดซึมและถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อธรรมชาติที่สร้างขึ้นมาใหม่ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปรวมกับวัสดุชนิดอื่น ๆ สารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือโกรทแฟกเตอร์เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของโครงสร้างเนื้อเยื่อเพื่อใช้ในการรักษาฟื้นฟูเนื้อเยื่อให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (Moskowitz, 2000)



รูปที่ 2.5 กระบวนการเปลี่ยนจากคอลลาเจนเป็นคอลลาเจนไฮโดรไลเซต

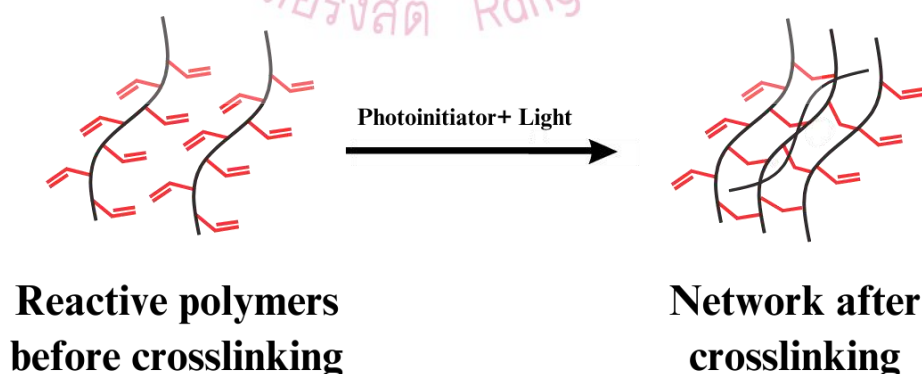
ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.6 พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต

พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต (Polyethylene Glycol Dimethacrylate; PEGDMA) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถเชื่อมขวางได้ที่ใช้กันทั่วไป ซึ่งได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจากความสามารถในการปรับปรุงคุณสมบัติและความเข้ากันได้ทางชีวภาพ จึงได้มีการนำมาใช้งานทางชีวการแพทย์ที่หลากหลาย PEGDMA เป็นอนุพันธ์ของพอลิเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene Glycol; PEG) โดยมีการต่อกิ่งหมู่ฟังก์ชันเมทาคริเลตในโครงสร้างซึ่งมีลักษณะดังรูปที่ 2.6 ในขณะที่ยังคงคุณลักษณะที่เป็นประโยชน์ของ PEG ไว้เช่น ความชอบน้ำ ไม่เป็นพิษ และความต้านทานต่อการดูดซับโปรตีน ไฮโดรเจลที่มีคุณสมบัติเชิงกลที่ปรับปรุงได้และอัตราการย่อยสลายทำได้โดยการควบคุมการเกิดโฟโตพอลิเมไรเซชัน (Photopolymerization) หรือการเริ่มต้นด้วยความร้อน (Thermal Initiation) เนื่องจากมีสมบัติที่คล้ายคลึงกับโปรตีน PEGDMA จึงเป็นส่วนเสริมที่สมบูรณ์แบบสำหรับการออกแบบไฮโดรเจลสำหรับการใช้งานด้านชีวการแพทย์ที่หลากหลาย รวมถึงการใช้เป็นวัสดุปิดแผล โครงสร้างสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งยาที่ผลิตจากไฮโดรเจลที่มี PEGDMA เป็นองค์ประกอบหลักสามารถห่อหุ้มและปลดปล่อยยาสำหรับการรักษาโรคในลักษณะที่ต้องควบคุมการนำส่งยาโดยมุ่งเป้าไปที่ตำแหน่งเป้าหมายของร่างกายและลดผลข้างเคียง ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ PEGDMA สามารถเป็นเมทริกซ์ที่เป็นมิตรต่อเซลล์ซึ่งให้การสนับสนุนและมีลักษณะคล้ายกับสภาพแวดล้อมภายนอกเซลล์ ซึ่งทั้งหมดนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการสร้างเนื้อเยื่อที่เสียหายขึ้นมาใหม่ นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงคุณสมบัติให้เหมาะสมสำหรับเนื้อเยื่อประเภทต่าง ๆ ตั้งแต่เนื้อเยื่ออ่อน เช่น กระดูกอ่อน ไปจนถึงเนื้อเยื่อที่แข็งแรงกว่า เช่น กระดูก เกิดขึ้นได้จากความสามารถในการปรับปรุงคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของไฮโดรเจล PEGDMA เช่น ขนาดรูพรุนและความแข็งแรงเชิงกล (Lin-Gibson, Jones, Washburn, & Horkay, 2005)

2.7 การเชื่อมขวางด้วยแสง

การเชื่อมขวางด้วยแสง (Photocrosslinking) เป็นเทคโนโลยีที่ซับซ้อนซึ่งมักใช้เพื่อกระตุ้นการเชื่อมขวางในพอลิเมอร์ผ่านการใช้แสง ซึ่งมักจะเป็นแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet; UV) หรือแสงที่มองเห็นได้ (Visible Light) โดยพอลิเมอร์หรือโอลิโกเมอร์ที่มีกลุ่มไวต่อแสง (Photoreactive Groups) ที่เมื่อสัมผัสกับความยาวคลื่นแสงบางช่วงจะก่อให้เกิดพันธะโควาเลนต์ (Covalent Bonds) ทำให้เกิดการสร้างโครงข่ายสามมิติภายในเมทริกซ์ของพอลิเมอร์ การเชื่อมขวางด้วยแสงมีข้อดีหลายประการเหนือเทคนิคการเชื่อมขวางทางเคมีแบบเดิม ๆ เช่น กระบวนการที่รวดเร็ว สามารถควบคุมได้ทั้งพื้นที่และระยะเวลา และไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงหรือเกิดความร้อนจากการทำปฏิกิริยา พอลิเมอร์ที่เชื่อมขวางด้วยแสงมีบทบาทสำคัญในวิศวกรรมชีวการแพทย์โดยการควบคุมคุณสมบัติเชิงกลและอัตราการย่อยสลายของวัสดุโครงข่ายเซลล์จากไฮโดรเจลอย่างแม่นยำซึ่งใช้สำหรับงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งยา นอกจากนี้การเชื่อมขวางด้วยแสงมีบทบาทสำคัญในการพัฒนาเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการพิมพ์สามมิติแบบช่วยด้วยแสง (Light-assisted 3D Printing) ทั้งแบบสเตอริโอลิโธกราฟี (Stereolithography; SLA) และแบบดิจิตอลไลต์โปรเซสซิง (Digital Light Processing; DLP) โดยที่ชั้นพอลิเมอร์จะถูกเลือกฉายแสงให้แข็งตัวทีละชั้นเพื่อสร้างชิ้นงานที่มีความซับซ้อนและมีความละเอียดสูง การใช้แสงเพื่อสร้างชิ้นงานที่ระดับจุลภาคช่วยสร้างโอกาสใหม่ในการพัฒนาอุปกรณ์และโครงร่างการเลียนแบบทางชีวภาพรวมถึงการใช้งานในอุตสาหกรรมต่าง ๆ (Lim et al., 2020) สามารถแสดงการเชื่อมขวางด้วยแสงของพอลิเมอร์ดังรูปที่ 2.7

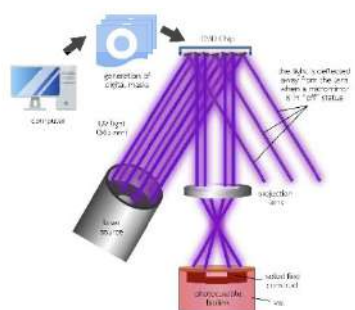


รูปที่ 2.7 แสดงการเชื่อมขวางด้วยแสงของพอลิเมอร์

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.8 การพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิง

การพิมพ์สามมิติแบบแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิง (Digital Light Processing; DLP) เป็นเทคนิคการพิมพ์สามมิติที่มีความแม่นยำสูงและมีประสิทธิภาพซึ่งใช้ในการพิมพ์ขึ้นรูปโฟโตพอลิเมอร์ที่ไวต่อแสงด้วยการใช้โปรเจกเตอร์และการฉายแสงที่ถูกควบคุม อ่างของโฟโตพอลิเมอร์ที่เป็นเรซินเหลวซึ่งจะถูกฉายแสงเพื่อเชื่อมขวางทำให้เกิดการแข็งตัวทีละชั้นด้วยการเอียงกระดานเล็กน้อยเพื่อบังคับแสงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพื้นผิวเรซิน ซึ่งช่วยเพิ่มความละเอียดในการพิมพ์ขึ้นงานเมื่อเทียบกับเทคนิคการพิมพ์ 3 มิติแบบอื่น ๆ เทคนิคการพิมพ์แบบ DLP มีข้อดีที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ มีความเร็วในการพิมพ์ที่สูงซึ่งต่างจากการพิมพ์แบบสเตอริโอลิโธกราฟี (Stereolithography; SLA) ที่วัสดุจะถูกฉายแสงทีละชั้น แต่การพิมพ์ DLP ชั้นทั้งหมดจะถูกฉายแสงพร้อมกัน นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการพิมพ์สามมิติอื่น ๆ เครื่องพิมพ์ DLP สามารถสร้างชิ้นงานที่มีรายละเอียดที่ดีกว่าและพื้นผิวที่เรียบเนียนกว่า อย่างไรก็ตามพารามิเตอร์ของผลลัพธ์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับคุณภาพของเรซินและความเข้มของแสง และโดยทั่วไปขนาดของชิ้นงานที่พิมพ์จะถูกจำกัดด้วยขนาดลำแสงของโปรเจกเตอร์ ปัจจุบันเทคโนโลยี DLP ยังคงพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เช่น มีการสร้างเรซินชนิดใหม่และพัฒนาเทคนิคการควบคุมแสงที่แม่นยำยิ่งขึ้น มีการนำการพิมพ์นี้ไปใช้ในทางทันตกรรมโดยการผลิตรากฟันเทียมและเครื่องมือจัดฟันแบบติดตั้งเฉพาะบุคคล ซึ่งพบว่ามีการผลิตชิ้นงานได้รวดเร็ว มีความแม่นยำ ตัวอย่างเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการพิมพ์แบบ DLP กลายเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์อย่างมากทั้งในทางการศึกษาและอุตสาหกรรม ซึ่งช่วยขับเคลื่อนความก้าวหน้าในด้านต่าง ๆ ที่ใช้การโครงสร้างสามมิติที่มีรายละเอียดสูง (Hornbeck, 1997) จากรูปที่ 2.8 แสดงการทำงานของเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิงที่ใช้ในงานวิจัยนี้



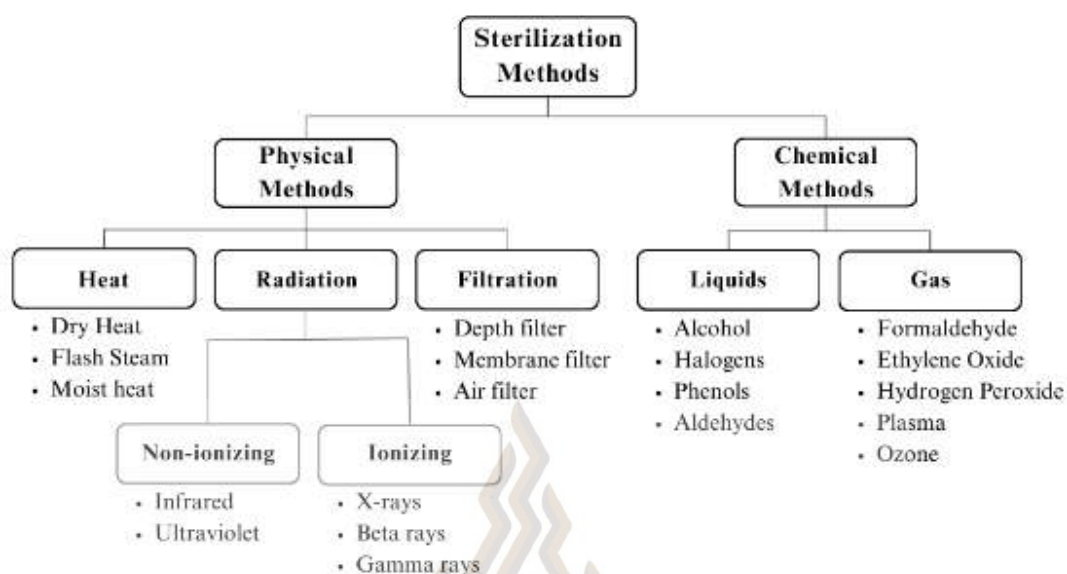
รูปที่ 2.8 แสดงการทำงานของเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซิง

(Digital Light Processing (DLP)-Based Printing)

