

ผลของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบพลาสมากระแสสลับ 50 เฮิรตซ์ ต่อความเข้ากันได้ทาง
ชีวภาพของฟิล์มเจลาติน



นางสาวจุฑาทิพย์ แซ่ลี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

ปีการศึกษา 2556

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตที่ส่งมาขึ้นทะเบียนที่สำนักงานวิทยานิพนธ์
คลังข้อมูลของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

EFFECTS OF ARGON PLASMA GENERATED FROM AC 50 Hz PLASMA SYSTEM ON THE
BIOCOMPATIBILITY OF GELATIN FILM

Miss Juthathip Saelee



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบพลาสมา กระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ ฟิล์มเจลาติน
โดย	นางสาวจุฑาทิพย์ แซ่ลี
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัฐชาติ มงคลนาวิน

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรงค์ ปวรอาจารย์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัฐชาติ มงคลนาวิน)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไศรดา กนกพานนท์)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร.อิสราวุธ ประเสริฐสังข์)

จุฑาทิพย์ แซ่ลี่ : ผลของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบพลาสมากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน. (EFFECTS OF ARGON PLASMA GENERATED FROM AC 50 Hz PLASMA SYSTEM ON THE BIOCOMPATIBILITY OF GELATIN FILM) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร.รัฐชาติ มงคลนาวัน, 84 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอาร์กอนพลาสมาที่มีต่อสัญญาณวิทยา องค์ประกอบทางเคมีและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน โดยฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางความร้อน (dehydrothermal treatment) จะถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ซึ่งเป็นระบบพลาสมาความดันต่ำที่มีราคาไม่แพง จากการปรับความดันของระบบในชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาในช่วง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ พบว่า อาร์กอนพลาสมาที่เกิดขึ้นมีค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.0-2.2 อิเล็กตรอนโวลต์ และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ย 10^{12} - 10^{18} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อศึกษาสัญญาณพื้นผิวของฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาเป็นเวลา 0-6 นาที พบว่า อาร์กอนพลาสมาสามารถตัดแปรฟิล์มเจลาตินที่มีพื้นผิวเรียบ (Rms 0.49 นาโนเมตร) ให้มีความขรุขระเพิ่มขึ้นโดยมี Rms สูงสุดถึง 9.2 นาโนเมตร ลักษณะของฟิล์มภายหลังการตัดแปรพบว่า ฟิล์มบางส่วนบวมขึ้นในขณะที่พื้นผิวบางส่วนถูกกัดกร่อนหายไป นอกจากนี้ ฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาจะมีความชอบน้ำมากขึ้น โดยค่ามุมสัมผัสของน้ำลดลงจาก 60 องศาเหลือ 27-28 องศา ภายใน 2 นาทีแรกของการตัดแปร เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่มีค่า Rms แตกต่างกัน 3 ค่า ได้แก่ ฟิล์มที่มีค่า Rms 0.73, 5.45 และ 9.2 นาโนเมตร พบว่า โครงสร้างหลักของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรประกอบด้วย คาร์บอน 69.90%, ออกซิเจน 17.98% และไนโตรเจน 12.12% ภายหลังการตัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาพบว่า ปริมาณคาร์บอนลดลง ออกซิเจนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนลดลง เมื่อพิจารณาปริมาณพันธะของคาร์บอนกับออกซิเจนและไนโตรเจนในโครงสร้างฟิล์มเจลาติน พบว่าฟิล์มเจลาตินมีปริมาณพันธะ C-C/C-H ซึ่งเป็นหมู่อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน 45.79%, พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O มีปริมาณ 30.88% และ 23.33% ตามลำดับ ภายหลังการตัดแปรพื้นผิวจะส่งผลให้เกิดอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้นถึง 80% ส่วนพันธะ C-N/C-O ลดลงเหลือ 5-11% และพันธะ N-C=O ซึ่งแสดงหมู่ไฮดรอกซิลลดลงเหลือ 11-15% จากการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน พบว่า การตัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาช่วยส่งเสริมให้เซลล์ผิวหนังของหนูยัดเกาะและเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร โดยสังเกตจาก F-actin cytoskeleton ที่มีลักษณะแผ่มากกว่าและปริมาณเซลล์ที่มีมากกว่าภายหลัง 3 วันของการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้จะเป็นผลร่วมทั้งด้านสัญญาณวิทยาและสมบัติทางเคมีของฟิล์มเจลาตินที่เปลี่ยนไปจากการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

ภาควิชา	วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อนิสิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
ปีการศึกษา	2556	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5370592321 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: GELATIN / ARGON PLASMA / L929 MOUSE FIBROBLAST CELLS

JUTHATHIP SAELEE: EFFECTS OF ARGON PLASMA GENERATED FROM AC 50 Hz PLASMA SYSTEM ON THE BIOCOMPATIBILITY OF GELATIN FILM. ADVISOR: ASSOC. PROF. SIRIPORN DAMRONGSAKKUL, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. RATTACHAT MONGKOLNAVIN, Ph.D., 84 pp.

This research aimed to investigate the effects of argon plasma treatment on the topology, the chemical composition and the response of L929 mouse fibroblast cells on the treated gelatin film. Gelatin film was prepared by solution casting and crosslinked by dehydrothermal (DHT) treatment. The surface of gelatin film was treated by AC 50 Hz plasma which is a low pressure and inexpensive plasma. The operating pressure and treatment time were key parameters to be investigated. The electron temperature and electron density of argon plasma generated when varying operating pressure from 0.11 to 0.22 mbar were at 1.0 - 2.2 eV and 10^{12} - 10^{18} cm⁻³ respectively. The surface topology of untreated gelatin film was relatively smooth with the root mean square (Rms) of 0.49 nm. After treated with argon plasma, the surface of gelatin film became rougher and the Rms of the treated film was increased up to 9.2 nm. The treated film was found to be partly swollen and partly etched. The contact angle of gelatin film was significantly decreased from 60 degree for untreated gelatin to 27-28 degree in treated gelatin film after 2 min of treatment, indicating increased surface hydrophilicity. Considering the chemical structure of untreated and treated gelatin films with three different Rms values (0.73, 5.45 and 9.2 nm), the atomic composition of untreated gelatin film is C 69.90%, O 17.98% and N 12.12%. After Ar plasma treatment, the carbon and nitrogen atomic concentrations were decreased while oxygen concentration was increased. The functionality of C/C-H (aliphatic hydrocarbon) on gelatin surface was 45.79%, while C-N/C-O and N-C=O were 30.88% and 23.33%, respectively. Argon plasma could introduce higher aliphatic hydrocarbon up to 80% and lower C-N/C-O and N-C=O to 5-11% and to 11-15%. The effects of argon plasma modification on the mouse fibroblasts attachment and proliferation on gelatin film were tested and found that argon plasma improved the initial attachment as observed from spreading F-actin cytoskeleton and more proliferated L929 cells after 72 h of culture on treated gelatin film. This could be the results from the changes of topology and chemical composition of gelatin film by argon treatment.

Department: Chemical Engineering

Student's Signature

Field of Study: Chemical Engineering

Advisor's Signature

Academic Year: 2013

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือจากหลายๆ ท่าน ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษา, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัฐชาติ มงคลนาวิน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัย วางแผนการวิจัย การตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และแนวทางในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณ คณะกรรมการ ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรงค์ ปวรอาจารย์ ประธานกรรมการ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โศรดา กนกพานนท์ และ ดร. อิศราวุธ ประเสริฐสังข์ กรรมการ ที่ได้สละเวลาอันมีค่ามาสอบวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ คุณเอกลักษณ์ จันทะระสำหรับข้อมูลทางเทคนิคเกี่ยวกับเครื่องมือ ข้อมูลการทำวิจัยเรื่องพลาสมาและข้อมูลเชิงฟิสิกส์ที่เกี่ยวข้องกับพลาสมา ดร. จุฑามาศ รัตนวรารณณ์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือด้านความรู้ทางด้านการทดลองทางชีวภาพ คุณภักดี อมรสุทธิวัฒน์ สำหรับความช่วยเหลือและข้อเสนอแนะในการทำทดลองตั้งแต่ต้นจนจบงานวิจัย และขอบคุณที่เพื่อน และน้องๆ ที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณผู้ให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการวิจัยวัสดุทางการแพทย์ ห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีพลาสมาและพลังงานพิวซ์ัน ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมพอลิเมอร์ และห้องปฏิบัติการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (i-Tissue Lab) คณะแพทยศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิเคราะห์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและศูนย์เครื่องมือวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัย กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจให้การสนับสนุนตลอดมาจนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 มูลเหตุจูงใจและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎี.....	4
2.1 กระบวนการพลาสมา	4
2.1.1 แหล่งกำเนิดพลาสมา.....	4
2.1.2 คุณลักษณะของพลาสมา	6
2.1.3 เทคนิคการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา.....	6
2.1.3.1 การเคลือบ (sputtering) และการกัดผิว (etching) ด้วยพลาสมา.....	6
2.1.3.2 การเกิดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยพลาสมา (Plasma functionalization or Plasma implantation).....	6
2.1.3.3 การสะสมชั้นบนผิวด้วยพลาสมา (Plasma deposition)	7
2.1.3.4 การเชื่อมขวางด้วยพลาสมา (cross-linking).....	8
2.2 เจลาติน	8
2.3 การเชื่อมขวาง	11
2.3.1 การเชื่อมขวางทางเคมี.....	12
2.3.1.1 การเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde).....	12
2.3.1.2 การเชื่อมขวางด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde).....	12
2.3.1.3 การเชื่อมขวางด้วย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC).....	12

2.3.2 การเชื่อมขวางทางกายภาพ	12
2.3.2.1 การเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อน (Dehydrothermal, DHT)	12
2.3.2.2 การใช้รังสียูวีในการเชื่อมขวาง	13
2.4 เซลล์ผิวหนังของหนู (L929 mouse fibroblast)	13
2.5 ลักษณะของพื้นผิวที่มีผลต่อพฤติกรรมการเจริญเติบโตของเซลล์	14
2.6 การดัดแปรพื้นผิววัสดุในการศึกษาพฤติกรรมของเซลล์	15
2.6.1 การดัดแปรพื้นผิวทางด้านฟิสิกส์และเคมี (Physicochemical)	15
2.6.2 การดัดแปรพื้นผิวด้านชีวเคมี (Biochemical)	16
2.6.3 การดัดแปรพื้นผิวด้านลักษณะพื้นผิว (topography)	16
2.7 เส้นใยแอกติน (F-actin cytoskeleton)	17
บทที่ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 4 วิธีการดำเนินการวิจัย	29
4.1 วัสดุและสารเคมี	29
4.2 อุปกรณ์	30
4.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	31
4.3.1 การเตรียมฟิล์มเจลาติน	31
4.3.2 การติดตั้งชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอน	33
4.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะของพลาสมา	35
4.3.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาติน	36
4.3.4.1 การวิเคราะห์สัณฐานพื้นผิว (morphology)	36
4.3.4.2 การวิเคราะห์ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำจากค่ามุมสัมผัส (contact angle) [Takahashi, Y. และคณะ 2005]	36
4.3.4.3 การวิเคราะห์เคมีพื้นผิว (surface chemistry)	36
4.3.5 การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาตินในระดับห้องปฏิบัติการ	37
4.3.5.1 การเตรียมเซลล์ผิวหนังหนู (mouse fibroblast cell, L929)	37
4.3.5.2 การทดสอบการยึดเกาะ (attachment) และการเจริญเติบโต (proliferation)	37

4.3.5.3 การวิเคราะห์แอกตินไซโทสเกเลตอนของเซลล์ (F-actin cytoskeleton)....	39
4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	39
บทที่ 5 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง	40
5.1 การวิเคราะห์อนุภาคของพลาสมาที่เกิดภายในชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้า กระแสสลับ (AC 50 Hz plasma).....	40
5.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาติน	47
5.2.1 โครงสร้างพื้นฐานของฟิล์มเจลาติน.....	47
5.2.2 สมบัติความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของฟิล์มเจลาติน	53
5.2.3 องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มเจลาติน	55
5.3 สมบัติทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน.....	62
5.3.1 การทดสอบการยึดเกาะ (Attachment) และการเจริญเติบโต (Proliferation) ของ เซลล์ผิวหนังของหนู (L929) บนฟิล์มเจลาติน.....	62
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	70
6.1 สรุปผลการทดลอง.....	70
6.2 ข้อเสนอแนะ.....	73
รายการอ้างอิง	74
ภาคผนวก ก.....	80
ภาคผนวก ข.....	82
ภาคผนวก ค.....	83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	84

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงองค์ประกอบในเจลาติน	10
4.1 ตัวอย่างชิ้นงานฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่ใช้ในการศึกษา	34
5.1 ค่าความดันของระบบจากการปรับอัตราการใช้ของแก๊สอาร์กอน ของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมา โดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ที่สภาวะความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์ พลังงาน 10 วัตต์	40
5.2 ความยาวคลื่นแสงของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์) และชนิดของอนุภาคที่เกิดภายในระบบ	43
5.3 ค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ยของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดันต่างๆ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)	45
5.4 ปริมาณเปอร์เซ็นต์อะตอมของธาตุคาร์บอน ออกซิเจน ไนโตรเจน ซิลิกอน ฟลูออรีน นิกเกิล เหล็กและโครเมียมที่พบบนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มที่ตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscope (XPS).....	56
5.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน ออกซิเจนและไนโตรเจนและปริมาณพันธะของคาร์บอนในโครงสร้างฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ จากการ deconvolute ข้อมูลของสเปกตรัม C1s.....	59
5.6 ตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่นำไปศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนังของหนู (L929) .	62
5.7 ร้อยละการยึดเกาะของเซลล์ L929, เวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (PDT) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของเซลล์ L929 บนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาแก๊สอาร์กอน พลังงาน 10 วัตต์	65
5.8 สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ผิวหนังของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์.....	69
ก.1 ตัวแปรที่ใช้ในการคำนวณหา T_e โดยใช้ข้อมูลจาก NIST	81

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 การจ่ายพลังงานไฟฟ้ากระแสตรงให้กับแก๊สภายในภาชนะปิด	5
2.2 แสดงกระบวนการดัดแปรพื้นผิวแบบ functionalization, deposition, etching และ cross-linking ด้วยเทคนิคพลาสมา	8
2.3 การสกัดเจลาตินชนิด A และชนิด B จากคอลลาเจนด้วยกระบวนการใช้กรดและด่าง	9
2.4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเจลาติน.....	9
2.5 เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ทำหลากหลายหน้าที่ (1) ทำหน้าที่ผลิตและจัดโครงสร้างของ extracellular matrix (ECM) (2) สลายโครงสร้างของ ECM (3) หลั่งสารผสมของ growth factor, cytokines และ chemokines (4) เซลล์จะสื่อสารกับเซลล์อื่นที่อยู่ในโครงของเนื้อเยื่อ (5) เซลล์ทำงานร่วมกันกับเซลล์ประสาทแลนิวโรเปปไทด์ (6) เซลล์ทำงานร่วมกับเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (7) เซลล์ทำงานร่วมกับเนื้อเยื่อบุผิว (8) ไฟโบรบลาสต์แสดงให้เห็นความหลากหลายของรีเซปเตอร์บนพื้นผิวของเซลล์ที่สามารถตอบสนองไปโอแอกทีฟแฟกเตอร์ที่ปลดปล่อยมาจากเซลล์อื่นๆ.....	13
2.6 สันฐานวิทยาของเซลล์ผิวหนังของหนูที่กำลังขยายของกล้อง 10X	14
2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพื้นผิวพอลิไสตรีนและ poly(4-bromostyrene) กับการตอบสนองของเซลล์ Immortalised human fibroblast	15
2.8 โครงสร้าง F-actin ซึ่งประกอบด้วย G-actin.....	17
2.9 ภาพจาก scanning electron microscopy (a, b และ c) และ confocal laser scanning microscopy (d, e และ f) ที่แสดงการยึดเกาะและแผ่ขยายของเซลล์ L929 บนโครงเลี้ยงเซลล์พอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) ที่สร้างด้วยวิธี electrospinning ซึ่งแสดง F-actin (สีแดง) และนิวเคลียส (สีน้ำเงิน) ของเซลล์ L929 ที่มีการย้อมสีด้วย phalloidin และ 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI).....	18
4.1 แผนการดำเนินงานวิจัยโดยรวม.....	32
4.2 แสดงแผนผังชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอน	33
5.1 ความเข้มแสงของอาร์กอนพลาสมาที่ความยาวคลื่นต่างๆ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีแบบเปล่งแสง (Optical Emission Spectroscopy, OES) ที่สภาวะความดัน a) 0.11 มิลลิบาร์ (1 sccm), b) 0.15 มิลลิบาร์ (5 sccm), c) 0.19 มิลลิบาร์ (10 sccm) และ d) 0.22 มิลลิบาร์ (15 sccm) ของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบกระแสไฟฟ้าสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ที่สภาวะความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์ พลังงาน 10 วัตต์	42

รูปที่	หน้า
5.2 อุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) ของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดันที่ 0.11 มิลลิบาร์, 0.15 มิลลิบาร์, 0.19 มิลลิบาร์และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)	44
5.3 ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) ของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์, 0.15 มิลลิบาร์, 0.19 มิลลิบาร์และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)	45
5.4 ค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินที่ได้รับการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ในช่วงเวลาการตัดแปร 0-6 นาที ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์, 0.15 มิลลิบาร์, 0.19 มิลลิบาร์และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)	47
5.5 การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวฟิล์มเจลาตินจากภาพตัดขวางของฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ สภาวะความดัน a) 0.11 มิลลิบาร์, b) 0.15 มิลลิบาร์, c) 0.19 มิลลิบาร์ และ d) 0.22 มิลลิบาร์ และ เวลาในการตัดแปร 0-6 นาที	50
5.6 สัณฐานพื้นผิวฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊ส 0.09 มิลลิบาร์) โดยใช้ระยะเวลาการตัดแปรพื้นผิว 0-6 นาที วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope (AFM) (ระดับความสูงของข้อมูลภาพที่ 50 นาโนเมตร).....	51
5.7 ภาพตัดขวางซึ่งแสดงลักษณะพื้นผิวและความหนาของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร (a) และ ภายหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่ความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปร 3 นาที (b), 4 นาที (c) และที่ความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปร 4 นาที (d) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM) (สเกลบาร์ เท่ากับ 1 ไมโครเมตรและลูกศรแสดงความหนาของชั้นฟิล์ม)	52
5.8 ค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ในช่วงเวลา 0-6 นาที ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์, 0.15 มิลลิบาร์, 0.19 มิลลิบาร์และ 0.22 มิลลิบาร์	53

5.9 สเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรร (a) และภายหลังการตัดแปรรด้วย อาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรร 3 นาที (b) และ 4 นาที (c) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรร 4 นาที (d) ด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscope (XPS) 55

5.10 สเปกตรัม C1s ของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรร (a) และภายหลังการตัดแปรรด้วยอาร์กอน พลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาใน การตัดแปรร 3 นาที (b) และ 4 นาที (c) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัด แปรร 4 นาที (d) 58

5.11 จำนวนเซลล์ L929 ที่ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัด แปรรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาเปรียบเทียบกับภาดเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCP) ในอาหาร เลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, 5% แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณเซลล์ที่ใช้ 1.13×10^4 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร 64

5.12 F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 บนพื้นผิวฟิล์มเจลาติน (a,b) และฟิล์มที่ผ่านการตัด แปรรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรรพื้นผิวที่ 3 นาที (c,d) และ 4 นาที (e,f) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรรพื้นผิว 4 นาที (g,h) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 ชั่วโมงและ 1 วัน (สเกลบาร์ 50 ไมโครเมตร)..... 66

ข.1 กราฟมาตรฐานของการวัดจำนวนเซลล์ผิวหนังของหนูหรือเซลล์ L929 โดยวิธี DNA..... 82

ค.1 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนูหรือเซลล์ L929 บนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลัง การตัดแปรรด้วยอาร์กอนพลาสมาและภาดเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCP) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ชนิด D-MEM ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5%..... 83

บทที่ 1

บทนำ

1.1 มลเหตุจูงใจและที่มาของงานวิจัย

ความสูญเสียหรือการบาดเจ็บของอวัยวะและเนื้อเยื่อเป็นปัญหาสุขภาพซึ่งต้องการการดูแลฟื้นฟูเพื่อให้อวัยวะสามารถทำงานได้เป็นปกติ เนื้อเยื่อบางชนิดเมื่อเกิดการสูญเสียจะไม่มี การสร้างใหม่ได้เอง ตัวอย่างเช่น กระดูก ผิวหนังแท้ เส้นประสาท กล้ามเนื้อหัวใจ เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการนำความรู้สหสาขาวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่ประยุกต์ใช้องค์ความรู้จากหลากหลายสาขาวิชา เช่น ชีววิทยา วัสดุศาสตร์ แพทยศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์ เพื่อพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับนำไปปลูกถ่ายในบริเวณที่เกิดการสูญเสียเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อเริ่มจากเซลล์ที่อยู่บริเวณรอบนอกจะเคลื่อนที่เข้ามายังโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำการปลูกถ่าย และเซลล์จะมีการเจริญเติบโตและสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาทดแทนโครงเลี้ยงเซลล์ซึ่งจะถูกย่อยสลายทางชีวภาพไปตามลำดับ

โดยทั่วไป โครงเลี้ยงเซลล์ที่จะนำมาใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อจะต้องมีสมบัติเบื้องต้นที่สำคัญ คือ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ (มีความเหมาะสมสำหรับการยึดเกาะและสนับสนุนให้เซลล์เจริญเติบโต) โดยพอลิเมอร์ที่นำมาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์จะมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การสร้างเนื้อเยื่อใหม่ทดแทนเนื้อเยื่อเดิมที่สูญเสียไป เซลล์จะมีความสามารถที่แตกต่างกันในการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับสมบัติทางเคมี สมบัติพื้นผิวและสมบัติทางกลของโครงเลี้ยงเซลล์ ตัวอย่างชีววัสดุที่ได้รับการพัฒนาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์อย่างกว้างขวาง ได้แก่ คอลลาเจน เจลาติน ไฟโบรอิน ไคโตซาน เป็นต้น ทั้งนี้เจลาตินจัดเป็นชีววัสดุที่หาได้ง่าย ราคาถูก เพราะมีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารและยาเป็นอย่างมาก [Seal, B. L. และคณะ 2001] เจลาตินเป็นโปรตีนซึ่งได้จากการนำคอลลาเจนมาผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือด่าง เจลาตินมีองค์ประกอบในสายพอลิเปปไทด์เหมือนกับคอลลาเจนซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ในร่างกาย จึงทำให้เจลาตินมีความเข้ากันได้กับเซลล์เป็นอย่างดี [Ioannis, S. A. และคณะ 2002] นอกจากองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุแล้ว สมบัติพื้นผิวของวัสดุ อาทิ ความชอบ/ไม่ชอบน้ำ สัมผัสพื้นผิว ก็มีความสำคัญต่อการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์เช่นเดียวกัน จากรายงานของ Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2010] ได้ทำการศึกษาสมบัติพื้นผิวของเจลาตินที่มีผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ผิวหนังในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการดัดแปรพื้นผิวเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยเทคนิค Pulse Inductively Coupled Plasma (PICP) เนื่องจากเจลาตินที่ผ่านกระบวนการเชื่อมขวางจะมีสมบัติพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการยึดเกาะและเจริญเติบโตของเซลล์ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำเจลาตินที่

เชื่อมขวางแล้วมาผ่านกระบวนการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา ทำให้พื้นผิวมีความชอบน้ำมากขึ้น ซึ่งส่งเสริมให้เซลล์ผิวหนังของหนู (mouse fibroblast cell, L929) สามารถยึดเกาะและเจริญเติบโตได้ดีขึ้น และจากรายงานที่มีการใช้เทคนิคพลาสมาจากไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz) ในการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่เชื่อมขวางแล้ว เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงชนิดของแก๊ส 3 ชนิด ได้แก่ ไนโตรเจน ออกซิเจนและอากาศที่มีต่อการสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกหนู (Bone marrow mesenchym derived stem cell, MSCs) [Prasertsung, I. และคณะ 2011] พบว่า ฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาด้วยแก๊สไนโตรเจนในช่วงเวลาการตัดแปรพื้นผิวตั้งแต่ 15-30 วินาที จะช่วยสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์โดยเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มมีลักษณะแผ่ขยาย ค่ามุมสัมผัสและอัตราส่วนออกซิเจนต่อไนโตรเจนของฟิล์มเจลาตินที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกหนู คือ 27-28 องศาและอัตราส่วนออกซิเจนต่อไนโตรเจน 1.4 นอกจากนี้ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของพื้นผิวแล้ว สัณฐานพื้นผิวของฟิล์มก็ส่งผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ได้เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากรายงานวิจัยของ Saida, P. Khan และคณะ [Saida, P. Khan และคณะ 2005] ซึ่งได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของสัณฐานพื้นผิวของพอลิเมอร์ในระดับนาโนเมตรที่มีผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ประสาท พบว่าพื้นผิวซิลิโคนที่มีสัณฐานพื้นผิวแตกต่างกันจะส่งผลต่อความสามารถในการยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวได้แตกต่างกัน โดยค่าความขรุขระเฉลี่ยของพื้นผิว (Arithmetical mean roughness, R_a) ของพอลิเมอร์ที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ประสาทอยู่ในช่วง 20 ถึง 100 นาโนเมตร

พลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) เป็นพลาสมาชนิดอุณหภูมิต่ำ (cold temperature plasma) ซึ่งใช้แหล่งกำเนิดพลังงานความถี่ต่ำที่หาง่ายและต้นทุนต่ำ จึงทำให้พลาสมาชนิดนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตัดแปรสมบัติพื้นผิวด้านกายภาพและเคมีของพอลิเมอร์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า พลาสมาเป็นทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงสมบัติพื้นผิวของวัสดุที่จะช่วยสนับสนุนการตอบสนองพฤติกรรมของเซลล์ แต่เนื่องจากการตัดแปรพื้นผิวที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ [Prasertsung, I. และคณะ 2011] การตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สออกซิเจน ไนโตรเจนและอากาศ แก๊สทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อทำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิววัสดุ ส่งผลให้ฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาจากแก๊สทั้ง 3 ชนิดนี้มีสมบัติทางเคมีของพื้นผิวฟิล์มเจลาตินเปลี่ยนไปโดยที่สัณฐานพื้นผิวไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นอาจมีปัจจัยจากตัวแปรใดตัวแปรหนึ่ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาการตัดแปรพื้นผิวจากชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอนซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยเพื่อศึกษาผลของอาร์กอนพลาสมาต่อคุณสมบัติด้านกายภาพและเคมีของฟิล์มเจลาตินที่จะส่งต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มต่อเซลล์ผิวหนังของหนู (mouse fibroblast cell, L929)

1.2 วัตถุประสงค์

ศึกษาผลของการดัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางแล้วโดยใช้อาร์กอนพลาสมา จากชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ต่อสมบัติด้านกายภาพและเคมีของฟิล์มเจลาตินที่จะส่งผลต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 เตรียมฟิล์มเจลาตินจากสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักบนแผ่นกระจกและเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อน (dehydrothermal) ในตู้อบสูญญากาศ อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.3.2 ดัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอน ควบคุมพลังงานที่ 10 วัตต์ ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่

- อัตราการไหลของแก๊ส 1, 5, 10 และ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที
- ระยะระหว่างอิเล็กโทรดที่ 1 เซนติเมตร
- เวลาที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวด้วยพลาสมาที่ช่วงเวลา 0-6 นาที

1.3.3 วิเคราะห์คุณลักษณะของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma)

- อุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (N_e)

1.3.4 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma)

- สัณฐานพื้นผิว (morphology) ของฟิล์มเจลาติน
- ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ (hydrophilicity/hydrophobicity)
- องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิว (surface chemistry)

1.3.4 ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพโดยใช้เซลล์ผิวหนังหนู (mouse fibroblast cell, L929)

- ทดสอบการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ด้วยการหาจำนวนเซลล์โดยวิธี DNA assay

- ทดสอบการแผ่ขยายของเซลล์โดยศึกษาจาก F-actin cytoskeleton ของเซลล์ ด้วยวิธีการย้อมสี Phalloidin



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 กระบวนการพลาสมา [Chu, P. K. และคณะ 2002]

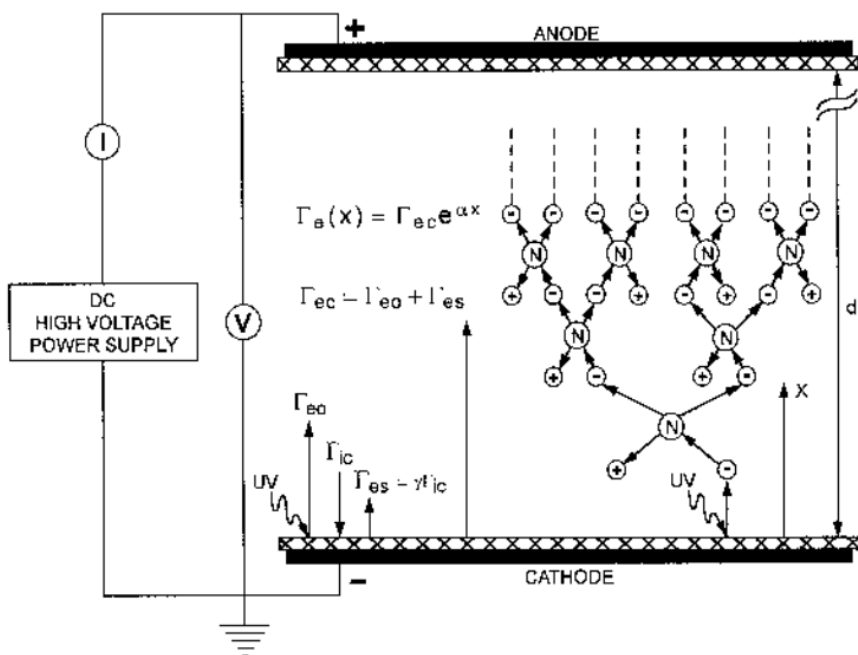
พลาสมาเป็นสสารสถานะที่ 4 ที่ประกอบด้วยอะตอม โมเลกุลหรือไอออนที่มีพลังงานกระตุ้นสูง โดยทั่วไปแก๊สพลาสมาเกิดจากการกระตุ้นแก๊สด้วยพลังงานไฟฟ้า คลื่นความถี่วิทยุ (radio frequency) หรือคลื่นไมโครเวฟ ความหนาแน่นของไอออนในพลาสมาสามารถเปลี่ยนสมบัติด้านพื้นผิวของวัสดุ เช่น พลังงานพื้นผิวของวัสดุที่สามารถปรับปรุงความแข็งแรงในการยึดเกาะ (adhesion strength) คุณสมบัติด้านพื้นผิวและการเคลือบ และความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ซึ่งเทคนิคพลาสมาจะมีข้อดีทางด้านวิศวกรรมวัสดุชีวภาพ คือ ไม่แพงและสามารถนำไปประยุกต์ในการปรับปรุงพื้นผิวโลหะ พอลิเมอร์ เซรามิก และคอมโพสิต การปรับปรุงพื้นผิวด้วยพลาสมาจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติพื้นผิว เช่น ทางเคมี ชีวภาพ ไฟฟ้า และทางกล พลาสมายังสามารถกำจัดเชื้อโรคบนพื้นผิววัสดุและสามารถพัฒนาไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ พลาสมาสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติอื่นๆ อย่างต่อเนื่อง เช่น ความชอบน้ำ การยึดเกาะโลหะ การย้อมสี ดัชนีหักเห ความแข็ง ความเหนียวทางเคมี ความลื่นและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของพื้นผิววัสดุ บทบาทของเทคโนโลยีพลาสมาด้านการแพทย์ที่น่าสนใจ เช่น การทำให้ปลอดเชื้อ (sterilization) การเคลือบ และการตัดแปรรูปอุปกรณ์ปลูกถ่ายทางการแพทย์ เคมีพื้นผิวของวัสดุ เลเซอร์แก๊สที่ใช้ในการผ่าตัด เป็นต้น

พลาสมาแบ่งตามอุณหภูมิออกเป็น 2 ประเภท คือ hot plasma และ cold plasma [Claire, T และคณะ 2006] สำหรับ hot plasma จะมีพลังงานสูงซึ่งจะเหนี่ยวนำให้โมเลกุลของสารหลุดออกในระดับอะตอม ดังนั้น พลาสมาชนิดนี้จะถูกใช้ในการสร้างพลังงานสูงหรือการตัดแปรรูปวัสดุ โลหะ โลหะออกไซด์ เป็นต้น เนื่องจากอุณหภูมิของแก๊สที่สูงใน hot plasma ไม่มีความเหมาะสมในการตัดแปรรูปพื้นผิวฟิล์ม ดังนั้นจึงต้องการพลาสมาแบบ cold plasma ซึ่งนิยมนำมาใช้ในการตัดแปรรูปพื้นผิวกันอย่างกว้างขวาง

