

อัจฉรา ชินกร : อิเล็กโทรสปินนิงสามมิติของโครงสร้างนาโนพอลิคาโพรแลคโตนสำหรับการประยุกต์ใช้ทางชีวการแพทย์ (THREE-DIMENSIONAL ELECTROSPINNING OF POLYCAPROLACTONE-BASED NANOSTRUCTURE FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ นวลสิงห์, 213 หน้า

คำสำคัญ : อิเล็กโทรสปินนิงสามมิติ, พอลิคาโพรแลคโตน, การปรับปรุงสมบัติความชอบน้ำด้วยพลาสมา, เทคนิคการถ่ายภาพตัดขวางด้วยเอกซเรย์จากแสงซินโครตรอน, ชีวการแพทย์

อิเล็กโทรสปินนิงเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการผลิตเส้นใยนาโนที่มีลักษณะโดดเด่นหลายประการ อย่างไรก็ตามการขึ้นรูปโครงสร้างสามมิติขนาดใหญ่ของเส้นใยอิเล็กโทรสปิน และการประเมินผลทางชีวภาพภายในโครงสร้างอิเล็กโทรสปินสามมิติ ยังคงเป็นความท้าทาย ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เปิดเผยการศึกษาการพัฒนาเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงสามมิติ ที่รวมเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเข้ากับเครื่องพิมพ์สามมิติ เพื่อแก้ไขประเด็นการขึ้นรูปโครงสร้างสามมิติขนาดใหญ่ของเส้นใยอิเล็กโทรสปิน ในส่วนของการประเมินผลทางชีวภาพ โครงสร้างอิเล็กโทรสปินสามมิติถูกทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ และการประเมินผลด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด, เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีจากแสงซินโครตรอน, และเทคนิคการถ่ายภาพตัดขวางด้วยเอกซเรย์จากแสงซินโครตรอน

ในการคิดค้นและพัฒนาเครื่องอิเล็กโทรสปินนิงสามมิติ พบว่า การประยุกต์ใช้การเคลื่อนที่แบบเดลตา สามารถลดการสะสมของเส้นใยบนบริเวณที่ไม่ต้องการให้เส้นใยตกสะสมได้ และสามารถใช้ในการควบคุมการขึ้นรูปโครงสร้างสามมิติได้ ในส่วนของการศึกษาการขึ้นรูปด้วยตัวเองของเส้นใย ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าความนำไฟฟ้าของสารละลายมีบทบาทสำคัญในการขึ้นรูปด้วยตัวเองของเส้นใย ภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน สารละลายของพอลิคาโพรแลคโตนและพอลิไวนิลิดีนฟลูออไรด์ ไม่สามารถผลิตเส้นใยที่สามารถขึ้นรูปด้วยตัวเองได้ หากไม่มีกรดพอสฟอริก อย่างไรก็ตามสารละลายพอลิอะคริโลไนไตรล์ สามารถผลิตเส้นใยที่สามารถขึ้นรูปด้วยตัวเองได้ ถึงแม้ไม่มีสารเติมแต่งใด ๆ เนื่องจากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายพอลิอะคริโลไนไตรล์ มีค่าสูงถึง 99.4 โมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร อย่างไรก็ตาม ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายพอลิคาโพรแลคโตน เมื่อเติมกรดพอสฟอริกแล้วจะอยู่ที่ 0.80 โมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร แต่เส้นใยยังคงสามารถขึ้นรูปด้วยตัวเองได้ แสดงว่าไม่เพียงแต่ค่าความนำไฟฟ้าเท่านั้นที่ส่งผลต่อการขึ้นรูปด้วยตัวเองของเส้นใย แต่ตัวแปรอื่น ๆ ของกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิงก็ส่งผลต่อการขึ้นรูปเช่นเดียวกัน ดังนั้นสารละลายพอลิคาโพรแลคโตน จึงถูกใช้เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของตัวแปรของสารละลายและกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง โดยพบว่าความเข้มข้นและอัตราการไหลของสารละลายมีส่วนสำคัญต่อการขึ้นรูป เนื่องจากเกี่ยวข้องกับ