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.9 การทำให้ปราศจากเชื้อ

การทำให้ปราศจากเชื้อ (Sterilization) เป็นการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ (Microorganisms) ทั้งหมด เช่น แบคทีเรีย (Bacteria) ไวรัส (Viruses) เชื้อรา (Fungus) และสปอร์ (Spore) ถือเป็นขั้นตอนสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร ทางเภสัช และการปฏิบัติการ มีเทคนิคการทำให้ปราศจากเชื้อหลายรูปแบบ ซึ่งแต่ละเทคนิคก็มีความเหมาะสมกับวัสดุและวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันไป โดยกลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ การทำลายโปรตีน (Protein Denaturation) และการทำลายด้วยการออกซิเดชัน (Oxidative Damage) เทคนิคการทำให้ปราศจากเชื้อที่นิยมได้แก่ การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclaving) หรือความร้อนแห้ง (Dry Heat) เป็นวิธีที่นิยม ซึ่งเหมาะสำหรับเครื่องแก้วและอุปกรณ์โลหะ สำหรับวัสดุที่ไวต่อความร้อนเช่น พลาสติกและวัสดุที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ จะใช้การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยสารเคมี เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) หรือเอทิลีนออกไซด์ (Ethylene Oxide) เนื่องจากอุณหภูมิสูงอาจทำให้วัสดุเหล่านี้เสียหาย อุปกรณ์ทางการแพทย์แบบใช้แล้วทิ้งอาจทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสี (Radiation Sterilization) ซึ่งใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet; UV) รังสีเบต้า (Beta Rays) หรือรังสีแกมมา (Gamma Rays) อีกวิธีหนึ่งที่สามารถกำจัดเชื้อโรคโดยไม่เปลี่ยนคุณภาพของผลิตภัณฑ์คือการกรองฆ่าเชื้อ (Filter) ซึ่งใช้ได้ผลดีกับของเหลวและก๊าซที่ไวต่อความร้อนเป็นพิเศษ โดยชนิดของจุลินทรีย์ การใช้งานตามลักษณะของวัสดุ และอันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการปนเปื้อน (Contamination) ส่วนมีอิทธิพลต่อการเลือกกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ ซึ่งถือเป็นสิ่งสำคัญในทางการแพทย์เพื่อให้แน่ใจว่าเครื่องมือผ่าตัด การปลูกถ่าย และอุปกรณ์อื่น ๆ ปราศจากจุลินทรีย์ นอกจากนี้การทำให้ปราศจากเชื้อในผลิตภัณฑ์อาหารยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์และรับประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ซึ่งป้องกันการเน่าเสียและการเจ็บป่วยจากอาหาร เพื่อรักษามาตรฐานของการทำให้ปราศจากเชื้อจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง และบางชนิดสามารถต้านทานต่อเทคโนโลยีการทำให้ปราศจากเชื้อบางอย่างได้ (Ansari & Datta, 2003)



รูปที่ 2.9 แสดงไดอะแกรมของวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อแบบต่าง ๆ

ที่มา: ผู้วิจัย, 2567

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยของ Donglin Gan และคณะในปี 2018 (Gan et al., 2019) ได้ทำการสังเคราะห์และศึกษาสมบัติของไฮโดรเจล ODMA ผสมกับเจลาตินเมทาคริเลต (Gelatin Methacrylate; GelMA) เพื่อประยุกต์ใช้ในการฟื้นฟูกระดูกอ่อนที่บริเวณข้อเข่าของกระต่าย โดยมีการยืนยันองค์ประกอบและโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยการใช้นิวเคลียสฟลูออโรอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี พบว่า ไฮโดรเจล ODMA ผสมกับเจลาตินเมทาคริเลตมีคุณสมบัติเชิงกลที่แข็งแรงมากโดยสามารถทนต่อแรงกดสูงสุดถึง 2.5 เมกะปาสคาล และทนต่อแรงดึงสูงสุดถึง 550 กิโลปาสคาล อีกทั้งวัสดุมีความจำรูปเมื่อแรงภายนอกกระทำจะมีการเปลี่ยนรูปและเมื่อแรงภายนอกหมดไปวัสดุจะคืนรูปเดิมได้ และสามารถประยุกต์ใช้เป็นโครงร่างกระดูกอ่อนได้อีกทั้งยังสามารถนำมาผสมกับคอนดรอยตินซัลเฟต (Chondroitin Sulfate; CS) หรือโกรทแฟกเตอร์เพื่อช่วยในการฟื้นฟูกระดูกอ่อนให้ดียิ่งขึ้น

จากงานวิจัยของ Xiong และคณะในปี 2013 (Xiong, Qu, & Yu-mei, 2013) ได้สังเคราะห์และศึกษาสมบัติของ DMA โดยมีการยืนยันองค์ประกอบและโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยการใช้นิวเคลียสฟลูออโรอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและนิวเคลียสแมกเนติกเรโซแนนซ์

ตรวจสอบคุณสมบัติความคงตัวทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก (Thermal Gravimetric Analysis; TGA) และเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลสแกนแคลอริมิเตอร์ (Differential Scanning Calorimetry; DSC) ตรวจสอบพื้นฐานวิทยาพื้นผิวของ DMA วิเคราะห์ผลึกโดยการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าการสังเคราะห์โมโนเมอร์ใหม่เสร็จสมบูรณ์และสารประกอบใหม่ยังคงรักษาหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (Hydroxyl; OH) พื้นฐานวิทยาของพื้นผิวและความคงตัวทางความร้อนของผลึก DMA สามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยปฏิกิริยาการต่อกิ่ง (Grafting Reaction)

จากงานวิจัยของ Monaco และคณะในปี 2017 (Monaco, Cholas, Salvatore, Madaghiele, & Sannino, 2017) ได้ศึกษาการตรวจสอบผลกระทบของวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ อบให้แห้งด้วยความร้อน (Dry Heat; DHS) เอทิลีนออกไซด์ (Ethylene Oxide; EtO) และฉายรังสีเบต้า (β) ว่ามีผลต่อคุณสมบัติของโครงสร้างเซลล์ที่ผลิตจากคอลลาเจนอย่างไร พบว่าเมื่อทำการทำให้ปราศจากเชื้อด้วย EtO ไม่ทำให้วัสดุสูญเสียคุณสมบัติเดิม และเซลล์สามารถเพิ่มจำนวนได้สูงที่สุดจากทั้ง 3 วิธี ดังนั้นการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำให้ปราศจากเชื้อสำหรับวัสดุนี้



บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.1.1.1 น้ำกลั่นบริสุทธิ์
- 3.1.1.2 บอแรกซ์
- 3.1.1.3 โซเดียมไบคาร์บอเนต
- 3.1.1.4 ก๊าซไนโตรเจน
- 3.1.1.5 โดปามีนไฮโดรคลอไรด์
- 3.1.1.6 เมทาคริลิกแอนไฮไดรด์
- 3.1.1.7 เตตระไฮโดรฟูแรน
- 3.1.1.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์
- 3.1.1.9 กรดไฮโดรคลอริก
- 3.1.1.10 เอทิลอะซิเตต
- 3.1.1.11 เฮกเซน
- 3.1.1.12 เมทานอลคิวเทอเรต
- 3.1.1.13 ทริส-ไฮโดรคลอริก
- 3.1.1.14 พอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต
- 3.1.1.15 LAP Photoinitiator
- 3.1.1.16 คอลลาเจนไฮโดรไลเซต
- 3.1.1.17 เอทิลีนออกไซด์
- 3.1.1.18 อะซิโตนไตรล์
- 3.1.1.19 กรดไทรฟลูออโรอะซิติก

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.1.2.1 เครื่องชั่งวิเคราะห์ 3 ตำแหน่ง
- 3.1.2.2 ปีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.1.2.3 ซ้อนตักสารสแตนเลส
- 3.1.2.4 ตู้ดูดไอสารเคมี
- 3.1.2.5 ขวดก้นกลม
- 3.1.2.6 แม่เหล็กกวนสาร
- 3.1.2.7 ท่อส่งก๊าซไนโตรเจน
- 3.1.2.8 เครื่องกวนแบบให้ความร้อน
- 3.1.2.9 เข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร
- 3.1.2.10 กรวยแยกสารขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.1.2.11 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.1.2.12 เครื่องระเหยสารแบบหมุน
- 3.1.2.13 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง
- 3.1.2.14 ตู้อบ
- 3.1.2.15 เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์
- 3.1.2.16 เครื่องฟูรีเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี
- 3.1.2.17 เครื่องดีฟเพอเรนเซียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์
- 3.1.2.18 หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
- 3.1.2.19 เครื่องผสมสารละลายสำหรับหลอดทดลอง
- 3.1.2.20 เครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิง
- 3.1.2.21 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ
- 3.1.2.22 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
- 3.1.2.23 ถังฆ่าเชื้อแบบปิดสนิท
- 3.1.2.24 เครื่องทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์
- 3.1.2.25 เครื่องฉายรังสีเบต้า
- 3.1.2.26 เครื่องฉายรังสีแกมมา
- 3.1.2.27 เอฟเพนดอร์ฟ
- 3.1.2.28 เครื่องล้างความถี่สูง

- 3.1.2.29 ตู้ปลอดเชื้อ
- 3.1.2.30 งานเพาะเชื้อพลาสติกปราศจากเชื้อ
- 3.1.2.31 ปิเปตแบบอัตโนมัติ
- 3.1.2.32 เครื่องปั่นเหวี่ยง
- 3.1.2.33 ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์
- 3.1.2.34 เครื่องอ่านไมโครเพลท
- 3.1.2.35 กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล

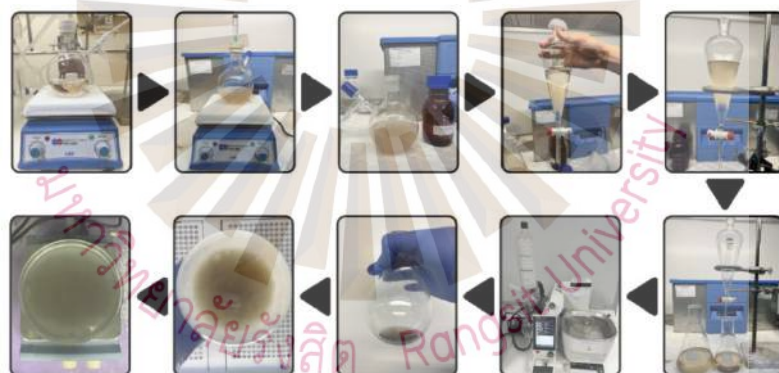
3.1.3 เซลล์ อาหารเลี้ยงเซลล์ และสารที่ใช้ในการทดสอบระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)

- 3.1.3.1 เซลล์ไฟโบรบลาสต์
- 3.1.3.2 เซลล์คอนโคโรไซด์
- 3.1.3.3 อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดกลูโคสสูง
- 3.1.3.4 ซีรัมวัวของทารกในครรภ์
- 3.1.3.5 เพนิซิลลิน-สเตربتอมัยซิน
- 3.1.3.6 แอล-กลูตามีน
- 3.1.3.7 ไนโตรเจนเหลว
- 3.1.3.8 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- 3.1.3.9 น้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์
- 3.1.3.10 ทริปซิน
- 3.1.3.11 ชุดทดสอบ MTT
- 3.1.3.12 ชุดทดสอบ PrestoBlue
- 3.1.3.13 ฟอรัมาลดีไฮด์
- 3.1.3.14 สีย้อมเซลล์ LIVE/DEAD

3.2 กระบวนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การสังเคราะห์ DMA

นำโดปามีนไฮโดรคลอไรด์ปริมาณ 10 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียม/โซเดียมไบคาร์บอเนตที่อัตราส่วน 5:2 โดยน้ำหนักในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 200 mL ภายใต้แก๊สไนโตรเจนหลังจากนั้นค่อยๆหยดสารละลายกรดเมทาคริลิกแอนไฮไดรด์เตตระไฮโดรฟูแรนที่อัตราส่วน 0.2 มิลลิตรต่อมิลลิตรปริมาตร 150 mL ลงด้านบนของสารละลายและตลอดการทำปฏิกิริยารักษาระดับค่า pH ให้สูงกว่า 8 ด้วยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ หลังทำปฏิกิริยาข้ามคืน โดปามีนเมทาคริเลต (Dopamine Methacrylate; DMA) จะตกตะกอนลงมาเมื่อ pH ของสารละลายผสมถูกลดลงต่ำกว่า 2 ด้วยการเติมกรดไฮโดรคลอริก จากนั้นโดปามีนเมทาคริเลต ถูกสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตและตกผลึกซ้ำด้วยเฮกเซนแล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dryer) สามารถแสดงกระบวนการสังเคราะห์ได้ดังรูปที่ 3.1

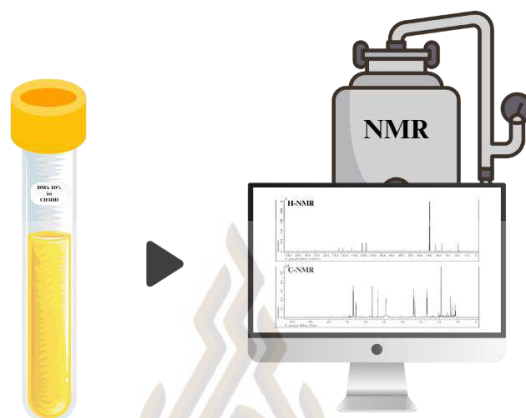


รูปที่ 3.1 แสดงกระบวนการสังเคราะห์และสกัด DMA

3.2.2 การตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR

ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR โดยใช้สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ เพื่อยืนยันโครงสร้างทางเคมีของสารตัวอย่าง โดยการนำโดปามีนเมทาคริเลตละลายในเมทานอลดีวเทอเรต (Deuterated Methanol) ที่ความเข้มข้น 10% น้ำหนักต่อปริมาตร (% w/v) ที่อุณหภูมิห้องจากนั้นทำไปตรวจสอบด้วยเครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สามารถ

แสดงกระบวนการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของโพลิเมทาคริเลตด้วยเทคนิค NMR ได้ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงกระบวนการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของโพลิเมทาคริเลตด้วยเทคนิค NMR

3.2.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR

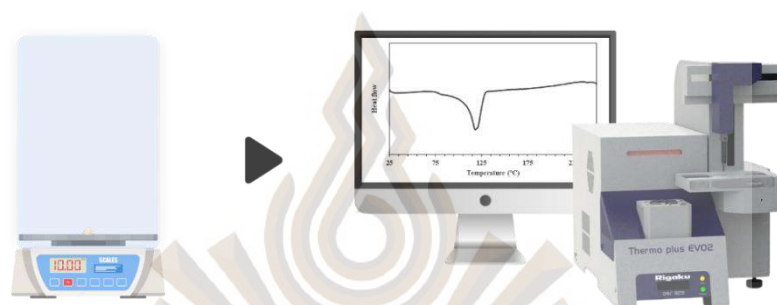
ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิคด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FTIR) โดยใช้ DMA ปริมาณ 10 มิลลิกรัมในการตรวจสอบด้วย FTIR โดยสเปกตรัมอินฟราเรดถูกบันทึกในช่วง 400-4,000 เซนติเมตร⁻¹ สามารถแสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR ได้ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR

3.2.4 การตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC

ตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค DSC จากเทอร์โมแกรม (Thermogram) ซึ่งได้จากเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งคาลอริมิเตอร์ โดยการทำการสแกนตั้งแต่ อุณหภูมิ 25 ถึง 250 องศาเซลเซียสที่อัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที สามารถแสดง กระบวนการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค DSC ได้ดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แสดงกระบวนการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค DSC

3.2.5 กระบวนการเตรียมเรซิน ODMA-PEGDMA

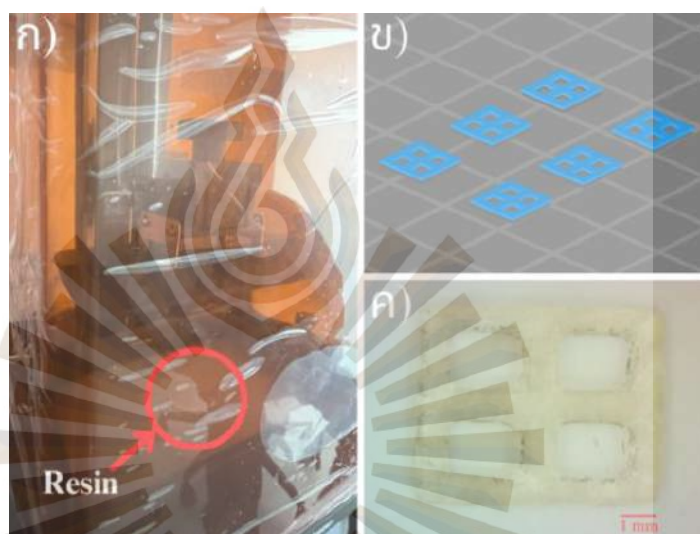
นำโคปามีนเมทาคริเลตละลายในทริส-ไฮโดรคลอริก (Tris – HCl) ที่มีค่า pH เท่ากับ 8 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นโคปามีนเมทาคริเลตจะกลายเป็นโอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลต (Oligomer DMA; ODMA) แล้วนำมาผสมกับ PEGDMA ที่ความเข้มข้น 0.625% 1.25% 2.5% 5% และ 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) สามารถแสดงกระบวนการเปลี่ยนโคปามีนเมทาคริเลตเป็นโอลิโกเมอร์โคปามีนเมทาคริเลตได้ดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 แสดงกระบวนการเปลี่ยน DMA เป็น ODMA

3.2.6 การทดสอบความสามารถในการพิมพ์ร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติ DLP

ทดสอบความสามารถในการพิมพ์ร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติ DLP ด้วยการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเรซิน ODMA/PEGDMA โดยมีความเข้มข้นของ ODMA ที่ 10% 5% 2.5% 1.25% และ 0.625 % (w/v) ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีลักษณะเป็นตารางสี่เหลี่ยมขนาด 6x6 มิลลิเมตรหนา 0.8 มิลลิเมตร โดยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิง



รูปที่ 3.6 แสดงการพิมพ์ขึ้นรูปของ ODMA/PEGDMA ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิตอลไลท์โปรเซสซิง

- ก) แสดงภาพขณะพิมพ์ขึ้นรูป โดยภายในวงกลมสีแดงนั้นเป็นเรซิน ODMA/PEGDMA
- ข) แสดงภาพโมเดลโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนการพิมพ์ในโปรแกรม CHITUBOX
- ค) แสดงภาพโครงเลี้ยงเซลล์หลังจากพิมพ์ขึ้นรูปสำเร็จ

3.2.7 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM

ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy; SEM) โดยการนำโครงเลี้ยงเซลล์ที่ขึ้นรูปด้วยเรซิน PEGDMA ผสมกับ ODMA ความเข้มข้นเท่ากับ 0.625% 1.25% 2.5% 5% และ 10% (w/v) มายึดกับสตัป (Stub) ที่ใช้สำหรับ SEM ด้วยเทปคาร์บอน (Carbon Tape) และใช้ที่เป่าลม (Blower) เป่าผงส่วนเกินออกเพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากนั้นจึงนำไปตรวจสอบสัณฐานวิทยาด้วย

SEM ที่แรงดันความเร่ง (Acceleration Voltage) 15 กิโลโวลต์ โดยใช้กำลังขยายที่ 70 และ 400 เท่า สามารถแสดงการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM ได้ดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 แสดงกระบวนการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของ
โครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM

3.2.8 การทำให้ CH ปราศจากเชื้อ

3.2.8.1 เอทิลีนออกไซด์

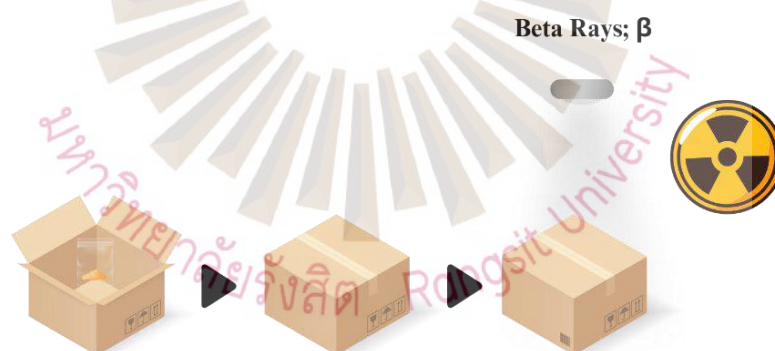
การทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยการใช้เอทิลีนออกไซด์ดำเนินการตามมาตรฐาน EN ISO 11135 นำ CH บรรจุในถุงฆ่าเชื้อแบบปิดสนิท การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ความเข้มข้น 700 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70% เป็นเวลา 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากนั้น CH จะถูกเติมอากาศด้วยกระแสลมอุ่นอุณหภูมิประมาณ 46 °C ที่ความดันบรรยากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเพื่อกำจัดเอทิลีนออกไซด์ที่เป็นพิษ สามารถแสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ได้ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์

3.2.8.2 รังสีเบต้า

การทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยการใช้รังสีเบต้าดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้ นำ CH บรรจุในซองใส่ยาแบบปิดสนิท จากนั้นบรรจุใส่กล่องทึบแบบปิดผนึกสนิทแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสีเบต้าที่ปริมาณรังสีต่ำสุด 17.5 กิโลเกรย์ สามารถแสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้าได้ดังรูปที่ 3.9

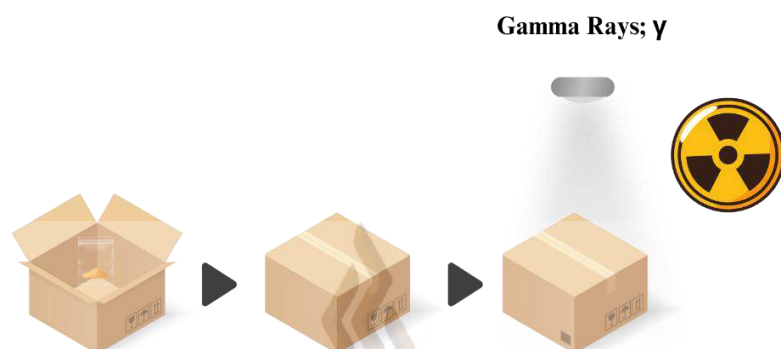


รูปที่ 3.9 แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้า

3.2.8.3 รังสีแกมมา

การทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยการใช้รังสีเบต้าดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้ นำ CH บรรจุในซองใส่ยาแบบปิดสนิท จากนั้นบรรจุใส่กล่องทึบแบบปิดผนึกสนิทแล้ว

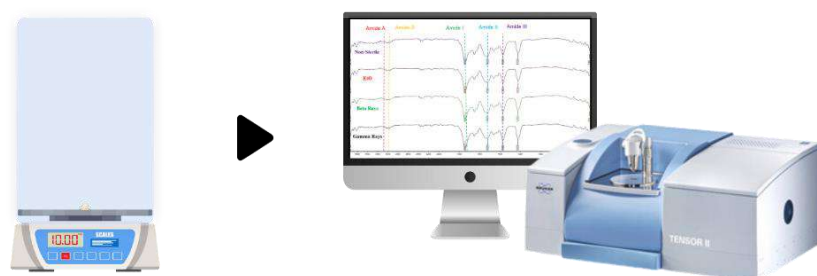
นำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่ำสุด 17.5 กิโลเกรย์ สามารถแสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีแกมมาได้ดังรูปที่ 3.10



รูปที่ 3.10 แสดงกระบวนการทำให้ CH ปราศจากเชื้อด้วยรังสีแกมมา

3.2.9 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR

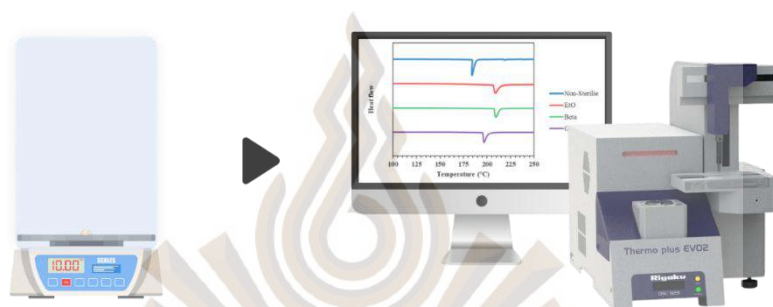
ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิคด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยใช้ CH ปริมาณ 10 มิลลิกรัมในการตรวจสอบด้วย FTIR โดยสเปกตรัมอินฟราเรดถูกบันทึกในช่วง $400-4,000$ เซนติเมตร⁻¹ แสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR ได้ดังรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.11 แสดงกระบวนการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR

3.2.10 การตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC

ตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค DSC จากเทอร์โมแกรม (Thermogram) ซึ่งได้จากเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งคาลอริมิเตอร์ โดยการทำการสแกนตั้งแต่อุณหภูมิ 25 ถึง 250 องศาเซลเซียสที่อัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที



รูปที่ 3.12 แสดงกระบวนการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC

3.2.11 การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)

วิทยานิพนธ์นี้มีการทดสอบ 2 แบบคือการใช้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ชนิดเซลล์ไลน์ L929 (Fibroblast Cell Line; L929) ทดสอบร่วมกับ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อและการใช้เซลล์คอนโทรลใช้ทดสอบร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน ซึ่งก่อนทำวิจัยได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน เอกสารเลขที่ MURA2022/469

3.2.11.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สำหรับการทดลอง (Cell Culture)

เตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์แบบสูตรสำเร็จ (Complete Medium) สำหรับใช้ตลอดการเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดกลูโคสสูงที่มีส่วนผสมของซีรั่ม ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เพนิซิลลิน-สเตรปโตมัยซิน 1 เปอร์เซ็นต์ และแอล-กลูตามีน 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงละลายเซลล์แช่แข็ง (Thawing Frozen Cell) โดยนำเซลล์ที่แช่แข็งไว้ในไนโตรเจนเหลวออกมาอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาประมาณ 1 นาที