2.1.1 แหล่งกำเนิดพลาสมา

กระบวนการเกิดพลาสมาเกิดจากการไอออไนเซชันของอะตอมหรือโมเลกุลในสถานะแก๊สที่ได้รับพลังงานเพียงพอจากแหล่งกระตุ้นภายนอกทำให้อิเล็กตรอนหลุดออก แหล่งกำเนิดพลาสมาที่เกิดจากการกระตุ้นแก๊สด้วยพลังงานไฟฟ้า แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แหล่งกำเนิดพลาสมาที่มาจากระแสตรง (Direct electrical discharge, DC) และแหล่งกำเนิดพลาสมาที่มาจากกระแสสลับ

(Alternating electrical discharge, AC) แหล่งกำเนิดพลาสมาที่มาจากกระแสไฟทั้งสองประเภทสามารถอธิบายได้จากทฤษฎีกลไกการเบรกดาวนของ Townsend [Chu, P. K. และคณะ 2002] แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 การจ่ายพลังงานไฟฟ้ากระแสตรงให้กับแก๊สภายในภาชนะปิด [Wong, C. S. และคณะ 2002]

การเบรกดาวนในทางไฟฟ้า (Electrical breakdown) หมายถึง การป้อนแรงดันไฟฟ้าให้กับฉนวนซึ่งมีค่าเกินความสามารถของฉนวนที่จะทนแรงดันไฟฟ้าหรือทนต่อสนามไฟฟ้านั้นได้ จึงทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าไหลผ่านฉนวน การเกิดเบรกดาวนในแก๊ส พบว่าแก๊สประกอบด้วยโมเลกุลที่เป็นกลาง เมื่อแก๊สได้รับพลังงานจากภายนอกแล้วป้อนแรงดันไฟฟ้ากับตัวนำที่คั่นด้วยแก๊ส สภาพฉนวนของแก๊สจะเสียไปเมื่อมีการดิสชาร์จเกิดขึ้นซึ่งเป็นปรากฏการณ์การไหลของกระแสไฟฟ้าผ่านแก๊สโดยอาศัยการเคลื่อนที่ของประจุที่เกิดจากการไอออไนเซชัน

ตามทฤษฎีกลไกการเบรกดาวนของ Townsend (Townsend breakdown mechanisms) ได้กล่าวไว้ว่า การเบรกดาวนในแก๊สนั้นเกิดจากการเพิ่มจำนวนของอิเล็กตรอนในช่องว่างระหว่างอิเล็กโทรด หรือที่เรียกว่าการไอออไนเซชัน ซึ่ง Townsend ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกระแสระหว่างอิเล็กโทรดที่อยู่ภายในภาชนะปิดซึ่งบรรจุแก๊สบริสุทธิ์ พบว่าเมื่อมีการเพิ่มแรงดันซึ่งตกคร่อมอิเล็กโทรดทั้งสองจะทำให้เกิดสนามไฟฟ้าอิเล็กตรอนเกิดขึ้นที่ชั่วลบ เนื่องจากรังสีอุทกกระทบไปยังแคโทดและขณะนั้นกระแสเริ่มต้นทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่จากชั่วลบไปยังชั่วบวกและเกิดการ

ชนกับโมเลกุลของแก๊ส ทำให้กระแสเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็นเหตุให้เกิดการเบรกดาวนนิ่งที่สุด ซึ่งจะส่งผลให้ภายในภาชนะปิดเกิดพลาสมา

2.1.2 คุณสมบัติของพลาสมา

การศึกษาคุณสมบัติของพลาสมาสามารถพิจารณาได้จากความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิอิเล็กตรอน (eV) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (cm^{-3}) เมื่อพิจารณาระบบของพลาสมาเป็นแบบ Local Thermodynamic Equilibrium (LTE) ความเร็วของอนุภาคทั้งหมดภายในระบบถูกอธิบายได้จากฟังก์ชันการกระจายตัวแบบ Maxwellian และจำนวนอะตอมภายในระบบอธิบายได้จากกฎของ Boltzmann ดังสมการ

$$\begin{aligned}\frac{n_j}{n_i} &= \frac{g_j}{g_i} \exp\left[-\frac{E_j - E_i}{kT}\right] \\ &= \frac{g_j}{g_i} \exp\left[-\frac{h(\nu_j - \nu_i)}{kT}\right]\end{aligned}$$

ต่อมาได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการอธิบายการไอออไนเซชันของอะตอมภายในระบบจากสมการซาฮา (Saha equation) ดังนั้นจึงสามารถนำมาคำนวณอุณหภูมิและความหนาแน่นอิเล็กตรอนได้

$$\frac{n_e n_+}{n_0} = \frac{g_0^+}{g_0} \frac{2(2\pi m_e kT)^{3/2}}{h^3} \exp\left(-\frac{\epsilon_I}{kT}\right)$$

2.1.3 เทคนิคการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา [Chu, P. K. และคณะ 2002]

เทคนิคพลาสมาเป็นวิธีที่สะดวกในการนำมาตัดแปรพื้นผิวของวัสดุ ซึ่งพลาสมาสามารถตัดแปรพื้นผิวได้หลายรูปแบบ ได้แก่

2.1.3.1 การเคลือบ (sputtering) และการกัดผิว (etching) ด้วยพลาสมา ผิวของแข็งจะถูกระดมยิงด้วยอนุภาคที่มีพลังงาน เช่น ไอออนของแก๊ส อะตอมที่ผิวของแข็งจะหลุดออกมา อะตอมที่หลุดออกมาจากผิวของแข็งนี้จะไปก่อตัวบนชิ้นงานเกิดเป็นฟิล์มบาง โดยทั่วไปแล้ว การเคลือบจะใช้แก๊สอาร์กอนเพราะมีราคาไม่แพงและมีประสิทธิภาพในการเคลือบผิวสูง สำหรับกระบวนการกัดผิว (etching) จะเกิดจากการตัดพันธะของพอลิเมอร์และการทำปฏิกิริยาของเรดิคอลที่เกิดในสายโซ่พอลิเมอร์ในระบบพลาสมา ทำให้พื้นผิวของชิ้นงานหลุดออก

2.1.3.2 การเกิดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยพลาสมา (Plasma functionalization or Plasma implantation) [Pashkuleva I. และคณะ 2005] เป็นการตัดแปรพื้นผิวด้วยการสร้างหมู่ฟังก์ชันทางเคมีหรืออะตอมยึดเกาะบนพื้นผิว เนื่องจากไฮโดรเจนจากสายโซ่พอลิเมอร์จะสร้างเรดิคอลซึ่งจะไปรวมกับเรดิคอลเดี่ยวที่เกิดจากพลาสมาที่มีการใช้แก๊สเพื่อสร้างพื้นผิวที่มีความชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำ

แก๊สที่ใช้ ได้แก่ ออกซิเจน (เหนี่ยวนำให้เกิดกลุ่ม -OH, -C=O, -COOH) หรือไนโตรเจน (เหนี่ยวนำให้เกิดกลุ่ม -NO₂, -NH₂, -CONH₂) ซึ่งจะส่งผลในการปรับปรุงด้านการยึดติด (adhesion strength) หรือสมบัติด้านความเข้ากันได้ทางชีวภาพ พลาสมาที่มีส่วนประกอบทางเคมีอื่นๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์และไนตริกออกไซด์ สามารถทำให้พื้นผิวพอลิเมอร์มีคุณสมบัติชอบน้ำได้ นอกจากนี้ ฟังก์ชันของออกซิเจนและคลอรีนสามารถสนับสนุนการเพิ่มคุณสมบัติความชอบน้ำที่เกิดขึ้นโดยใช้พลาสมา CF₂C และ CCl₄ ในทางตรงกันข้าม ถ้าต้องการปรับปรุงพอลิเมอร์ให้มีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ ควรใช้แก๊สที่มีส่วนประกอบของ SF₆, CF₄, และ C₂F₆

2.1.3.3 การสะสมชั้นบนผิวด้วยพลาสมา (Plasma deposition) เทคนิคนี้มีความสำคัญต่อการตัดแปรพื้นผิววัสดุในวิศวกรรมวัสดุชีวภาพ การสะสมชั้นบนผิวด้วยพลาสมาจะทำให้เกิดชั้นที่มีสมบัติแตกต่างจากเนื้อวัสดุ ตัวอย่างเทคนิคของการสะสมชั้นบนผิวด้วยพลาสมา เช่น การเกิดพอลิเมอร์โรเซชันและการเกิดสายโซ่กิ่งของโคพอลิเมอร์

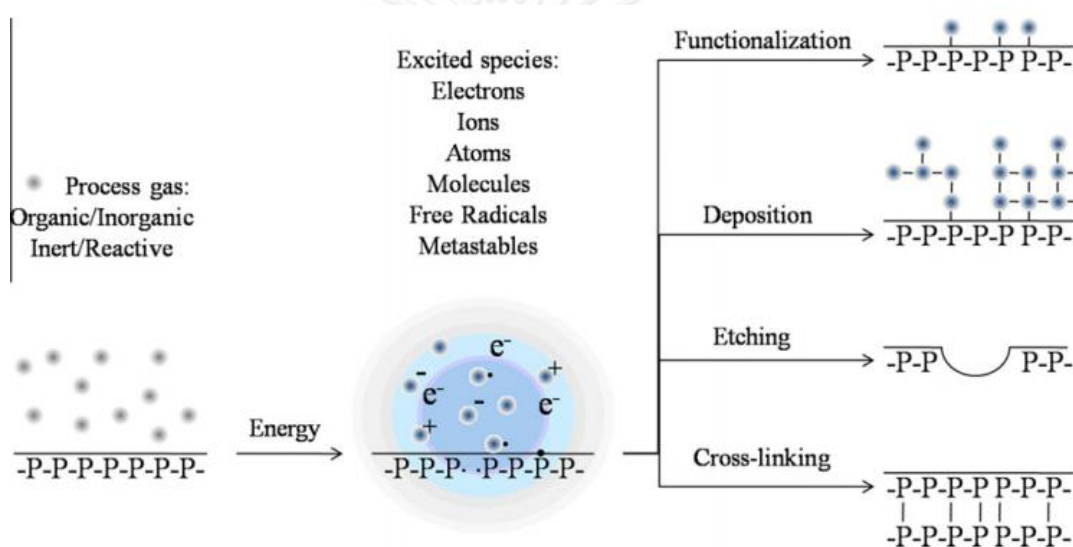
- การเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์โรเซชันด้วยพลาสมา (Plasma polymerization) การเปลี่ยนแปลงรูปของโมเลกุลที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุลต่ำ (มอนอเมอร์) เกิดเป็นโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า (พอลิเมอร์) ซึ่งเกิดจากการสนับสนุนอนุภาคพลาสมาที่มีพลังงาน เช่น อิเล็กตรอน ไอออนและเรดิคัล พอลิเมอร์ที่เกิดจากการพอลิเมอร์โรเซชันด้วยกระบวนการพลาสมา มักพบว่า คุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างจากการเกิดพอลิเมอร์โรเซชันแบบปกติ โดยกรณีของพอลิเมอร์ที่เกิดจากพลาสมาจะมีคามอดูลัสของการยืดหยุ่นที่สูงและจะไม่แสดงอุณหภูมิการเปลี่ยนจากสถานะคล้ายแก้วอย่างชัดเจน พลาสมาของแก๊สอินทรีย์ที่ประกอบด้วยฟลูออรีน เช่น ฟลูออรีน ไฮโดรเจนฟลูออไรด์ ไนโตรเจนไตรฟลูออไรด์ โบรมีนไตรฟลูออไรด์ ซัลเฟอร์เตตระฟลูออไรด์และซัลเฟอร์เฮกซะฟลูออไรด์ มอนอเมอร์ถูกใช้ในการผลิตพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ พลาสมาพอลิเมอร์คิดค้นโดยใช้ออกาโน-ซิลิกอนมอนอเมอร์ (organo-silicon monomers) จะมีความสามารถในการต้านทานความร้อนและการเกิดปฏิกิริยาเคมี นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มสมบัติทางไฟฟ้า โดยทั่วไป สารตั้งต้นของอกาโน-ซิลิกอนที่นำมาใช้ ได้แก่ silane, disilane (SiSi), disiloxane (SiOSi), disilazane (SiNHSi) และ disilthiane (SiSSi)

- การเกิดสายโซ่กิ่งของโคพอลิเมอร์ (Plasma grafting copolymerization) เมื่อวัสดุพอลิเมอร์สัมผัสกับพลาสมาของแก๊สชนิดต่างๆ เช่น อาร์กอน ฮีเลียมหรือไนโตรเจน ส่งผลให้เกิดการชนกันระหว่างอิเล็กตรอนในพลาสมา กับพื้นผิวพอลิเมอร์ ทำให้เกิดเรดิคัลบนพื้นผิวของวัสดุ เรดิคัลนี้จะทำปฏิกิริยาพอลิเมอร์โรเซชันเมื่อสัมผัสกับมอนอเมอร์

หรือสารละลายอินทรีย์ของมอนอเมอร์ที่อยู่ในเฟสของเหลวหรือแก๊ส ผลที่เกิดขึ้นคือ เกิดโคพอลิเมอร์ที่จัดเรียงเป็นสายโซ่กึ่งบนพื้นผิววัสดุ

2.1.3.4 การเชื่อมขวางด้วยพลาสมา (cross-linking) เป็นกระบวนการออกซิไดซ์โดยกลไกของเรดิคอลลิสระ (free radical) ส่งผลให้สายโซ่ถูกตัดให้สั้นลงและเกิดการเชื่อมพันธะเพื่อให้โครงสร้างโมเลกุลภายในวัสดุเกิดการเชื่อมขวางขึ้น ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติการละลาย ความคงตัวของวัสดุ และเพิ่มความสามารถในการยึดติด เป็นต้น

กระบวนการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาด้วยวิธีต่างๆ สามารถสรุปได้ดังรูปที่ 2.2

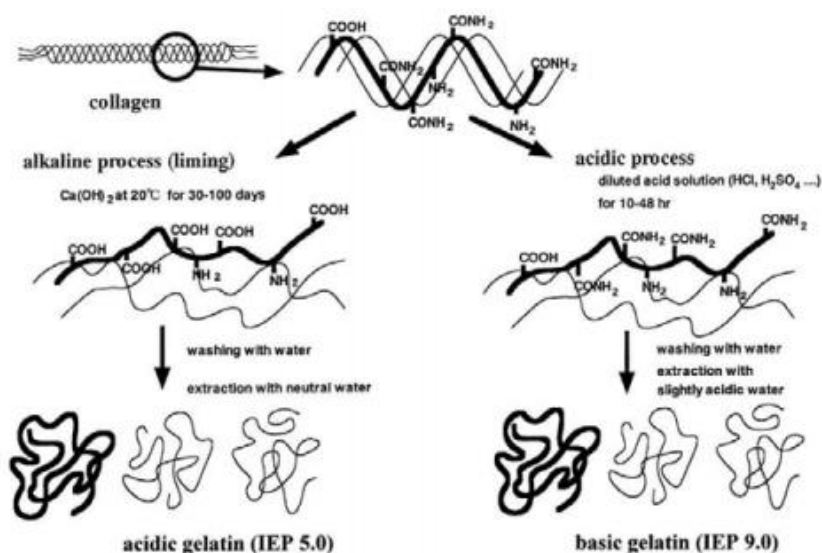


รูปที่ 2.2 แสดงกระบวนการตัดแปรพื้นผิวแบบ functionalization, deposition, etching และ cross-linking ด้วยเทคนิคพลาสมา [Kateryna B. และคณะ 2011]

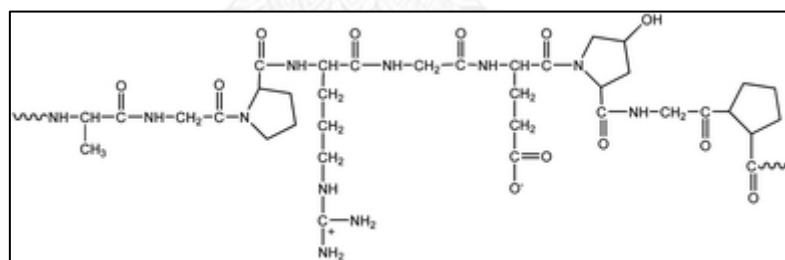
2.2 เจลาติน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่พบมากในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง (ประมาณ 50% ของโปรตีนทั้งหมดในมนุษย์) การแตกสลายทางเคมีหรือความร้อนของสายโซ่พอลิเปปไทด์ของคอลลาเจนจะเกิดเป็นเจลาติน คอลลาเจนที่ไม่ละลายน้ำจะเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินที่ละลายน้ำได้โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือด่าง กระบวนการทั้งสองนี้มักใช้ในการผลิตเจลาตินระดับการค้า ในกระบวนการที่ใช้ด่าง คอลลาเจนในหนังสัตว์หรือกระดูกที่เอาแร่ธาตุออกจะเกิดการสลายโครงสร้างโมเลกุลบางส่วนที่อุณหภูมิสูง (partly depolymerized) โดยการใช้ด่าง (liming) เพื่อให้เกิดกระบวนการไฮโดรไลซิสกลุ่มเอไมด์ในคอลลาเจน ผลที่เกิดขึ้นคือ เจลาตินที่มีกลุ่มคาร์บอกซิล (COOH) ในปริมาณมากและมีค่า isoelectric point (pI) ประมาณ 5.0 ซึ่งเรียกว่าเจลาตินชนิด B ในกระบวนการผลิตเจลาตินอีกประเภทหนึ่งคือ การใช้กรด ซึ่งจะให้ได้เจลาติน

ชนิด A ที่มีหมู่อะมิโน (NH_2) สูง ส่งผลให้เจลาตินชนิด A มีประจุบวกมากกว่าเจลาตินชนิด B โดยเจลาตินชนิด A มีค่า Isoelectric point (pI) ประมาณ 9.0 กระบวนการไฮโดรไลซิสทั้งสองประเภทสรุปได้ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การสกัดเจลาตินชนิด A และชนิด B จากคอลลาเจนด้วยกระบวนการใช้กรดและด่าง [Tabata Y. และ Ikada Y. 1998]



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเจลาติน

ปัจจุบัน คอลลาเจนและเจลาตินได้รับความสนใจในหลายด้าน ตัวอย่างเช่น ด้านศัลยกรรม (แผ่นปิดบาดแผล) เคมีเกี่ยวกับหนัง (การฟอกหนัง) ด้านยา (ผลิตภัณฑ์แคปซูล เช่น ตัวประสานของเม็ดยา) และด้านวิทยาศาสตร์อาหาร (เจล ฟิล์มที่บริโภคได้) ประมาณ 65% ของอุตสาหกรรมเจลาตินทั่วโลกถูกใช้ในอาหาร 20% การประยุกต์ใช้เกี่ยวกับรูปถ่าย 10% เป็นผลิตภัณฑ์ด้านยา และ 5% จะเป็นด้านการประยุกต์อุตสาหกรรมและด้านเฉพาะทาง

โครงสร้างของเจลาตินประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ 18 ชนิดที่เชื่อมกันด้วยพันธะเปปไทด์ซึ่งแสดงได้ดังรูปที่ 2.4 ประเภทของกรดอะมิโนและปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดสรุปดังตารางที่ 1 โดยจะมีไกลซีน (glycine) (ประมาณ 1 ใน 3 ของทั้งหมด) ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) และโพรลีน (proline) มาก

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบในเจลาติน [Tabata, Y. และคณะ 1998]

กรดอะมิโน	% โดยน้ำหนักของกรดอะมิโนในเจลาติน
Alanine	8.9
Arginine	7.8
Asperic acid	6.0
Glutamic acid	10.0
Glycine	21.4
Histidine	0.8
Hydroxylysine	1.0
Hydroxyproline	11.9
Isoleucine	1.5
Leucine	3.3
Lycine	3.5
Methionine	0.7
Phenylalanine	2.4
Proline	12.4
Serine	3.6
Theronine	2.1
Tyrosine	0.5
Valine	2.2
Total	100

2.3 การเชื่อมขวาง

การเชื่อมขวาง (crosslinking) เป็นกระบวนการทางเคมีที่เชื่อมต่อโมเลกุล 2 โมเลกุลหรือมากกว่านั้นด้วยพันธะโควาเลนต์ เพื่อปรับเปลี่ยนการละลายหรือคุณสมบัติอื่นๆ ของโมเลกุล อย่างไรก็ตาม ความซับซ้อนของโครงสร้างโปรตีน ซึ่งรวมถึงกลุ่มกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน 20 ชนิด มีเพียงไม่กี่ชนิดที่ถูกเลือกสำหรับวิธี bioconjugation โดยมีหมู่ฟังก์ชัน 4 ประเภทที่เป็นตัวหลักในการเชื่อมขวางและการตัดแปรทางเคมี ได้แก่

- เอมีน ($-NH_2$) กลุ่มเอมีนจะอยู่ด้าน N-terminus ของแต่ละสายโซ่พอลิเปปไทด์และจะอยู่ในสายโซ่ข้างของไลซีน
- คาร์บอกซิล ($-COOH$) กลุ่มนี้จะอยู่ด้าน C-terminus ของแต่ละสายโซ่พอลิเปปไทด์และอยู่สายโซ่ด้านข้างของกรดแอสปาทิกและกรดกลูตามิก
- ซัลไฮดริล ($-SH$) กลุ่มนี้อยู่ในสายโซ่ข้างของซิสเทอีน จะพบบ่อยที่เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างโปรตีนทุดิยภูมิและตติยภูมิ ซิสเทอีนจะเชื่อมเข้าด้วยกันระหว่างสายโซ่ด้านข้างของมันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ($-S-S$)
- คาร์บอนิล ($-CHO$) กลุ่มแอลดีไฮด์สามารถสร้างโดยการออกซิไดซ์คาร์โบไฮเดรตในไกลโคโปรตีน

สำหรับการเชื่อมขวางโปรตีนโดยใช้สารเคมีซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ปลายอย่างน้อย 2 หมู่ ซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะทางเคมีบนโปรตีนหรือโมเลกุลอื่นๆ การยึดเกาะระหว่าง 2 หมู่ฟังก์ชันบนโปรตีนโมเลกุลเดียวกันจะเกิดผลการเชื่อมขวางภายในโมเลกุล (intramolecular) การยึดเกาะระหว่างกลุ่มบนโปรตีนที่แตกต่างกัน 2 โมเลกุล จะมีผลในการเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางภายในโมเลกุลทำให้โปรตีนมีความคงตัวมากขึ้น ตัวอย่างการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนกับโปรตีน เช่น การคอนจูเกจ การ immobilize เป็นต้น กระบวนการเชื่อมขวางแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การเชื่อมขวางทางเคมีและการเชื่อมขวางทางกายภาพ

สำหรับการเชื่อมขวางโปรตีนโดยใช้สารเคมีซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ปลายอย่างน้อย 2 หมู่ ซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะทางเคมีบนโปรตีนหรือโมเลกุลอื่นๆ การยึดเกาะระหว่าง 2 หมู่ฟังก์ชันบนโปรตีนโมเลกุลเดียวกันจะเกิดผลการเชื่อมขวางภายในโมเลกุล (intramolecular) การยึดเกาะระหว่างกลุ่มบนโปรตีนที่แตกต่างกัน 2 โมเลกุล จะมีผลในการเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางภายในโมเลกุลทำให้โปรตีนมีความคงตัวมากขึ้น ตัวอย่างการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนกับโปรตีน เช่น การคอนจูเกจ การ immobilize เป็นต้น กระบวนการเชื่อมขวางแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การเชื่อมขวางทางเคมีและการเชื่อมขวางทางกายภาพ

2.3.1 การเชื่อมขวางทางเคมี

เป็นกระบวนการเชื่อมขวางที่ใช้สารเคมีในการเชื่อมขวางซึ่งสารเคมีที่นิยมใช้ได้แก่ Glutalaldehyde(GA), formaldehyde และ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC) เป็นต้น

2.3.1.1 การเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) [Ma, L. และคณะ 2003]

กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนห้าอะตอมมีลักษณะสายโซ่ตรงซึ่งมีจุดเด่นที่ปลายสายโซ่ทั้งสองข้าง กล่าวคือ มีหมู่แอลดีไฮด์อยู่ที่ปลายสายโซ่ซึ่งหมู่แอลดีไฮด์จะช่วยทำหน้าที่ในการเชื่อมขวางหมู่อะมิโนของโปรตีน ข้อดีของการใช้กลูตารัลดีไฮด์ในการเชื่อมขวางคือ การเชื่อมขวางจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ แต่มีข้อเสียคือ สารกลูตารัลดีไฮด์ เป็นสารที่มีพิษต่อร่างกายและเซลล์

2.3.1.2 การเชื่อมขวางด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)

เป็นการเชื่อมขวางอีกวิธีที่ใช้หลักการเดียวกันกับการเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์ คือ หมู่แอลดีไฮด์จะทำหน้าที่ในการเชื่อมขวางพันธะหมู่อะมิโนของโปรตีน โดยมีข้อแตกต่างคือการเชื่อมขวางด้วยฟอร์มัลดีไฮด์จะมีความเป็นพิษต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์และมีประสิทธิภาพในการเชื่อมขวางที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์

2.3.1.3 การเชื่อมขวางด้วย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) [Pieper, J. S. และคณะ 2000]

การเชื่อมขวางด้วย EDC เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเนื่องจากจุดเด่นของการเชื่อมขวางด้วย EDC คือ ภายหลังจากสิ้นสุดกระบวนการเชื่อมขวางจะได้อนุพันธ์ของยูเรียหรือ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) urea ซึ่งไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และสามารถกำจัดออกได้ง่ายด้วยน้ำซึ่งการเชื่อมขวางด้วย EDC เป็นการเชื่อมขวางระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโน

2.3.2 การเชื่อมขวางทางกายภาพ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.3.2.1 การเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อน (Dehydrothermal, DHT)

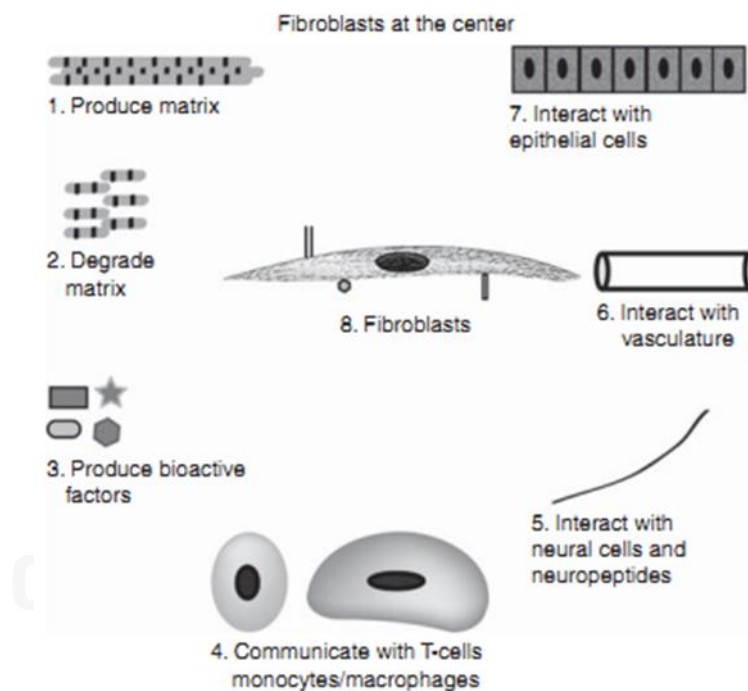
การเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อนเป็นวิธีทางกายภาพในการเชื่อมขวางโมเลกุลที่เป็นการหลีกเลี่ยงการเกิดความเป็นพิษจากสารเคมีที่ใช้ในการเชื่อมขวาง วิธีนี้จะทำให้ระบบสุญญากาศในตู้อบที่อุณหภูมิสูง เกิดการกำจัดน้ำออกเกือบทั้งหมด (ปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ < 1%) เพื่อให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างภายในโมเลกุล การเชื่อมขวางระหว่างการ DHT นี้จะขึ้นอยู่กับค่าเอโมเลกุลของน้ำออกจากเจลาติน การเชื่อมขวางจะเกิดเมื่อหมู่อะมิโนและคาร์บอกซิลอยู่ใกล้กัน ทำให้เกิดโครงสร้างที่ลดอัตราการย่อยสลาย [Wess, T. และคณะ 2000]

2.3.2.2 การใช้รังสียูวีในการเชื่อมขวาง

การใช้รังสียูวีเป็นการสร้างเรติคูลที่อะโรมาติกของกรดอะมิโนของเจลาติน เช่น ไทโรซีน และฟีนิลอะลานีน เรติคูลที่สัมพันธ์กันจะทำปฏิกิริยากันทำให้เกิดการเชื่อมขวางโดยข้อจำกัดของการเชื่อมขวางจะเกี่ยวข้องกับจำนวนของกรดอะมิโน

2.4 เซลล์ผิวหนังของหนู (L929 mouse fibroblast) [Donzelli, E. และคณะ 2007]

ไฟโบรบลาสต์เป็นเซลล์ชนิดหนึ่งที่สังเคราะห์ extracellular matrix และคอลลาเจน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อในสัตว์ ไฟโบรบลาสต์พบมากในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน สันฐานวิทยาของเซลล์ชนิดนี้มีรูปร่างหลายแบบขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่เซลล์อาศัยและหน้าที่ของเซลล์ ส่วนใหญ่ไฟโบรบลาสต์มักพบว่า เซลล์มีลักษณะยาวเรียว หน้าที่หลักของไฟโบรบลาสต์ คือ รักษาโครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันให้สมบูรณ์จากการสร้าง extracellular matrix อย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 2.5 เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ทำหลากหลายหน้าที่ (1) ทำหน้าที่ผลิตและจัดโครงสร้างของ extracellular matrix (ECM) (2) สลายโครงสร้างของ ECM (3) หลั่งสารผสมของ growth factor, cytokines และ chemokines (4) เซลล์จะสื่อสารกับเซลล์อื่นที่อยู่ในโครงของเนื้อเยื่อ (5) เซลล์ทำงานร่วมกันกับเซลล์ประสาทแลนิวโรเปปไทด์ (6) เซลล์ทำงานร่วมกับเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (7) เซลล์ทำงานร่วมกับเนื้อเยื่อภูมิคุ้มกัน (8) ไฟโบรบลาสต์แสดงให้เห็นความหลากหลายของรีเซปเตอร์บนพื้นผิว

ของเซลล์ที่สามารถตอบสนองไปโอแอกทีฟแพกเตอร์ที่ปลดปล่อยมาจากเซลล์อื่นๆ [Donzelli, E. และคณะ 2007]

ไฟโบรบลาสต์ที่ใช้ในการทดสอบสำหรับงานวิจัยนี้เป็นเซลล์ผิวหนังของหนูหรือ L929 mouse fibroblastic cell line ซึ่งเป็นเซลล์มาตรฐานที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษในระดับห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 10993-5 และยังเป็นเซลล์ที่นิยมใช้ในหลายๆ การทดลองเพื่อทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ [Komori, T. และคณะ 1998]

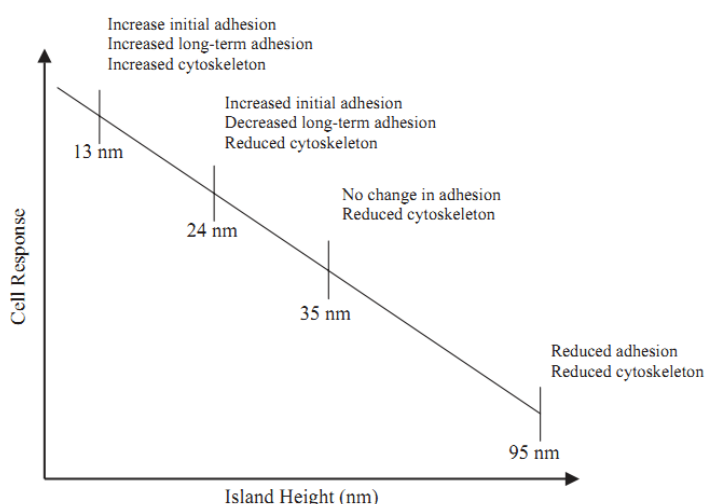


รูปที่ 2.6 สัณฐานวิทยาของเซลล์ผิวหนังของหนูที่กำลังขยายของกล้อง 10X [Komori, T. และคณะ 1998]