ปริมาณของเส้นใยที่ใช้ในการก่อตัว นอกจากนี้ระยะห่างเริ่มต้นระหว่างหัวเข็มและแผ่นรับรองก็มีส่วนสำคัญเช่นกัน เนื่องจากระยะห่างที่ไกลเกินไปจะจำกัดความสามารถในการขึ้นรูปโครงสร้างสามมิติ และระยะห่างที่ไกลเกินไปส่งผลให้เส้นใยเกิดการสะสมแบบกระจายเชิงพื้นที่แทนการสะสมบริเวณที่เดิม ไม่เพียงแต่ตัวแปรที่กล่าวมาเหล่านี้ ตัวแปรอื่น ๆ เช่น ศักย์ไฟฟ้า และความเร็วในการเคลื่อนที่ของหัวเข็มก็ส่งผลต่อการขึ้นรูปและรูปร่างของโครงสร้างสามมิติเช่นเดียวกัน หลังจากการปรับเงื่อนไขการทดลองต่าง ๆ พบว่า อัตราการไหลที่ 4 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง, ระยะห่างเริ่มต้นที่ 4 เซนติเมตร, แรงดันไฟฟ้าที่ 14 กิโลโวลต์ และความเร็วหัวเข็มที่ 1 มิลลิเมตรต่อวินาที เป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดในขึ้นรูปโครงสร้างสามมิติของพอลิคาโพรแลคโตน เงื่อนไขดังกล่าวแสดงการขึ้นรูปตามโมเดลทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร แบบกำหนดขอบการเคลื่อนที่เป็นหนึ่ง โดยได้โครงสร้างสามมิติที่มีความสูง  $16.18 \pm 2.58$  มิลลิเมตร และความหนาของผนังของโครงสร้าง  $3.98 \pm 1.01$  มม. เส้นผ่านศูนย์กลางตำแหน่งบน กลาง และล่างของโครงสร้างสามมิติมีความแตกต่างกันแบบไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งโดยเฉลี่ยรวมแล้วมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโครงสร้างสามมิติเป็น  $1.40 \pm 1.10 \mu\text{m}$  สำหรับการประเมินผลทางชีวภาพ การบำบัดด้วยพลาสมาด้วย 30 และ 50 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที สามารถปรับปรุงสมบัติความชอบน้ำของโครงสร้างสามมิติพอลิคาโพรแลคโตนได้ ซึ่งเป็นเงื่อนไขให้การยึดเกาะของเซลล์ผิวหนัง NIH3T3 ได้ดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงเซลล์ นอกจากนี้เทคนิคการถ่ายภาพตัดขวางด้วยเอกซเรย์จากแสงซินโครตรอน สามารถใช้ในการแสดงภาพสามมิติของการกระจายตัวของเซลล์ภายในโครงสร้างสามมิติ ซึ่งสามารถยืนยันว่าเซลล์สามารถยึดเกาะ เคลื่อนที่เข้าไปในโครงสร้างสามมิติ และเพิ่มจำนวนเซลล์ภายในโครงสร้างสามมิติได้ ปริมาตรของเซลล์ในโครงสร้างสามมิติเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่า เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงเซลล์จากวันที่ 1 และ 3 นอกจากนี้เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีจากแสงซินโครตรอน สามารถใช้วัดตำแหน่งของเซลล์บนเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ และประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์การกระจายตัวของเซลล์บนโครงสร้างเส้นใย ด้วยการวิเคราะห์กลุ่มแบบลำดับชั้น

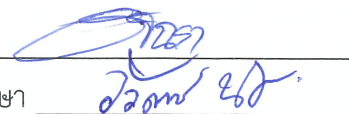
ความก้าวหน้าของอิเล็กทรอนิกส์แบบสามมิตินี้ไม่เพียงแต่เอาชนะข้อจำกัดที่มีอยู่ในการขึ้นรูปโครงสร้างเส้นใยสามมิติเท่านั้น แต่ยังเป็นกระบวนการขึ้นรูปอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในสาขาต่าง ๆ เช่น อาหารแห่งอนาคต, อวัยวะเทียม, การพิมพ์โครงสร้างเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ เป็นต้น นอกจากนี้เทคนิคการถ่ายภาพตัดขวางด้วยเอกซเรย์และฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีจากแสงซินโครตรอน แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการประเมินผลทางชีวภาพภายในโครงสร้างสามมิติ ซึ่งให้ข้อมูลเชิงลึกที่เป็นประโยชน์สำหรับการใช้งานด้านชีวการแพทย์

สาขาวิชาฟิสิกส์

ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา



ATCHARA CHINNAKORN : THREE-DIMENSIONAL ELECTROSPINNING OF POLYCAPROLACTONE-BASED NANOSTRUCTURE FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS. THESIS ADVISOR : WIWAT NUANSING, Ph.D. 213 PP.