จากนั้นนำเซลล์ที่ละลายแล้วไปชะล้างด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สูตรสำเร็จที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกไปจนเหลือแต่กลุ่มเซลล์ที่บริเวณด้านล่าง แล้วจึงผสมอาหารเลี้ยงเซลล์แบบสูตรสำเร็จกับเซลล์กระจายตัวเท่า ๆ กันในอาหารเลี้ยงเซลล์ จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์พลาสติกขนาด 60 x 60 มิลลิเมตร และเพาะเลี้ยงไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ โดยมีการควบคุมค่าของตัวแปรต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ ความชื้นที่ 95% ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5% และอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงจึงเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ และหลังจากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก ๆ 3 วันจนเซลล์แบ่งตัวจนมีความหนาแน่นจึงค่อยเพาะเลี้ยงขยายเซลล์ (Subculture) ซึ่งสามารถทำได้โดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออกแล้วล้างด้วยน้ำเกลือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาณ 5 มิลลิลิตรแล้วดูดออกหลังจากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำหมักทริปซินความเข้มข้น 0.25% ปริมาณ 1 มิลลิลิตร โดยบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์แบบสูตรสำเร็จลงไปในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ปริมาณ 4 มิลลิลิตร แล้วใช้ปิเปตแบบอัตโนมัติดูดขึ้นลงประมาณ 3 ถึง 4 ครั้งเพื่อให้เซลล์หลุดจากจานเพาะเลี้ยงเดิม จากนั้นดูดใส่หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกไปจนเหลือแต่กลุ่มเซลล์ที่บริเวณด้านล่าง แล้วใส่อาหารเลี้ยงเซลล์แบบสูตรสำเร็จลงไปในแอฟเฟนดอร์ฟ 1 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตแบบอัตโนมัติดูดขึ้นลงประมาณ 3 ถึง 4 ครั้งเพื่อให้เซลล์กระจายตัวเท่า ๆ กัน แล้วทำการนับจำนวนเซลล์เพื่อแบ่งนำไปเพาะเลี้ยงเป็นเซลล์รุ่นต่อไปเพื่อให้เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการทดลอง โดยขั้นตอนทั้งหมดกระทำภายใต้ภาวะปราศจากเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ

3.3.11.2 การทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์ (Cell Viability)

1) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ร่วมกับ CH

เตรียมสารละลาย CH ที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 200 ไมโครลิตรแล้วหยดใส่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เพาะเลี้ยงไว้จำนวน 50,000 เซลล์ต่อหลุมจากนั้นไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ภายใต้บรรยากาศก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นงานใส่ในภาดหลุมเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม เติมน้ำอาหารเลี้ยงเซลล์ให้ท่วมชิ้นงาน จากนั้นใส่เซลล์ไฟโบรบลาสต์จำนวน 50,000 เซลล์ต่อหลุม แล้วเพาะเลี้ยงในตู้บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตามกำหนดเดิมสาร MTT จำนวน 200 ไมโครลิตรต่อหลุม

แล้วนำไปบ่มในเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำไปดูดสารเหลวใส่ภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ปริมาณ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ตัวอย่างละ 3 หลุม อ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

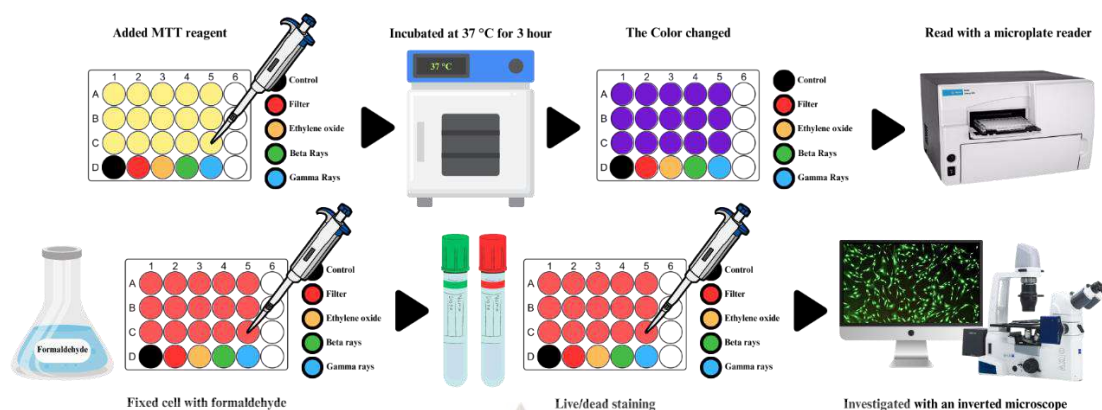
หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วล้างด้วยน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 2 ครั้ง จากนั้นตรึงเซลล์ (Fixed Cell) ด้วยสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นย้อมสีเซลล์ด้วยสารสีเรืองแสง (Fluorescence Dye) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะถูกย้อมสีเขียวด้วยแคลเซอิน (calcein) และเซลล์ที่ตายจะถูกย้อมสีแดงด้วยเอธิเดียมความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วนที่เจือจาง 1 ต่อ 1000 ในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แล้วตรวจสอบสภาพของเซลล์และถ่ายภาพกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล

ในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดทำได้โดยเปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงกับอาหารโดยปราศจาก CH หาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตรอด หรือเทียบจากกลุ่มควบคุมหรือเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ เพื่อสร้างกราฟโดยใช้โปรแกรม Excel และวิเคราะห์สมมติฐานโดยใช้ One -Way ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวแปรเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 โดยสมมติฐานดังนี้

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \text{At least 2 } \mu \text{ different}$$

เมื่อ μ คือ เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตรอด



รูปที่ 3.13 แสดงกระบวนการทดสอบความมีชีวิตรอด
ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ร่วมกับคอลลาเจนไฮโดรไลเซต

2) เซลล์คอนโรไซต์ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์

เตรียมเรซินสำหรับการทดสอบจากพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต (PEGDMA), โอลิโกเมอร์ไดปามีนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต (ODMA/PEGDMA) และโอลิโกเมอร์ไดปามีนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลตที่มีองค์ประกอบของคอลลาเจนไฮโดรไลเซต (ODMA/PEGDMA/CH) แล้วนำมาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีลักษณะเป็นแผ่นทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 มิลลิเมตรและหนา 5 มิลลิเมตรลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงชนิด 24 หลุมด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลโพรเซส ซึ่งจากนั้นจึงเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์คอนโรไซต์จำนวน 50,000 เซลล์ต่อโครงเลี้ยงเซลล์ โดยบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ภายใต้บรรยากาศก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตามกำหนดเติมสาร PrestoBlue® ปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปบ่มในเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาแล้วนำไปดูดสารเหลวใส่ถาดหลุมเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ปริมาณ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ตัวอย่างละ 3 หลุม อ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ส่วนถาดหลุมที่เพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์ให้ดูดสาร PrestoBlue® ออก จากนั้นล้างด้วย PBS แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์สูตรสำเร็จจากนั้นจึงนำไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อศึกษาความมีชีวิตรอดของเซลล์เมื่อครบเวลาตามกำหนด จากนั้นนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ได้กล่าวไว้ตอนต้น

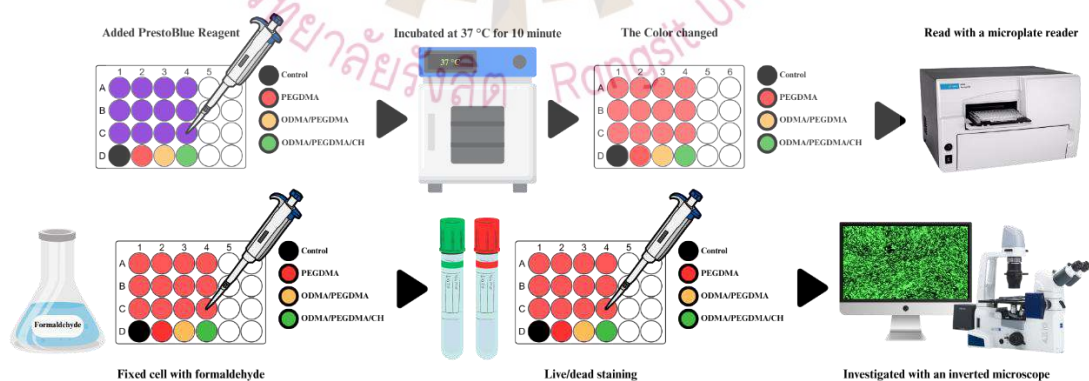
หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำคูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วล้างด้วยน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 2 ครั้ง จากนั้นตรึงเซลล์ (Fixed Cell) ด้วยด้วยสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นย้อมสีเซลล์ด้วยสารสีเรืองแสง (Fluorescence Dye) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะถูกย้อมสีเขียวด้วยแคลเซอานิน (calcein) และเซลล์ที่ตายจะถูกย้อมสีแดงด้วยเอธิเดียมความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วนที่เจือจาง 1 ต่อ 1000 ในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แล้วตรวจสอบสภาพของเซลล์และถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล

ในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดทำได้โดยเปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงกับอาหาร โดยปราศจากชิ้นงานตัวอย่างหาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตรอด หรือเทียบจากกลุ่มควบคุมหรือเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ เพื่อสร้างกราฟโดยใช้โปรแกรม Excel และวิเคราะห์สมมติฐานโดยใช้ One - Way ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวแปรเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 โดยสมมติฐานดังนี้

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \text{At least 2 } \mu \text{ different}$$

เมื่อ μ คือ เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตรอด



รูปที่ 3.14 แสดงกระบวนการทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโรไซต์ร่วมกับโครงเลี้ยงเซลล์

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลของโครงการการสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์จากโพลิโกเมอร์ โดปามีนเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนของการสังเคราะห์ DMA การทดสอบและตรวจสอบสมบัติของเรซิน ODMA/PEGDMA ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ และ ส่วนของผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*) เพื่อใช้ในการ ประเมินความเหมาะสมในการนำไปใช้งานทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

4.1 ผลการสังเคราะห์ DMA

4.1.1 ลักษณะทางกายภาพของ DMA

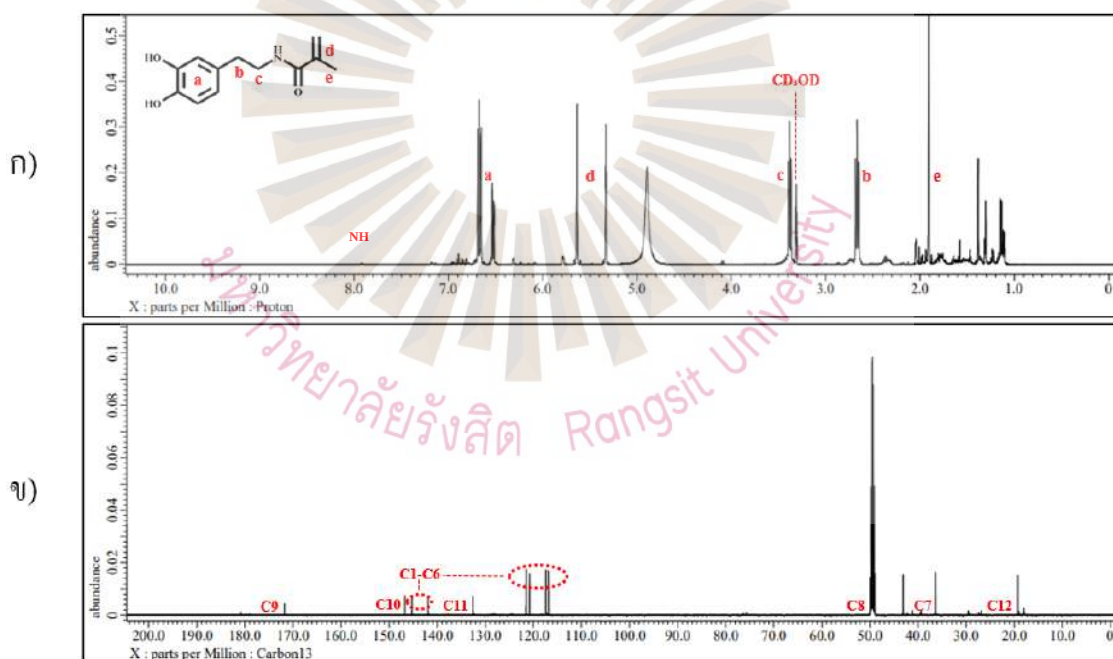
จากผลการสังเคราะห์ DMA พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ขึ้นมาได้มี ลักษณะเป็นของเหลวที่มีความหนืดสูงสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.1 ซึ่งเตรียมนำไปใช้ในการตรวจสอบ คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4.1 แสดงภาพของ DMA ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น

4.1.2 ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR

จากผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของโคปามีนเมตาคริเลตด้วยเทคนิค ^1H -NMR พบว่า สเปกตรัม ^1H -NMR แสดงสัญญาณเรโซแนนซ์ที่เป็นลักษณะเฉพาะของกลุ่มเอไมด์ (Amide) ที่ 7.9 ppm ฟีนิลโปรตอน (Phenyl Protons) ที่ 6.7 และ 6.5 ppm โปรตอนเมทิลีน (Methylene Protons) ที่ 3.4 และ 2.6 ppm และอัลคีนิลไฮโดรเจน (Alkenyl Hydrogens) ที่ 5.7 และ 5.3 ppm และสเปกตรัม ^{13}C -NMR แสดงสัญญาณเรโซแนนซ์ของคาร์บอนทั้งหมด 12 อะตอมซึ่งเท่ากับจำนวนอะตอมคาร์บอนบนสูตรโครงสร้างของ DMA ดังต่อไปนี้ $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ เมื่อนำฟิล์มที่ปรากฏทั้งหมดนี้เปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Gan et al., 2019; Xiong et al., 2013) พบว่าตรงกับคุณลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ DMA ผลลัพธ์นี้บ่งชี้ว่ากลุ่มเมทาคริลาไมด์ได้รับการต่อกิ่งเข้ากับโคปามีนได้สำเร็จ ดังรูปที่ 4.2