2.5 ลักษณะของพื้นผิวที่มีผลต่อพฤติกรรมการเจริญเติบโตของเซลล์

ชีววัสดุที่นำมาศึกษาเพื่อใช้ในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อนั้นมีความต้องการพัฒนาวัสดุเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุนั้นอาจใช้สารเคมีเพื่อเพิ่มหมู่ฟังก์ชันหรือใช้เครื่องมือในการดัดแปรพื้นผิววัสดุด้านกายภาพให้มีความเหมาะสมต่อการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ คุณสมบัติหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์นั้นคือ สัณฐานพื้นผิวของวัสดุ โดยสัณฐานพื้นผิวของวัสดุจะแสดงถึงลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวซึ่งการวิเคราะห์สมบัติของวัสดุนี้สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง atomic force microscopy (AFM) ผลการวิเคราะห์จะแสดงผลเชิงปริมาณซึ่งรายงานเป็นค่าเฉลี่ย Rms หรือ R_a และผลเชิงคุณภาพซึ่งแสดงเป็นภาพพื้นผิว 3 มิติ สัณฐานพื้นผิวในระดับไมโครเมตรที่มีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์ได้มีผู้ศึกษาจำนวนมากว่า เซลล์มีการตอบสนองต่อพื้นผิวที่มีความขรุขระในระดับไมโครเมตรซึ่งจะส่งผลต่อการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่ในการศึกษาการตอบสนองของเซลล์ต่อวัสดุที่มีสัณฐานพื้นผิวในระดับนาโนเมตรนั้นอาจต้องพิจารณาถึงชนิดของเซลล์ที่นำมาทดสอบ จากการรายงานของ Clark P. และคณะ [Clark P. และคณะ 1991] พื้นผิวที่มีการเรียงตัวของแนวสันเขาที่มีความลึกระหว่าง 100-400 นาโนเมตรและช่องว่างระหว่างสันเขา 260 นาโนเมตร พบว่า เซลล์ประสาท (neuronal cell) และเซลล์เยื่อบุผนัง (epithelial cell) เรียงตัวในทิศทางของแนวสันเขาได้ดีในทุกๆ ระดับความลึกของพื้นผิวแต่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast cell) จะเรียงตัวได้ดีที่ระดับความลึก 400 นาโนเมตร

Loesberg, W. A. และคณะ [Loesberg, W. A. และคณะ 2007] ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์บนพื้นผิวที่ตัดแปรด้วยวิธี e-beam lithography พื้นผิวภายหลังการตัดแปรมีความลึกต่ำกว่า 35 นาโนเมตรและกว้างน้อยกว่า 100 นาโนเมตร สันฐานพื้นผิวในระดับนี้จะไม่ส่งผลต่อการเรียงตัวของเซลล์ แต่บางรายงานยังมีผู้ศึกษาลักษณะพื้นผิวที่มีความลึกต่ำกว่า 100 นาโนเมตร ซึ่งรายงานว่า ในระดับความลึกที่แตกต่างกันในช่วง 100 นาโนเมตร จะส่งผลต่อพฤติกรรมของเซลล์ที่แตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพื้นผิวพอลิस्टาไร์นและ poly(4-bromostyrene) กับการตอบสนองของเซลล์ Immortalised human fibroblast [Dalby, M. J. และคณะ 2004]

2.6 การตัดแปรพื้นผิววัสดุในการศึกษาพฤติกรรมของเซลล์

การยึดเกาะ การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น ถือเป็นพฤติกรรมของเซลล์ที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการรักษาและซ่อมแซมเนื้อเยื่อให้สมบูรณ์ ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้เซลล์ยึดเกาะและเจริญเติบโตได้ดีนั้น ต้องอาศัยพื้นผิวที่มีความเหมาะสม ด้วยเหตุนี้ จึงมีการตัดแปรพื้นผิวเพื่อปรับปรุงและควบคุมพฤติกรรมของเซลล์ให้ดีขึ้นซึ่งสามารถแบ่งการตัดแปรพื้นผิววัสดุชีวภาพเพื่อควบคุมพฤติกรรมของเซลล์ได้ 3 ประเภท [Danielle, C. G. และคณะ 2002] คือ

2.6.1 การตัดแปรพื้นผิวทางด้านฟิสิกส์และเคมี (Physicochemical)

การยึดเกาะ การแผ่และการเคลื่อนที่ของเซลล์บนวัสดุมักจะมีอิทธิพลจากการตัดแปรคุณสมบัติพื้นผิวด้านฟิสิกส์และเคมีหรือการเปลี่ยนประจุ พลังงานหรือองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิว คุณสมบัติหนึ่งที่ได้จากการตัดแปรด้านฟิสิกส์และเคมี คือ ความชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำบนพื้นผิววัสดุ ซึ่งส่งผลในการเพิ่มการยึดเกาะและการแผ่ของเซลล์

2.6.2 การดัดแปรพื้นผิวด้านชีวเคมี (Biochemical)

การยึดเกาะของโมเลกุลชีวภาพไปบนพื้นผิวพอลิเมอร์เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการควบคุมการตอบสนองระหว่างเซลล์กับวัสดุชีวภาพ การตรึงพันธะโควาเลนต์ของ integrin-binding peptides บนวัสดุที่หลากหลายที่แสดงถึงการเป็นสื่อกลางการยึดเกาะของเซลล์หลายชนิด การยึดเกาะ การเพิ่มจำนวนหรือการแผ่ของเซลล์เกิดขึ้นกับสายโซ่อาร์จินีน-ไกลซีน-แอสปาดิก (RGD) บนพื้นผิวพอลิเมอร์ โดยหมู่ RGD ที่อยู่บนพื้นผิวพอลิเมอร์นั้นจะเป็นตัวช่วยในการสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์ โดยในปี 2003 Tze-Wen C. และคณะ [Tze-Wen C. และคณะ 2003] ได้พบว่าการกราฟต์ Gly-Arg-Gly-Asp (GRGD) บนพื้นผิวพอลิยูรีเทนที่มีการกราฟต์พอลิเอทิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน (PU-PEG_{mix}-GRGD) และพอลิยูรีเทนที่มีการกราฟต์พอลิเอทิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 2000 (PU-PEG₂₀₀₀-GRGD) ช่วยสนับสนุนการยึดติดและการเจริญเติบโตของเซลล์ Human Umbilical Vein Endothelial cells (HUVECs) ได้ดีกว่าพื้นผิวที่ไม่กราฟต์ด้วย GRGD [Tze-Wen, C. และคณะ 2003] ยังมีงานวิจัยที่มีการศึกษาการตรึง Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) บนเมมเบรนโคโตซาน ที่ส่งผลอย่างชัดเจนในการยึดเกาะเซลล์ผิวหนังของหนู (L929 fibroblast) บนพื้นผิวเมื่อเทียบกับพื้นผิวที่ไม่มีการตรึงสำหรับการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีเซรัม

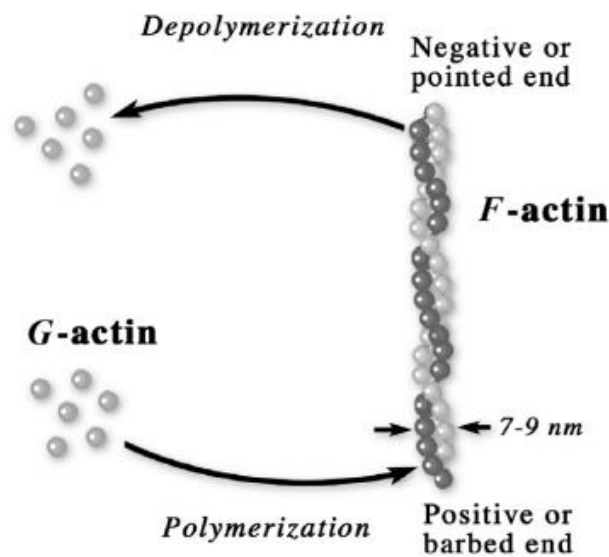
2.6.3 การดัดแปรพื้นผิวด้านลักษณะพื้นผิว (topography) [Matthew, J. D. และคณะ 2006]

รูปแบบทางเคมีในระดับไมโครหรือนาโนของพื้นผิวพอลิเมอร์เป็นการพัฒนาการตอบสนองระหว่างพื้นผิวกับการควบคุมเซลล์ สิ่งนี้จะยอมให้มีการควบคุมที่เฉพาะเจาะจงของการทำงานของเซลล์ ขณะที่รูปแบบพื้นผิวจะประกอบด้วยพื้นที่ที่สนับสนุนและพื้นที่ในการขัดขวางการยึดเกาะของเซลล์ เซลล์จะยึดเกาะในพื้นที่ที่มีรูปแบบเพื่อสนับสนุนการยึดเกาะเซลล์และสามารถเคลื่อนย้ายไปบนพื้นผิวภายในรูปแบบที่สนับสนุนการยึดเกาะ จากงานวิจัยของ Babu R. P. และคณะ ศึกษาการยับยั้งการยึดเกาะและเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์เพื่อลดปัญหาที่จะเกิดในการศัลยกรรมหน้าอก โดยมีการเตรียมตัวอย่างซิลิโคนที่มีความขรุขระแตกต่างกัน (ค่า R_a ระหว่าง 88-650 นาโนเมตร) ผลจากสัณฐานพื้นผิวที่แตกต่างกันจะพบว่า เซลล์ไฟโบรบลาสต์ 3T3

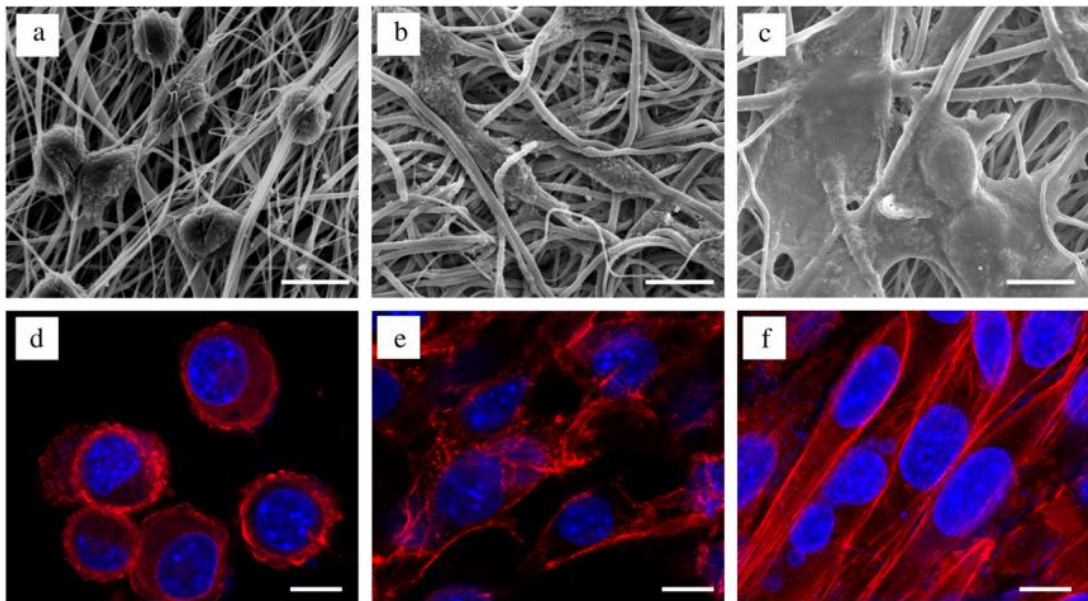
ความขรุขระของพื้นผิวที่มักมีอิทธิพลต่อการตอบสนองของเซลล์บนวัสดุชีวภาพ สามารถบอกเชิงปริมาณได้จากเครื่อง Atomic Force Microscope หรือ profilometer เพื่อบอกเชิงปริมาณของลักษณะพื้นผิวรวมถึงความสูงเฉลี่ยของพื้นผิว ระยะห่างระหว่างความสูง

2.7 เส้นใยแอกติน (F-actin cytoskeleton) [Kamm R. D. และ Mofrad M. R. K. 2006]

เส้นใยแอกตินเกิดจากการพอลิเมอไรเซชันของมอนอเมอร์แอกตินที่มีลักษณะเป็นทรงกลม (G-actin) ที่มีการเรียงตัวเป็นสายเกลียวยาวสองเส้น (F-actin) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7-9 นาโนเมตร สายเกลียวเส้นใยแอกตินนี้มีโครงสร้างปลายข้างหนึ่งมีความเป็นขั้วลบ (point end) และปลายอีกข้างแสดงความเป็นขั้วบวก (barbed end) โครงสร้าง F-actin ประกอบด้วยมอนอเมอร์ของกรดอะมิโน 375 หน่วยซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 43 kDa ATP สามารถจับกับ F-actin ฝั่ง barbed end ที่มีความสามารถในการสร้างเส้นใย ขณะที่การสลายของการพอลิเมอไรเซชันจะเกิดฝั่ง point end การเจริญเติบโตของเส้นใยและโครงสร้างจะถูกควบคุมโดยปัจจัยหลายๆ ปัจจัย ซึ่งรวมถึงความเข้มข้นของไอออนและความหลากหลายของโปรตีนที่จะไปจับ เส้นใยโปรตีนที่ประกอบด้วยโครงสร้างแบบตติยภูมิ (tertiary) เช่น มัดของเส้นใยที่เรียกว่า stress fibers หรือระบบโครงข่ายร่างแหสามมิติที่สามารถสร้างจากปฏิกิริยาของ actin-binding protein (ABPs) ตัวอย่าง ABPs เช่น fimbrin และ alpha-actinin ทั้งสองเป็นส่วนในการสร้าง stress fibers หรือมัดของเส้นใยแอกติน และ filamin ซึ่งเชื่อมต่อกับเส้นใยเข้าไปในโครงข่ายสามมิติ



รูปที่ 2.8 โครงสร้าง F-actin ซึ่งประกอบด้วย G-actin [Kamm R. D. และ Mofrad M. R. K. 2006]



รูปที่ 2.9 ภาพจาก scanning electron microscopy (a, b และ c) และ confocal laser scanning microscopy (d, e และ f) ที่แสดงการยึดเกาะและแผ่ขยายของเซลล์ L929 บนโครงข่ายเซลล์พอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) ที่สร้างด้วยวิธี electrospinning ซึ่งแสดง F-actin (สีแดง) และนิวเคลียส (สีน้ำเงิน) ของเซลล์ L929 ที่มีการย้อมสีด้วย phalloidin และ 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) [Beatriz, V. และคณะ 2013]

บทที่ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2003 Tze-Wen C. และคณะ [Tze-Wen, C. และคณะ 2003] ได้ศึกษาอิทธิพลของความขรุขระพื้นผิวในระดับนาโนเมตรเพื่อปรับปรุงการยึดติด (adhesion) และการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดมนุษย์ (human endothelial cells) บนพื้นผิวชีววัสดุพอลิเอทิลีนไกลคอลผสมที่มีน้ำหนักโมเลกุลและความยาวของสายโซ่ที่แตกต่างกัน (พอลิเอทิลีนไกลคอลที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1100 2000 และ 5000) ที่กราฟต์บนพื้นผิวพอลิยูรีเทนซึ่งมีผิวเรียบ เพื่อทำให้เกิดขรุขระในระดับนาโนเมตร (PU-PEG_{mix}) วัสดุอีกชนิดคือ พอลิเอทิลีนไกลคอลที่มีน้ำหนักโมเลกุล 2000 กราฟต์บนพอลิยูรีเทน (PU-PEG₂₀₀₀) วัสดุ 2 ชนิดนี้ถูกนำมากราฟต์กับ Gly-Arg-Gly-Asp (GRGD) โดยใช้ปฏิกิริยาเคมีแสง (photochemically) ด้วยรังสียูวี พบว่า ประสิทธิภาพการกราฟต์ GRGD บนพื้นผิว PU-PEG_{mix} และ PU-PEG₂₀₀₀ มีค่าประมาณ 67% ความขรุขระพื้นผิวแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Arithmetic mean value, R_a) โดย R_a ของฟิล์มพอลิยูรีเทนมีค่า 1.53 ± 0.2 นาโนเมตร ขณะที่ PU-PEG_{mix} มีความขรุขระมากที่สุดโดย R_a เท่ากับ 39.79 ± 10.48 นาโนเมตร อย่างไรก็ตาม วัสดุ PU-PEG_{mix} และ PU-PEG_{mix}-GRGD มีค่า R_a มากกว่า PU-PEG₂₀₀₀ และ PU-PEG₂₀₀₀-GRGD ประมาณ 20 นาโนเมตร วัสดุทั้ง 4 ชนิดจะนำไปทดสอบการยึดติดและเจริญเติบโตของเซลล์ human umbilical vein endothelial cells (HVECs) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ HVECs ยึดเกาะบนพื้นผิว PU-PEG_{mix}-GRGD หนาแน่นมากที่สุด ในขณะที่ PU-PEG₂₀₀₀ มีความหนาแน่นของเซลล์น้อยที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ HVECs สำหรับพื้นผิวขรุขระดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับพื้นผิวเรียบ ดังนั้น สรุปได้ว่า พื้นผิวชีววัสดุที่มีความขรุขระเพิ่มขึ้นในช่วง $10-10^2$ นาโนเมตร จะช่วยสนับสนุนการยึดเกาะและเจริญเติบโตของเซลล์ HVECs ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ในปี 2005 Saida P. K. และคณะ [Saida, P. K. และคณะ 2005] ได้ศึกษาค่าความขรุขระเฉลี่ย (Arithmetical mean roughness, R_a) พื้นผิวแผ่นซิลิกอนที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ประสาท (neural cell) โดยการทดลองจะนำแผ่นซิลิกอนที่ผ่านการตัดแปรรูปพื้นผิวด้วยวิธีการกัด (etching) ด้วยสารละลาย HF/HNO₃/H₂O (1:1:10, v/v) ในสัดส่วน 2:3:10 ที่ระยะเวลาการสัมผัสกับสารละลายแตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่า ค่า R_a ของแผ่นซิลิกอนเท่ากับ 18, 64 และ 204 นาโนเมตร แผ่นซิลิกอนที่มีค่า R_a แตกต่างกันจะนำไปทดสอบการยึดเกาะ (adherence) ของเซลล์ประสาท ภายหลังการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ฟิล์มที่มีค่า R_a 64 นาโนเมตร มีเซลล์ยึด

เกาะบนพื้นผิวมากกว่าฟิล์มที่มีค่า R_a 18 นาโนเมตรและ 204 นาโนเมตร ดังนั้น สรุปได้ว่า พื้นผิววัสดุที่มีค่า R_a ในช่วง 0-64 นาโนเมตร เซลล์จะยึดเกาะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า R_a เพิ่มขึ้น แต่พื้นผิวที่มีค่า R_a เท่ากับ 204 นาโนเมตรหรือมากกว่านั้นจะไม่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ประสาท

ในปี 2006 Lai-Shun S. และคณะ [Lai-Shun, S. และคณะ 2006] ได้ศึกษาผลการตัดแปรพื้นผิวพอลิเอทิลีนด้วยอาร์กอนพลาสมา พบว่า ภายหลังจากการตัดแปรพอลิเอทิลีนที่สภาวะพลังงาน 65 วัตต์ เวลาการตัดแปรระหว่าง 70-120 วินาที ส่งผลให้พอลิเอทิลีนมีอัตราการฉีกขาดที่หายไปมากที่สุด จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR พบว่า พื้นผิวพอลิเอทิลีนเกิดโครงสร้างใหม่ภายหลังจากการตัดแปร โดยพบว่ามีพันธะเปอร์ออกไซด์เกิดมากที่สุดที่สภาวะการตัดแปรด้วยพลังงาน 62 วัตต์ ที่ช่วงเวลาการตัดแปรระหว่าง 70-120 วินาที การเกิดพันธะคู่มิเอมตัวของ C=C เกิดขึ้นน้อยที่สุดที่เวลาการตัดแปรระหว่าง 60-70 วินาที พลังงาน 65 วัตต์ ในขณะที่สภาวะที่ทำให้เกิดพันธะ C=C มากที่สุดคือที่พลังงาน 62-72 วัตต์ เวลาในการตัดแปร 2 นาที เมื่อพิจารณาพีคการดูดกลืนที่เกิดขึ้นของพอลิเอทิลีนที่ผ่านการตัดแปรด้วยพลาสมาซึ่งพบที่ 2916, 2848, 1463 และ 719 cm^{-1} แสดงให้เห็นถึงการสั่นของเมทิลีนที่มีโครงสร้างแบบ nonsymmetry stretch, symmetry stretch, การสั่นของมุมที่เปลี่ยนไปของเมทิลีนที่มีโครงสร้างแบบ nonsymmetry stretch และการสั่นแบบแกว่งในระนาบของเมทิลีนที่มีค่าลดลงมากเมื่อเทียบกับพอลิเอทิลีนก่อนการตัดแปร พีคทั้ง 4 นี้จะพบว่ามีค่าการดูดกลืนสูงสุดที่เวลาการตัดแปรที่ 120 วินาที พลังงาน 62 วัตต์

ในปี 2007 Ayse G. K. และคณะ [Ayse, G. K. และคณะ 2007] ศึกษาผลการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อของหนู (L929 fibroblast) บนโคโตซานที่มีการตรึง Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเซรัมเปรียบเทียบกับไม่มีเซรัม แผ่นเมมเบรนโคโตซานเตรียมจากโคโตซาน 1 กรัมละลายในกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นำสารละลายโคโตซานเทลงบนถาดกลมแล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปปรับให้เป็นกลางด้วยการจุ่มใน NaOH หลังจากนั้นนำมาตรึงด้วย RGDS โดยใช้ปฏิกิริยาเคมีแสง (photochemical) ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยมุ่งเน้นไปที่การเกิดปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างโมเลกุล RGDS กับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่า เซลล์ไฟโบรบลาสต์ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนเมมเบรนโคโตซานที่มีการตรึงด้วย RGDS โดยจะเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนในการเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีเซรัม

ในปี 2008 Khorasani M.T. และคณะ [Khorasani, M.T. และคณะ 2008] ศึกษาการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มพอลิแลคติกแอซิด (PLLA) และพอลิแลคโตนโคไกลโกลโคไลด์ (PLGA) โดยใช้พลาสมาแก๊สออกซิเจนที่ได้จากคลื่นความถี่วิทยุ (radio frequency) ความดัน 0.6 มิลลิบาร์ พลังงาน 30 วัตต์ ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนเวลาในการตัดแปรพื้นผิว ผลการศึกษาพบว่า เมื่อฟิล์มผ่านการตัดแปรโดยใช้พลาสมาเป็นเวลานานขึ้นจะทำให้ฟิล์มมีสมบัติความชอบน้ำมากขึ้น เมื่อศึกษาพฤติกรรมของเซลล์ประสาท B65 บนพื้นผิวฟิล์ม พบว่า พลาสมาช่วยส่งเสริมการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์

ซึ่งสังเกตได้จากเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา มีลักษณะแบนรีคล้ายใยแมงมุมเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เกาะบนภาดเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีนซึ่งเซลล์ส่วนใหญ่มีลักษณะกลม

ในปี 2008 Carine W. และคณะ [Carine, W. และคณะ 2008] ได้ศึกษาสมบัติพื้นผิวด้านเคมีและความขรุขระของวัสดุชีวภาพที่ช่วยปรับปรุงการตอบสนองของเซลล์ rat calvaria osteoblasts โดยพบว่า ค่าความขรุขระเฉลี่ย (Arithmetical mean roughness, R_a) ของนิกเกิล/ไทเทเนียมซึ่งขัดด้วยกระดาษ SiC เบอร์ 80, 400, 2400 และ Thermanox® เท่ากับ 0.36, 0.15, 0.07 และ 0.07 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าความขรุขระนี้ ไม่มีอิทธิพลต่อสัญญาณวิทยาและการยึดเกาะของเซลล์ ปริมาณโปรตีน (total protein content) และปริมาณแอลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP) แต่จะมีผลในการช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) ผลของเคมีพื้นผิวในรูปแบบของสมบัติ wettability และ electron acceptor/donor ของพื้นผิว Thermanox® เทียบกับนิกเกิล/ไทเทเนียมที่ขัดด้วยกระดาษเบอร์ 2400 ที่มีค่าความขรุขระใกล้เคียงกันพบว่า การยึดเกาะของเซลล์บน Thermanox® สูงกว่านิกเกิล/ไทเทเนียมที่ขัดด้วยกระดาษเบอร์ 2400 และปริมาณแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสมีค่าแตกต่างกันเนื่องจากเคมีพื้นผิวที่ต่างกันของวัสดุทั้งสองชนิด

ในปี 2009 Junjie L. และคณะ [Junjie, L. และคณะ 2009] ได้ศึกษาลักษณะของพื้นผิวและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์ม 3 ประเภท คือ 1) ฟิล์มไคโตซานและเจลาติน (chitosan-gelatin, CG) 2) ฟิล์มไคโตซานและเจลาตินที่มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ขนาดไมโครเมตร (micro-hydroxyapatite/chitosan-gelatin, mHCG) ซึ่งเตรียมจากการแช่ฟิล์มไคโตซานและเจลาตินลงในสารแขวนลอยไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีอนุภาคสารแขวนลอยขนาด 5 ไมโครเมตร และ 3) ฟิล์มไคโตซานและเจลาตินที่มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ขนาดนาโนเมตร (nano-hydroxyapatite/chitosan-gelatin, nHCG) เตรียมจากการแช่ฟิล์มไคโตซานและเจลาตินลงในสารละลาย Tris buffer $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ กับ Na_3PO_4 ผลการศึกษาค่าความขรุขระเฉลี่ย (Arithmetical mean roughness, R_a) ของฟิล์ม CG ฟิล์ม mHCG และฟิล์ม nHCG มีค่าเท่ากับ 0.203, 54.363 และ 15.405 นาโนเมตร ตามลำดับ จากนั้นนำฟิล์มทั้ง 3 ประเภท มาศึกษาการเคลื่อนที่ของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูก (Mesenchymal stem cells, MSCs) พบว่า เซลล์ MSCs บนฟิล์ม nHCG จะเคลื่อนที่ได้ดีกว่าบนฟิล์ม mHCG ซึ่งมีความขรุขระของพื้นผิวมากกว่า เนื่องจากผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีขนาดใหญ่กว่าจะทำให้เซลล์มีการเคลื่อนที่ได้ยากกว่า จึงทำให้เซลล์ยึดเกาะ เจริญเติบโตและสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกบนฟิล์ม nHCG ได้ดีกว่าฟิล์ม mHCG

ในปี 2009 Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2009] ได้ศึกษาผลการตัดแปรพื้นผิวของฟิล์มเจลาตินที่เชื่อมขวางแล้วด้วยพลาสมาแบบ pulsed inductively coupled plasma (PICP) ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์ม ผลการศึกษาพบว่า สมบัติทางความร้อนของฟิล์มเจลาตินไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา

โดยมีค่าอุณหภูมิการหลอมเหลว (endothermic melting peak) ที่ 221 องศาเซลเซียส การดัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยพลาสมา PICP จะไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมขวางเพิ่มขึ้น โดยค่า degree of crosslinking ของฟิล์มเจลาตินเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ ผลจากวิเคราะห์ค่ามุมสัมผัสกับน้ำ (water contact angles) ของฟิล์มเจลาตินแสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มจำนวนครั้งของการปล่อยพลาสมา (pulse) จะส่งผลให้ค่ามุมสัมผัสลดลง สำหรับฟิล์มเจลาตินที่ศึกษา พบว่าค่า mean surface roughness (Rms) เท่ากับ 0.488 นาโนเมตร เมื่อดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาทำให้ค่า Rms เพิ่มขึ้นเป็น 1.075 นาโนเมตร และเมื่อมีการปล่อยพลาสมาซ้ำ 10 ครั้งและ 20 ครั้ง พบว่าค่า Rms ลดลงเหลือ 0.868 และ 0.710 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลของการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ L929 mouse fibroblasts พบว่า ฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวจะช่วยสนับสนุนการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่เมื่อเพิ่มจำนวนครั้งของการปล่อยพลาสมาเป็น 10 และ 20 ครั้ง พบว่าจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจะไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ในปี 2010 Wu Y. C. และคณะ [Wu Y., C. และคณะ 2010] ได้ศึกษาเกี่ยวกับฟิล์มไคโตซานที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมากระแสดตรงโดยใช้แก๊สอาร์กอน เพื่อศึกษาคุณลักษณะพื้นผิวและการยึดเกาะเริ่มต้นของเซลล์กระดูก ฟิล์มไคโตซานเตรียมจากสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นรูปบนถาดพอลิสไตรีน ปรับให้มีฤทธิ์เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วนำมาดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมากระแสดตรง (DC) ที่ความดัน 300 mTorr อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน 20 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที พลังงาน 40 วัตต์ โดยใช้เวลาในการดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา 1, 5, 10 และ 20 นาที ผลการศึกษาพบว่า การดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาโดยใช้ระยะเวลาในการดัดแปรนานขึ้นจะช่วยเพิ่มความขรุขระ ซึ่งฟิล์มไคโตซานที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปรพื้นผิวมีค่า Roughness average (R_a) และค่ามุมสัมผัสกับน้ำ (water contact angle) เท่ากับ 1.98 ± 0.7 นาโนเมตรและ 54.0 ± 0.2 องศา ตามลำดับ เมื่อดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาเป็นเวลา 20 นาที พบว่าค่า R_a ของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้นเป็น 5.47 ± 0.9 นาโนเมตร และค่ามุมสัมผัสกับน้ำลดลงเหลือ 14.1 ± 2.5 องศา การดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาแก๊สอาร์กอนจะเป็นการสร้างหมู่ฟังก์ชันซึ่งเป็นหมู่คาร์บอนิล (C=O) บนพื้นผิวไคโตซาน แต่ไม่ได้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเนื้อฟิล์มไคโตซาน สำหรับการทดสอบฟิล์มไคโตซานกับเซลล์ hFOB (Human Fetal Osteoblastic Cells) พบว่าพลาสมาอาร์กอนช่วยปรับปรุงพื้นผิวให้เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ hFOB

ในปี 2010 Rory W. และคณะ [Rory, W. และคณะ 2010] ได้รายงานบทบาทของการดัดแปรพื้นผิวฟิล์มโพลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) โดยใช้พลาสมาแบบโคโรนาและพลาสมาที่ใช้แก๊สอาร์กอนร่วมกับออกซิเจน ที่ความดันบรรยากาศ โดยทำการเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร พบว่า ฟิล์มที่ดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา จะมีหมู่ฟังก์ชันเพิ่มบนพื้นผิวเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร ผลการวิเคราะห์ด้วย X-ray photoelectron spectroscopy แสดงถึง C1s ESCA

spectra ที่มีความเข้มสัมพัทธ์ (relative intensities) 289, 286.5 และ 285 อิเล็กตรอนโวลต์ ซึ่งสัมพันธ์กับคาร์บอนอะตอมในตำแหน่งพันธะ O-C=O, C-C-O และ C-C-C ตามลำดับ พิล์มที่ผ่านการตัดแปรด้วยพลาสมาแก๊สอาร์กอนร่วมกับออกซิเจนที่ความดันบรรยากาศจะเกิดพีคที่เล็กลงในตำแหน่งที่ 289 และ 286.5 อิเล็กตรอนโวลต์ ในส่วนของตำแหน่งที่ 285 อิเล็กตรอนโวลต์จะเกิดพีคที่เล็กลงและฐานของพีคกว้างขึ้น แสดงว่า การตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาจะสนับสนุนการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว PET และเมื่อศึกษาพลังงานพื้นผิวที่เกิดจากการตัดแปรพื้นผิวที่ความหนาแน่นของพลังงาน 10 วัตต์ต่อพื้นที่ต่อตารางเมตร พบว่า พิล์ม PET ที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาแก๊สอาร์กอนร่วมกับออกซิเจนที่ความดันบรรยากาศ จะมีพลังงานพื้นผิวเพิ่มขึ้นจาก 43 mN/m เป็น 54 mN/m ส่วนพิล์มที่ตัดแปรโดยใช้พลาสมาแบบโคโรนา จะมีพลังงานพื้นผิวเป็น 46 mN/m ซึ่งน้อยกว่ากรณีแรก ผลจากการเพิ่มขึ้นของพลังงานพื้นผิวจะทำให้พิล์มมีความชอบน้ำมากขึ้นและช่วยปรับปรุงการยึดติดของการพิมพ์น้ำหมึกลงบนพิล์มได้ดีกว่า

ในปี 2010 Prasertsung I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2010] ได้ศึกษาการตัดแปรพื้นผิวพิล์มเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางความร้อน (dehydrothermal) แล้ว ด้วยพลาสมาแก๊สออกซิเจนระบบกระแสสลับ (AC) 50 เฮิร์ตซ์ โดยมีการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (discharge power) ในช่วง 3-12 วัตต์ ความดัน 0.4-2 มิลลิบาร์ และอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจน 3-10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผลการศึกษาพบว่า พิล์มเจลาตินที่ตัดแปรด้วยพลาสมาออกซิเจนจะมีค่ามุมสัมผัสกับน้ำ (water contact angle) ต่ำกว่าพิล์มเจลาตินที่ไม่ได้ผ่านการตัดแปร แสดงให้เห็นว่า พลาสมาออกซิเจนสามารถชักนำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันที่มีสมบัติชอบน้ำบนพื้นผิวของพิล์มเจลาติน การตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นสามารถทำได้โดยการเพิ่มพลังงาน การเพิ่มความดันและการลดอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจน เมื่อพิจารณาความขรุขระของพื้นผิวจะเห็นว่า ความขรุขระของพื้นผิวพิล์มที่ผ่านการตัดแปรแล้วจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการตัดแปรพื้นผิวพิล์ม เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นผิวที่ผ่านการตัดแปรด้วยพลาสมาโดยกระบวนการ aging พบว่า เมื่อเก็บพิล์มไว้ที่อุณหภูมิของการ aging ต่ำ (5 องศาเซลเซียส) สมบัติพื้นผิวของพิล์มที่ผ่านการตัดแปรจะยังคงอยู่นานกว่าการเก็บพิล์มที่อุณหภูมิสูง (50 องศาเซลเซียส) โดยกระบวนการ aging จะไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีของพิล์มเจลาติน