Keyword : 3D Electrospinning, Polycaprolactone, Plasma Treatment, Synchrotron Radiation X-ray Tomography, Biomedical applications

Electrospinning is a widely used technique producing nanofibers with a number of outstanding characteristics. However, building macroscopic 3D electrospun structures and studying the biological activity inside 3D scaffolds remain challenging. This dissertation involves the study and development of an in-house 3D electrospinning technique that combines electrospinning with a 3D printer to address the issue of macroscopic 3D fibrous structures. In a part of the biological assessments, the 3D structures are examined with *in vitro* cell culture by observing them with Scanning Electron Microscope (SEM), Synchrotron-based Fourier-transform infrared microspectroscopy (SR-FTIR), and Synchrotron Radiation X-ray Tomography (SRXTM) techniques.


In the setup of in-house 3D electrospinning, the use of a delta configuration offers the advantage of effectively minimizing undesired fiber deposition and enabling the control of 3D structures. In the section of the self-assembled formation, the findings demonstrate that solution conductivity plays a crucial role in facilitating the self-assembly of fibers. Under the same conditions, polycaprolactone (PCL) and polyvinylidene fluoride (PVDF) solutions did not exhibit self-assembled fibers stacking if there were not the addition of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> additives. Nevertheless, polyacrylonitrile (PAN) solutions, without any additives, were capable of forming self-assembled stacks. It was attributed to the conductivity of the PAN solution that reached to 99.4 μS/cm. Despite the fact that the conductivity of the PCL solution with the additions of additives was around 0.80 μS/cm, it exhibited self-assembly. It implied not only did the conductivity value influence self-assembly, but it was also attributed to other variables of electrospinning. Therefore, the PCL solution was utilized to investigate the



influence of the solution and electrospinning parameters. It was observed that concentration and flow rate of solutions plays critical role because these parameters relate to the quantity of incoming fiber. Additionally, the initial distance between a nozzle and a collector is crucial for 3D formation, as a distance that is too short could hinder 3D formation and excessive length may cause fiber to spatially spread instead of depositing at the same location. Not only those mentioned earlier but other relevant parameters, including voltage, and nozzle moving speed, influent also 3D formation. Through tuning experimental conditions, 4 ml/h of flow rate, 4 cm of initial distance, 14 kV of voltage, and 1 mm/s of nozzle speed were the optimal conditions for 3D PCL fibrous constructs under the ambient environment. It provided the rapid buildup of cylinder macrostructures with 6 cm of diameter, reaching a height of  $16.18 \pm 2.58$  mm and a wall thickness of  $3.98 \pm 1.01$  mm on one perimeter with a non-significant difference in average diameter on the upper, middle, and lower parts, whose overall average diameter was  $1.40 \pm 1.10$   $\mu$ m. For biological assessment, plasma treatment with 30 and 50 W for 5 minutes improved the hydrophilicity of the PCL macrostructures, proving most suitable for *in vitro* cell culture of NIH3T3 cells. Additionally, SRXTM allowed the access to 3D images of cell distribution within the scaffolds, proving cell adhesion, migration, and proliferation within 3D PCL structures. The normalized volume of cells grown on scaffolds doubled when comparing the cultures at 1 and 3 days. In addition, SR-FTIR imaging is able to present cell localization on electrospun fibers and the cell distribution on the fibers with a hierarchical clustering analysis (HCA).

This breakthrough in 3D electrospinning not only overcomes existing limitations in scaffold fabrication but also paves the way for revolutionary applications across various fields, including future foods, artificial organs, and fibrous-based 4D printing technologies. Furthermore, SRXTM and SR-FTIR have the capability to conduct bioactivity evaluation within 3D scaffolds, providing useful insights for biomedical applications.

School of Physics  
Academic Year 2023

Student's Signature   
Advisor's Signature 