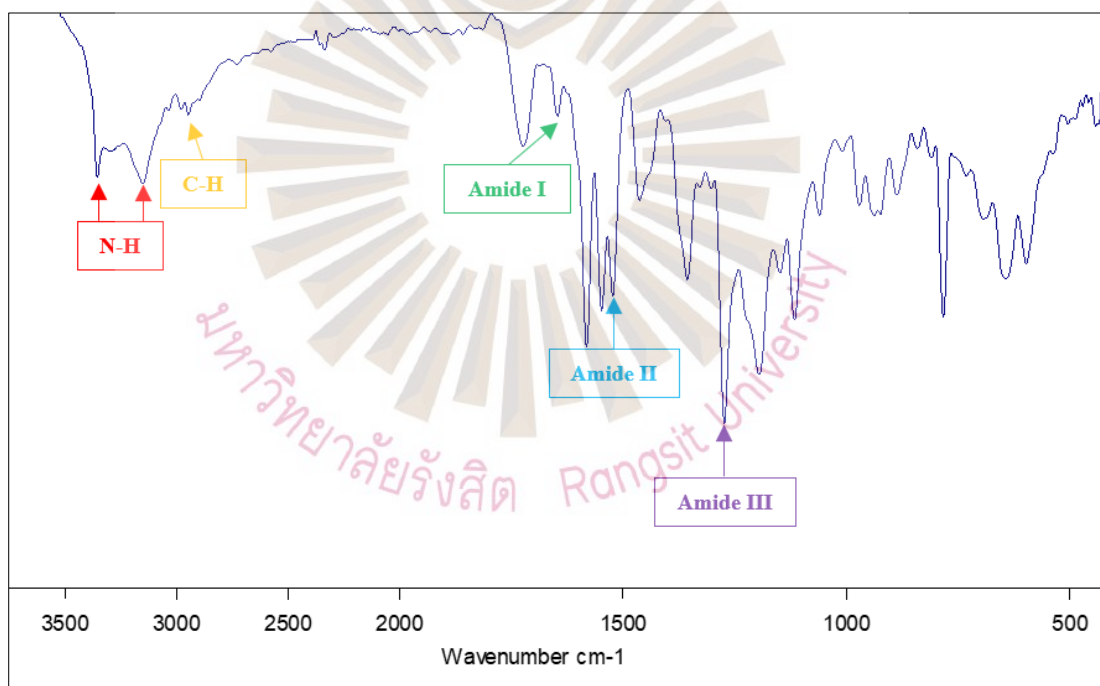
รูปที่ 4.2 แสดงผลของการใช้เทคนิค NMR ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของ DMA

ก) แสดงผลของการใช้เทคนิค ^1H -NMR

ข) แสดงผลของการใช้เทคนิค ^{13}C -NMR

4.1.3 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR

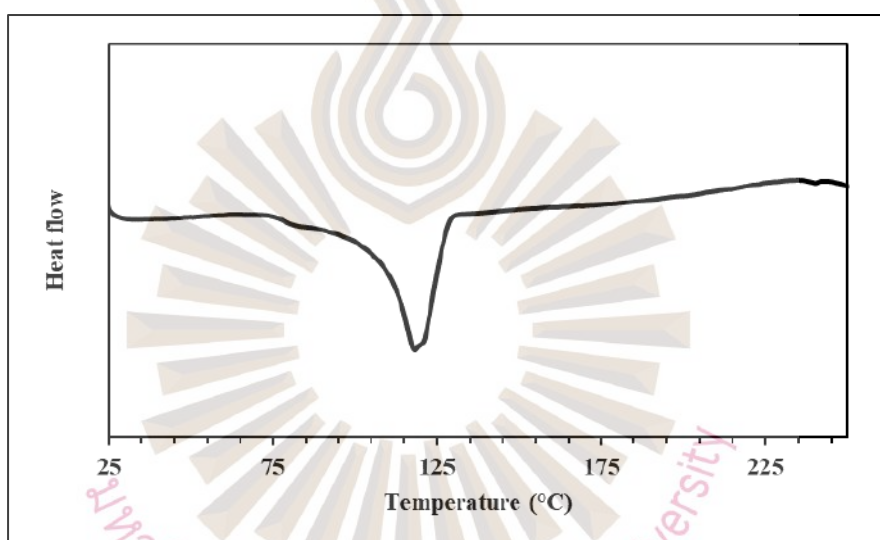
จากผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของโคปามีนเมตาคริเลตด้วยเทคนิค FTIR พบว่า ตรวจพบพีคการสั่นผ่าน (Transmittance Peak) ที่ 3354 cm^{-1} จากการสั่นสะเทือนแบบยืด (Stretching Vibration) ของเอไมด์ (Amide; N-H), ที่ 2964 และ 2932 cm^{-1} จากการสั่นสะเทือนแบบยืดของพันธะไฮโดรเจน-คาร์บอน (Carbon-hydrogen Bond; C-H) พีคเหล่านี้ยังสามารถพบได้ในโคปามีน และพีคการสั่นผ่านที่ $1,650\text{ cm}^{-1}$, 1540 cm^{-1} และ 1240 cm^{-1} อันเนื่องมาจากเอไมด์ I (V, C=O), เอไมด์ II (V, N-H) และเอไมด์ III (V, C-N) แต่พีคดังกล่าวจะไม่พบในสเปกตรัม FTIR ของโคปามีน โดยผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีพันธะเอไมด์อยู่ใน DMA ซึ่งเมื่อนำพีคที่ปรากฏนี้เปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าตรงกับคุณลักษณะขององค์ประกอบทางเคมีของ DMA (Gan et al., 2019), (Xiong et al., 2013) และ (Suzuki et al., 2020) ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงผลของการใช้เทคนิค FTIR เพื่อ
ตรวจสอบโครงสร้างของ DMA

4.1.4 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC

จากผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC พบว่า เทอร์โมแกรมที่ได้จากเครื่อง DSC แสดงพีคของการดูดกลืนความร้อนในช่วง 90-130 °C ค่าสูงสุดของจุดพีคของการดูดกลืนความร้อนของ DMA อยู่ที่ 118 °C ซึ่งเป็นจุดหลอมเหลวของวัสดุและเมื่อนำพีคที่ปรากฏนี้เปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าพบว่ามีความใกล้เคียงกัน (Xiong et al., 2013) นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าวัสดุมีความทนทานเนื่องจากต้องใช้พลังงานที่สูงให้การทำลายโครงสร้าง ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 แสดงผลเทอร์โมแกรมจากการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC

4.2 ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของเรซิน ODMA/PEGDMA

4.2.1 ผลการเตรียมเรซิน ODMA/PEGDMA

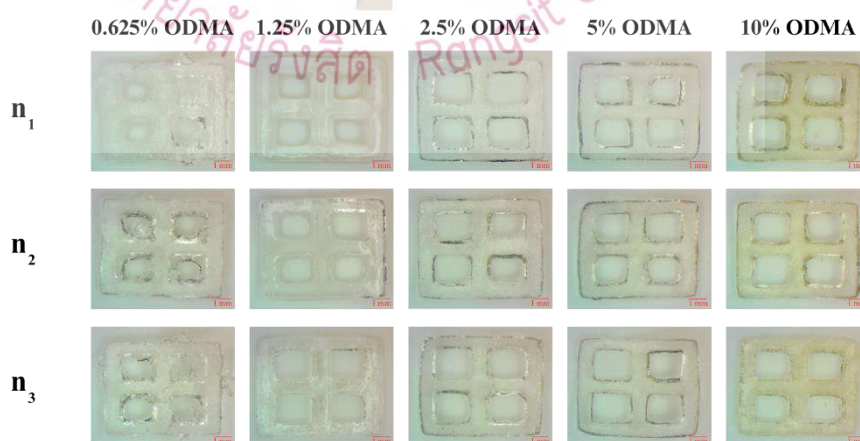
จากผลการเตรียมเรซิน ODMA/PEGDMA พบว่าสามารถเตรียม ODMA/PEGDMA ขึ้นมาได้ ดังรูปที่ 4.5 ซึ่งเรซินมีลักษณะสีน้ำตาลใส โดยยังมีความเข้มข้นของ ODMA มากขึ้นเรซินก็จะมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น ซึ่งมีความพร้อมสำหรับการนำไปใช้ในกระบวนการทดสอบในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4.5 แสดงเรซิน PEGDMA ที่มีความเข้มข้นของ ODMA ที่ 10% 5% 2.5% 1.25% และ 0.625 % (w/v) ตามลำดับ

4.2.2 ผลการทดสอบความสามารถในการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP

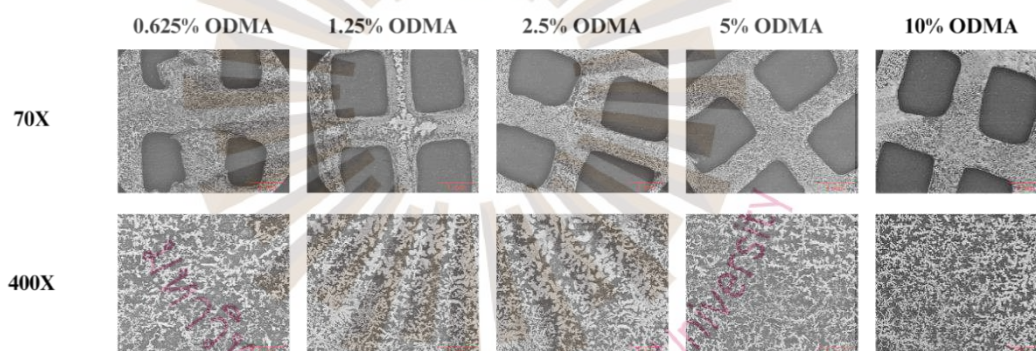
จากผลการทดสอบความสามารถในการพิมพ์ขึ้นรูปโครงสร้างเซลล์ด้วยเรซิน PEGDMA ที่ผสมกับ ODMA ความเข้มข้นที่ 0.625% 1.25% 2.5% 5% และ 10% (w/v) พบว่าเรซินที่มีความเข้มข้นของ ODMA 0.625% นั้นมีความสามารถในการขึ้นรูปได้ต่ำที่สุด ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นมีความสามารถในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคการพิมพ์สามมิติแบบ DLP ได้ดีใกล้เคียงกัน ดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงผลความสามารถในการขึ้นรูปของเรซิน ODMA/PEGDMA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.2.3 ผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM

จากผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ด้วย SEM พบว่าที่ก่าลังขยาย 70 เท่า แสดงให้เห็นถึงลักษณะความเรียบเนียนหรือขรุขระของรูสี่เหลี่ยมที่ถูกออกแบบมาในช่วงก่อนการพิมพ์ขึ้นรูป โดยโครงเลี้ยงเซลล์จากเรซิน PEGDMA ที่มีความเข้มข้นของ ODMA 0.625% นั้นแสดงให้เห็นรูสี่เหลี่ยมที่ไม่มีความเรียบเนียนและมีความขรุขระ ตรงกันข้ามกับความเข้มข้นอื่นที่มีความเรียบเนียนและมีความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นข้อมูลสนับสนุนผลการทดสอบความสามารถในการพิมพ์ร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติแบบ DLP และที่ก่าลังขยาย 400 เท่า แสดงให้เห็นถึงพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีลวดลายคล้ายกันที่ทุกความเข้มข้น แต่มีความแตกต่างกันที่ความแน่นของลวดลาย โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่ยังมีความเข้มข้นของ ODMA มากลวดลายก็จะมีความหนาแน่นมากขึ้นด้วย ดังรูปที่ 4.7

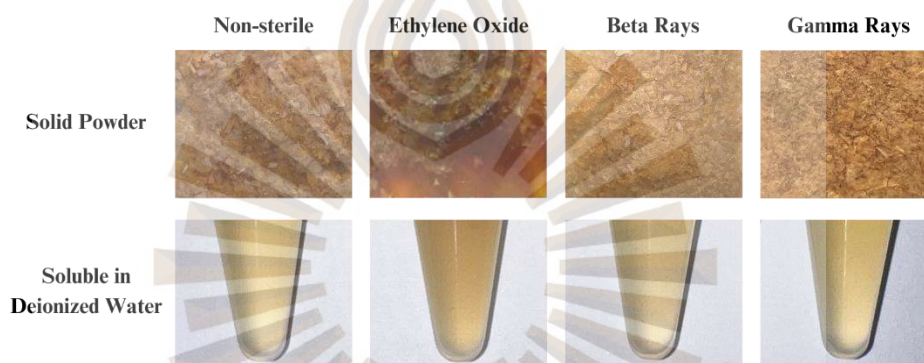


รูปที่ 4.7 แสดงผลการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงเลี้ยงเซลล์ ODMA/PEGDMA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย SEM