ในปี 2011 Lee H. U. และคณะ [Lee H., U. และคณะ 2011] ศึกษาสมบัติด้านเคมีกายภาพและการตอบสนองของเซลล์บนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ถูกเตรียมจากสารละลายผสมความเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากส่วนผสมของพอลิคาโพรแลคโตน (P) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักและเจลาติน (G) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นนำไปผสมกับ Dulbecco's modified Eagle's medium ความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักที่ประกอบด้วย fetal bovine serum 10 เปอร์เซ็นต์ (D) โครงเลี้ยงเซลล์ PGD ถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่

สภาวะความดันบรรยากาศ โดยใช้แก๊สออกซิเจนเพื่อสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ O-PGD ผลการศึกษาพบว่า ความสามารถในการเปียก (wettability) และสมบัติความชอบน้ำของพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการตัดแปรโดยการเพิ่มเจลาตินและ Dulbecco's modified Eagle's medium และการตัดแปรด้วยออกซิเจนพลาสมา การทดสอบความสามารถในการยึดเกาะเซลล์ Chinese Hamster Ovary (CHO)-K1 ด้วยเทคนิค MTT พบว่า จำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนโครงเลี้ยงเซลล์โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ O-PGD, PGD, PG และ P เนื่องจากการตัดแปรโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยพลาสมาจะส่งผลให้เกิดหมู่ฟังก์ชันที่สนับสนุนในการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ ดังนั้นโครงเลี้ยงเซลล์ PGD และ O-PGD จึงเป็นวัสดุชีวภาพที่ช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ในปี 2012 Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2012] ได้ศึกษาผลการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินชนิด A ด้วยพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ โดยใช้แก๊สไนโตรเจน ออกซิเจนและอากาศ ที่ส่งผลต่อเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหนู (Rat Bone-Marrow-Derived Stem Cells, MSC) ในระดับห้องปฏิบัติการ ฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยพลาสมาแล้วจะถูกนำไปศึกษาสมบัติของฟิล์มโดยการวัดค่ามุมสัมผัส การวิเคราะห์สัณฐานพื้นผิวด้วย atomic force microscopy (AFM) และการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีด้วย X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) ผลการศึกษาพบว่า ค่ามุมสัมผัสของฟิล์มเจลาตินลดลงเมื่อเพิ่มเวลาการตัดแปร การตัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยพลาสมาที่มีการใช้แก๊สไนโตรเจน ออกซิเจนหรืออากาศในระยะเวลาการตัดแปรมากกว่า 30 วินาที ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของฟิล์มเจลาติน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย XPS แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่ประกอบด้วยไนโตรเจนเกิดจากการตัดแปรด้วยพลาสมาจากแก๊สไนโตรเจนและอากาศ การเพิ่มหมู่ฟังก์ชันของออกซิเจนเกิดจากการตัดแปรด้วยพลาสมาจากแก๊สออกซิเจนและอากาศ หมู่ฟังก์ชันเหล่านี้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการตัดแปร การทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหนู (MSCs) แสดงให้เห็นว่า เซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรด้วยพลาสมามีปริมาณสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับฟิล์มก่อนการตัดแปร สภาวะการตัดแปรของแก๊สแต่ละชนิดที่เหมาะสมที่สุดต่อการปรับปรุงการยึดเกาะของเซลล์ คือ สภาวะการตัดแปรด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่เวลาการตัดแปร 15-30 วินาที ออกซิเจนพลาสมาที่เวลาการตัดแปร 3 วินาที และพลาสมาจากอากาศที่เวลาการตัดแปร 9 วินาที สำหรับการตัดแปรพื้นผิวด้วยไนโตรเจนพลาสมายังช่วยส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกบนฟิล์มเจลาตินได้ดีที่สุด โดยสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหนูมีค่ามุมสัมผัสของฟิล์มเท่ากับ 27-28 องศา และอัตราส่วนออกซิเจนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 1.4

ในปี 2013 Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2013] ได้ศึกษาผลการดัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่เชื่อมขวางแล้วด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่มีต่อพฤติกรรมการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนู (L929) และเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหนู (MSC) ฟิล์มเจลาตินที่เชื่อมขวางแล้วถูกดัดแปรด้วยพลาสมาจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ โดยใช้แก๊สไนโตรเจน ความดันภายในหลังเติมแก๊สไนโตรเจนเข้าระบบเท่ากับ 1 มิลลิบาร์ พลังงานที่ทำให้เกิดพลาสมาเท่ากับ 4 วัตต์ และเวลาในการดัดแปรพื้นผิวระหว่าง 3-15 วินาที ผลการศึกษาการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ 2 ชนิด คือ L929 และ MSC พบว่า ฟิล์มเจลาตินที่ดัดแปรด้วยไนโตรเจนพลาสมาส่งผลให้ปริมาณยึดเกาะและเจริญเติบโตของเซลล์ทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณสูงขึ้น และฟิล์มที่ดัดแปรด้วยพลาสมาส่งผลให้เซลล์มีลักษณะแผ่มากกว่าฟิล์มก่อนการดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ สภาวะการดัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่ส่งผลให้ปริมาณเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวฟิล์มมากที่สุด คือ สภาวะการดัดแปรด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่ระยะเวลาการดัดแปร 9-15 วินาที โดยสภาวะนี้จะส่งผลให้ค่ามุมสัมผัสของฟิล์มเจลาตินลดลงซึ่งมีค่าระหว่าง 27-32 องศา สำหรับสภาวะการดัดแปรนี้ยังส่งผลให้เซลล์แผ่มากที่สุดด้วย เนื่องจากพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์ L929 และ MSC นั้นเกี่ยวข้องกับสมบัติพื้นผิวของวัสดุ เช่น ความชอบน้ำ พลังงานพื้นผิวและการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่มีไนโตรเจน ตัวอย่างเช่น NH_2 การเพิ่มสมบัติความชอบน้ำและหมู่ฟังก์ชันที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบบนพื้นผิวฟิล์มเจลาตินซึ่งเป็นการเพิ่มประจุบวกบนพื้นผิวนั้น จะส่งผลให้เกิดการสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์จากการดึงดูดกันระหว่างพื้นผิวฟิล์มที่มีประจุบวกและประจุลบจากพื้นผิวด้านนอกของเซลล์ จากงานวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่า ค่ามุมสัมผัสของน้ำและอัตราส่วนของออกซิเจนต่อไนโตรเจนของฟิล์มเจลาตินที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ L929 และ MSC มีค่าเท่ากับ 27-32 องศา และอัตราส่วน 1.4 สภาวะนี้จะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ L929 และ MSC บนฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรเพิ่มขึ้น 47% และ 34% เมื่อเทียบกับฟิล์มก่อนการดัดแปร

ในปี 2013 Amornsudthiwat P. และคณะ [Amornsudthiwat P. และคณะ 2013] ได้รายงานผลการปรับปรุงการยึดเกาะของเซลล์ในช่วงเริ่มต้นบนฟิล์มไฟโบรอินใหม่ที่ได้จากรังไหมไทยสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ 1 ฟิล์มจะถูกเตรียมจากสารละลายไฟโบรอินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนกระจกแล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจะเปลี่ยนโครงสร้างเป็นเบต้าชีทโดยการแช่ในเมทานอลไว้เป็นเวลา 30 นาที ฟิล์มที่ได้จะนำมาวางไว้ให้แห้งเป็นเวลา 1 คืนก่อนการนำไปใช้ ฟิล์มที่ได้จะถูกดัดแปรด้วยพลาสมาพลังงานต่ำที่ผลิตจากไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ ซึ่งประกอบด้วยแผ่นอิเล็กโทรดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร วางขนานกัน ระยะห่างระหว่างแผ่นอิเล็กโทรด 5 เซนติเมตร พลังงานสูงสุดที่ใช้ไม่เกิน 12 วัตต์ ก่อนการดัดแปร ระบบจะถูกลดความดันเหลือ 0.1 มิลลิบาร์ หลังจากนั้นจะเติมแก๊สไนโตรเจนที่อัตราการไหล 5-10 sccm เพื่อให้เกิดไนโตรเจนพลาสมา เวลาที่ใช้ในการดัดแปรฟิล์มไฟโบรอินตั้งแต่ 5-160

วินาที ผลการศึกษาองค์ประกอบของไนโตรเจนพลาสมา พบว่า อนุภาคของไนโตรเจนที่ถูกกระตุ้นมีปริมาณสูงสุดที่สภาวะอัตราการไหลของแก๊ส 10 sccm พลังงาน 10 วัตต์ เมื่อพิจารณาค่ามอดุลัสของฟิล์มไพโรอินก่อนการตัดแปร พบว่ามีค่าเท่ากับ 70 องศา ภายหลังจากการตัดแปรด้วยพลาสมา พบว่า ค่ามอดุลัสเกิดการเปลี่ยนแปลง 2 ช่วง โดยช่วงแรกซึ่งใช้เวลาการตัดแปรระหว่าง 5-40 วินาที มีค่ามอดุลัส 40 องศา และช่วงที่สอง ใช้เวลาการตัดแปรตั้งแต่ 80-160 วินาที พบว่าค่ามอดุลัสมีค่าลดลงเหลือ 20 องศา การตัดแปรฟิล์มด้วยพลาสมาที่เวลา 10 และ 90 วินาทีจะถูกเลือกเพื่อนำมาทดสอบผลของความแตกต่างของค่ามอดุลัส เมื่อศึกษาผลของเคมีพื้นผิวที่เกิดขึ้นภายหลังการตัดแปรด้วยพลาสมา พบว่า ภายหลังจากการตัดแปรที่เวลา 10 วินาที ส่งผลให้เกิดหมู่เอมีนอิสระ หมู่ไฮดรอกซิลและอีเธอร์เพิ่มขึ้นและหมู่คาร์บอกซิลลดลง และที่เวลาการตัดแปร 90 วินาที มีผลให้เกิดหมู่เอมีนอิสระและหมู่คาร์บอกซิลสูง ในขณะที่หมู่ไฮดรอกซิลและอีเธอร์ลดลงเมื่อเทียบกับการตัดแปรที่เวลา 10 วินาที จากผลการตัดแปรด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่สภาวะนี้จะพบว่าไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเนื้อฟิล์มโดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR และยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงสถานะพื้นผิวฟิล์มโดยการวิเคราะห์ AFM พบว่า ค่า Rms เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจาก 7.1 ± 1.7 เป็น 8.9 ± 3.7 นาโนเมตร เมื่อตัดแปรที่เวลา 90 วินาที ผลการศึกษาการยึดเกาะของเซลล์ L929 ในช่วงเริ่มต้น พบว่า ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงที่ 3 ชั่วโมง เซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มที่ถูกตัดแปรด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่เวลา 10 และ 90 วินาที มีปริมาณสูงกว่าฟิล์มก่อนการตัดแปร ปริมาณเซลล์ที่ยึดเกาะได้มาก บนฟิล์มไพโรอินที่ถูกตัดแปรด้วยพลาสมานั้น มีสาเหตุจากฟิล์มได้ถูกปรับปรุงสมบัติความชอบน้ำ และมีปริมาณหมู่เอมีนอิสระและหมู่คาร์บอกซิลที่สูงขึ้น เมื่อพิจารณา F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 4 ชั่วโมงและ 1 วันพบว่า การแผ่ขยายของเซลล์บนฟิล์มก่อนและหลังการตัดแปรไม่มีความแตกต่างที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 ชั่วโมง แต่จะพบความแตกต่างที่เวลา 1 วันโดย actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 ที่เลี้ยงบนฟิล์มที่ตัดแปรที่เวลา 90 วินาที จะมากกว่าที่พบบนฟิล์มที่ตัดแปรที่เวลา 10 วินาทีและฟิล์มก่อนการตัดแปร ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มหมู่เอมีนและคาร์บอกซิลิก

ในปี 2014 Antonini V. และคณะ [Antonini, V. และคณะ 2014] ได้ศึกษาการสร้างฟิล์มบางบนภาตเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิโอสไตรีนจากกระบวนการพอลิเมอไรเซชันด้วยพลาสมา PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition) ก่อนการพอลิเมอไรเซชัน ระบบจะถูกลดความดันให้อยู่ที่ 10^{-7} มิลลิบาร์ พลาสมาเกิดขึ้นมาจากการกระตุ้นด้วยคลื่นความถี่ไมโครเวฟแบบต่อเนื่องที่ 13.56 MHz พลังงาน 200 วัตต์ สารตั้งต้นที่ใช้ในการเกิดพลาสมาประกอบด้วยแก๊ส 3 ชนิด ได้แก่ CH_4 , CO_2 และ NH_3 โดย CH_4 ที่อัตราการไหล 20 sccm จะทำให้เกิดฟิล์มที่มีสภาพเป็นกลาง, แก๊สผสม CH_4/CO_2 ที่ปรับอัตราไหลตั้งแต่ 0-20 sccm ถูกใช้ในการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซิลและไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นหมู่ที่มีความเป็นขั้วลบ และ แก๊สผสม CH_4/NH_3 ใช้ในการเพิ่มความ

เป็นขั้วบวกบนพื้นผิววัสดุ จากผลการวิเคราะห์ พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของแก๊ส CO_2 จะส่งผลให้ปริมาณคาร์บอนลดลงและปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้น โดยพิจารณาจากความเข้มของพีค C1s และ O1s สำหรับฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่มีการใช้แก๊สผสม CH_4/NH_3 จะพบว่า ฐานพีคของ C1s จะกว้างขึ้นเมื่อมีการเพิ่มปริมาณของแก๊ส NH_3 จาก 5 sccm เป็น 15 sccm สเปกตรัมของพีค N1s ซึ่งเกิดที่ตำแหน่งค่า binding energy 399.3 eV แสดงถึงหมู่เอมีน ($-\text{NH}_2$) ที่เชื่อมพันธะกับคาร์บอน พบว่า พื้นผิวฟิล์มมีปริมาณไนโตรเจนอะตอมเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของแก๊ส NH_3 แต่ในสภาวะที่ใช้แก๊ส CH_4 20 sccm (ไม่มีการไหลของ CO_2) พบว่า มีออกซิเจนเกิดขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากน้ำที่ออกจากผนังของเครื่องมือในระหว่างกระบวนการเกิดพลาสมา การศึกษาความขรุขระจะเปรียบเทียบการดัดแปรพื้นผิวด้วยแก๊สผสมระหว่าง CH_4 กับแก๊ส H_2 , CO_2 และ NH_3 จากค่า R_a พบว่า ภาตพอลิสไตรีนมีค่า R_a เท่ากับ 4.0 ± 0.7 นาโนเมตร ภายหลังจากการดัดแปรพบว่า R_a เพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 13.5 ± 2 นาโนเมตร สำหรับการดัดแปรด้วย CH_4/H_2 และ 12.7 ± 2.1 นาโนเมตร สำหรับการดัดแปรด้วย CH_4/CO_2 แต่การดัดแปรด้วยแก๊สผสม CH_4/NH_3 มีค่า R_a เท่ากับ 3.9 ± 1.4 นาโนเมตร ซึ่งมีค่า R_a ใกล้เคียงกับพอลิสไตรีนก่อนการดัดแปร เมื่อพิจารณาการเกิดฟิล์มด้วยแก๊สผสม CH_4/CO_2 และ CH_4/NH_3 แสดงให้เห็นว่า พลังงานพื้นผิวมีค่าใกล้เคียงกันถึงแม้จะมีหมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกัน องค์ประกอบที่มีความเป็นขั้ว (polar component) ของพลังงานพื้นผิวจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของหมู่ที่แสดงความเป็นขั้วของคาร์บอกซิล ไฮดรอกซิลและเอมีน เมื่อศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพ พบว่า เซลล์มีการยึดเกาะสูงบนพื้นผิวที่ดัดแปรด้วย NH_3 ซึ่งมีผิวเรียบที่สุด ความขรุขระในระดับนาโนเมตรเป็นระดับที่ต่ำที่จะมีผลต่อการยึดติดของเซลล์ ขณะที่ความขรุขระของวัสดุที่แตกต่างกันในช่วงนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของเซลล์ จึงสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงการยึดติดของเซลล์น่าจะเกิดจากความแตกต่างของเคมีพื้นผิว การศึกษาการยึดเกาะของเซลล์จะทำบนวัสดุ 3 ชนิด คือ ฟิล์มพอลิเมอร์ที่มีสภาพเป็นกลาง (aC-H_2) และฟิล์มที่พื้นผิวมีสภาพเป็นขั้วบวกและขั้วลบจากการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว (COOH^- , OH^- หรือ NH_3^+) ผลการทดลองสรุปว่า เซลล์ยึดเกาะบนฟิล์ม aC-NH_3 ได้สูงสุด ซึ่งเป็นผลจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างโปรตีนกับพื้นผิวของวัสดุ โดยโปรตีนที่เรียกว่า extra cellular matrix (ECM) มีสภาพเป็นขั้วลบซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับพื้นผิวที่มีความเป็นขั้วบวกได้ดี โดยฟิล์ม aC-NH_3 เป็นฟิล์มที่มีการเพิ่มหมู่เอมีนซึ่งเป็นการเพิ่มขั้วบวกบนพื้นผิว

ในปี 2014 Wei L. และคณะ [Wei, L. และคณะ 2014] ได้ศึกษาการยึดเกาะของเซลล์และสัณฐานวิทยาของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหมู (porcine mesenchymal stem cell, pMSCs) บนเส้นใยระดับนาโนของ Poly-L-lactic acid (PLLA) ซึ่งเตรียมจากสารละลาย PLLA ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลาย 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-isopropyl alcohol (HFIP) ด้วยกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิงและทำให้แห้งที่สภาวะสุญญากาศในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน

หลังจากนั้นนำไปตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาชนิด Inductively coupled plasma (ICP) รุ่น PDC-002 โดยใช้แก๊สออกซิเจน เป็นเวลา 60 วินาที ผลการศึกษา พบว่า การตัดแปรเส้นใยด้วยออกซิเจนพลาสมาไม่ได้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเส้นใยของ PLLA ซึ่งวิเคราะห์จากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย พบว่า เส้นใย PLLA ก่อนและหลังการตัดแปรด้วยพลาสมามีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 337 ± 85 และ 339 ± 89 นาโนเมตรตามลำดับ เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพื้นผิวเส้นใย PLLA ด้วยการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของคาร์บอนจากพีค C1s ที่ตำแหน่ง 284.8, 286.8 และ 288.9 อิเล็กตรอนโวลต์ ซึ่งแสดงถึงพันธะ C-C, C-O และ O=C-O ตามลำดับ พบว่า ภายหลังจากการตัดแปรเส้นใยด้วยออกซิเจนพลาสมา ปริมาณพันธะ C-C ลดลงจากเดิม 3.31 เปอร์เซ็นต์ พันธะ C-O และ O=C-O เพิ่มขึ้นจากเดิม 1.87 และ 1.45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การที่ปริมาณคาร์บอนลดลงและปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้นนั้น แสดงว่ามีหมู่ที่แสดงความเป็นขั้วที่ประกอบด้วยออกซิเจนเกิดขึ้นบนพื้นผิวของเส้นใยภายหลังจากการตัดแปร เมื่อพิจารณาค่ามุมสัมผัสจะพบว่า เส้นใย PLLA มีสมบัติความไม่ชอบน้ำสูง โดยมียุทธสัมผัสกับน้ำเท่ากับ 128.2 ± 2.3 องศา ภายหลังจากการตัดแปรพบว่า ค่ามุมสัมผัสลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่า 48.5 ± 3.3 องศา สมบัติความชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการตัดแปรด้วยพลาสมาเกิดจากการเพิ่มหมู่ที่แสดงความเป็นขั้วที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เมื่อศึกษาผลของการยึดเกาะเริ่มต้นของเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของหนูที่เวลาการเพาะเลี้ยง 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า เปอร์เซ็นต์การยึดเกาะของเซลล์ pMSCs บนเส้นใย PLLA ที่เวลาในการเพาะเลี้ยง 20, 30 และ 60 นาที สูงกว่าบนสภาพเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิโพรพิลีน ขณะที่เส้นใย PLLA ที่ตัดแปรด้วยพลาสมามีเปอร์เซ็นต์การยึดเกาะสูงกว่าเส้นใย PLLA และสภาพเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิโพรพิลีนในทุกช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง โดยที่เวลาการเพาะเลี้ยงที่ 10 นาทีพบว่า เซลล์ที่ยึดเกาะบนเส้นใย PLLA ที่ผ่านการตัดแปรด้วยพลาสมามีจำนวนเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่าเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนเส้นใย PLLA ก่อนการตัดแปร การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เส้นใยที่ตัดแปรด้วยพลาสมาทำให้เกิดโครงสร้างคล้ายกับ extracellular matrix (ECM) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์ จากผลการทดลองศึกษาพฤติกรรมการยึดเกาะของเซลล์ pMSCs บนเส้นใย PLLA ก่อนและหลังการตัดแปรด้วยพลาสมา พบว่า ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน สัณฐานวิทยาของเซลล์จะมีความแตกต่างกันด้วย โดยเซลล์ที่มีลักษณะทรงกลมจะพบบนเส้นใย PLLA ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 10 และ 20 นาที และลักษณะเซลล์ที่มีการแผ่ขยายออกเล็กน้อยจะพบที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่ 30 นาทีเป็นต้นไป ในขณะที่เซลล์บนเส้นใย PLLA ที่ถูกตัดแปรด้วยพลาสมามีลักษณะเรียบแบนตั้งแต่การเพาะเลี้ยงเซลล์ที่เวลา 10 นาทีของการเพาะเลี้ยง

บทที่ 4

วิธีการดำเนินการวิจัย

4.1 วัสดุและสารเคมี

- 4.1.1 เจลาติน ชนิดเอ (พีไอ 9, บริษัท Nitta Gelatin Inc., ญี่ปุ่น)
- 4.1.2 สารละลายกลูตาราลดีไฮด์ (25% GA, Fluka, เยอรมัน)
- 4.1.3 เอทานอล (99.7%, VWR International, อังกฤษ)
- 4.1.4 Sodium dodecyl sulfate lysis buffer (SDS, Bio basic, แคนาดา)
- 4.1.5 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM, 10%medium + L-glutamine + AB, Hyclone, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.6 Fetal bovine serum (FBS, Hyclone, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.7 Trypsin-EDTA (0.25% Trypsin in EDTA.4Na, Hyclone, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.8 bisBenzimide fluorescent dye (Hoechst 33258, 1mg/ml DMSO, Sigma-Aldric, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.9 Penicillin/streptomycin antibiotic (100 units/ml, Hyclone, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.10 Phalloidin-R415
- 4.1.11 Trypan blue stain 0.4% (Gibco, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.12 แก๊สอาร์กอน (high purity argon, ความดันจู่ 2000 PSIG ที่ 27 °C, TIG, ไทย)
- 4.1.13 กระจกใส (เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มม., Menzel-Glaser, เยอรมัน)
- 4.1.14 หลอดปั่นเหวี่ยงสาร (Corning, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.15 ถาดเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีนขนาด 24 หลุมและ 96 หลุม (Corning, สหรัฐอเมริกา)
- 4.1.16 ถาดเลี้ยงเซลล์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มม. (Corning, สหรัฐอเมริกา)

4.2 อุปกรณ์

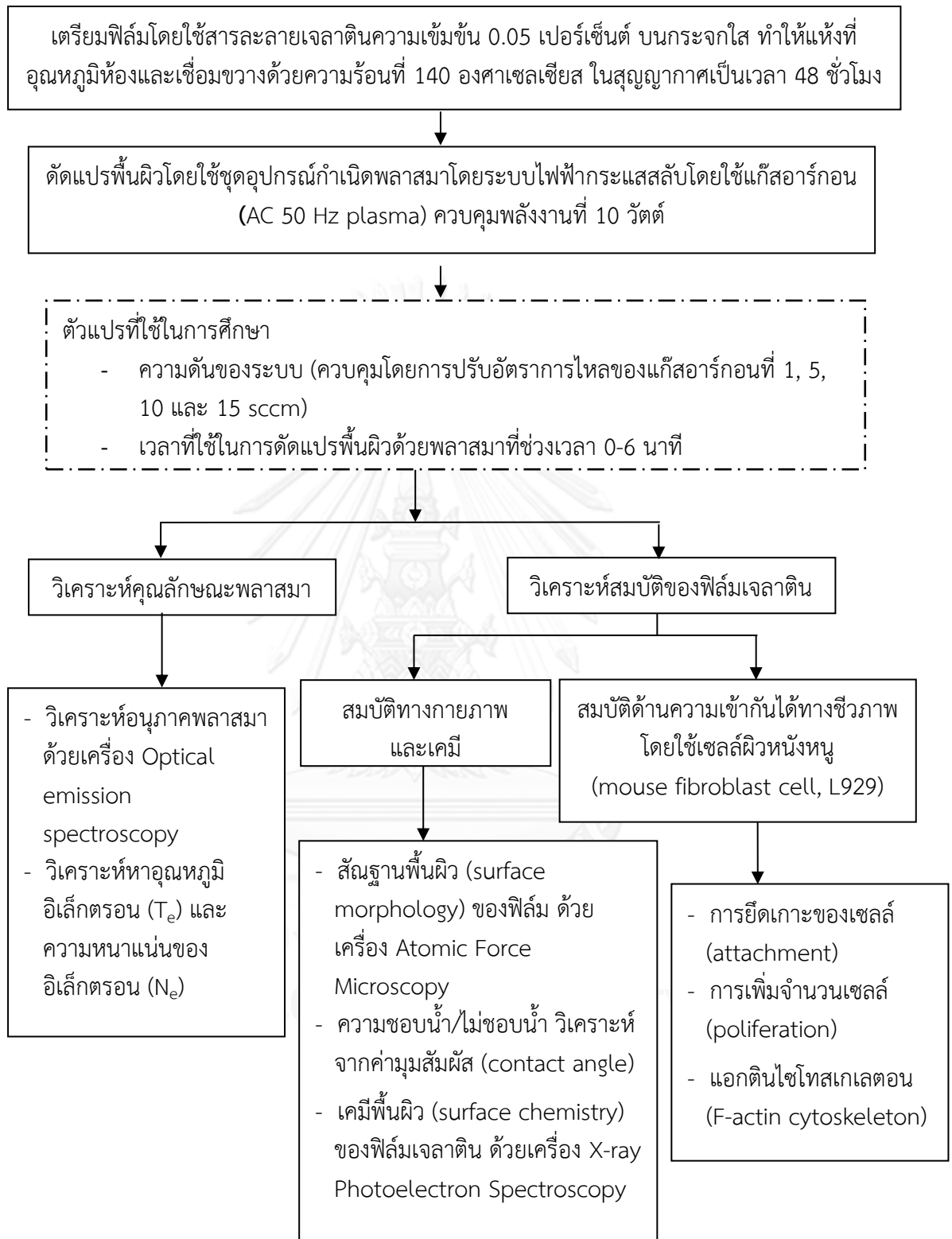
- 4.2.1 ชุดอุปกรณ์กำเนิดระบบพลาสมากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma)
- 4.2.2 Optical emission spectrometer (HR4000CG –UV-NIR, Ocean Optics, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.3 Fluorescence microplate reader (Perkin Elmer, 1420 multilabel counter, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.4 X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) (ESCALAB 250, VG Scientific, อังกฤษ)
- 4.2.5 Contact angle analyzer (Camplus Micro, Tanteq, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.6 กล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม (Atomic Force Microscope) (MFP-3D-BIO, Asylum Research, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.7 ตู้แช่เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (NR-BU343, Panasonic, ไทย)
- 4.2.8 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Sandenintercool, ไทย)
- 4.2.9 ตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส (Haier, จีน)
- 4.2.10 ตู้อบแห้งแบบสูญญากาศและปั๊ม (VD23, Binder, เยอรมัน)
- 4.2.11 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) (Mars 1800, Scanlaf, เดนมาร์ก)
- 4.2.12 ตู้เพาะเชื้อบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ incubator) (Galaxy 170 R, New Brunswick, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.13 เครื่องชั่งระบบดิจิทัล (AL204, METTLER TOLEDO, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.14 เครื่องปั่นเหวี่ยงสาร (Centrifuge) (รุ่น Universal 32R, HETTICH, เยอรมัน)
- 4.2.15 เครื่องดูดปล่อยสารอัตโนมัติ (Micropipette) (Pipetman P20, P200, P1000, สหรัฐอเมริกา)
- 4.2.16 เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Magnetic stirrer/Hot plate, RCT Basic, Ika labortechnik, เยอรมัน)
- 4.2.17 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) (Grant, อังกฤษ)
- 4.2.18 Hemacytometer (Boeco, เยอรมัน)
- 4.2.19 Nonpyrogenic serological pipet (Costar®, Corning, สหรัฐอเมริกา)

4.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอาร์กอนพลาสมาในการตัดแปรรูปพื้นผิวฟิล์มเจลาตินและการศึกษาผลของอาร์กอนพลาสมาต่อฟิล์มเจลาตินทั้งทางด้านกายภาพ ทางเคมีและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาตินต่อเซลล์ผิวหนังหนู (mouse fibroblast cell, L929) ซึ่งการออกแบบการทดลองโดยรวมสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 4.1

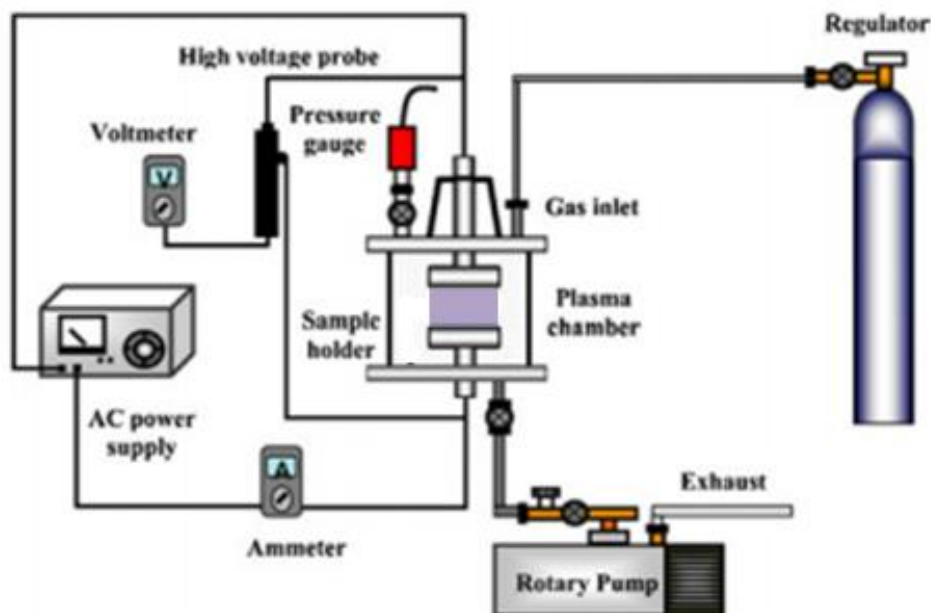
4.3.1 การเตรียมฟิล์มเจลาติน

เตรียมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยนำเจลาตินชนิดเอ 0.05 กรัม ละลายในน้ำปราศจากประจุ 100 มิลลิลิตร โดยทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เจลาตินบวมในน้ำ หลังจากนั้นนำสารละลายมากรองด้วยความเร็ว 275 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนเจลาตินทั้งหมดละลาย จากนั้นนำสารละลายเจลาตินปริมาตร 100 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นกระจก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร) ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และไปอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ในระบบสุญญากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อทำการเชื่อมขวางโมเลกุลของเจลาติน [Ratanavaraporn, J. และคณะ 2010]



รูปที่ 4.1 แผนการดำเนินงานวิจัยโดยรวม

4.3.2 การติดตั้งชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอน [Prasertsung, I. และคณะ 2010]



รูปที่ 4.2 แสดงแผนผังชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สอาร์กอน [Prasertsung, I. และคณะ 2010]

ชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นชุดอุปกรณ์ที่ต่อประกอบขึ้นเอง (in-house apparatus) ซึ่งประกอบด้วยโถทรงกระบอกสำหรับใส่ตัวอย่าง (chamber) ผลิตจากแก้วที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์จ่ายไฟฟ้ากระแสสลับ (AC) ที่ความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ กับปั๊มแบบ rotary กระบวนการเกิดพลาสมาจะเกิดระหว่างอิเล็กโทรดวงกลม 2 ชั้น มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ที่วางขนานกัน อิเล็กโทรด 2 ชั้นวางห่างกันเป็นระยะ 1 เซนติเมตร แรงดันไฟฟ้าระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดเกิดจากเครื่องจ่ายไฟที่ประกอบด้วยเครื่องควบคุมแรงดันไฟฟ้า (variac) และหม้อแปลงไฟฟ้า (transformer) แรงดันไฟฟ้าของอิเล็กโทรดอยู่ในช่วง 3-15 กิโลโวลต์ การตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินเริ่มจากการนำฟิล์มเจลาตินวางบนแผ่นอิเล็กโทรด ติดตั้งโถเป็นระบบปิดและใช้ปั๊มลดความดันลงต่ำกว่า 0.1 มิลลิบาร์ แล้วเติมแก๊สอาร์กอนที่อัตราการไหล 1-15 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่ออนาที จนมีความดันในโถระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ แล้วเชื่อมต่อกระแสไฟฟ้ากับอุปกรณ์จ่ายกระแสไฟฟ้าโดยควบคุมพลังงานที่ 10 วัตต์ ภายหลังจากจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับแผ่นอิเล็กโทรด จะเกิดสนามไฟฟ้าขึ้นระหว่างแผ่นอิเล็กโทรด แก๊สภายในระบบได้รับพลังงานจากสนามไฟฟ้า ทำให้แก๊สที่เป็นกลางแตกตัวเป็นไอออนเกิดเป็นพลาสมา ในการศึกษา

การตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินนี้ จะเป็นการศึกษาผลของความดันภายในระบบซึ่งเกิดจากการปรับอัตราการใช้ของแก๊สอาร์กอนและระยะเวลาที่ทำให้เกิดพลาสมาตั้งสรุปในตารางที่ 4.1

การวัดพลังงานไฟฟ้าที่เกิดระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาระบบไฟฟ้ากระแสสลับ สามารถวัดได้จากกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับแผ่นอิเล็กโทรดซึ่งถูกตรวจวัดโดยแอมมิเตอร์แบบกระแสสลับ แรงดันไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างอิเล็กโทรดวัดจากเครื่องวัดแรงดันไฟฟ้า ค่าเฉลี่ยของพลังงาน (W) คำนวณได้จากสมการ [30]

$$W = \frac{1}{T} \int_t^{t+T} I(t)V(t)d(t) \quad \dots(1)$$

โดยที่ W เป็นค่าเฉลี่ยพลังงาน (วัตต์) I เป็นกระแสที่ปล่อยออกมา (มิลลิแอมป์) V เป็นแรงดันไฟฟ้า (กิโลโวลต์) และ T เป็นรอบเวลาการทำงาน

ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างชิ้นงานฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่าง	อัตราการใช้ของแก๊ส	
	อาร์กอน (sccm)	เวลาที่ใช้ในการตัดแปร พื้นผิว (นาที)
G	-	-
G/0.11-2min		2
G/0.11-4min	1	4
G/0.11-6min		6
G/0.15-2min		2
G/0.15-4min	5	4
G/0.15-6min		6
G/0.19-2min		2
G/0.19-4min	10	4
G/0.19-6min		6
G/0.22-2min		2
G/0.22-4min	15	4
G/0.22-6min		6

4.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะของพลาสมา

อุณหภูมิและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอาร์กอนพลาสมานั้นมีความสัมพันธ์กับความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงที่เกิดจากการแตกตัวเป็นไอออนของแก๊สอาร์กอน โดยความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงของอาร์กอนพลาสมาที่ใช้ตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่สภาวะความดันต่างๆ นั้นจะถูกวัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีแบบเปล่งแสง (Optical emission spectroscopy, OES)

วิธีการวัดค่าความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงโดยเครื่อง OES นั้นจะกำหนดให้มีการวัดค่าความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงแบบต่อเนื่องทุกๆ 8 วินาทีในแต่ละสภาวะความดัน เพื่อใช้ในการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) โดยพิจารณาความยาวคลื่นและความเข้มแสงของอนุภาคอาร์กอน I และอาร์กอน II

อุณหภูมิอิเล็กตรอนคำนวณได้จากสูตร

$$R = \frac{R_a}{R_i} = \left(\frac{A_1 A_4}{A_2 A_3} \right) \left(\frac{g_1 g_4}{g_2 g_3} \right) \left(\frac{\lambda_2 \lambda_3}{\lambda_1 \lambda_4} \right) \exp(-(E_1 + E_4 - E_2 - E_3)/kT_e) \quad \dots(2)$$

โดย $R_a = \frac{I_1}{I_2}$ และ $R_i = \frac{I_3}{I_4}$

ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนคำนวณได้จากสูตร

$$n_e = 6.6 \times 10^{21} \frac{I_a A_i g_i}{I_i A_a g_a} \exp\left(-\frac{E^{\text{ion}} + E_i - E_a}{T_e}\right) \quad \dots(3)$$

โดย A = Transition probability

g = Statistical weight

λ = wavelength

E = Energy level

T_e = Electron temperature

I = intensity

E^{ion} = ionization energy of argon atom = 15.759 eV

k = Boltzmann constant

4.3.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาติน

4.3.4.1 การวิเคราะห์สัณฐานพื้นผิว (morphology)

การศึกษาสัณฐานพื้นผิว (surface morphology) ของตัวอย่างฟิล์มก่อนและหลังการตัดแปรรด้วยอาร์กอนพลาสมาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม (Atomic Force Microscope) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยใช้โหมดแบบกึ่งสัมผัส (Tapping mode) ในการวิเคราะห์พื้นผิว โดยจะมีการปรับเข็มวัดขยับขึ้นลงให้เข็มสัมผัสกับพื้นผิวชิ้นงานเพื่อวัดรูปทรงพื้นผิวของชิ้นงาน การวัดด้วยวิธีนี้ช่วยลดการรบกวนจากแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นกับผิวตัวอย่างและสัญญาณรบกวนอื่นๆ โดยใช้ระยะห่างของเข็มวัดสร้างเป็นภาพของพื้นผิวตัวอย่าง ข้อมูลค่าเฉลี่ยผลรวมกำลังสอง (Root mean square, Rms) ซึ่งแสดงถึงความขรุขระของพื้นผิวได้จากซอฟต์แวร์ Argyle Light และ Gwyddion การวิเคราะห์ค่า Rms ของพื้นผิวจะตรวจวัดจากพื้นที่ 3 ตำแหน่งของแต่ละตัวอย่าง (พื้นที่การสแกน 3×3 ตารางไมโครเมตร, สเกลข้อมูลความสูงของภาพสามมิติสูงสุดที่ 100 นาโนเมตร) และรายงานเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n= 3)

4.3.4.2 การวิเคราะห์ความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำจากค่ามุมสัมผัส (contact angle)

[Takahashi, Y. และคณะ 2005]

ฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางและฟิล์มที่ตัดแปรรด้วยอาร์กอนพลาสมาถูกนำมาวิเคราะห์ค่ามุมสัมผัส (contact angle) ด้วยวิธี sessile drop ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้น้ำปราศจากประจุเป็นของเหลวในการวิเคราะห์ ภายหลังจากหยดน้ำปราศจากประจุปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงบนแผ่นฟิล์มเจลาตินเป็นเวลา 30 วินาที ฟิล์มเจลาตินถูกนำมาวิเคราะห์มุมสัมผัสทั้งหมด 3 ครั้ง และรายงานเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3.4.3 การวิเคราะห์เคมีพื้นผิว (surface chemistry)

พื้นผิวฟิล์มเจลาตินจะถูกนำมาวิเคราะห์พันธะเคมี (chemical bonding states) และอัตราส่วนอะตอม (atomic ratio) โดยเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มก่อนการตัดแปรรพื้นผิวกับฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscopy โดยใช้แหล่งกำเนิดรังสีเอ็กซ์เรย์ Al-K α (1486.6 eV) photo-emitted electrons ถูกเลือกที่จุดเริ่มต้นมุม 90 องศา ปริมาณและชนิดของอนุภาคก่อนและภายหลังการตัดแปรรพื้นผิวด้วยพลาสมาแสดงเป็นเส้นกราฟ C1s, O1s และ N1s และวิเคราะห์ชนิดหมู่ฟังก์ชันที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวโดยใช้โปรแกรม origin 8.5

4.3.5 การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาตินในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.5.1 การเตรียมเซลล์ผิวหนังหนู (mouse fibroblast cell, L929)

เซลล์ผิวหนังหนูได้จากการนำสารแขวนลอยเซลล์ที่แช่แข็งในไนโตรเจนเหลวออกมาละลาย และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยสภาวะความเร็วรอบ 1500 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เซลล์และของเหลว แยกชั้นออกจากกัน หลังจากนั้น เทของเหลวออกให้เหลือเพียงตะกอนเซลล์ เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ (D-MEM ที่ประกอบด้วย 15 vol.% fetal bovine serum และ 100 U/ml penicillin/streptomycin) ลงไป 1 มิลลิลิตรแล้วใช้ที่ดูดสารดูดพ่นให้ตะกอนเซลล์กระจายในอาหารเลี้ยงเซลล์ จากนั้นดูดสารแขวนลอยเซลล์ใส่ลงในจานเลี้ยงเซลล์ที่ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ 10 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ จะได้เซลล์ที่นำไปใช้สำหรับการทดสอบ

4.3.5.2 การทดสอบการยึดเกาะ (attachment) และการเจริญเติบโต (proliferation)

ฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาจะถูกวางลงในถาดเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีนขนาด 24 หลุมและทำการปลอดเชื้อด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นดูดเอทานอลออก ตัวอย่างฟิล์มเจลาตินจะถูกล้างด้วย phosphate buffer saline (PBS) เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ลงไป หลุมละ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงนำเซลล์ผิวหนังหนูในอาหารเลี้ยงเซลล์ D-MEM เพาะเลี้ยงลงบนฟิล์มที่มีความหนาแน่น 1.13×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร โดยการหยดลงด้านบนของแผ่นฟิล์มเจลาตินให้ครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดของฟิล์ม แล้วเพาะเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์

จำนวนเซลล์ผิวหนังหนูที่ยึดเกาะภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเจริญเติบโตในช่วงเวลา 1, 2 และ 3 วันบนแผ่นฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมา จะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจวัดปริมาณ DNA (DNA assay) โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารเรืองแสง Hoechst 33258 ที่จะแทรกเข้าสู่ DNA double strands ด้วยเครื่อง Fluorescence microplate reader [Takahashi, Y. และคณะ 2005] และคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ (Growth rate) รวมถึงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 2 เท่า (Population doubling time) บนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เวลาในการตัดแปรพื้นผิวแตกต่างกัน

การเตรียมสารมาตรฐานจากเซลล์ผิวหนังหนู ทำโดยนำสารแขวนลอยเซลล์ 2×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เติมน้ำในหลอดปั่นเหวี่ยงสารขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่สภาวะความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทของเหลวทิ้ง แล้วเติม SDS lysis buffer 8 มิลลิลิตรลงในหลอด ผสมให้เข้ากัน บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์แตกและปล่อย DNA

ออกมา จากนั้นทำการเจือจางเซลล์ให้มีความเข้มข้น (serial dilution) ระหว่าง 2.5×10^5 ถึง 1.56×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจวัดปริมาณ DNA มีดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างฟิล์ม เริ่มต้นโดยการย้ายฟิล์มที่เพาะเลี้ยงเซลล์ตามเวลาที่กำหนดไว้ ไปยัง ถาดพอลิสไตรีนขนาด 24 หลุมใหม่เพื่อหาจำนวนเซลล์ที่เกาะเฉพาะบนฟิล์มเท่านั้น ล้างด้วย PBS จากนั้นใส่สาร SDS ลงไป 1 มิลลิลิตร/ฟิล์ม แล้วนำตัวอย่างไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
2. การเตรียมสารละลาย Hoechst 33258 โดยการนำ Hoechst 33258 (20 ไมโครลิตร) น้ำปราศจากประจุ (19 มิลลิลิตร) และ SSC (1 มิลลิลิตร) ผสมรวมกัน
3. การเตรียมสารมาตรฐานและตัวอย่างวัดปริมาณ DNA โดยนำตัวอย่างมาละลายที่ อุณหภูมิห้อง จากนั้นดูดสารละลายในตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในถาดดำขนาด 96 หลุม เติมสารละลาย Hoechst 33258 ลงไป 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดความเข้ม (intensity) ของฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่อง Fluorescence microplate reader ที่ช่วงความยาวคลื่น 355-460 นาโนเมตร

คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ (Specific growth rate, μ) และ ระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 2 เท่าหรือเวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (Population doubling time) บนฟิล์มเจลลาติน จากสมการ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ (Specific growth rate, μ) คำนวณจาก

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt} \quad (\text{ต่อชั่วโมง}) \quad \dots(4)$$

$$\mu \int_{t_1}^{t_2} dt = \int_{x_1}^{x_2} \frac{1}{x} dx \quad \dots(5)$$

$$\mu(t_1 - t_2) = \ln x_2 - \ln x_1 \quad \dots(6)$$

โดย x_1 คือจำนวนเซลล์ ที่เวลา t_1

x_2 คือจำนวนเซลล์ที่เวลา t_2

เวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (Population doubling time, PDT)

$$PDT = \frac{1}{r} \quad (\text{ชั่วโมง}) \quad \dots(7)$$

เมื่อ อัตราการแบ่งตัว (Multiplication rate, r) คำนวณจาก

$$r = n / (t_2 - t_1) \text{ (รุ่นต่อชั่วโมง)} \quad \dots(8)$$

จากสมการ

$$N = X_0 2^n \quad \dots(9)$$

$$\log N = \log X_0 + n \log 2$$

$$n = 3.32 (\log N - \log X_0) \quad \dots(10)$$

ดังนั้นอัตราการแบ่งตัว

$$r = 3.32 (\log N_H - \log N_I) / (t_2 - t_1) \text{ (รุ่นต่อชั่วโมง)} \quad \dots(11)$$

โดย N_I คือจำนวนเซลล์เริ่มต้น ที่เวลา t_1

N_H คือจำนวนเซลล์ทั้งหมด ที่เวลา t_2

4.3.5.3 การวิเคราะห์แอกตินไซโทสเกเลตอนของเซลล์ (F-actin cytoskeleton)

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ 6 ชั่วโมงและ 1 วัน อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเอาออกจากหลุมเพาะเลี้ยงเซลล์ ฟิล์มจะถูกนำมาล้างด้วย PBS 2 รอบ เซลล์ผิวหนังหนูที่เกาะบนแผ่นฟิล์มเจลาตินจะถูกตรึงในสารละลายกลูตาราลดีไฮด์ใน PBS ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้น ฟิล์มเจลาตินจะถูกล้างด้วย PBS 2 รอบ แล้วเติมสารละลาย Phalloidin-R415 (Phalloidin-R415 ผสมใน PBS สัดส่วน 5 ไมโครลิตรต่อ 200 ไมโครลิตร) เพื่อย้อมแอกตินซึ่งเป็นเส้นใยของเซลล์ การจัดเรียงตัวของแอกตินไซโทสเกเลตอนของเซลล์ L929 ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินสามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fluorescence Microscope รูปภาพของเซลล์ที่ยึดเกาะบนแผ่นฟิล์มถูกถ่ายไว้ที่กำลังขยาย 40 เท่า

4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบค่าความแตกต่างของข้อมูล โดยนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยและค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อศึกษาว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติหาค่าความแปรปรวน (Analysis of variance : ANOVA) ด้วยโปรแกรมมินิแทบ (Minitab) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P-value < 0.05)

บทที่ 5

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

5.1 การวิเคราะห์สเปกตรัมของพลาสมาที่เกิดภายในชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma)

อาร์กอนพลาสมาที่เกิดขึ้นภายในระบบเกิดจากการควบคุมชนิดของแก๊ส และปริมาณแก๊ส อาร์กอนที่จะส่งผลต่อความดันของระบบโดยการทดลองเริ่มจากระบบจะถูกลดความดันเพื่อเอาอากาศภายในออกซึ่งเป็นการลดปริมาณแก๊สชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ แล้วเติมแก๊สอาร์กอนในอัตราการไหลของแก๊สที่แตกต่างกัน (1-15 sccm) หลังจากนั้นจะจ่ายไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ โดยควบคุมพลังงานกระแสไฟฟ้าที่ 10 วัตต์ อาร์กอนพลาสมาจะเกิดภายหลังการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า สำหรับการปรับอัตราการไหลของแก๊สเข้าระบบจะส่งผลให้ความดันของระบบแตกต่างกันด้วย โดยความดันของระบบที่วัดได้ สรุปได้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 5.1 ค่าความดันของระบบจากการปรับอัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน ของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ที่สภาวะความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์ พลังงาน 10 วัตต์

อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน (sccm)	ความดันของระบบ (mbar)
1	0.11
5	0.15
10	0.19
15	0.22

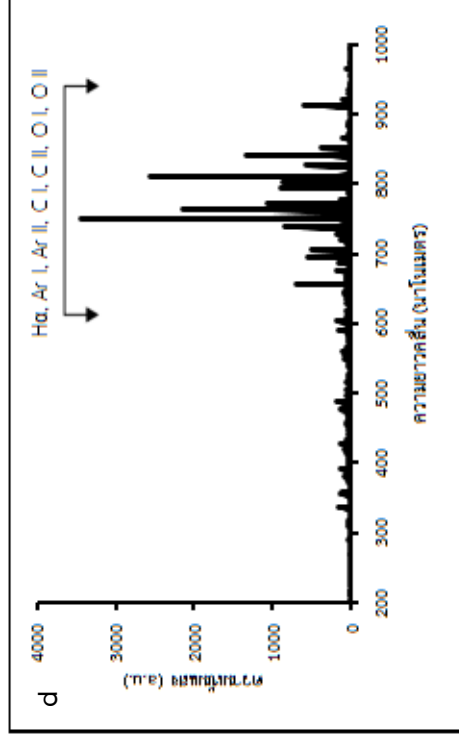
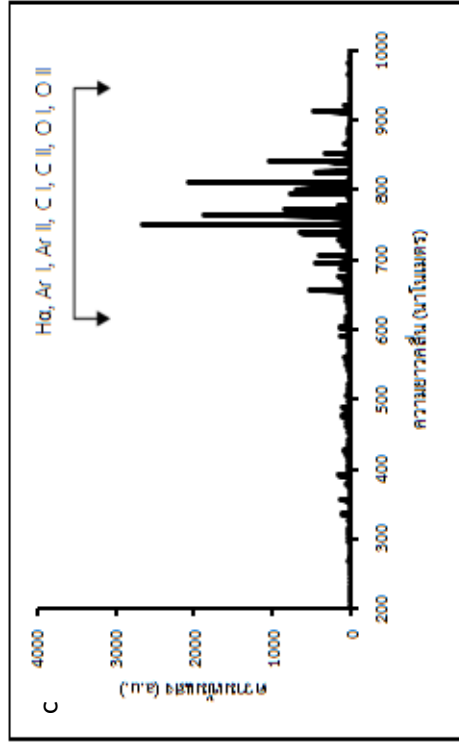
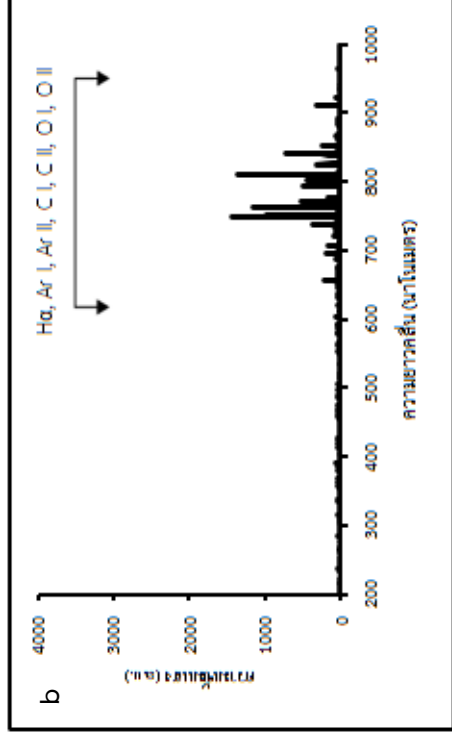
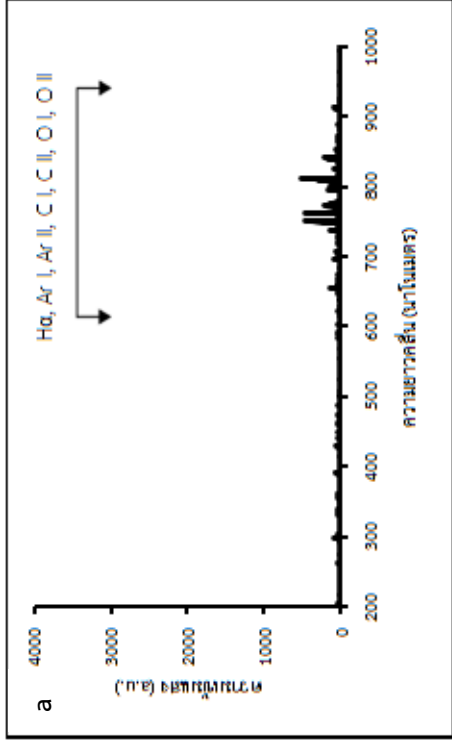
อาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีแบบเปล่งแสง (Optical Emission Spectroscopy, OES) จะได้สเปกตรัมของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดขึ้นที่ความดันต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 5.1 โดยพบว่าความเข้มแสงที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นตามสภาวะความดันของระบบที่เพิ่มขึ้น และเมื่อวิเคราะห์สเปกตรัมของอาร์กอนพลาสมาที่แต่ละความดัน พบว่า เกิดสเปกตรัมจำนวนมากในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 600 ถึง 950 นาโนเมตร โดยสเปกตรัมที่มีความเข้มแสงสูงที่สุดคือ สเปกตรัมที่มีความยาวคลื่น 749.81 นาโนเมตร ซึ่งเป็นสเปกตรัมของอาร์กอน I ส่วนสเปกตรัมอื่นๆ ที่แสดงถึงอาร์กอน I ได้แก่ สเปกตรัมที่มีความยาวคลื่น 696.08, 737.21, 749.81, 751.08, 762.72, 771.85 และ 810.37 นาโน

เมตร และสเปกตรัมที่แสดงถึงอาร์กอน II ได้แก่ สเปกตรัมที่มีความยาวคลื่น 336.17, 390.06 และ 750.58 นาโนเมตร ดังสรุปในตารางที่ 5.2

จากตารางที่ 5.2 พบว่า นอกจากสเปกตรัมของอาร์กอนแล้วยังพบสเปกตรัมของไนโตรเจน, คาร์บอน, ออกซิเจนและไฮโดรเจน ที่ความยาวคลื่นต่างๆ สำหรับสเปกตรัมของไฮโดรเจนแอลฟา ($H\alpha$) ที่ความยาวคลื่น 656.09 นาโนเมตร พบว่ามีค่าความยาวคลื่นใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Qiang C. และคณะ [Qiang C. และคณะ 2008] ที่รายงานสเปกตรัมของไฮโดรเจนแอลฟา ($H\alpha$) ที่ความยาวคลื่น 656 นาโนเมตร



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



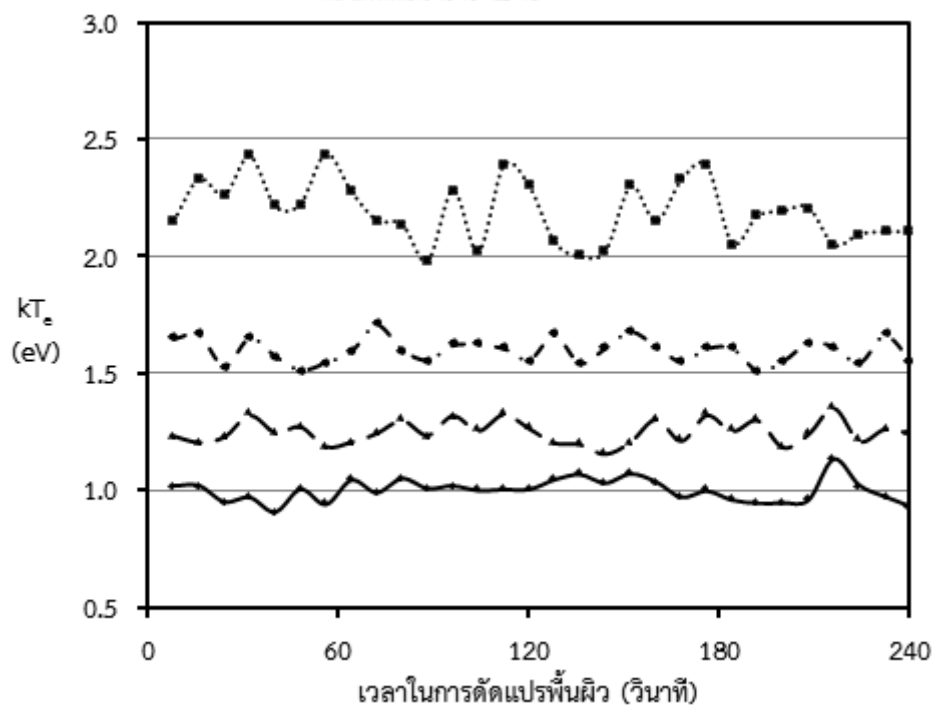
รูปที่ 5.1 ความเข้มแสงของอาร์กอนพลาสมาที่ความยาวคลื่นต่างๆ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีแบบเปล่งแสง (Optical Emission Spectroscopy, OES) ที่สภาวะความดัน a) 0.11 มิลลิบาร์ (1 sccm), b) 0.15 มิลลิบาร์ (5 sccm), c) 0.19 มิลลิบาร์ (10 sccm) และ d) 0.22 มิลลิบาร์ (15 sccm) ของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบกระแสไฟฟ้าสลับ 50 เฮิรตซ์ ที่สภาวะความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์ พลังงาน 10 วัตต์

ตารางที่ 5.2 ความยาวคลื่นแสงของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์) และชนิดของอนุภาคที่เกิดภายในระบบ [Kramida, A. และคณะ 2012]

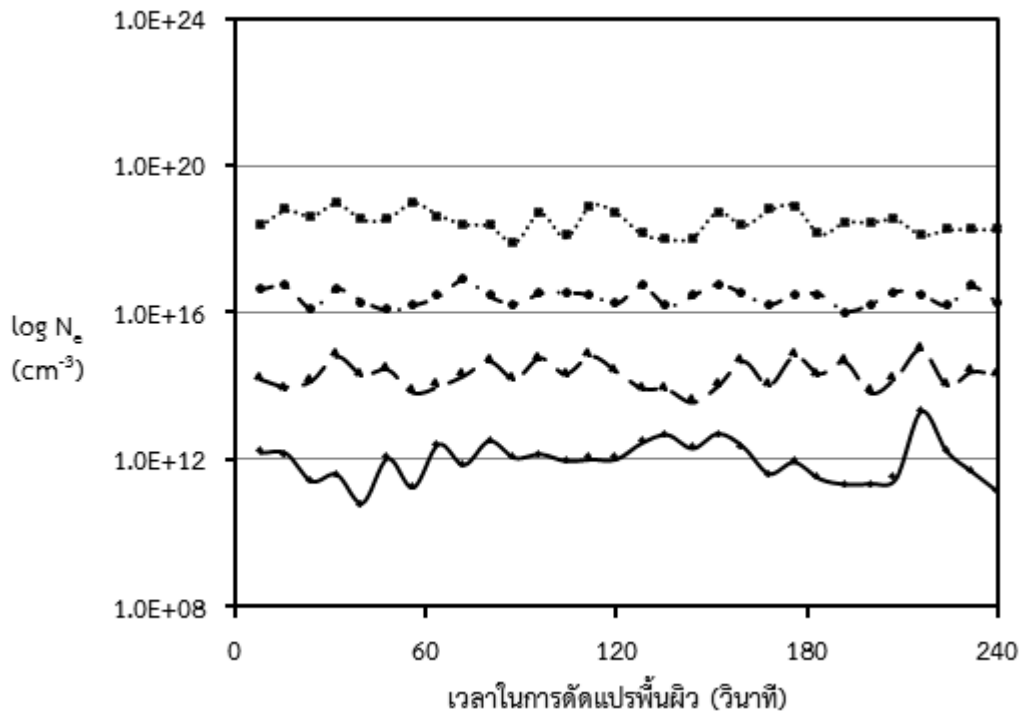
ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ชนิดของอนุภาค
336.17	Ar II
336.38	N II
356.67	N II
390.06	Ar II
390.75	N II
656.09	H α
696.08	Ar I
706.29	C II
737.21	Ar I
749.81	Ar I
750.58	Ar II
751.08	Ar I
762.74	O II
771.85	Ar I
794.33	O I
800.88	O II
810.37	Ar I
825.77	H I

จากรายงานของ Timmermans E.A.H. และคณะ [Timmermans E.A.H. และคณะ 1998] ซึ่งได้ศึกษาสเปกตรัมของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยคลื่นความถี่ไมโครเวฟ พบว่าสเปกตรัมที่แสดงถึงอนุภาคอาร์กอน I, ออกซิเจน I, คาร์บอน I และ ไนโตรเจน I อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 650-900 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ที่พบสเปกตรัมของไฮโดรเจน, อาร์กอน, คาร์บอนและออกซิเจน ในช่วงความยาวคลื่น 600-950 นาโนเมตร

จากผลการวิเคราะห์ เมื่อนำค่าความยาวคลื่นและความเข้มแสงของอาร์กอนพลาสมาที่สถานะความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ ซึ่งบันทึกเป็นค่าแบบต่อเนื่องทุกๆ 8 วินาที มาคำนวณหาอุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) [Djilianova, O. และคณะ 2006] พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมีความสัมพันธ์กับสถานะความดันของระบบ แสดงดังรูปที่ 5.2 และรูปที่ 5.3 ตามลำดับ และตารางที่ 5.3 แสดงค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ย (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ย (n_e) ของอาร์กอนพลาสมา (การคำนวณค่า kT_e (eV) และ n_e (cm^{-3}) แสดงในภาคผนวก ก.)



รูปที่ 5.2 อุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) ของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สถานะความดันที่ 0.11 มิลลิบาร์ ($\text{—}\blacklozenge$), 0.15 มิลลิบาร์ ($\text{—}\blacktriangle$), 0.19 มิลลิบาร์ ($\text{—}\bullet$) และ 0.22 มิลลิบาร์ ($\dots\blacksquare$) (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)



รูปที่ 5.3 ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) ของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมา โดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ (—◆—), 0.15 มิลลิบาร์ (---▲---), 0.19 มิลลิบาร์ (····●····) และ 0.22 มิลลิบาร์ (—■—) (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)

ตารางที่ 5.3 ค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ยของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดันต่างๆ (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)

อัตราการไหลของแก๊ส (sccm)	ความดันภายในระบบ (มิลลิบาร์)	อุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e , อิเล็กตรอนโวลต์)	ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e , อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)
1	0.11	1.00 ± 0.05	$1.94 \pm 3.68 \times 10^{12}$
5	0.15	1.25 ± 0.05	$2.70 \pm 2.34 \times 10^{14}$
10	0.19	1.60 ± 0.05	$3.02 \pm 1.61 \times 10^{16}$
15	0.22	2.19 ± 0.13	$3.64 \pm 2.54 \times 10^{18}$

อุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเป็นคุณลักษณะหนึ่งของพลาสมาที่แสดงถึงพลังงานของระบบและมีความสัมพันธ์กับสภาพนำไฟฟ้าที่เกิดขึ้นภายในระบบ กล่าวคือ อุณหภูมิอิเล็กตรอนแสดงถึงค่าพลังงานเฉลี่ยของอิเล็กตรอนต่อหนึ่งตัว และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนแสดงถึงปริมาณของอิเล็กตรอนภายในสภาวะระบบที่ใช้ในการตัดแปรรูปผิว ซึ่งอิเล็กตรอนจะส่งผลต่อการตัดแปรรูปผิวเนื่องจากอิเล็กตรอนเป็นอนุภาคที่ไปกระทำบนพื้นผิวทำให้พื้นผิวมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมี จากผลการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ยในสภาวะการตัดแปรรูปผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ความดัน 0.11-0.22 มิลลิบาร์ พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.0-2.2 อิเล็กตรอนโวลต์ และความหนาแน่นอิเล็กตรอนเฉลี่ยมีค่าระหว่าง 10^{12} - 10^{18} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

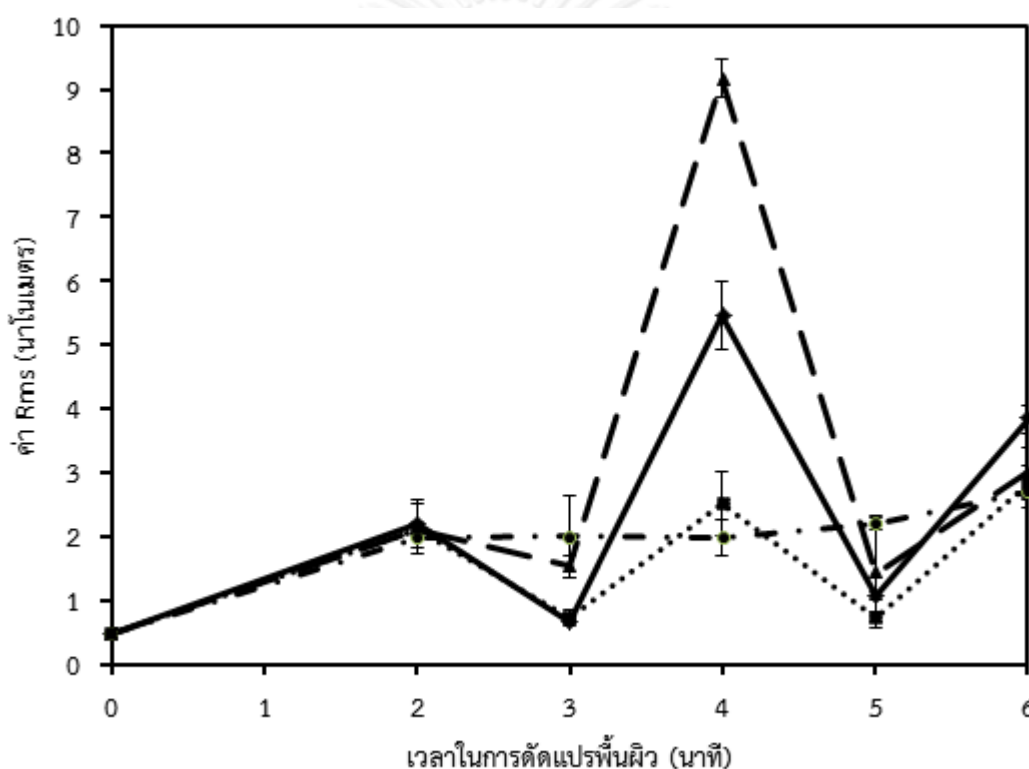
เมื่อพิจารณาอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนในสภาวะความดันระบบระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ จะพบว่า สภาวะความดันของระบบที่สูงจะส่งผลให้อาร์กอนพลาสมามีอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่สูงกว่าสภาวะความดันของระบบที่ต่ำ และจากความดันของระบบที่สูงนี้ยังส่งผลให้ค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมีค่าเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง แสดงให้เห็นว่า ในระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแปรรูปผิว ฟิสิกส์ที่นำไปตัดแปรรูปที่สภาวะความดันสูงจะได้รับพลังงานไม่สม่ำเสมอ ในขณะที่การตัดแปรรูปผิวด้วยความดันต่ำ พื้นผิวจะได้รับพลังงานจากอาร์กอนพลาสมาที่สม่ำเสมอ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะพื้นผิวฟิล์มภายหลังการตัดแปรรูป จากผลการศึกษาที่ความดันของระบบระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอาร์กอนพลาสมาที่ความดันของระบบ 0.11 และ 0.15 มิลลิบาร์มีการเปลี่ยนแปลงของค่าพลังงานเพียงเล็กน้อย และค่าพลังงานจะเปลี่ยนแปลงมากในสภาวะความดันของระบบที่ 0.22 มิลลิบาร์

ผลการศึกษาสภาวะของระบบอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ พบว่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความดันของระบบเพิ่มซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chaisombat S. และคณะ [Chaisombat S. และคณะ 2011] ที่ได้ศึกษาอุณหภูมิอิเล็กตรอนของพลาสมาชนิด Pulsed Inductively Coupled Plasma พบว่า ค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นจาก 0.6 เป็น 4.0 อิเล็กตรอนโวลต์ เมื่อความดันเพิ่มจาก 2 เป็น 10 ปาสคาล

5.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาติน

5.2.1 โครงสร้างสัณฐานของฟิล์มเจลาติน

ผลการวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานพื้นผิวของฟิล์มเจลาตินด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope (AFM) จะแสดงผลเชิงปริมาณเป็นค่า Rms (Root mean square) ดังรูปที่ 5.4 พร้อมกราฟที่แสดงการเปลี่ยนแปลงระยะสูง-ต่ำของพื้นผิวที่ได้จากภาพตัดขวางของฟิล์มดังรูปที่ 5.5 ส่วนการแสดงผลเชิงคุณภาพเป็นภาพพื้นผิวฟิล์มในรูปแบบ 3 มิติ ขนาด 3×3 ตารางไมโครเมตร แสดงดังรูปที่ 5.6



รูปที่ 5.4 ค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินที่ได้รับการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ในช่วงเวลาการตัดแปร 0-6 นาที ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ (●), 0.15 มิลลิบาร์ (▲), 0.19 มิลลิบาร์ (■) และ 0.22 มิลลิบาร์ (◼) (ความดันก่อนการเติมแก๊สอาร์กอน 0.09 มิลลิบาร์)

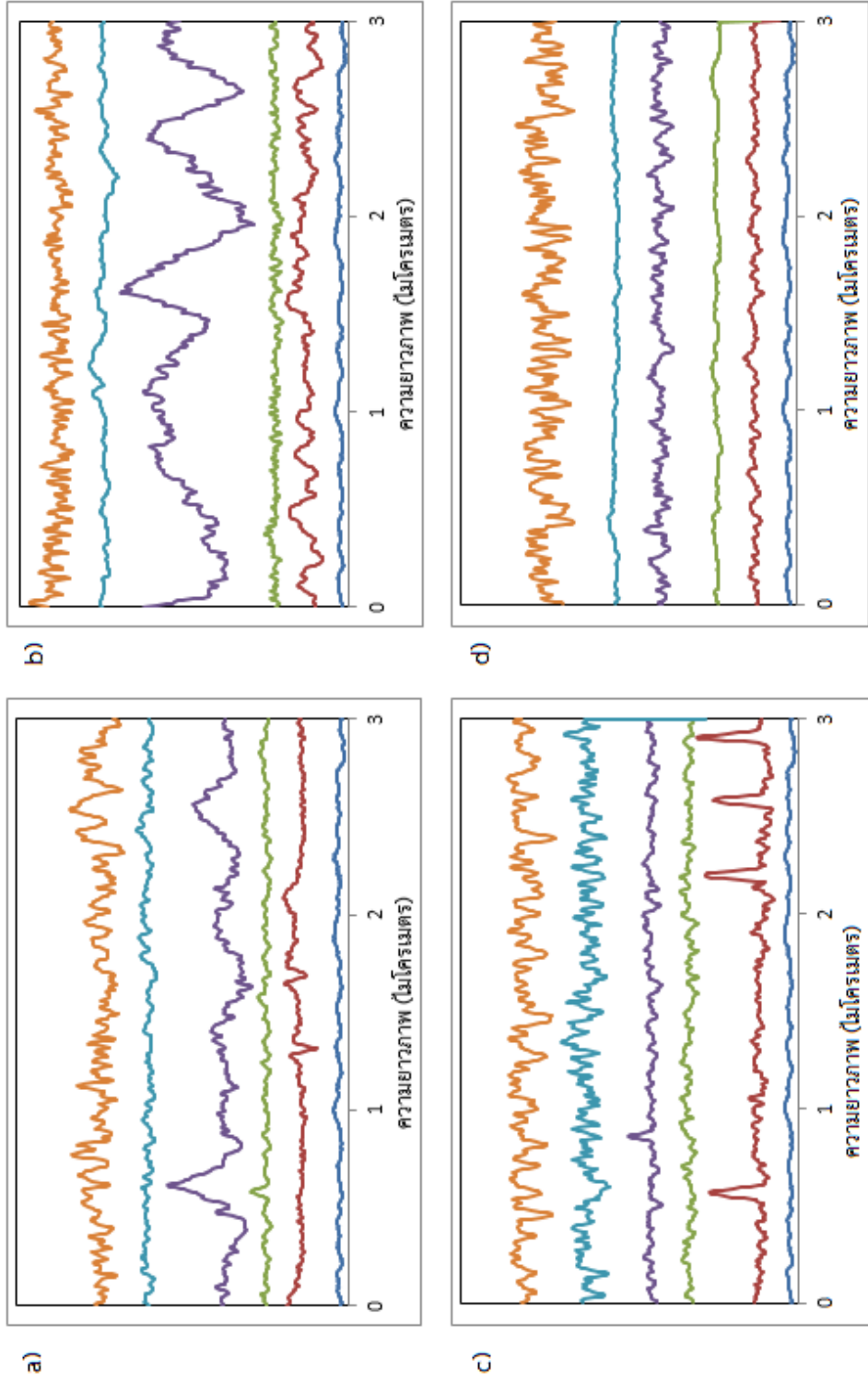
จากผลการวิเคราะห์ค่า Rms ของฟิล์มเจลาติน พบว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรพื้นผิวมีค่า Rms เท่ากับ 0.49 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินในรายงานวิจัยของ Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2010] ที่มีค่าเท่ากับ 0.65 นาโนเมตร จากผลการวิเคราะห์เมื่อมีการปรับความดันของระบบและการศึกษาผลของเวลาในการตัดแปรพื้นผิว พบว่า ในช่วงความดันของระบบระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ การตัดแปรพื้นผิวเจลาตินด้วยอาร์กอน

พลาสมาเป็นเวลา 2 นาที ส่งผลให้ค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.49 นาโนเมตร (ก่อนการตัดแปร) เป็น 2 นาโนเมตร เมื่อเพิ่มเวลาการตัดแปรพื้นผิวเป็น 3 นาที พบว่า ค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย เมื่อใช้เวลาในการตัดแปรพื้นผิวที่ 4 นาที พบว่า ค่า Rms ของฟิล์มที่ตัดแปรที่สภาวะความดันต่างกันมีค่าต่างกันมาก กล่าวคือ การตัดแปรพื้นผิวในสภาวะความดันที่ 0.15 มิลลิบาร์ ส่งผลให้ฟิล์มมีค่า Rms สูงขึ้นมากถึง 9.2 นาโนเมตร ซึ่งสูงกว่าการตัดแปรพื้นผิวที่ความดันอื่นๆ รองลงมาคือฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ความดัน 0.11, 0.22 และ 0.19 มิลลิบาร์ ซึ่งมีค่า Rms ของฟิล์มเท่ากับ 4.45, 2.53 และ 1.98 นาโนเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้ จากผลการวิเคราะห์คุณลักษณะของพลาสมาดังตารางที่ 5.3 จะเห็นได้ว่า ที่สภาวะความดันต่ำ (0.11 และ 0.15 มิลลิบาร์) พลาสมาที่เกิดขึ้นมีอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่ต่ำกว่าที่สภาวะความดันสูง ดังนั้นที่สภาวะความดันต่ำนี้ พลังงานของอิเล็กตรอนต่อตัวมีค่าต่ำและโอกาสที่อิเล็กตรอนจะทำบนพื้นผิวมีน้อยเนื่องจากความหนาแน่นของอิเล็กตรอนน้อย จึงอาจต้องใช้เวลาในการตัดแปรเพื่อให้พื้นผิวเกิดความขรุขระนานถึง 4 นาที แต่เมื่อความดันของระบบสูงขึ้น (0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์) อุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่สูงอาจทำให้เกิดการกระทำบนพื้นผิวที่ดีกว่า ซึ่งการกระทำหรือการชนซ้ำๆ อาจส่งผลให้พื้นผิวส่วนใหญ่ไม่มีความขรุขระมากนักจึงทำให้ค่า Rms ใกล้เคียงกับที่ตัดแปรด้วยระยะเวลา 2 และ 3 นาที ภายหลังจากการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่เวลามากกว่า 4 นาที พบว่า ค่า Rms มีค่าลดลงในทุกสภาวะความดันของระบบ ยกเว้นที่ความดัน 0.19 มิลลิบาร์ โดยค่า Rms ของฟิล์มที่ตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาเป็นเวลา 6 นาที มีค่าใกล้เคียงกับค่าของฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรที่เวลา 3 นาที เมื่อวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณจากค่า Rms ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความขรุขระของสัณฐานพื้นผิวฟิล์มเจลาติน ซึ่งแสดงดังรูปที่ 5.5 และรูปที่ 5.6 พบว่าฟิล์มเจลาตินที่ถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาจะส่งผลให้พื้นผิวมีความขรุขระมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นผิวฟิล์มก่อนตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

ทั้งนี้ สัณฐานพื้นผิวของฟิล์มเจลาตินภายหลังจากการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ที่สภาวะต่างๆ มีความแตกต่างกันไม่มากนัก โดยดูได้จากค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินภายหลังจากการตัดแปรที่มีค่าสูงสุดเพียง 9.2 นาโนเมตร ซึ่งน่าจะเกิดจากข้อจำกัดของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาที่มีพลังงานต่ำ ที่ใช้แหล่งจ่ายไฟกระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ เป็นผลให้ปริมาณการแตกตัวของอนุภาคของแก๊สและอุณหภูมิอิเล็กตรอนมีค่าจำกัดเช่นกัน ดังนั้น ในการปรับเปลี่ยนสัณฐานพื้นผิวให้มีความแตกต่างกันมากกว่านี้ อาจต้องใช้ระบบจ่ายไฟที่มีกำลังที่มากขึ้น

เมื่อพิจารณาจากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาดังแสดงในรูปที่ 5.7 พบว่า ฟิล์มก่อนการตัดแปรมีพื้นผิวเรียบและมีความหนา 224.41 ± 21.33 นาโนเมตร (รูปที่ 5.7 (a)) แต่ภายหลังจากการตัดแปรที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์

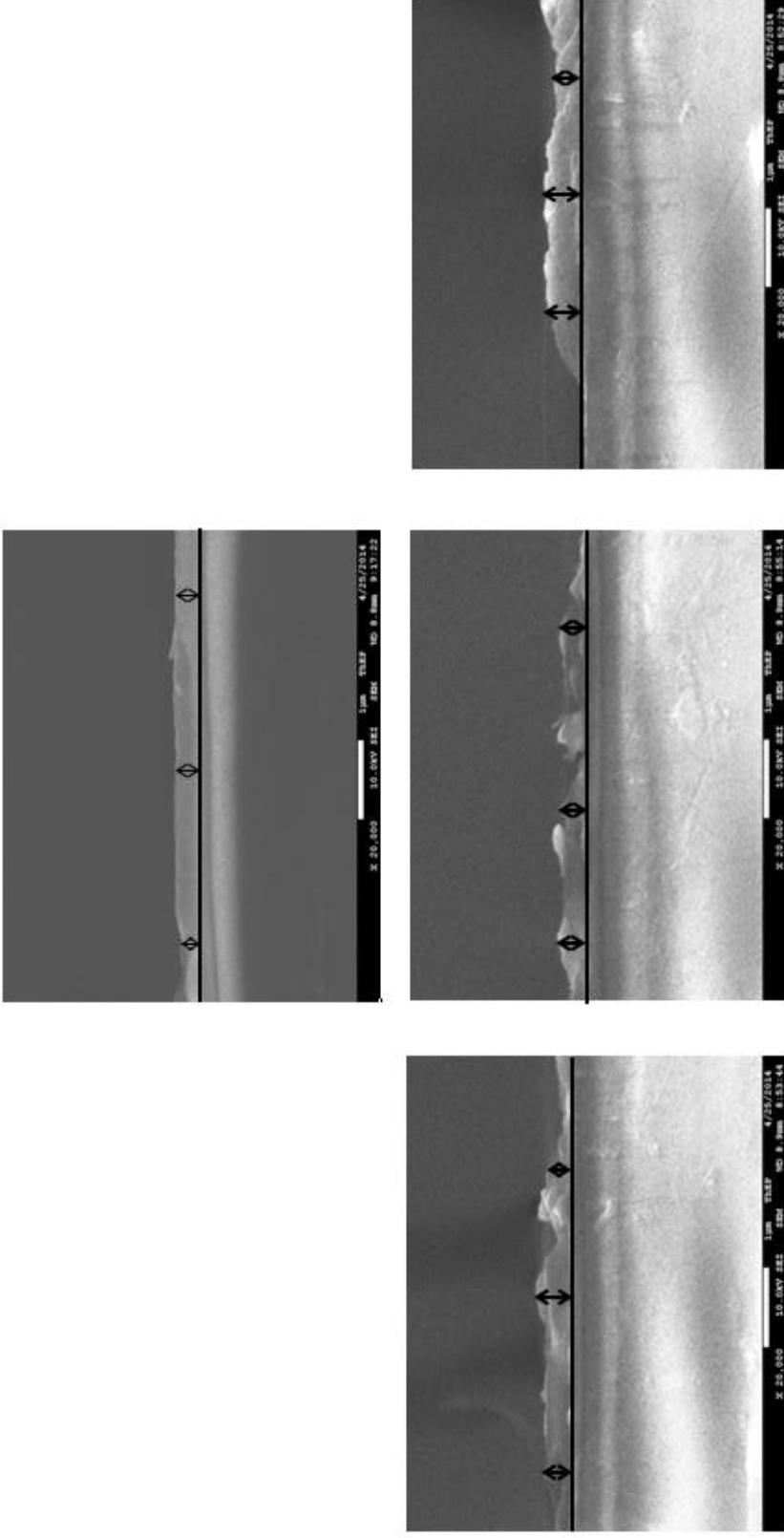
เวลาในการตัดแปรร 3 นาที, 4 นาที และที่ความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรร 4 นาที พบว่าฟิล์มบางส่วนบวมขึ้นในขณะที่พื้นผิวบางส่วนไม่มีเนื้อฟิล์ม โดยผิวฟิล์มเจลาตินที่พบส่วนใหญ่ไม่เรียบ ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่จุดต่างๆ มีค่าแตกต่างกันไปโดยค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์มมีค่าเท่ากับ 344.76 ± 125.99 , 284.82 ± 94.11 และ 377.93 ± 178.99 นาโนเมตรตามลำดับ (รูปที่ 5.7 (b) - (d)) นอกจากนี้ค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินที่เปลี่ยนแปลงซึ่งส่งผลให้พื้นผิวฟิล์มมีความขรุขระเพิ่มขึ้นนั้นยังพบว่าฟิล์มเจลาตินบางส่วนมีลักษณะบวมร่วมด้วย บางส่วนถูกกัดหายไปซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากสมบัติเจลาตินซึ่งเป็นชีววัสดุที่อ่อน (soft material) เมื่ออุณหภูมิของอาร์กอนพลาสมากระทำบนพื้นผิวฟิล์มเจลาตินจะมีการถ่ายเทพลังงานจากอนุภาคไปยังวัสดุซึ่งอาจทำให้เกิดความร้อนสะสมในฟิล์มเจลาตินทำให้ฟิล์มมีการเปลี่ยนสภาพ ทั้งนี้มีรายงานของ Lee H. U. และคณะ [Lee H. U. และคณะ, 2011] ที่พบการบวมของโครงเลี้ยงเซลล์ผสมระหว่างพอลิคาร์โบลาคโตน เจลาตินและ Dulbecco's modified Eagle's medium ที่ประกอบด้วย 10% fetal bovine serum โดยมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยจาก 0.51 ไมโครเมตรเป็น 0.82 ไมโครเมตรภายหลังการตัดแปรร ด้วยออกซิเจนพลาสมาซึ่งมีสาเหตุมาจากการถ่ายเทพลังงานของพลาสมาไปยังโครงเลี้ยงเซลล์ แต่อย่างไรก็ตาม ความหนาแน่นของโครงเลี้ยงเซลล์มีค่าลดลงเล็กน้อยจาก 26 เป็น 25 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรภายหลังการตัดแปรร ด้วยพลาสมา ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสรุปว่า การตัดแปรร ด้วยพลาสมาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยแต่ความหนาแน่นของโครงเลี้ยงเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 5.5 การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวฟิล์มเจลาตินจากภาพตัดขวางของฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ สภาวะความดัน a) 0.11 มิลลิบาร์, b) 0.15 มิลลิบาร์, c) 0.19 มิลลิบาร์ และ d) 0.22 มิลลิบาร์ และ เวลาในการตัดแปร 0 นาที (—), 2 นาที (—), 3 นาที (—), 4 นาที (—), 5 นาที (—), และ 6 นาที (—)

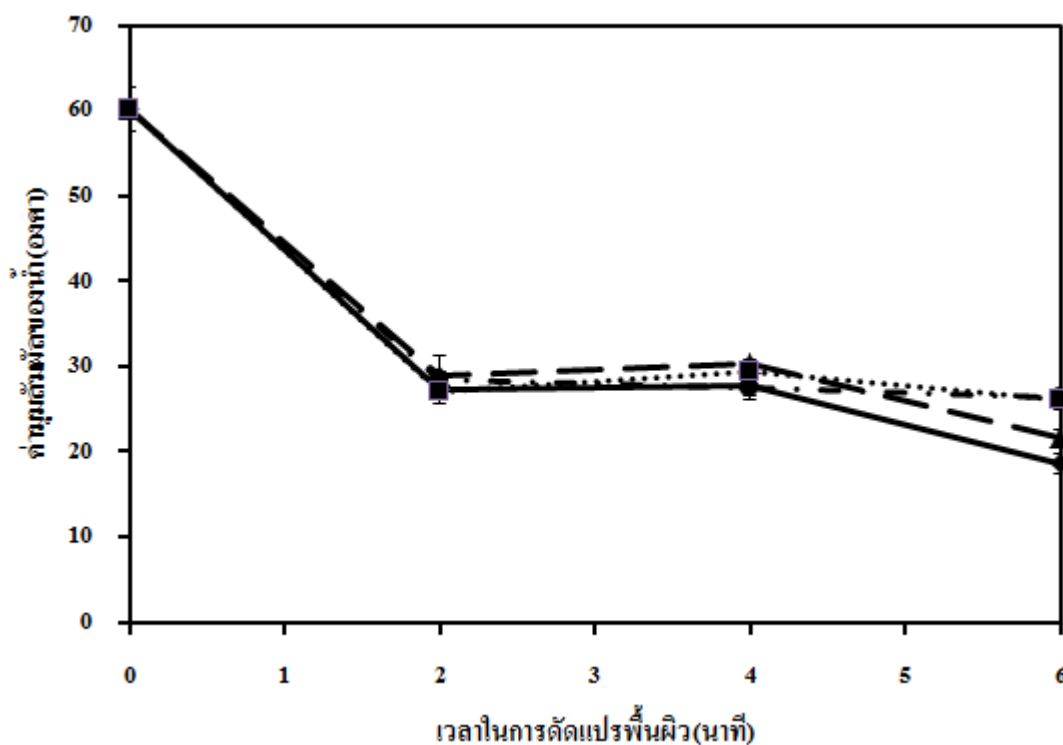
ชิ้นงาน	ระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแปรรูปผิว					
	0 นาที	2 นาที	3 นาที	4 นาที	5 นาที	6 นาที
G/0.11						
G/0.15						
G/0.19						
G/0.22						

รูปที่ 5.6 สัณฐานพื้นผิวฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรรูปผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิรตซ์ พลังงาน 10 วัตต์ ที่สภาวะความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ (ความดันก่อนการเติมแก๊ส 0.09 มิลลิบาร์) โดยใช้ระยะเวลาการตัดแปรรูปผิว 0-6 นาที วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope (AFM) (ระดับความสูงของข้อมูลภาพที่ 50 นาโนเมตร)



รูปที่ 5.7 ภาพตัดขวางซึ่งแสดงลักษณะพื้นผิวและความหนาของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรรูป (a) และภายหลังการตัดแปรรูปในด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดขึ้นจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้กระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ที่ความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรรูป 3 นาที (b), 4 นาที (c) และที่ความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรรูป 4 นาที (d) ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM) (สเกลบาร์เท่ากับ 1 ไมโครเมตรและสูงความหนาของชั้นฟิล์ม)

5.2.2 สมบัติความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของฟิล์มเจลาติน



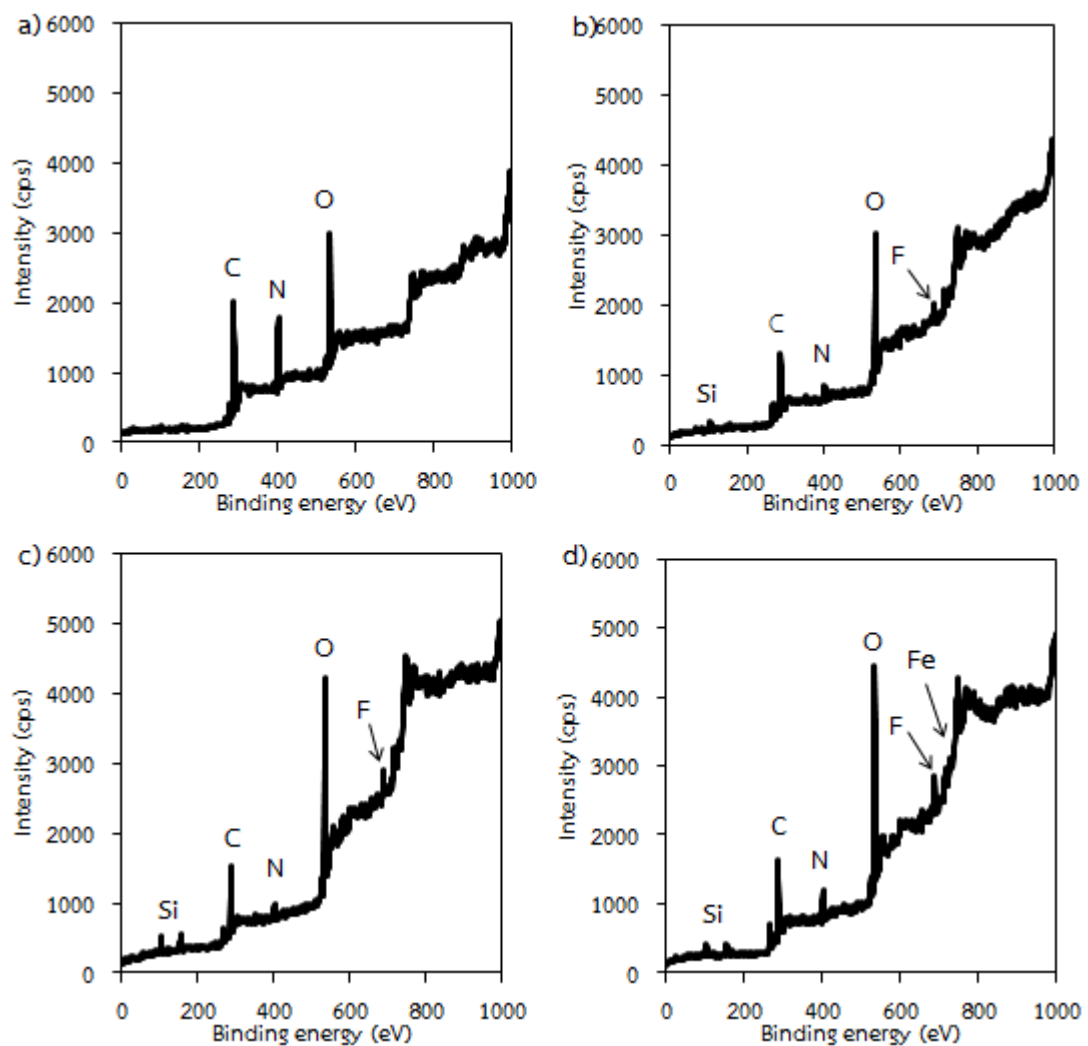
รูปที่ 5.8 ค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ในช่วงเวลา 0-6 นาที ที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ (—), 0.15 มิลลิบาร์ (—), 0.19 มิลลิบาร์ (- . .) และ 0.22 มิลลิบาร์ (.....)

ผลการศึกษสมบัติความชอบน้ำของฟิล์มเจลาตินโดยพิจารณาจากค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาแสดงดังรูปที่ 5.8 ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรพื้นผิวมีค่ามุมสัมผัสของน้ำเท่ากับ 60 องศา ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Tatiana D. และคณะ [Tatiana D. และคณะ 2012] ที่พบว่า ฟิล์มเจลาตินมีค่ามุมสัมผัสเท่ากับ 63 องศา ภายหลังจากการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดันของระบบทุกค่าในช่วง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 2 นาที พบว่า ค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มมีค่าประมาณ 27-28 องศา โดยค่ามุมสัมผัสลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับฟิล์มก่อนการตัดแปร แสดงให้เห็นว่า ฟิล์มเจลาติน ภายหลังจากการตัดแปรมีความชอบน้ำมากขึ้น สำหรับการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ความดัน 0.11, 0.15, 0.19 และ 0.22 มิลลิบาร์ ในช่วงระยะเวลาการตัดแปร 2-4 นาที จะพบว่า ค่ามุมสัมผัส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะมีค่าแตกต่างกันในช่วงเวลาการตัดแปรพื้นผิวที่ 6 นาที

ทั้งนี้ความชอบน้ำบนพื้นผิววัสดุที่ผ่านการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาอาจเกิดจากผลร่วมของ สัณฐานพื้นผิวและองค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนแปลงไป (ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีแสดง ในหัวข้อ 5.2.3) ซึ่งเกิดจากการที่อนุภาคพลาสมาเข้าไปกระทำบนพื้นผิววัสดุ

จากการรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Prasertsung, I. และคณะ [Prasertsung, I. และคณะ 2010] ซึ่งได้ศึกษาความชอบน้ำของฟิล์มเจลาติน พบว่า ฟิล์มเจลาตินมีค่ามุมสัมผัสลดลงภายหลังการ ดัดแปรพื้นผิวด้วยออกซิเจนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ในระยะเวลาเพียง 30 วินาที เมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ค่ามุมสัมผัส ของน้ำบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาจากรูปที่ 5.6 ซึ่งค่ามุม สัมผัสของน้ำเปลี่ยนแปลงจาก 60 องศาเป็น 28 องศา เมื่อดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาเป็นเวลา 2 นาที ทั้งนี้ การลดลงของค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มเจลาตินที่ดัดแปรด้วยระบบพลาสมาอาจจะ เกิดขึ้นที่ช่วงเวลาดัดแปรน้อยกว่า 2 นาที ซึ่งเป็นช่วงที่ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

5.2.3 องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มเจลาติน



รูปที่ 5.9 สเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์ฟิล์มเจลาตินก่อนการดัดแปร (a) และภายหลังจากการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปร 3 นาที (b) และ 4 นาที (c) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปร 4 นาที (d) ด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)

ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา สามารถวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) ผลการวิเคราะห์สเปกตรัมแบบ wide scan ซึ่งแสดงธาตุที่พบในฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปร 3 และ 4 นาที และการดัดแปรพื้นผิวที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาใน

การดัดแปร 4 นาที่ ดังรูปที่ 5.9 โดยปริมาณเปอร์เซ็นต์อะตอมของธาตุที่พบในฟิล์มเจลาตินสรูปดังตารางที่ 5.4

ตารางที่ 5.4 ปริมาณเปอร์เซ็นต์อะตอมของธาตุคาร์บอน ออกซิเจน ไนโตรเจน ซิลิกอน ฟลูออรีน นิกเกิล เหล็กและโครเมียมที่พบบนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มที่ดัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)