4.3 ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ

4.3.1 ผลลักษณะทางกายภาพของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ

จากผลของลักษณะทางกายภาพของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ จากการสังเกตด้วยตาเปล่า พบว่าหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ CH มีการเปลี่ยนแปลงไปจากผงสีน้ำตาลอ่อนกลายเป็นก้อนเหนียวสีน้ำตาลไหม้และเมื่อนำมาละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์พบว่าสารละลายมีสีน้ำตาลเข้มเช่นเดียวกับตอนเป็นผงอันเนื่องมาจากการทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิสูง ตรงกันข้ามกับหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้าและแกมมาที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพใด ๆ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับก่อนการทำให้ปราศจากเชื้อ ดังรูปที่ 4.8



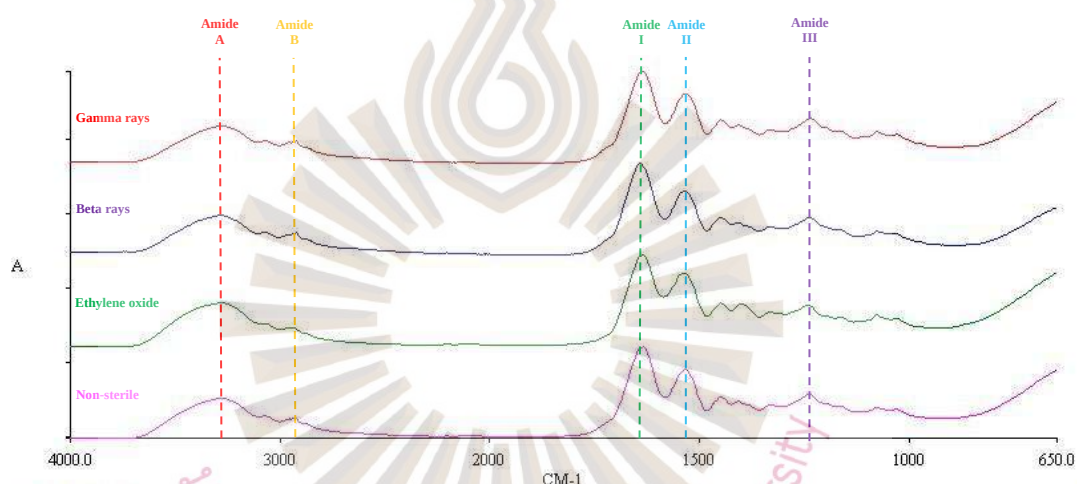
รูปที่ 4.8 แสดงผลลักษณะทางกายภาพของ CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ

4.3.2 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วย

เทคนิค FTIR

จากผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค FTIR พบว่าแถบเอไมด์ A อยู่ที่ $3,281\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นสะเทือนที่ยืดขยายออก (Stretching Vibrations) ของ N-H เมื่อกลุ่ม NH ของเปปไทด์เกี่ยวข้องกับพันธะไฮโดรเจน (Sai & Babu, 2001) แถบเอไมด์ B ($2,961\text{ cm}^{-1}$) สัมพันธ์กับการยืดตัวแบบไม่สมมาตรของการสั่นสะเทือนที่ยืดขยายออกของ CH_2 และการดัดโค้งเนื่องจากสายโซ่อัลคิล (CH_2 -alkyl Chain) (Hsu, Weng, Liao, & Chen, 2005) แถบเอไมด์ I ซึ่งมีความถี่ลักษณะเฉพาะที่ $1,635\text{ cm}^{-1}$ ส่วนใหญ่สัมพันธ์กับการสั่นสะเทือนที่ยืดออกของกลุ่มคาร์บอนิล (Carbonyl) ตามแนวแกนพอลิเปปไทด์ (Polypeptides)

(Kittiphattanabawon, Benjakul, Sinthusamran, & Kishimura, 2015; Payne & Veis, 1988) แอมไนด์ II ($1,536\text{ cm}^{-1}$) และ III ($1,242\text{ cm}^{-1}$) แสดงถึงการสั่นสะเทือนแบบโค้ง (Flexural Vibrations) ของ N-H ควบคู่ไปกับการสั่นสะเทือนแบบยืดของ C-N (Kittiphattanabawon et al., 2015; Payne & Veis, 1988) โดยเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัม FTIR ของตัวอย่าง CH ระหว่างก่อนและหลังการทำให้ปราศจากเชื้อพบว่าทุกวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อไม่ได้ทำให้ตำแหน่งของแอมไนด์ทุกชนิดเปลี่ยนแปลงซึ่งตรงกับองค์ประกอบทางเคมีของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตก่อนทำให้ปราศจากเชื้อและงานวิจัยก่อนหน้านี้ แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างทุติยภูมิของ CH ไม่ได้ถูกทำลายในกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ ดังรูปที่ 4.9

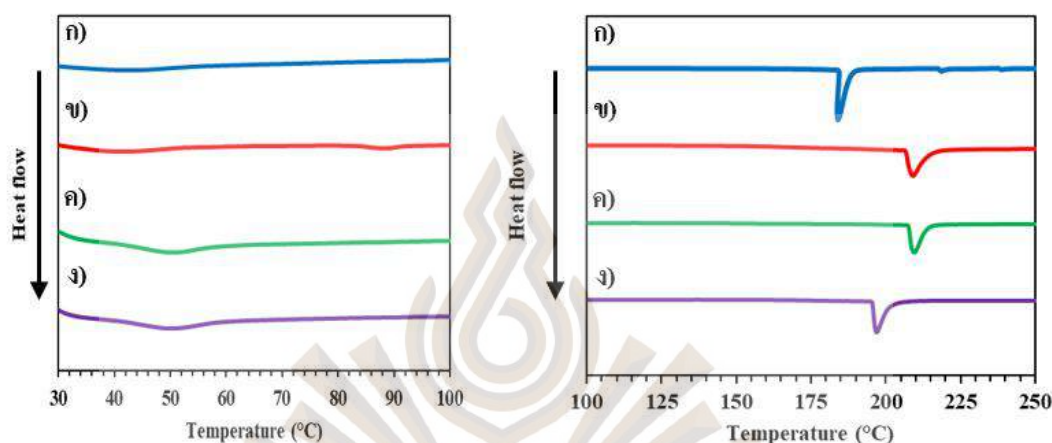


รูปที่ 4.9 แสดงผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของ CH ก่อนและหลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยที่แกน X เป็นเลขคลื่น (cm^{-1}) และแกน Y เป็น %Transmittance (%T)

4.3.3 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH หลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเทคนิค DSC

จากผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของ CH ด้วยเทคนิค DSC พบว่าเทอร์โมแกรมที่ได้จากเครื่อง DSC แสดงพีคของการดูดกลืนความร้อนในช่วง $30-90^{\circ}\text{C}$ ค่าสูงสุดของจุดพีคของการดูดกลืนความร้อนของ CH ตอนที่ยังไม่ได้ทำให้ปราศจากเชื้ออยู่ที่ 40°C เช่นเดียวกันกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ ตรงกันข้ามกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้า

และแกมมาที่ค่าสูงสุดของจุดพีกเปลี่ยนไปอยู่ที่ประมาณ 50 °C และเมื่อนำพิกที่ปรากฏนี้ไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่ามีความใกล้เคียงกัน (Zhang et al., 2021) ซึ่งค่าสูงสุดในพิกที่กล่าวมาทั้งนั้นเป็นจุดหลอมเหลวของวัสดุ นอกจากนี้พิกดังกล่าวยังบ่งบอกถึงความพร้อมใช้ในการละลายน้ำ ดังรูปที่ 4.11



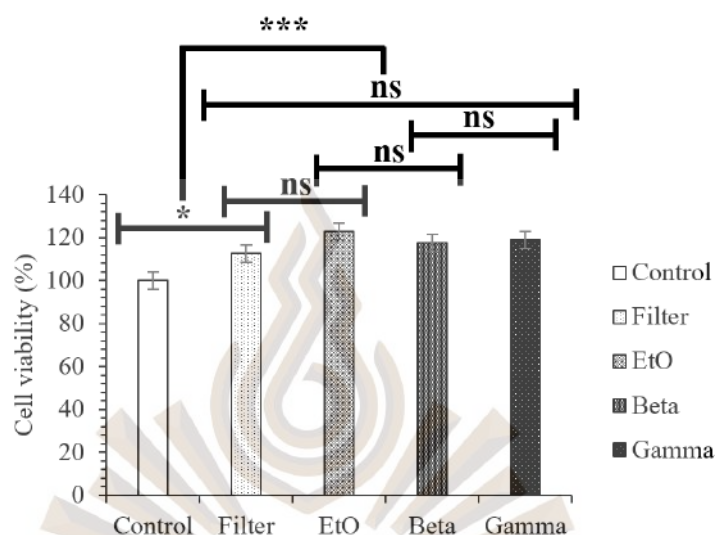
รูปที่ 4.10 แสดงผลเทอร์โมแกรมจากการใช้เทคนิค DSC ตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตก่อน (ก) และหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วย EtO (ข) รังสีเบต้า (ค) รังสีแกมมา (ง)

4.3 ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)

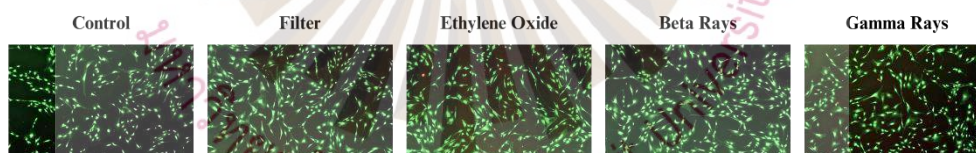
4.3.1 คอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ร่วมกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ผลการทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ด้วยสาร MTT โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรอง เอทิลีนออกไซด์ รังสีเบต้า และรังสีแกมมา เป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตอยู่ที่ 112.46% 122.90% 117.40% และ 118.95% ดังรูปที่ 4.11 และหลังจากข้อมสารเรืองแสงเพื่อตรวจสอบเซลล์มีชีวิตรอดภายในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี CH หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าจะเห็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์เรืองแสงสีเขียวที่เกิดจากการ

ย้อมด้วยแคลซายน์จะแสดงให้เห็นเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งมีจำนวนมากและสีแดงที่เกิดจากการย้อมด้วยเอซีเดียมจะแสดงให้เห็นเซลล์ตายซึ่งมีจำนวนน้อยมากให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในทุกกลุ่มตัวอย่าง ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.11 แสดงผลกราฟแท่งผลค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

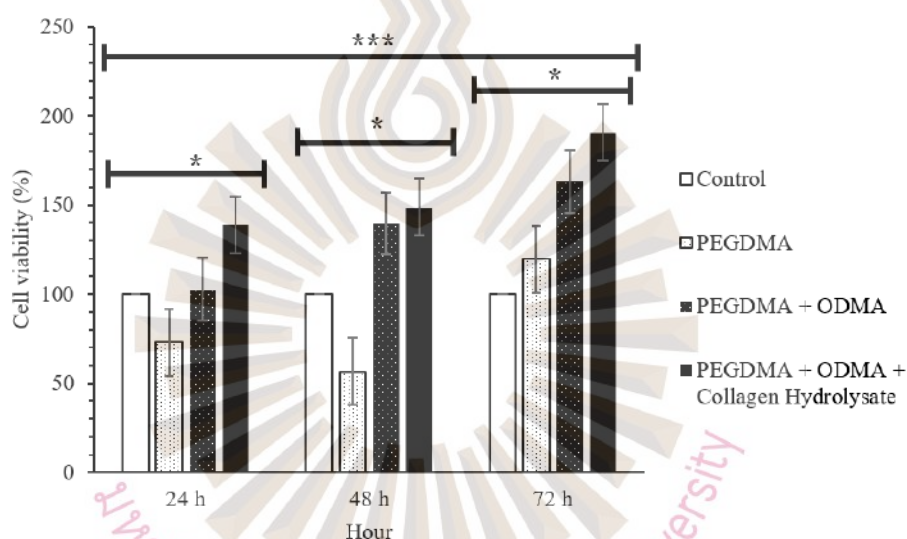


รูปที่ 4.12 แสดงภาพถ่ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เรืองแสงจากการย้อมสารเรืองแสงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

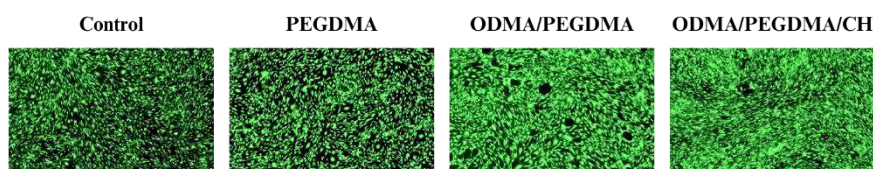
4.3.2 โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันร่วมกับเซลล์คอนโดโรไซต์

ผลการทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโดโรไซต์ด้วยสาร PrestoBlue โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโดโรไซต์บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบของ PEGDMA ODMA/PEGDMA และ ODMA/PEGDMA/CH โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีเพียง PEGDMA เป็นองค์ประกอบมีอัตราการ