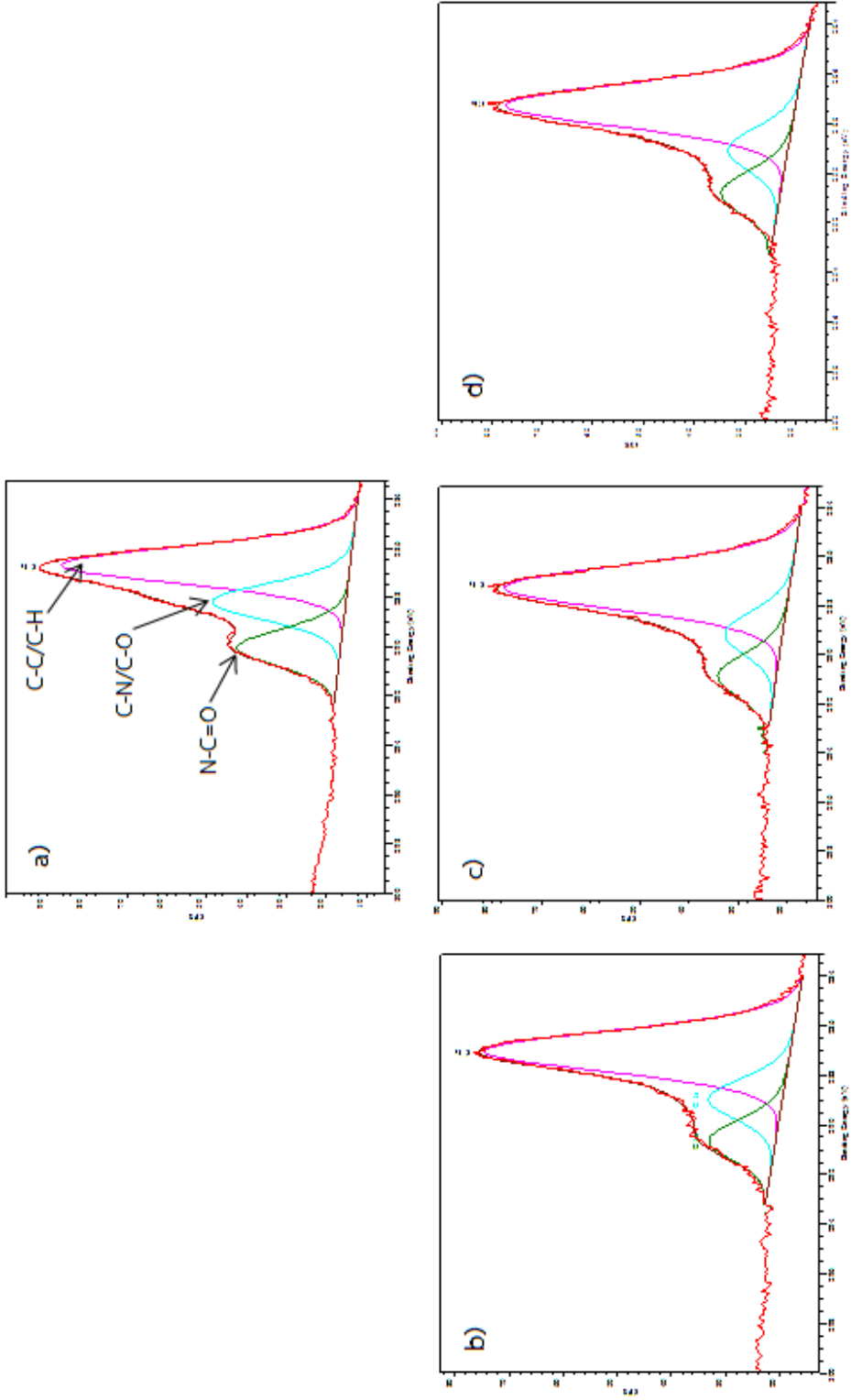
ชนิดของฟิล์มเจลาติน		ปริมาณอะตอม (%)							
		C	O	N	Si	F	Ni	Fe	Cr
ฟิล์มเจลาตินเชื่อมขวางด้วยวิธีทางความร้อน (G) (ก่อนการดัดแปรด้วยพลาสมา)		67.22	19.72	11.84	1.08	0.15	-	-	-
ฟิล์มเจลาตินที่ดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา	G/0.11-3min	46.52	38.67	6.32	6.01	2.49	-	-	-
	G/0.11-4min	39.24	43.84	3.22	10.7	3.00	-	-	-
	G/0.15-4min	45.4	36.29	6.76	5.53	3.92	0.12	1.42	0.55

เครื่องหมาย “-” แสดงถึงอะตอมของธาตุที่ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของฟิล์มเจลาตินที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง XPS ประกอบด้วยธาตุที่เป็นโครงสร้างหลักของเจลาติน คือ คาร์บอน ออกซิเจนและไนโตรเจน นอกจากนี้ยังพบธาตุอื่นๆ ได้แก่ ซิลิกอน (Si) ฟลูออรีน (F) นิกเกิล (Ni) เหล็ก (Fe) และโครเมียม (Cr) โดยซิลิกอนเป็นส่วนประกอบของวัสดุรองรับ (กระจกสไลด์) ที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์ม ฟลูออรีนเป็นส่วนประกอบของชิ้นส่วนภายในเครื่องกำเนิดพลาสมา และธาตุโลหะ (Fe, Ni และ Cr) ซึ่งอาจมาจากส่วนประกอบของแผ่นอิเล็กโทรดหรือส่วนประกอบของกระจกสไลด์ซึ่งเป็นวัสดุรองรับฟิล์ม (Fe_2O_3) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุที่พบในฟิล์มเจลาตินชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางความร้อน (DHT) พบว่ามีปริมาณคาร์บอน 67.22% ออกซิเจน 19.72% ไนโตรเจน 11.84% และยังพบ Si 1.08% ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกระจกสไลด์ซึ่งใช้เป็นวัสดุรองรับในการขึ้นรูปฟิล์ม จากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินก่อนการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FESEM (รูปที่ 5.7 (a)) พบว่าพื้นผิวฟิล์มเจลาตินมีความหนาสม่ำเสมอ ดังนั้นซิลิกอนที่ตรวจพบในฟิล์มเจลาตินก่อนการดัดแปรนี้

น่าจะมาจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XPS ซึ่งต้องมีการตัดฟิล์มให้ได้ขนาดที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XPS ภายหลังจากตัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาพบว่า ปริมาณคาร์บอนลดลง ออกซิเจนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนลดลง และยังพบว่า ปริมาณซิลิกอนเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการกัดกร่อนฟิล์มเจลาตินโดยอาร์กอนพลาสมา ทำให้ฟิล์มเจลาตินบางส่วนบางลงหรือหลุดจากกระจกรองรับที่ตั้งที่สังเกตได้จากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FESEM (รูปที่ 5.7) เมื่อพิจารณาปริมาณธาตุฟลูออรีน นิกเกิล เหล็ก และโครเมียมของฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปร 4 นาที พบว่า สภาวะการตัดแปรฟิล์มด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ศึกษานี้น่าจะมีผลทำให้อนุภาคที่เป็นองค์ประกอบของชิ้นส่วนภายในเครื่องกำเนิดพลาสมาหลุดออกมาด้วย เช่น แกนของเทอร์นอนิเล็คโทรดซึ่งมีฟลูออรีนเป็นองค์ประกอบ กระจกรองรับซึ่งมี Fe_2O_3 เป็นองค์ประกอบ แผ่นอิเล็คโทรดซึ่งเป็นสแตนเลส (นิกเกิล เหล็กและโครเมียม) เมื่อพิจารณาโครงสร้างของเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา โดยการพิจารณาข้อมูลจากตารางที่ 5.4 พบว่า ซิลิกอนที่พบน่าจะอยู่ในรูปซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO_2) และสารประกอบเหล็กซึ่งอยู่ในรูปของ Fe_2O_3 ดังนั้นเมื่อหากลบปริมาณออกซิเจนที่อยู่ในรูปออกไซด์ของซิลิกอนและเหล็กออกจากออกซิเจนที่ตรวจพบทั้งหมดจะเหลือปริมาณออกซิเจนที่คาดว่าน่าจะเกิดการสร้างพันธะกับโครงสร้างเจลาติน ดังแสดงในตารางที่ 5.5

เมื่อทำการ deconvolute สเปกตรัมของคาร์บอน (C1s) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนที่เกิดพันธะกับอะตอมของออกซิเจนและไนโตรเจนในรูปของพันธะ C-C/C-H, พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O ดังแสดงในรูปที่ 5.10 พบว่าตำแหน่งพีค C1s ของฟิล์มเจลาตินที่ตำแหน่งค่า Binding energy 285, 286.9 และ 288.6 อิเล็กตรอนโวลต์ แสดงถึงพันธะ C-C/C-H, พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O ตามลำดับ [Tatiana D. และคณะ 2012 และ Phakdee A. และคณะ 2013] ภายหลังจากตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ ระยะเวลาการตัดแปรพื้นผิว 3 และ 4 นาที (รูปที่ 5.10 (b) และ 5.10 (c)) และอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ ระยะเวลาการตัดแปรพื้นผิว 4 นาที (รูปที่ 5.10 (d)) พบว่า ปริมาณพันธะ C-C/C-H เพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณพันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O ลดลงเมื่อเทียบกับปริมาณพันธะ C-C/C-H, พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O ที่พบในฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร



รูปที่ 5.10 สเปกตรัม C1s ของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร (a) และภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ ความถี่ 50 เฮิร์ตซ์สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปร 3 นาที (b) และ 4 นาที (c) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปร 4 นาที (d)

ตารางที่ 5.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน ออกซิเจนและไนโตรเจนและปริมาณพันธะของคาร์บอนในโพลีเอทิลีนก่อนและหลังการตัดแปรร่วมอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ จากการ deconvolute ข้อมูลของสเปกตรัม C1s

ชนิดของฟิล์มเจลาติน	ปริมาณอะตอม (%)			N/C	O/C	C-C/ C-H (285 eV) (%)	C-N/ C-O (286.9 eV) (%)	N-C=O (288.6 eV) (%)
	C	O	N					
ฟิล์มเจลาตินเชื่อมขวางด้วยวิธีทางความร้อน (G) (ก่อนการตัดแปรร่วมพลาสมา)	69.90	17.98	12.12	0.17	0.26	45.79	30.88	23.33
G/0.11-3min	60.79	30.95	8.26	0.14	0.51	79.73	5.59	14.68
ฟิล์มที่ตัดแปรร่วมด้วย อาร์กอนพลาสมา	63.35	31.45	5.20	0.08	0.50	80.01	8.72	11.27
	G/0.15-4min	61.00	29.92	9.08	0.49	73.36	11.32	15.32

ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุคาร์บอน ออกซิเจนและไนโตรเจนและปริมาณพันธะของคาร์บอนในโครงสร้างฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับ ความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ พลังงาน 10 วัตต์ จากการ deconvolute ข้อมูลของสเปกตรัม C1s ดังตารางที่ 5.5 พบว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมามีปริมาณธาตุคาร์บอน ออกซิเจนและไนโตรเจนเท่ากับ 69.90%, 17.98% และ 12.12% ตามลำดับ ภายหลังจากการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมา ปริมาณคาร์บอนลดลงเหลือ 60-63% ปริมาณออกซิเจนที่พบในฟิล์มเจลาตินซึ่งหักลบออกซิเจนจากออกไซด์ของซิลิกอนและเหล็กพบว่าเพิ่มขึ้น เป็น 29-31% และปริมาณไนโตรเจนลดลงเหลือ 5-9% เมื่อพิจารณาพันธะของคาร์บอนภายในโครงสร้างฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรพบว่า โครงสร้างของเจลาติน ประกอบด้วยพันธะ C-C และ C-H ซึ่งเป็นหมู่เอลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (aliphatic hydrocarbon) ปริมาณ 45.79% พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O ของฟิล์มเจลาตินมีปริมาณ 30.88% และ 23.33% ตามลำดับ ภายหลังจากการตัดแปรพื้นผิวส่งผลให้เกิดอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการที่อาร์กอนพลาสมาทำการตัดโครงสร้างหลักของฟิล์มเจลาติน เมื่อพันธะ C-C ถูกตัดจากสายโซ่หลัก ไฮโดรเจนจะจับพันธะกับคาร์บอนทำให้ปริมาณของ C-C/C-H เพิ่มขึ้นถึง 80% ส่วนพันธะ C-N และ C-O ลดลงเหลือ 5-11% และพันธะ N-C=O ซึ่งแสดงหมู่เอไมด์ลดลงเหลือ 11-15% เมื่อพิจารณาฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาทั้ง 3 สภาวะ คือ สภาวะที่ความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรพื้นผิว 3 และ 4 นาที และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรพื้นผิว 4 นาที พบว่าองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มมีปริมาณอะตอมและปริมาณพันธะต่างๆ ไม่แตกต่างกันนัก เมื่อพิจารณาพลังงานของอาร์กอนพลาสมาสำหรับการตัดแปรพื้นผิวทั้ง 3 สภาวะพบว่า พลังงานของอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ มีค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเท่ากับ 1 อิเล็กตรอนโวลต์และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเท่ากับ 1.94×10^{12} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อเพิ่มความดันในการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเป็น 0.15 มิลลิบาร์ พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนเพิ่มเล็กน้อยเป็น 1.25 อิเล็กตรอนโวลต์ ในขณะที่ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นเป็น 2.7×10^{14} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอาร์กอนพลาสมาที่มีคุณลักษณะในช่วงนี้ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินภายหลังจากการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

โดยทั่วไป การตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมามีจุดประสงค์ 2 ด้าน คือ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเพื่อให้พื้นผิวแตกต่างจากเดิม และทางเคมีพื้นผิวเพื่อให้เกิดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิววัสดุ การใช้แก๊สอาร์กอนซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยในการผลิตเป็นอาร์กอนพลาสมาเพื่อใช้ในการตัดแปรพื้นผิว มีความมุ่งหมายแรกเริ่มคือ ต้องการให้อาร์กอนพลาสมากระทำบนพื้นผิววัสดุเพื่อเปลี่ยนสัณฐานพื้นผิวแต่ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเคมีพื้นผิว แต่เนื่องจากสภาวะของอาร์กอนพลาสมาที่มีพลังงานสูงและ

เวลาในการตัดแปรที่นานส่งผลทำให้อาร์กอนพลาสมาทำให้พื้นผิวมีค่า Rms เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ฟิล์มบางส่วนบางลงและบางส่วนบวมขึ้นดังสังเกตได้จากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FESEM (รูปที่ 5.7) และยังเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีด้วยซึ่งน่าจะเกิดจากข้อจำกัดของชุดอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบกระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ที่ยังมีการรั่วไหลของอากาศจากภายนอกเข้าในระบบ และการเคลื่อนย้ายฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา ซึ่งฟิล์มจะสัมผัสกับอากาศภายนอก ดังนั้นอนุภาคที่ถูกกระตุ้นด้วยพลาสมาซึ่งอยู่บนพื้นผิวฟิล์มเจลาตินสามารถทำปฏิกิริยาเพื่อสร้างพันธะกับออกซิเจน ไนโตรเจนหรือไอน้ำที่อยู่ภายในบรรยากาศได้

ผลการศึกษาร่วมกันขององค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มที่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu, Y. C. และคณะ [Wu, Y. C. และคณะ 2010] ซึ่งมีการศึกษาการตัดแปรฟิล์มไคโตซานด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสตรงโดยศึกษาเวลาในการตัดแปรตั้งแต่ 1-20 นาที พบว่า การใช้แก๊สอาร์กอนซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยมาใช้ในการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มไคโตซานนั้น เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XPS พบว่า ปริมาณออกซิเจนและไนโตรเจนเพิ่มขึ้นภายหลังการตัดแปรฟิล์มไคโตซานซึ่งมีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคในฟิล์มไคโตซานซึ่งเป็นหมู่ที่มีความว่องไวสามารถสร้างพันธะใหม่กับอนุภาคที่อยู่ภายในบรรยากาศภายหลังกระบวนการตัดแปรด้วยพลาสมา

จากผลของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากไฟฟ้ากระแสสลับความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ เพื่อตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินซึ่งทำให้มีสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันโดยพิจารณาจากค่า Rms ซึ่งแสดงถึงความขรุขระของพื้นผิวและม็อดุสองค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงด้วย ดังนั้นในการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาตินในหัวข้อต่อไปจะทำการเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มเจลาตินที่มีความขรุขระแตกต่างกันแต่มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกัน และฟิล์มเจลาตินที่มีความขรุขระใกล้เคียงกันแต่มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน ดังสรุปในตารางที่ 5.6

ตารางที่ 5.6 ตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่นำไปศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนังของหนู (L929)

ชนิดของวัสดุ	ค่าความขรุขระ (Rms, นาโนเมตร)	ค่ามุมสัมผัสของน้ำ (องศา)	C-C/C-H (285 eV) (%)	C-N/C-O (286.9 eV) (%)	N-C=O (288.6 eV) (%)
G	0.49	60	45.79	30.88	23.33
G/0.11-3min	0.73	28	79.73	5.59	14.68
G/0.11-4min	5.45	27	80.01	8.72	11.27
G/0.15-4min	9.20	30	73.36	11.32	15.32

5.3 สมบัติทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน

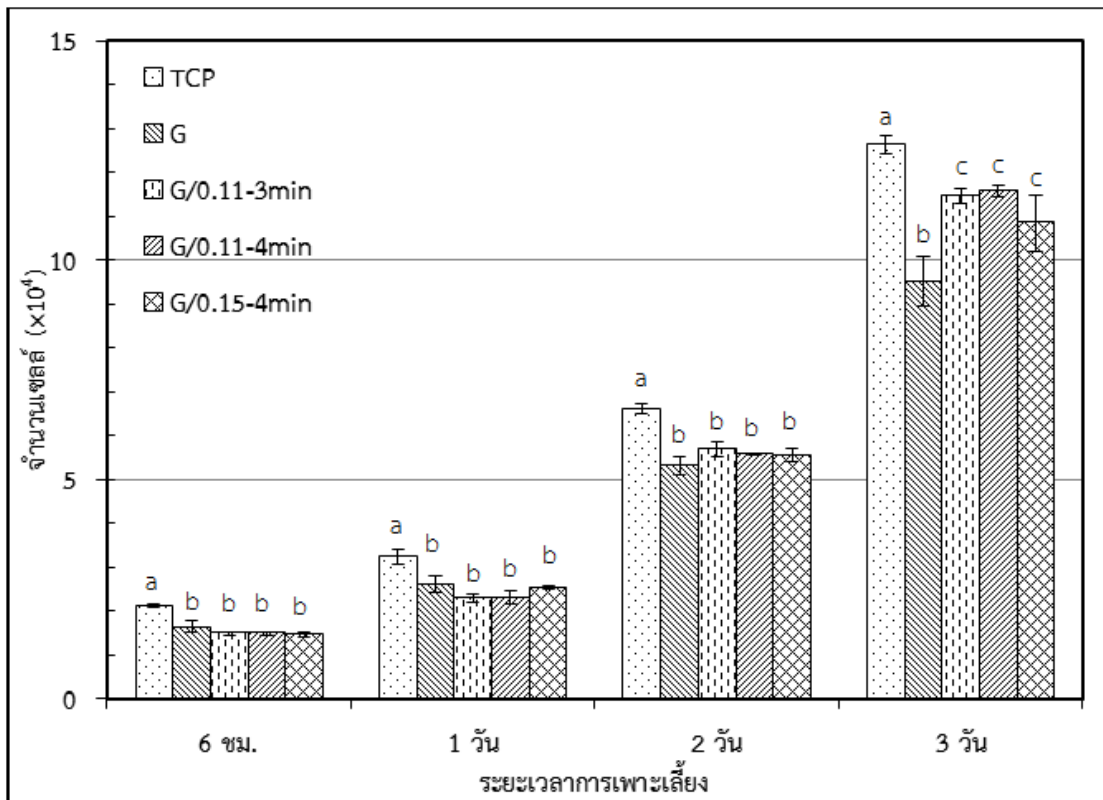
5.3.1 การทดสอบการยึดเกาะ (Attachment) และการเจริญเติบโต (Proliferation) ของเซลล์ผิวหนังของหนู (L929) บนฟิล์มเจลาติน

จากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์ม โดยการศึกษาการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังของหนู (L929) บนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์ ด้วยวิธีการ DNA assay เพื่อตรวจวัดจำนวนเซลล์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน และ 3 วัน แสดงผลดังรูปที่ 5.11 ซึ่งสามารถคำนวณเวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (PDT) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ L929 (μ) ดังแสดงในตารางที่ 5.7

ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ L929 เมื่อพิจารณาหลังเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินก่อนการดัดแปรมีปริมาณร้อยละ 81.41 ภายหลังจากดัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปร 3 และ 4 นาทีและการดัดแปรที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปร 4 นาที เซลล์มีปริมาณการยึดเกาะร้อยละ 74.26, 74.31 และ 72.88 ตามลำดับ ในขณะที่ ภาตาเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิไสตรีน (TCP) ซึ่งเป็นวัสดุทางการค้าที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะถึง 106% เมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาพบว่า ปริมาณเซลล์ผิวหนังของหนูที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนูโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1-2 วันพบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังบนฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรรด้วยอาร์กอนพลาสมา มีปริมาณเซลล์ใกล้เคียงกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรร แต่เมื่อมีการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อเนื่องจนถึงวันที่ 3 พบว่า เซลล์ L929 เจริญเติบโตได้ดีบนฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาเมื่อเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรร โดยจะเห็นได้ว่า ฟิล์มที่ตัดแปรรพื้นผิวด้วยพลาสมาจะสนับสนุนให้เซลล์เจริญเติบโตมากกว่าฟิล์มเจลาตินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังแสดงในรูปที่ 5.11 เมื่อพิจารณา ค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (Population doubling time, PDT) ของเซลล์ ซึ่งคำนวณจากการเพาะเลี้ยงในวันที่ 1 ถึง 3 พบว่า ค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณของเซลล์ที่เจริญเติบโตบนสภาพเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน เท่ากับ 24.5 ชั่วโมง สำหรับฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังตัดแปรรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรร 3 และ 4 นาที และการตัดแปรรที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรร 4 นาที จะมีค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณเท่ากับ 25.7, 20.6, 20.6 และ 22.9 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การตัดแปรรพื้นผิวด้วยพลาสมาจะช่วยส่งเสริมให้เซลล์มีการเจริญเติบโตได้ดี โดยมีค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณต่ำกว่าค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณของฟิล์มเจลาตินและสภาพเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีนอย่างมีนัยสำคัญ

งานวิจัยอื่นๆ ที่มีการรายงานผลการตัดแปรรพื้นผิวด้วยพลาสมาที่ส่งผลต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Prasertsung I. และคณะ [Prasertsung I. และคณะ 2013] ที่มีการตัดแปรรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) โดยใช้แก๊สไนโตรเจน พบว่า ค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณของเซลล์ผิวหนังหนูที่เพาะเลี้ยงบนฟิล์มเจลาตินมีค่าเท่ากับ 30 ชั่วโมง และภายหลังจากการตัดแปรรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยไนโตรเจนพลาสมาเป็นเวลา 15 วินาที พบว่าค่าเวลาการแบ่งตัวทวีคูณของเซลล์ผิวหนังหนูที่เพาะเลี้ยงบนฟิล์มลดลงเหลือ 23 ชั่วโมง และเซลล์ที่เกาะมีลักษณะแผ่มากกว่า แสดงว่า การตัดแปรรพื้นผิวด้วยไนโตรเจนพลาสมาช่วยสนับสนุนให้เซลล์เกาะได้ดีขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะไนโตรเจนพลาสมาส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินเปลี่ยนในขณะที่สัณฐานพื้นผิวฟิล์มเจลาตินไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรรด้วยไนโตรเจนพลาสมา โดยองค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรรด้วยไนโตรเจนพลาสมาที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ มีอัตราส่วนออกซิเจนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 1.4



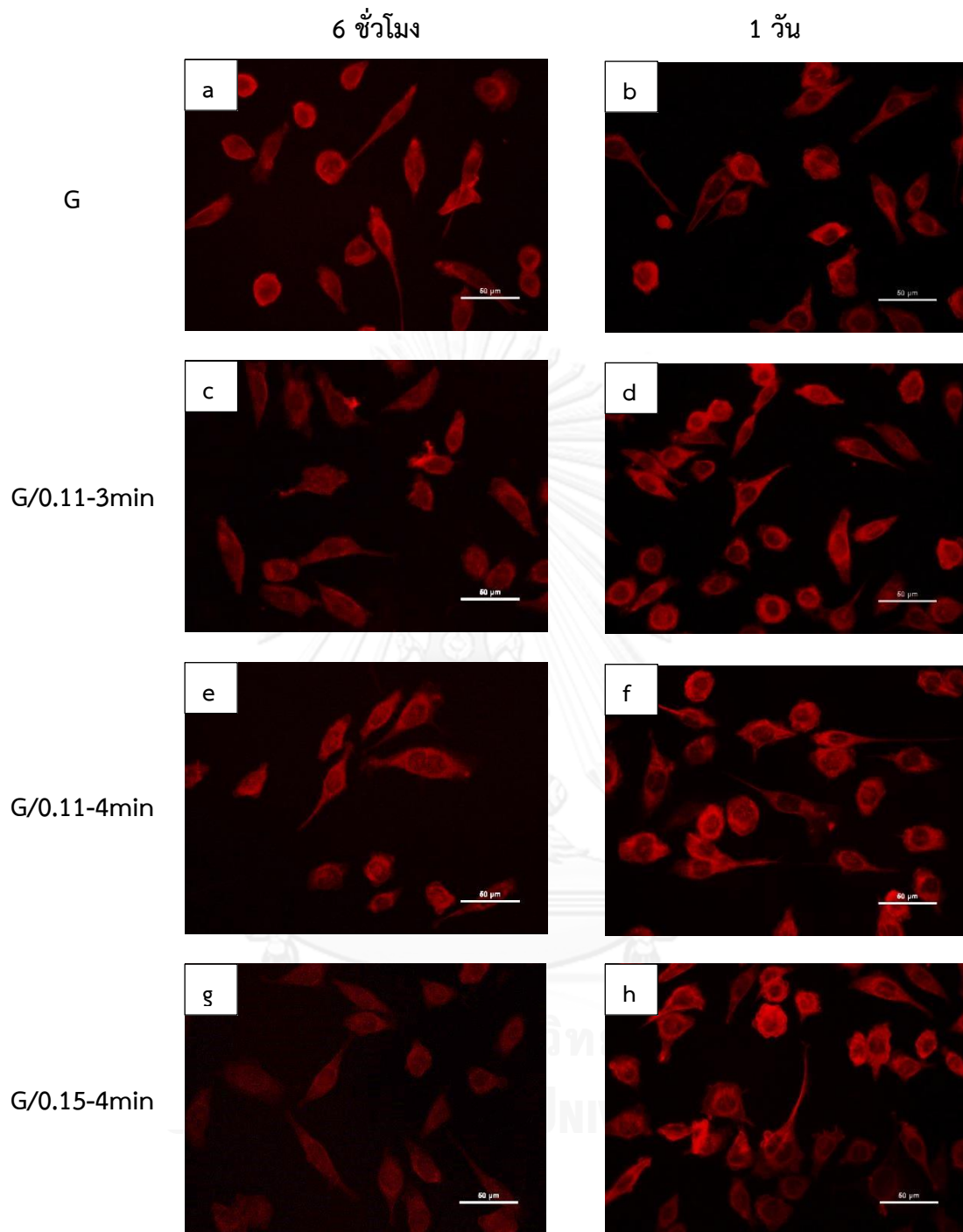
รูปที่ 5.11 จำนวนเซลล์ L929 ที่ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาเปรียบเทียบกับภาคเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCP) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, 5% แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณเซลล์ที่ใช้ 1.13×10^4 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร

(a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ เมื่อพิจารณาในช่วงเดียวกัน)

ตารางที่ 5.7 ร้อยละการยึดเกาะของเซลล์ L929, เวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (PDT) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของเซลล์ L929 บนฟิล์มเจลาตินและฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาแก๊สอาร์กอน พลังงาน 10 วัตต์

ชนิดของวัสดุ		ร้อยละของการยึดเกาะของเซลล์ L929	เวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ (ต่อชั่วโมง)
ธาตุเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิไสตรีน (TCP)		106.13±1.49 ^a	24.5±0.7 ^{d,f}	2.83±0.09×10 ^{-2 g,i}
ฟิล์มเจลาติน (G)		81.41±6.49 ^{b,c}	25.7±0.6 ^d	2.70±0.07×10 ^{-2 g}
ฟิล์มที่ถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมา	G/0.11-3min	74.26±2.03 ^{b,c}	20.6±0.3 ^e	3.36±0.06×10 ^{-2 h}
	G/0.11-4min	74.31±1.64 ^{b,c}	20.6±0.9 ^e	3.37±0.15×10 ^{-2 h}
	G/0.15-4min	72.88±2.28 ^c	22.9±0.8 ^f	3.03±0.11×10 ^{-2 i}

- เมื่อ a, b และ c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูล “ร้อยละของการยึดเกาะของเซลล์ L929”
- เมื่อ d, e และ f แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูล “เวลาการแบ่งตัวทวีคูณของเซลล์ L929”
- เมื่อ g, h และ i แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $p < 0.05$ ของข้อมูล “อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ L929”



รูปที่ 5.12 F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 บนพื้นผิวฟิล์มเจลาติน (a,b) และฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปรพื้นผิวที่ 3 นาที (c,d) และ 4 นาที (e,f) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการดัดแปรพื้นผิว 4 นาที (g,h) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 ชั่วโมงและ 1 วัน (สเกลบาร์ 50 ไมโครเมตร)

รูปที่ 5.12 แสดงลักษณะ F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 ที่ยึดเกาะและเจริญเติบโตบนฟิล์มก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่มาจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 6 ชั่วโมงและ 1 วัน ซึ่งการศึกษาสัณฐานของเซลล์ L929 ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินโดยการดู F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 จากการย้อมสี Phalloidin-R415 นี้พบว่า F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 มีลักษณะแผ่นบนพื้นผิวฟิล์มเจลาตินที่ตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมามากกว่าพื้นผิวฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรซึ่งเซลล์ที่ยึดเกาะส่วนใหญ่มีลักษณะกลม โดยความแตกต่างของลักษณะเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลาตินนั้นจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อมีการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 วัน นั้นแสดงให้เห็นว่า ฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมามีสมบัติที่เหมาะสมที่ช่วยในการสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์โดยพิจารณาได้จากลักษณะ F-actin cytoskeleton ของเซลล์ L929 ที่แผ่มากกว่าฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Inho H. และคณะ [Inho H. และคณะ 2012] ที่มีการศึกษาผลของการตัดแปรพื้นผิวไทเทเนียมด้วยพลาสมาที่สภาวะความดันบรรยากาศในการสนับสนุนความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ MC3T3 ซึ่งเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ซึ่งพบว่า เซลล์เจริญเติบโตได้ดีบนแผ่นไทเทเนียมภายหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมา F-actin cytoskeleton ของเซลล์ MC3T3 ที่ถูกย้อมด้วย Alexa 488-conjugated phalloidin จะมีลักษณะกลมบนแผ่นไทเทเนียม แต่ลักษณะเซลล์บนแผ่นไทเทเนียมที่ถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาเป็นเวลา 4 และ 8 นาที จะมีลักษณะแผ่แบนมากกว่า

จากการวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่ส่งผลต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนังหนุ จะเห็นว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรมีลักษณะพื้นผิวที่เรียบและมีค่ามุมสัมผัสมากซึ่งแสดงถึงความไม่ชอบน้ำ ภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา สมบัติทางกายภาพของฟิล์มเจลาตินเปลี่ยนแปลงไปโดยฟิล์มเจลาตินมีความขรุขระมากขึ้นซึ่งพิจารณาได้จากภาพสัณฐานพื้นผิวและค่า Rms สภาวะที่ใช้ในการทดลองของงานวิจัยนี้สามารถเพิ่มค่า Rms ของฟิล์มเจลาตินได้สูงสุดเท่ากับ 9.2 นาโนเมตร และค่ามุมสัมผัสของฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาลดลงซึ่งแสดงถึงสมบัติความชอบน้ำของฟิล์มที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่สมบัติทางเคมีก็มีการเปลี่ยนแปลงด้วยโดยมีการลดลงของปริมาณหมู่เอมีนและคาร์บอกซิลิก ซึ่งหมู่เอมีนและคาร์บอกซิลิกนี้เป็นหมู่ที่แสดงสมบัติความชอบน้ำ แต่ถึงอย่างไรก็ตาม ฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมายังสามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนุได้ดีกว่าฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร นั้นอาจเป็นเพราะผลรวมทั้งด้านสัณฐานวิทยาและสมบัติทางเคมีของฟิล์มเจลาตินที่เปลี่ยนแปลงไป

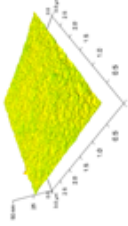
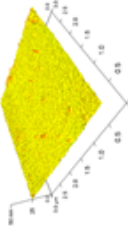
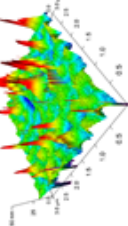
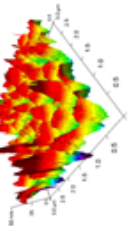
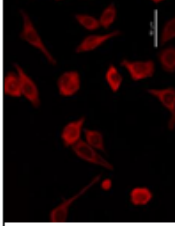
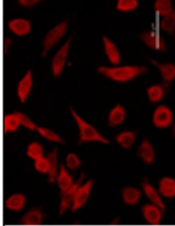
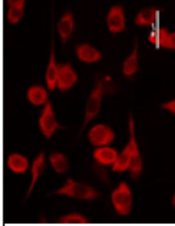
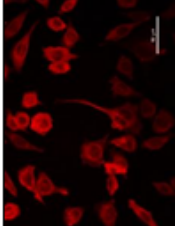
จากผลการทดลองความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนังหนุ (L929) จึงสามารถสรุปได้ว่า การตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ได้

โดยสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ผิวหนังของ
ฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาสรุปได้ในตารางที่ 5.8



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 5.8 สมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและความสามารถในการเข้าถึงกันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ผิวหนังของพื้เดิมเจลาตินก่อนและหลังการดัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พลังงาน 10 วัตต์