รอดชีวิตเท่ากับ 72.89% 56.60% และ 119.70% ตามลำดับ ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ที่มี ODMA/PEGDMA เป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 102.71% 139.62% และ 163.34% ตามลำดับ และโครงเลี้ยงเซลล์ที่มี ODMA/PEGDMA/CH เป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 138.85% 148.67% และ 190.64% ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.13 และหลังจากย้อมสารเรืองแสงเพื่อตรวจสอบเซลล์มีชีวิตรอบบนโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 3 ตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงพบว่าเห็นเซลล์คอนโทรลไซส์เรืองแสงสีเขียวที่เกิดจากการย้อมด้วยแคลเซินจะแสดงให้เห็นเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งมีจำนวนมากและสีแดงที่เกิดจากการย้อมด้วยเอธิเดียมจะแสดงให้เห็นเซลล์ตายซึ่งมีจำนวนน้อยมากให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในทุกกลุ่มตัวอย่าง ดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.13 แสดงผลกราฟแท่งผลค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโทรลไซส์ที่ระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง



รูปที่ 4.14 แสดงภาพถ่ายของเซลล์คอนโทรลไซส์ที่เรืองแสงจากการย้อมสารเรืองแสงที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การสรุปผลการวิจัยเรื่อง การสังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของโครงเลี้ยงเซลล์จากโพลิโกเมอร์โปปาไมนเมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ การสังเคราะห์โปปาไมนเมทาคริเลต การทดสอบและตรวจสอบสมบัติของเรซินโปปาไมนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต ผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ และส่วนของผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*) เพื่อใช้ในการประเมินความเหมาะสมในการนำไปใช้งานทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

จากผลการสังเคราะห์โปปาไมนเมทาคริเลตพบว่าสามารถสังเคราะห์โปปาไมนเมทาคริเลตขึ้นมาได้สำเร็จ ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพที่สังเกตได้คล้ายกาวสีน้ำตาล โดยสามารถยืนยันผลการสังเคราะห์ได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของ DMA ด้วยเทคนิค NMR และการวิเคราะห์องค์ประกอบของ DMA ด้วยเทคนิค FTIR ซึ่งผลที่ได้ก็ตรงกับโครงสร้างของ DMA และงานวิจัยก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของ DMA ด้วยเทคนิค DSC พบว่าจุดหลอมเหลวของวัสดุอยู่ที่ 118 °C

จากผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของเรซินโปปาไมนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลตพบว่า สามารถเตรียมเรซินโพลิโกเมอร์โปปาไมนเมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลตได้ ซึ่งเรซินมีลักษณะสีน้ำตาลใส โดยยังมีความเข้มข้นของโพลิโกเมอร์โปปาไมนเมทาคริเลตเรซินก็จะมียืดที่เข้มข้นมากขึ้น ซึ่งมีความพร้อมสำหรับการนำไปใช้ และสามารถนำไปพิมพ์ร่วมกับเครื่องพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซึ่งได้ โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความเข้มข้นของ ODMA 0.625% (w/v) นั้นมีความสามารถในการขึ้นรูปได้ต่ำที่สุด ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นที่ 1.25% 2.5% 5% และ 10% (w/v) มีความสามารถในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคการพิมพ์สามมิติแบบดิจิทัลไลต์โปรเซสซึ่งได้ใกล้เคียงกัน และจากการตรวจสอบฐานฐานวิทยาของ

โครงเลี้ยงเซลล์ ODMA-PEGDMA ด้วย SEM พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์จากเรซิน PEGDMA ที่มีความเข้มข้นของ ODMA 0.625% นั้นแสดงให้เห็นรูสี่เหลี่ยมที่ไม่มีความเรียบเนียนและมีความขรุขระตรงกันข้ามกับความเข้มข้นอื่นที่มีความเรียบเนียนและมีความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน และที่กำลังขยาย 400 เท่า แสดงให้เห็นถึงพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกันที่ทุกความเข้มข้น

จากผลการทดสอบและตรวจสอบสมบัติของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่า ลักษณะทางกายภาพของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ จากการสังเกตด้วยตาเปล่า พบว่าหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ คอลลาเจนไฮโดรไลเซตมีการเปลี่ยนแปลงไปจากผงสีน้ำตาลอ่อนกลายเป็นก้อนเหนียวสีน้ำตาลไหม้และเมื่อนำมาละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์พบว่าสารละลายมีสีน้ำตาลเข้มเช่นเดียวกับตอนเป็นผง ตรงกันข้ามกับหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้าและแกมมาที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพใด ๆ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับก่อนการทำให้ปราศจากเชื้อ และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค FTIR หลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่าทุกวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อไม่ได้ทำให้ตำแหน่งของแถบเอมิดทุกชนิดเปลี่ยนแปลงซึ่งตรงกับองค์ประกอบทางเคมีของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตก่อนทำให้ปราศจากเชื้อและงานวิจัยก่อนหน้านี้ แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างทุติยภูมิของ CH ไม่ได้ถูกทำลายในกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของ คอลลาเจนไฮโดรไลเซตด้วยเทคนิค DSC พบว่าจุดหลอมเหลวของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตตอนที่ยังไม่ได้ทำให้ปราศจากเชื้ออยู่ที่ 40 °C เช่นเดียวกันกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ ตรงกันข้ามกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยรังสีเบต้าและแกมมาที่ค่าสูงสุดของจุดฟิคเปลี่ยนไปอยู่ที่ประมาณ 50 °C

จากผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*) พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการกรอง การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเอทิลีนออกไซด์ รังสีเบต้า และรังสีแกมมา เป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตอยู่ที่ 112.46% 122.90% 117.40% และ 118.95% และหลังจากย้อมสารเรืองแสงเพื่อตรวจสอบเซลล์มีชีวิตรอดภายในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีคอลลาเจนไฮโดรไลเซตหลังจากการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าจะเห็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีชีวิตเรืองแสงสีเขียวเป็นจำนวนมากให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในทุกกลุ่มตัวอย่าง และผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการของเรซินที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน พบว่า ผลการทดสอบความมีชีวิตรอดของ

เซลล์คอนโดไรต์ด้วยสาร PrestoBlue® โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์คอนโดไรต์บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบของพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลต โอลิโกเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลต และโอลิโกเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลตที่มีองค์ประกอบของคอลลาเจนไฮโดรไลเซต โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีเพียงพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลตเป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 72.89% 56.60% และ 119.70% ตามลำดับ ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีโอลิโกเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลตเป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 102.71% 139.62% และ 163.34% ตามลำดับ และโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีโอลิโกเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลตที่มีองค์ประกอบของคอลลาเจนไฮโดรไลเซตเป็นองค์ประกอบมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 138.85% 148.67% และ 190.64% ตามลำดับ และหลังจากย้อมสารเรืองแสงเพื่อตรวจสอบเซลล์มีชีวิตรอดบนโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 3 ตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าเห็นเซลล์คอนโดไรต์ที่มีชีวิตเรืองแสงสีเขียวเป็นจำนวนมากให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในทุกกลุ่มตัวอย่าง

โดยสรุปภาพรวมของงานวิจัยนี้นั้นสามารถบรรลุวัตถุประสงค์ของการวิจัยและผลการวิจัยเป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ในบทที่ 1 ดังที่ได้สรุปผลการวิจัยไว้ข้างต้นในหัวข้อนี้

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากเรซินเรซินโอลิโกเมอร์โคพอลิเมอร์เมทาคริเลตและคอลลาเจนไฮโดรไลเซตผสมกับพอลิเอทิลีนไกลคอลไคเมทาคริเลตนั้นขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความแข็งทำให้เซลล์สามารถยึดเกาะได้เพียงบริเวณรอบพื้นผิวของโครงเลี้ยง จึงอาจพัฒนาคุณสมบัติของวัสดุด้วยการผสมกับสารอื่นที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการเป็นไฮโดรเจลที่ช่วยให้สามารถพิมพ์ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์เพื่อห่อหุ้มเซลล์ไว้ในวัสดุได้

บรรณานุกรม

- Ansari, I., & Datta, A. (2003). An overview of sterilization methods for packaging materials used in aseptic packaging systems. *Food and Bioproducts Processing*, 81(1), 57-65.
- Black, J. (2005). *Biological performance of materials: fundamentals of biocompatibility* (4th ed.). Boca Raton: Crc Press.
- Bugbee, W. D., Pallante-Kichura, A. L., Görtz, S., Amiel, D., & Sah, R. (2016). Osteochondral allograft transplantation in cartilage repair: Graft storage paradigm, translational models, and clinical applications. *J Orthop Res*, 34(1), 31-38. doi:10.1002/jor.22998
- Davies, R. L., & Kuiper, N. J. (2019). Regenerative Medicine: A Review of the Evolution of Autologous Chondrocyte Implantation (ACI) Therapy. *Bioengineering*, 6(1), 22. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2306-5354/6/1/22>
- Gan, D., Xu, T., Xing, W., Wang, M., Fang, J., Wang, K., . . . Tan, H. (2019). Mussel-inspired dopamine oligomer intercalated tough and resilient gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels for cartilage regeneration. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(10), 1716-1725.
- Hornbeck, L. J. (1997). *Digital light processing for high-brightness high-resolution applications*. (Vol. 3013): SPIE.
- Hsu, B. L., Weng, Y. M., Liao, Y. H., & Chen, W. (2005). Structural investigation of edible zein films/coatings and directly determining their thickness by FT-Raman spectroscopy. *J Agric Food Chem*, 53(13), 5089-5095. doi:10.1021/jf0501490
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Sinthusamran, S., & Kishimura, H. (2016). Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 186-192. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.029>
- Kon, E., Filardo, G., Di Matteo, B., Perdida, F., & Marcacci, M. (2013). Matrix assisted autologous chondrocyte transplantation for cartilage treatment: a systematic review. *Bone & joint research*, 2(2), 18-25.
- Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J. P., & Atala, A. (2020). *Principles of tissue engineering* (5th ed.). Academic press.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Lim, K. S., Galarraaga, J. H., Cui, X., Lindberg, G. C., Burdick, J. A., & Woodfield, T. B. (2020). Fundamentals and applications of photo-cross-linking in bioprinting. *Chemical reviews*, 120(19), 10662-10694.
- Lin-Gibson, S., Jones, R. L., Washburn, N. R., & Horkay, F. (2005). Structure—property relationships of photopolymerizable poly (ethylene glycol) dimethacrylate hydrogels. *Macromolecules*, 38(7), 2897-2902.
- Mithoefer, K., McAdams, T., Williams, R. J., Kreuz, P. C., & Mandelbaum, B. R. (2009). Clinical Efficacy of the Microfracture Technique for Articular Cartilage Repair in the Knee: An Evidence-Based Systematic Analysis. *The American Journal of Sports Medicine*, 37(10), 2053-2063. doi:10.1177/0363546508328414
- Mitragotri, S., & Lahann, J. (2009). Physical approaches to biomaterial design. *Nature materials*, 8(1), 15-23.
- Monaco, G., Cholas, R., Salvatore, L., Madaghiele, M., & Sannino, A. (2017). Sterilization of collagen scaffolds designed for peripheral nerve regeneration: Effect on microstructure, degradation and cellular colonization. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 335-344. doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.030
- Moskowitz, R. W. (2000). Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 30(2), 87-99. doi:10.1053/sarh.2000.9622
- Payne, K. J., & Veis, A. (1988). Fourier transform ir spectroscopy of collagen and gelatin solutions: Deconvolution of the amide I band for conformational studies. *Biopolymers*, 27(11), 1749-1760. doi:https://doi.org/10.1002/bip.360271105
- Putti, V. (1921). Arthroplasty. *JBJS*, 3(9), 421-430.
- Redondo, M. L., Beer, A. J., & Yanke, A. B. (2018). Cartilage restoration: microfracture and osteochondral autograft transplantation. *The journal of knee surgery*, 31(03), 231-238.
- Sai, K. P., & Babu, M. (2001). Studies on Rana tigerina skin collagen. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 128(1), 81-90. doi:10.1016/s1096-4959(00)00301-8

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Sophia Fox, A. J., Bedi, A., & Rodeo, S. A. (2009). The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports Health*, 1(6), 461-468.
doi:10.1177/1941738109350438
- Suzuki, R., Shitanda, I., Aikawa, T., Tojo, T., Kondo, T., Tsujimura, S., . . . Yuasa, M. (2020). Wearable glucose/oxygen biofuel cell fabricated using modified aminoferrocene and flavin adenine dinucleotide-dependent glucose dehydrogenase on poly(glycidyl methacrylate)-grafted MgO-templated carbon. *Journal of Power Sources*, 479, 228807.
doi:10.1016/j.jpowsour.2020.228807
- Xiong, X., Qu, S., & Yu-mei, L. (2013). Synthesis and characterization of Dopamine graft compound N-methacryloyl 3,4-dihydroxyl-phenylamine. *Journal of Physics Conference Series*, 419, 2047. doi:10.1088/1742-6596/419/1/012047
- Zhang, Y., Chen, Z., Liu, X., Shi, J., Chen, H., & Gong, Y. (2021). SEM, FTIR and DSC Investigation of Collagen Hydrolysate Treated Degraded Leather. *Journal of Cultural Heritage*, 48, 205-210. doi:https://doi.org/10.1016/j.culher.2020.11.007

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
เอกสารประกอบสารเคมี



Sigma-Aldrich

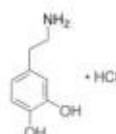
3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtechserv@sial.com

Product Name:
Dopamine hydrochloride

Certificate of Analysis

Product Number: H8502
 Batch Number: BCCL0664
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 62-31-7
 Formula: C₈H₁₁NO₂ · HCl
 Formula Weight: 189,64 g/mol
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 10 NOV 2023
 Recommended Retest Date: OCT 2025

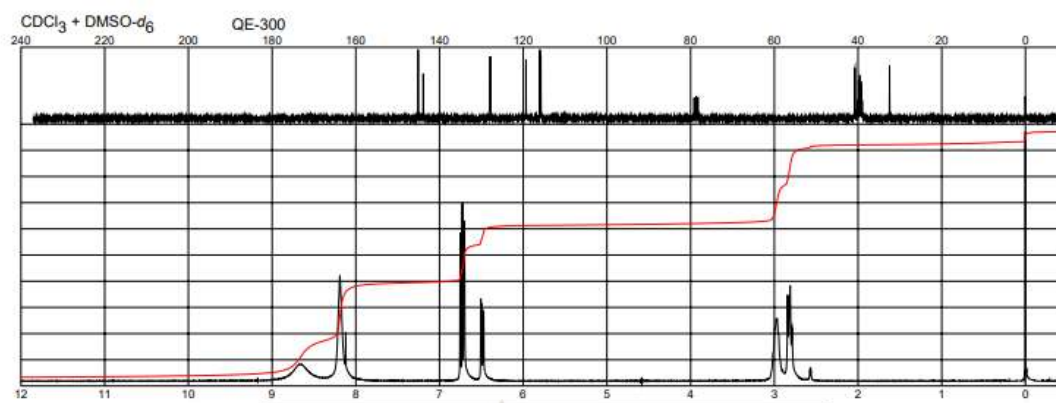


Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Yellow with a Tan Cast	White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Purity (HPLC)	≥ 97.5 %	99.0 %
Solubility (Color)	Colorless to Dark Yellow and Colorless to Light Brown and Yellow-Brown	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear to Very Slightly Hazy	Clear
400mg plus 4ml of Water		
Carbon Content	49.7 - 51.7 %	50.5 %
Nitrogen Content	7.2 - 7.5 %	7.3 %
Infrared Spectrum	Conforms to Structure	Conforms

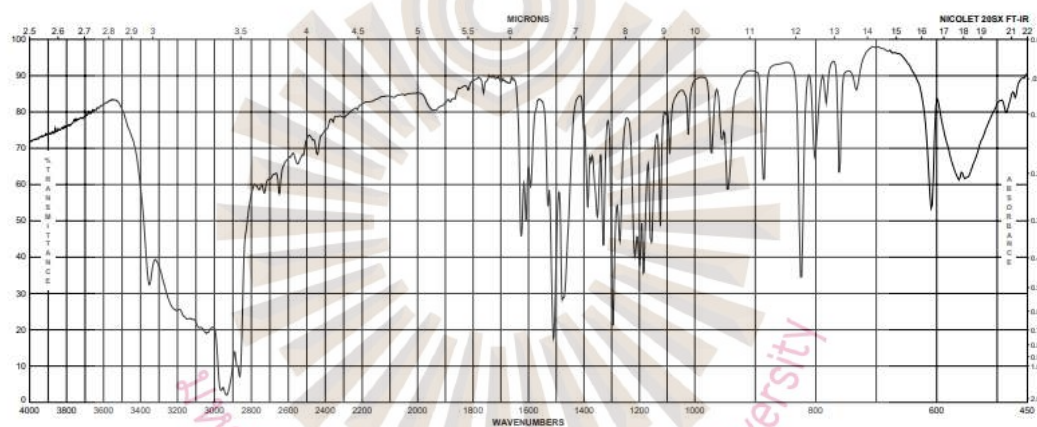
Dr. Reinhold Schwenninger
 Quality Assurance
 Buchs, Switzerland CH

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.





ผลของการใช้เทคนิค NMR ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมี
ของโดปามีนไฮโดรคลอไรด์จากผู้ผลิต



ผลของการใช้เทคนิค FTIR เพื่อตรวจสอบตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี
ของโดปามีนไฮโดรคลอไรด์จากผู้ผลิต

Sigma-Aldrich

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

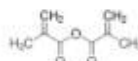
Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtechserv@sial.com

Product Name:

Certificate of Analysis

Methacrylic anhydride - contains 2,000 ppm topanol A as inhibitor, ≥94%

Product Number: 276685
Batch Number: STEK9909
Brand: ALDRICH
CAS Number: 760-93-0
Formula: C₈H₁₀O₃
Formula Weight: 154.16 g/mol
Quality Release Date: 25 NOV 2022
Date Retested: 22 AUG 2023
Recommended Retest Date: NOV 2025

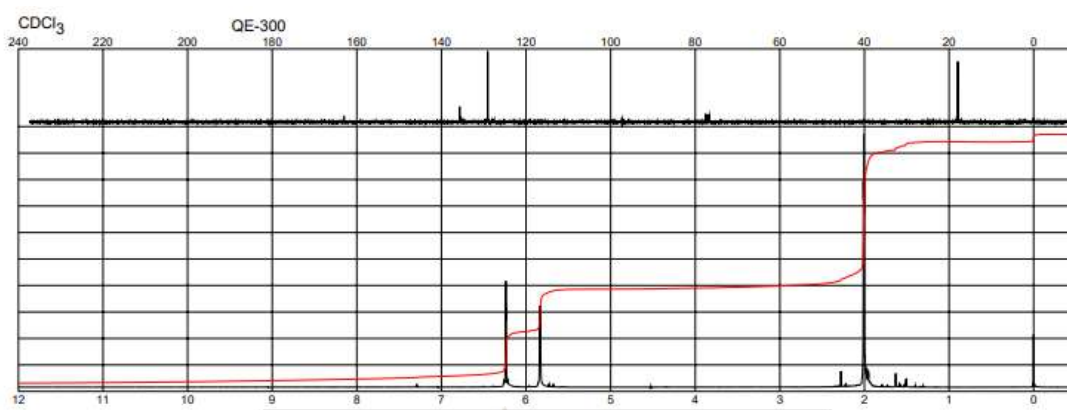


Test	Specification	Result
Stabilizer Topanol A	1800 - 2200 ppm	1944 ppm
Appearance (Color)	Colorless	Colorless
Appearance (Form)	Liquid	Liquid
Purity (GC)	> 94.0 %	98.5 %
Infrared Spectrum	Conforms to Structure	Conforms

Dr. Christian Mathies
 Manager, Quality Control
 Steinheim, Germany DE

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.





ผลของการใช้เทคนิค NMR ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมี
ของเมทาคริลิกแอ็นไฮไดรด์จากผู้ผลิต



Sigma-Aldrich

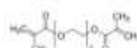
3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtechserv@sial.com**Certificate of Analysis**

Product Name:

Poly(ethylene glycol) dimethacrylate - average M_n 750, contains 900-1100 ppm MEHQ as inhibitor

Product Number: 437468
 Batch Number: MKCR2496
 Brand: ALDRICH
 CAS Number: 25852-47-5
 MDL Number: MFCD00081877
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 03 MAR 2022



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Colorless to Light Yellow	Colorless
Appearance (Form)	Liquid	Liquid
Proton NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Molecular Number		757
Typically 730 - 780		
Viscosity	60 - 80 cps	76 cps
At 25 Degrees Celsius		
Acidity	< 0.02	0.01
as Methacrylic Acid		
Specific Gravity	1.1010 - 1.1050 g/cm ³	1.1021 g/cm ³
at 25°C		
Inhibitor	900 - 1100 ppm	918 ppm
ppm MEHQ - by HPLC		
Moisture Content	< 0.40 %	0.02 %
Solvent Content (by GC)	< 0.10 %	0.05 %
by GC		
Color Test	< 200 APHA	13 APHA


 Larry Coers, Director
 Quality Control
 Milwaukee, WI US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



ภาคผนวก ข
ผลการทดลองเพิ่มเติม

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



Human Research Ethics Committee, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University
270 Rama 6 Rd. Phayatai Ratchathewi Bangkok 10400 Tel.(660)2012175, 2011544, 2010388
Website: <https://med.mahidol.ac.th/research/ethics>
E-mail: raec.mahidol@gmail.com

COA. MURA2022/469

Title of Project (English)	Investigating molecular mechanisms of vitamin D in autophagy via PI3K/AKT/mTOR pathway in chondrocytes from knee osteoarthritis patients
Title of Project (Thai)	การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของวิตามินดีในกระบวนการเซลล์กินตัวเอง (autophagy) ผ่านวิธี PI3K/AKT/mTOR ในเซลล์คอนไดรโตไซต์จากผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม
Type of Review	Expedited
Principal Investigator	Tulyapruet Tawonsawatruk
Official Address	Department of Orthopedics Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital Mahidol University
Co-investigator (s)	1. Warisa Udomsinprasert 4. Wacharapol Saengsiwaritt 2. Jiraphun Jittikoon 5. Narongrit Srikaew 3. Usa Chaikledkaew
Approval includes	1. Submission form protocol version 2 date 5/8/2022 2. Material transfer agreement 3. Curriculum vitae 4. Certificate in ethics training
Institutional Review Boards in Mahidol University are in full compliance with International Guidelines for Human Research Protection such as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)	
Date of Approval	August 19, 2022
Date of Expiration	August 18, 2023

Signature of Chair.....

(Asst. Prof. Chusak Okascharoen, M.D., Ph.D.)

This certificate is subject to the following conditions:

- 1) Approval is granted only for the project with details described in submitted proposal
- 2) Submission of modification to the approved project is needed before implementation
- 3) A yearly progress report is required for renewing of approval
- 4) Written notification is required when the project is complete or terminated

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	กิตติพงษ์ ปาสาณพงศ์
วัน เดือน ปีเกิด	24 กันยายน 2542
สถานที่เกิด	จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมชีวการแพทย์, 2565 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมชีวการแพทย์, 2566
รางวัลที่ได้รับระหว่างการศึกษา	
พ.ศ.2565	เข้าร่วมการประกวดผลงานสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม โครงการ I-New Gen Award 2021-2022 ระดับอุดมศึกษา ในงาน “วันนักประดิษฐ์ 2564-2565” ณ ศูนย์จัดนิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ ได้รับรางวัล 1 รายการดังนี้ 1.รางวัลระดับเหรียญทอง การประกวดผลงาน สิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม โครงการ I-New Gen Award 2021-2022
พ.ศ.2565	ได้รับการเสนอชื่อให้รับรางวัล สิ่งประดิษฐ์และงาน สร้างสรรค์ของมหาวิทยาลัยรังสิต
พ.ศ.2565	เข้าร่วมการประกวดผลงานนวัตกรรมสายอุดมศึกษา ในงาน “มหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2565” ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์และบางกอกคอนเวนชัน เซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ ได้รับรางวัล 3 รายการดังนี้ 1.รางวัลระดับดีเด่น การประกวดนวัตกรรมสาย อุดมศึกษา

ประวัติผู้วิจัย (ต่อ)

- 2.รางวัลระดับดี การเขียนข้อเสนอโครงการผลงาน
นวัตกรรมสายอุดมศึกษา
- 3.รางวัลเหรียญทอง การประกวดผลงานนวัตกรรมสาย
อุดมศึกษา
- พ.ศ.2566 เข้าร่วมการเสนอผลงานขอรับรางวัลการวิจัยแห่งชาติ
รางวัลผลงานประดิษฐ์คิดค้นประจำปี 2566
ในงาน “วันนักประดิษฐ์ 2566”
ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา
กรุงเทพฯ ได้รับพระราชทานเกียรติบัตร รางวัลการวิจัย
แห่งชาติ รางวัลผลงานประดิษฐ์คิดค้นประจำปี 2566
จากสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพ
รัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
- พ.ศ.2566 เข้าร่วมการประกวดผลงานสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม
โครงการ I-New Gen Award 2023 ระดับอุดมศึกษาใน
งาน “วันนักประดิษฐ์ 2566”
ณ ศูนย์จัดนิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา
กรุงเทพฯ ได้รับรางวัล 2 รายการดังนี้
- 1.รางวัลรองชนะเลิศอันดับ 1 การประกวดผลงาน
สิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม โครงการ I-New Gen Award
 - 2.รางวัลระดับเหรียญทอง การประกวดผลงาน
สิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม โครงการ I-New Gen Award
2023
- พ.ศ.2566 เข้าร่วมการประกวดผลงานสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรม
ระดับนานาชาติในงาน “Kaohsiung International
Invention & Design EXPO (KIDE 2023)”
ณ ศูนย์จัดนิทรรศการเมืองเกาสง มณฑลไต้หวัน
(สาธารณรัฐประชาชนจีน) ได้รับรางวัล 2 รายการดังนี้
- 1.รางวัลระดับเหรียญทอง (KIDE 2023 Gold Medal

ประวัติผู้วิจัย (ต่อ)

ที่อยู่ปัจจุบัน

Award)

2.รางวัลพิเศษจากเขตบริหารพิเศษฮ่องกงแห่ง

สาธารณรัฐประชาชนจีน (Hong Kong Special Award)

111/1 หมู่ที่ 11 ตำบลบางแก้ว อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา

จังหวัดฉะเชิงเทรา