พื้นผิววัสดุ	TCP	G	G/0.11-3min	G/0.11-4min	G/0.15-4min
ค่า Rms (นาโนเมตร)	3.5*	0.49	0.73	5.45	9.20
ลักษณะพื้นผิว (วิเคราะห์ด้วยเครื่อง AFM)	N/A				
ค่ามุมสัมผัสของน้ำ	50*	60.15	28.09	27.85	30.30
C/O/N	80.2/18.6/0.9**	69.90/17.98/12.12	60.79/30.95/8.26	63.35/31.45/5.20	61.00/29.92/9.08
ร้อยละของการยึดเกาะของเซลล์ L929	106.13±1.49 ^a	81.41±6.49 ^{b,c}	74.26±2.03 ^{b,c}	74.31±1.64 ^{b,c}	72.88±2.28 ^c
เวลาการแบ่งตัวทวีคูณ (ชั่วโมง)	24.5±0.7 ^{d,f}	25.7±0.6 ^d	20.6±0.3 ^e	20.6±0.9 ^e	22.9±0.8 ^f
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ (ต่อชั่วโมง)	2.83±0.09×10 ⁻² ^{g,i}	2.70±0.07×10 ⁻² ^g	3.36±0.06×10 ⁻² ^h	3.37±0.15×10 ⁻² ^h	3.03±0.11×10 ⁻² ⁱ
ภาพ F-actin cytoskeleton ของ L929 เมื่อเพาะเลี้ยงบนพื้นผิววัสดุเป็นเวลา 1 วัน	N/A				

* จากรายงานของ Adam S. Z. และคณะ [Adam S. Z. และคณะ 2013]

** จากรายงานของ Theo G. van Kooten และคณะ [Theo G. van Kooten และคณะ 2004]

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ ความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ (AC 50 Hz plasma) และศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา โดยฟิล์มเจลาตินที่ใช้ผ่านการเชื่อมขวางด้วยความร้อนที่ 140 องศาเซลเซียสในสภาวะสุญญากาศ หลังจากนั้น ฟิล์มเจลาตินจะถูกตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) ซึ่งตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มเจลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา คือ ความดันของระบบที่เกิดจากการปรับอัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน (1-15 sccm) ซึ่งมีความดันระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ และเวลาในการตัดแปรพื้นผิวระหว่าง 0-6 นาที จากการวิเคราะห์อนุภาคของพลาสมาที่เกิดภายในอุปกรณ์กำเนิดพลาสมา โดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ 50 เฮิร์ตซ์ ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีแบบเปล่งแสง (Optical Emission Spectroscopy, OES) พบว่า เกิดสเปกตรัมจำนวนมากในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 600 ถึง 950 นาโนเมตร โดยสเปกตรัมที่มีความเข้มแสงสูงที่สุดคือ สเปกตรัมที่มีความยาวคลื่น 749.81 นาโนเมตร ซึ่งเป็นสเปกตรัมของอาร์กอน I เมื่อพิจารณาคุณลักษณะของพลาสมาจากค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) โดยคำนวณจากค่าความยาวคลื่นและความเข้มแสงของอนุภาคอาร์กอนในช่วงความดัน 0.11-0.22 มิลลิบาร์ พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนเฉลี่ยมีค่าระหว่าง 1.0-2.2 อิเล็กตรอนโวลต์ และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเฉลี่ยมีค่าระหว่าง 10^{12} - 10^{18} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ทั้งนี้ จะเห็นได้ว่า สภาวะความดันของระบบที่สูงจะส่งผลให้อาร์กอนพลาสมามีอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่สูงกว่าสภาวะความดันของระบบที่ต่ำ

ผลการวิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานพื้นผิวของฟิล์มเจลาตินซึ่งแสดงผลเชิงปริมาณเป็นค่า Rms (Root mean square) และผลเชิงคุณภาพแสดงเป็นภาพพื้นผิวฟิล์มในรูปแบบ 3 มิติ พบว่า พื้นผิวฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรมีลักษณะเรียบโดยมีค่า Rms เท่ากับ 0.49 นาโนเมตร จากการศึกษาผลของการปรับความดันของระบบและเวลาในการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมา พบว่า อาร์กอนพลาสมาสามารถตัดแปรฟิล์มเจลาตินให้มีความขรุขระเพิ่มขึ้นโดยมี Rms สูงสุดถึง 9.2 นาโนเมตร เมื่อพิจารณาจากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร พบว่า ฟิล์มก่อนการตัดแปรมีพื้นผิวเรียบและมีความหนาเฉลี่ย 224.41 ± 21.33 นาโนเมตร ภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

พบว่า พิล์มบางส่วนบวมขึ้นในขณะที่พื้นผิวบางส่วนถูกกัดกร่อนหายไป โดยผิวฟิล์มเจลาตินที่พบส่วนใหญ่ไม่เรียบ ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่จุดต่างๆ มีค่าแตกต่างกัน

ผลการศึกษาสมบัติความชอบน้ำของฟิล์มเจลาตินโดยพิจารณาจากค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมา พบว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรพื้นผิวมีค่ามุมสัมผัสของน้ำเท่ากับ 60 องศา ภายหลังจากตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดันของระบบในช่วง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ ในเวลา 2 นาทีแรก พบว่าค่ามุมสัมผัสของน้ำบนฟิล์มมีค่าลดลงเหลือ 27-28 องศา โดยค่ามุมสัมผัสของน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับฟิล์มก่อนการตัดแปร แสดงให้เห็นว่า ฟิล์มเจลาตินภายหลังจากตัดแปรมีความชอบน้ำมากขึ้น สำหรับการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาในช่วงความดันระหว่าง 0.11-0.22 มิลลิบาร์ และระยะเวลาการตัดแปร 2-4 นาที จะพบว่า ค่ามุมสัมผัสของน้ำไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะมีค่าแตกต่างกันในระยะเวลาการตัดแปรพื้นผิวที่ 6 นาที

จากผลของอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ ความถี่ 50 เฮิร์ตซ์ ซึ่งทำให้สมบัติทางกายภาพของฟิล์มเจลาตินเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรโดยพิจารณาจากค่า Rms ดังนั้น ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลาติน จึงเลือกฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาที่มีค่า Rms แตกต่างกัน 3 ค่ามาพิจารณา ได้แก่ ฟิล์มที่มีค่า Rms 0.73, 5.45 และ 9.2 นาโนเมตร เพื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร

เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินที่จะนำไปศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนัง พบว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรประกอบด้วยธาตุที่เป็นโครงสร้างหลักของเจลาติน ได้แก่ คาร์บอน 69.90%, ออกซิเจน 17.98% และไนโตรเจน 12.12% ภายหลังจากตัดแปรฟิล์มเจลาตินด้วยอาร์กอนพลาสมาพบว่า ปริมาณคาร์บอนลดลง ออกซิเจนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนลดลง และยังพบซิลิกอนเป็นองค์ประกอบของกระจกสไลด์ที่ใช้เป็นวัสดุรองรับในการขึ้นรูปฟิล์มซึ่งอาจเกิดจากการกัดกร่อนฟิล์มเจลาตินโดยอาร์กอนพลาสมา ทำให้ฟิล์มเจลาตินบางส่วนบางลงหรือหลุดจากกระจกรองรับดังที่สังเกตได้จากภาพตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FESEM เมื่อพิจารณาพันธะของคาร์บอนกับออกซิเจนและไนโตรเจนในโครงสร้างฟิล์มเจลาติน พบว่า ฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปรประกอบด้วยพันธะ C-C/C-H ซึ่งเป็นหมู่อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (aliphatic hydrocarbon) 45.79%, พันธะ C-N/C-O และพันธะ N-C=O มีปริมาณ 30.88% และ 23.33% ตามลำดับ ภายหลังจากตัดแปรพื้นผิวจะส่งผลให้เกิดอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้นถึง 80% ส่วนพันธะ C-N/C-O ลดลงเหลือ 5-11% และพันธะ N-C=O ซึ่งแสดงหมู่เอไมด์ลดลงเหลือ 11-15%

เมื่อพิจารณาฟิล์มเจลลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาทั้ง 3 สภาวะ คือ สภาวะที่ความดัน 0.11 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรพื้นผิว 3 และ 4 นาที (Rms 0.73 และ 5.45 นาโนเมตร) และที่สภาวะความดัน 0.15 มิลลิบาร์ เวลาในการตัดแปรพื้นผิว 4 นาที (Rms 9.2 นาโนเมตร) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มมีปริมาณอะตอมและปริมาณพันธะต่างๆ ไม่แตกต่างกันนัก เมื่อพิจารณาพลังงานของอาร์กอนพลาสมาสำหรับการตัดแปรพื้นผิวทั้ง 3 สภาวะพบว่า พลังงานของอาร์กอนพลาสมาที่สภาวะความดัน 0.11 มิลลิบาร์ มีค่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนเท่ากับ 1 อิเล็กตรอนโวลต์และความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเท่ากับ 1.94×10^{12} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อเพิ่มความดันในการตัดแปรพื้นผิวฟิล์มเป็น 0.15 มิลลิบาร์ พบว่า อุณหภูมิอิเล็กตรอนเพิ่มเล็กน้อยเป็น 1.25 อิเล็กตรอนโวลต์ ในขณะที่ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นเป็น 2.7×10^{14} อนุภาคต่อลูกบาศก์เซนติเมตร อาจกล่าวได้ว่าอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอาร์กอนพลาสมาที่มีคุณลักษณะในช่วงนี้ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

จากการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของฟิล์มเจลลาติน โดยการศึกษาการยึดเกาะและการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังของหนู (L929) บนฟิล์มเจลลาตินและฟิล์มที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) พบว่า เปอร์เซ็นต์การยึดเกาะของเซลล์บนฟิล์มเจลลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาภายหลังเวลาการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ 6 ชั่วโมง มีปริมาณใกล้เคียงกัน ในขณะที่ ภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCP) ซึ่งเป็นวัสดุทางการค้าที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะถึง 106% เมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา พบว่า ปริมาณเซลล์ผิวหนังหนูที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลลาตินไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ลักษณะการแผ่ของเซลล์แตกต่างกันซึ่งพบว่า เซลล์ที่ยึดเกาะบนฟิล์มเจลลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมามี F-actin cytoskeleton ที่มีลักษณะแผ่มากกว่าฟิล์มเจลลาตินก่อนการตัดแปร

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนูโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1-2 วัน พบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังบนฟิล์มเจลลาตินภายหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมามีปริมาณเซลล์ใกล้เคียงกับฟิล์มเจลลาตินก่อนการตัดแปร แต่เมื่อมีการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อเนื่องจนถึงวันที่ 3 พบว่า ฟิล์มที่ตัดแปรพื้นผิวด้วยพลาสมาจะสนับสนุนให้เซลล์เจริญเติบโตมากกว่าฟิล์มเจลลาตินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ สาเหตุที่ทำให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดีบนฟิล์มเจลลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาน่าจะเป็นผลรวมทั้งด้านสัญญาณวิทยาและสมบัติทางเคมีของฟิล์มเจลลาตินที่เปลี่ยนไปจากการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมา

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าอาร์กอนพลาสมาที่เกิดจากอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) มีความสามารถปรับเปลี่ยนสัญญาณพื้นผิวและ

องค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินและการตัดแปรพื้นผิวด้วยอาร์กอนพลาสมาช่วยสนับสนุนให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดีเมื่อเทียบกับฟิล์มเจลาตินก่อนการตัดแปร

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. ปรับแก้ชิ้นส่วนของอุปกรณ์กำเนิดพลาสมาโดยระบบไฟฟ้ากระแสสลับ (AC 50 Hz plasma) เพื่อลดการปนเปื้อนไปยังวัสดุที่จะนำไปตัดแปรด้วยพลาสมา
2. ควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของสนามไฟฟ้าและพลังงานความร้อนจากเครื่องกำเนิดพลาสมาที่อาจส่งผลกระทบต่อสมบัติฟิล์มเจลาติน
3. ศึกษาผลความแตกต่างของความดันระบบในช่วงที่กว้างขึ้นเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่จะส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟิล์มเจลาติน
4. ศึกษาสัณฐานพื้นผิวและองค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มเจลาตินที่ผ่านการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาแล้วเมื่อมีการสัมผัสกับของเหลวว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่

รายการอ้างอิง

- Adam S. Zeiger, B. H., Krystyn J. Van Vliet (2013). "Why the dish makes a difference: Quantitative comparison of polystyrene culture surfaces." Acta Biomaterialia 9: 7354-7361.
- Amornsudthiwat, P., R. Mongkolnavin, et al (2013). "Improvement of early cell adhesion on Thai silk "broin surface by low energy plasma." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 111: 579-586.
- Anselme, K. (2000). "Osteoblast adhesion on biomaterials." Biomaterials 21(7): 667-681.
- Bazaka, K., M. V. Jacob, R. J. Crawford and E. P. Ivanova (2011). "Plasma-assisted surface modification of organic biopolymers to prevent bacterial attachment." Acta Biomaterialia 7(5): 2015-2028.
- Beatriz, V., Fernanda V. B., Paulo F. D., Marcelo M., Rosa M. R., José A. L. (2013). "Manipulation of chemical composition and architecture of non-biodegradable poly(ethylene terephthalate)/chitosan fibrous scaffolds and their effects on L929 cell behavior." Materials Science and Engineering C 33: 37-46.
- Carine Wirth, B. G., Christelle Lagneau, Nicole Jaffrezic-Renault, Laurence Ponsonnet (2008). "Biomaterial surface properties modulate in vitro rat calvaria osteoblasts response: Roughness and or chemistry?" Materials Science and Engineering C 28: 990-1001.
- Chu, P. K., J. Y. Chen, L. P. Wang and N. Huang (2002). "Plasma-surface modification of biomaterials." Materials Science & Engineering R-Reports 36(5-6): 143-206.
- Claire, T., Christelle, T., Pascal, T., Jean, D., Philippe L. (2006). "Atmospheric pressure plasmas: A review." Spectrochimica Acta Part B 61: 2-30.
- Dalby, M. J., D. McCloy, M. Robertson, C. D. W. Wilkinson and R. O. C. Oreffo (2006). "Osteoprogenitor response to defined topographies with nanoscale depths." Biomaterials 27(8): 1306-1315.
- Danielle C.G., K. K. W. a. K. C. D. (2002). Polymeric Biomaterials, Marcel Dekker Inc.
- Donzelli, E., A. Salvade, P. Mimo, M. Vigano, M. Morrone, R. Papagna, F. Carini, A. Zaopo, M. Miloso, M. Baldoni and G. Tredici (2007). "Mesenchymal stem cells cultured on a collagen scaffold: In vitro osteogenic differentiation." Archives of Oral Biology 52(1): 64-73.
- E.A.H. Timmermans, J. J., I.A.J. Thomas, A. Rodero, M.C. Quintero, A. Sola, A. Gamero, J.A.M. van der Mullen (1998). "The behavior of molecules in microwave-

- induced plasmas studied by optical emission spectroscopy. 1. Plasmas at atmospheric pressure." Spectrochimica Acta Part B 1553-1566.
- Ioannis, S. A. (2002). Formation and Properties of Collagen and Gelatin Films and Coatings, CRC Press LLC.
- Junjie Li, Y. D., Jun Yang, Yuji Yin, Hong Zhang, Fanglian Yao, Haibin Wang, Kangde Yao (2009). "Surface characterization and biocompatibility of micro- and nano-hydroxyapatite/chitosan-gelatin network films." Materials Science and Engineering C 29: 1207-1215.
- Kateryna Bazaka, M. V. J., Russell J. Crawford, Elena P. Ivanova (2011). "Plasma-assisted surface modification of organic biopolymers to prevent bacterial attachment." Acta Biomaterialia 7: 2015-2028.
- Khorasani, M. T., H. Mirzadeh and S. Irani (2008). "Plasma surface modification of poly (L-lactic acid) and poly (lactic-co-glycolic acid) films for improvement of nerve cells adhesion." Radiation Physics and Chemistry 77(3): 280-287.
- Komori, T. and T. Kishimoto (1998). "Cbfa1 in bone development." Current Opinion in Genetics & Development 8(4): 494-499.
- Lai-Shun Shi, L.-Y. W., Yu-Na Wang (2006). "The investigation of argon plasma surface modification to polyethylene: Quantitative ATR-FTIR spectroscopic analysis." European Polymer Journal 42: 1625-1633.
- Langer, R. S. and J. P. Vacanti (1999). "Tissue engineering: The challenges ahead." Scientific American 280(4): 86-89.
- Lee, H. U., S. Y. Park, Y. H. Kang, S. Y. Jeong, S. H. Choi, Y. Y. Jahng, G. H. Chung, M. B. Kim and C. R. Cho (2011). "Physicochemical properties and enhanced cellular responses of biocompatible polymeric scaffolds treated with atmospheric pressure plasma using O₂ gas." Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications 31(3): 688-696.
- Li, J. J., Y. Dou, J. Yang, Y. J. Yin, H. Zhang, F. L. Yao, H. B. Wang and K. D. Yao (2009). "Surface characterization and biocompatibility of micro- and nano-hydroxyapatite / chitosan-gelatin network films." Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems 29(4): 1207-1215.
- Ma, L., C. Y. Gao, Z. W. Mao, J. Zhou, J. C. Shen, X. Q. Hu and C. M. Han (2003). "Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering." Biomaterials 24(26): 4833-4841.
- MOHAMMAD R. K. MOFRAD, R. D. K. (2006). Introduction, with the biological basis for cell mechanics. Cytoskeletal Mechanics Models and Measurements Cambridge University Press 2006: 1-14.

- O Djilianova, M. J. S., E Skladnik-Sadowska, K Malinowski, M Scholz, A Blagoev, K Paskalev (2006). "The Cu spectra as a tool for late plasma focus diagnostics " Journal of Physics: Conference Series 44: 175-178.
- Pashkuleva I., R. L. R. (2005). Surface Activation and Modification – A Way for Improving the Biocompatibility of Degradable Biomaterials. Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine, CRC press: 429-454.
- Pieper, J. S., T. Hafmans, J. H. Veerkamp and T. H. van Kuppevelt (2000). "Development of tailor-made collagen-glycosaminoglycan matrices: EDC/NHS crosslinking, and ultrastructural aspects." Biomaterials 21(6): 581-593.
- Prasertsung, I., S. Kanokpanont, R. Mongkolnavin, C. S. Wong, J. Panpranot and S. Damrongsakkul (2012). "Plasma Enhancement of In Vitro Attachment of Rat Bone-Marrow-Derived Stem Cells on Cross-Linked Gelatin Films." Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition 23(11): 1485-1504.
- Prasertsung, I., S. Kanokpanont, R. Mongkolnavin, C. S. Wong, J. Panpranot and S. Damrongsakkul (2013). "Comparison of the behavior of fibroblast and bone marrow-derived mesenchymal stem cell on nitrogen plasma-treated gelatin films." Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications 33(7): 4475-4479.
- Prasertsung, I., R. Mongkolnavin, S. Damrongsakkul and C. S. Wong (2010). "Surface modification of dehydrothermal crosslinked gelatin film using a 50 Hz oxygen glow discharge." Surface & Coatings Technology 205: S133-S138.
- Prasertsung, I., R. Mongkolnavin, S. Kanokpanont and S. Damrongsakkul (2010). "The effects of pulsed inductively coupled plasma (PICP) on physical properties and biocompatibility of crosslinked gelatin films." International Journal of Biological Macromolecules 46(1): 72-78.
- Ratanavaraporn, J., S. Kanokpanont, Y. Tabata and S. Damrongsakkul (2009). "Growth and osteogenic differentiation of adipose-derived and bone marrow-derived stem cells on chitosan and chitooligosaccharide films." Carbohydrate Polymers 78(4): 873-878.
- Ratanavaraporn, J., S. Kanokpanont, Y. Tabata and S. Damrongsakkul (2010). "Modulation of In Vitro Attachment, Proliferation and Osteogenic Differentiation of Rat Bone-Marrow-Derived Stem Cells Using Different Molecular Mass Chitosans and Their Blends with Gelatin." Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition 21(8-9): 979-996.
- Ratanavaraporn, J., R. Rangkupan, H. Jeeratawachai, S. Kanokpanont and S. Damrongsakkul (2010). "Influences of physical and chemical crosslinking

- techniques on electrospun type A and B gelatin fiber mats." International Journal of Biological Macromolecules 47(4): 431-438.
- Rory W., A. C. S. (2010). "Role of Plasma Surface Treatments on Wetting and Adhesion." Engineering 2: 397-402.
- S. Chaisombat, D. N., P. Tangjitsomboona, R. Mongkolnavin (2012). "Determination of Plasma Electron Temperature in a Pulsed Inductively Coupled Plasma (PICP) device." Procedia Engineering 32: 929-935.
- Saida P. Khan, G. G. A., Golam M. Newaz (2005). "Influence of nanoscale surface roughness on neural cell attachment on silicon." nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 1: 125-129.
- Seal, B. L., T. C. Otero and A. Panitch (2001). "Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration." Materials Science & Engineering R-Reports 34(4-5): 147-230.
- Tabata, Y. and Y. Ikada (1998). "Protein release from gelatin matrices." Advanced Drug Delivery Reviews 31(3): 287-301.
- Takahashi, Y., M. Yamamoto and Y. Tabata (2005). "Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in biodegradable sponges composed of gelatin and beta-tricalcium phosphate." Biomaterials 26(17): 3587-3596.
- Theo G. van Kooten, H. T. S., Henk J. Busscher (2004). "Plasma-treated polystyrene surfaces: model surfaces for studying cell-biomaterial interactions." Biomaterials 25: 1735-1747.
- Tze-Wen Chung, D.-Z. L., Sin-Ya Wang, Shoei-Shen Wang (2003). "Enhancement of the growth of human endothelial cells by surface roughness at nanometer scale." Biomaterials 24: 4655-4661.
- V. Antonini, S. T., L. Marocchi, L. Minati, M. Dalla Serra, and G. S. G. Bao (2014). "Combinatorial plasma polymerization approach to produce thin films for testing cell proliferation." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 113: 320-329.
- Wei Liua, J. Z., Yan Sua, Tong Wu, Chunchen Wu, Seeram Ramakrishnad, Xiumei Mo, Salem S. Al-Deyabe, Mohamed El-Newehy (2014). "Effects of plasma treatment to nanofibers on initial cell adhesion and cell morphology." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 113: 101-106.
- Wirth, C., B. Grosogeat, C. Lagneau, N. Jaffrezic-Renault and L. Ponsonnet (2008). "Biomaterial surface properties modulate in vitro rat calvaria osteoblasts response: Roughness and or chemistry?" Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems 28(5-6): 990-1001.

- Wu, Y. C., T. M. Lee, J. C. Lin, S. Y. Shaw and C. Y. Yang (2010). "Argon-Plasma-Treated Chitosan: Surface Characterization and Initial Attachment of Osteoblasts." Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition 21(5): 563-579.
- Yang, J., J. Z. Bei and S. G. Wang (2002). "Enhanced cell affinity of poly (D,L-lactide) by combining plasma treatment with collagen anchorage." Biomaterials 23(12): 2607-2614.
- Zhang, Y., Venugopal, J., Huang, Z., Lim, C., Ramakrishna, S (2006). "Crosslink of the electrospun gelatin nanofibers." Polymer 47: 2911-2917.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก.

การคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอาร์กอนพลาสมาที่ใช้ในการตัดแปรรูปผิวฟิล์มเจลาติน

ค่าความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงซึ่งวัดด้วยเครื่อง OES นั้นจะเก็บค่าความยาวคลื่นแสงและความเข้มแสงแบบต่อเนื่องทุกๆ 8 วินาทีในแต่ละสภาวะความดัน ตั้งแต่ 0-4 นาที่ เพื่อใช้ในการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) และความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) โดยพิจารณาความยาวคลื่นและความเข้มแสงของอนุภาคอาร์กอน I และอาร์กอน II

จากสมการการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอน (kT_e) คำนวณได้จากสูตร

$$R = \frac{R_a}{R_i} = \left(\frac{A_1 A_4}{A_2 A_3} \right) \left(\frac{g_1 g_4}{g_2 g_3} \right) \left(\frac{\lambda_2 \lambda_3}{\lambda_1 \lambda_4} \right) \exp(-(E_1 + E_4 - E_2 - E_3)/kT_e) \quad \dots(1)$$

$$\text{โดย } R_a = \frac{I_1}{I_2} \text{ และ } R_i = \frac{I_3}{I_4}$$

ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (n_e) คำนวณได้จากสูตร

$$n_e = 6.6 \times 10^{21} \frac{I_a A_i g_i}{I_i A_a g_a} \exp\left(-\frac{E^{\text{ion}} + E_i - E_a}{T_e}\right) \quad \dots(2)$$

โดย A = Transition probability

g = Statistical weight

λ = wavelength

E = Energy level

T_e = Electron temperature

I = intensity โดยที่

I_1 = intensity ของ Ar I ที่ความยาวคลื่น 763.51 นาโนเมตร

I_2 = intensity ของ Ar II ที่ความยาวคลื่น 390.06 นาโนเมตร

I_3 = intensity ของ Ar I ที่ความยาวคลื่น 810.37 นาโนเมตร

I_4 = intensity ของ Ar II ที่ความยาวคลื่น 336.55 นาโนเมตร

E^{ion} = ionization energy of argon atom = 15.759 eV

k = Boltzmann constant

จากการวิเคราะห์ความยาวคลื่นทั้งหมดที่วัดด้วยเครื่อง OES เพื่อเลือกความยาวคลื่นของ Ar I และ Ar II ที่ใช้ในการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอน จะใช้ความเข้มแสงของพีคอาร์กอนทั้งหมด 4 พีค

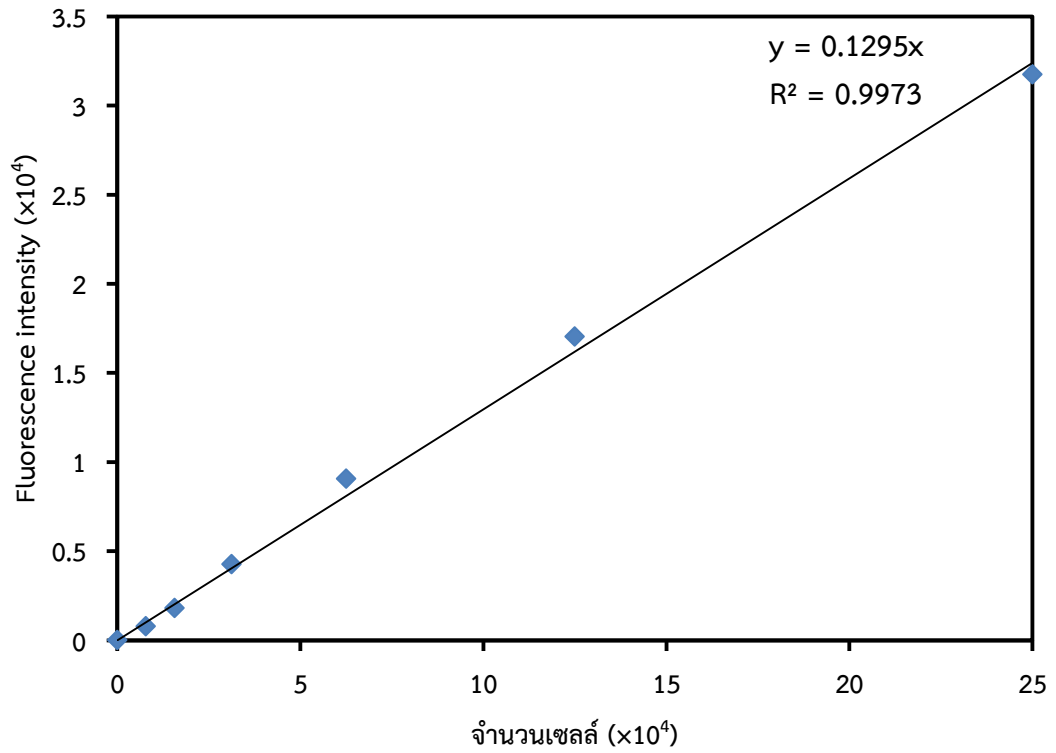
คือ พีคของ Ar I 2 พีค และพีคของ Ar II 2 พีค ดังนั้นตัวแปรค่าคงที่ที่ใช้ในการคำนวณอุณหภูมิอิเล็กตรอนและความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสรุปในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 ตัวแปรที่ใช้ในการคำนวณหา T_e โดยใช้ข้อมูลจาก NIST [National Institute of Standards and Technology]

	ความยาวคลื่น (nm)	A ($\times 10^7$)	E (eV)	g
Ar II (4)	336.55	1.30	24.83	6
Ar II (2)	390.06	0.72	22.79	6
Ar I (1)	763.51	2.45	13.17	5
Ar I (3)	810.37	2.50	13.15	3

ภาคผนวก ข.

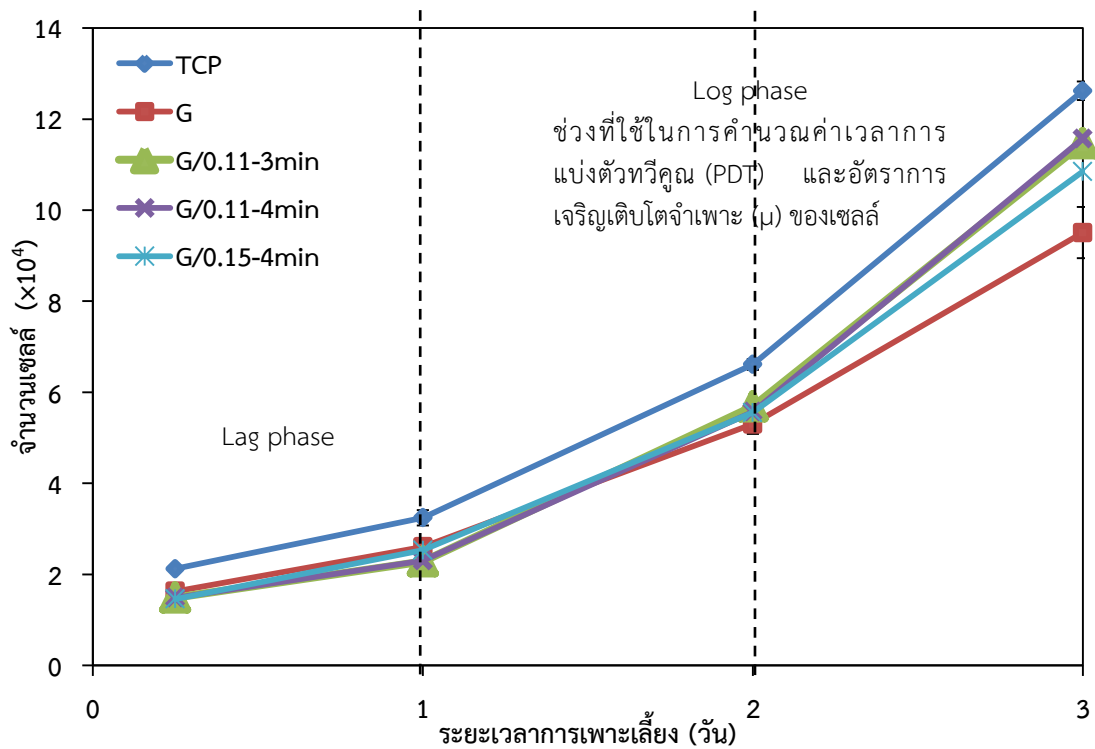
กราฟมาตรฐานของการวัดจำนวนเซลล์ผิวหนังของหนูหรือเซลล์ L929 โดยวิธี DNA



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานของการวัดจำนวนเซลล์ผิวหนังของหนูหรือเซลล์ L929 โดยวิธี DNA

ภาคผนวก ค.

กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนู (mouse fibroblast cell, L929) บนพื้นผิววัสดุประเภทต่างๆ



รูปที่ ค.1 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังหนูหรือเซลล์ L929 บนฟิล์มเจลาตินก่อนและหลังการตัดแปรด้วยอาร์กอนพลาสมาและธาตุเพาะเลี้ยงเซลล์พอลิสไตรีน (TCP) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด D-MEM ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5%

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจุฑาทิพย์ แซ่ลี เกิดเมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2531 ที่จังหวัดนครปฐม เข้าศึกษา ระดับชั้นมัธยมศึกษาที่โรงเรียนสวนหลวง สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อ ในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553

การเผยแพร่ผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

J. Saelee, I. Prasertsung, R. Mongkolnavin, C.S. Wong, and S. Damrongsakkul, Effects of Argon Plasma Treatment on the Wettability and Surface Topography of Gelatin Film, Poster Presentation, 7th International Conference on Materials Science and Technology (MSAT-7), Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand, 7-8 June 2012.

J. Saelee, I. Prasertsung, R. Mongkolnavin, C.S. Wong, and S. Damrongsakkul, Cell Response on Argon Plasma Treated Gelatin Film, Poster Presentation, Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON2013), The Tide Resort, Chonburi, Thailand, 23-25 January 2013.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY