เตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์- เซอร์โคเนียมด้วยเทคนิคโซล-เจลและประเมินสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้น

Preparation of a Scaffold from (Nano) Hydroxyapatite-Zirconium by Sol-Gel Technique and Evaluation of its Physical Properties

เจริญพร แซ่โค้ว

Jareonporn Saekhow

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University
2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ เตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์- เซอร์โคเนียมด้วยเทคนิคโซล-เจลและประเมินสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้น

ผู้เขียน นายเจริญพร แซ่โค้ว

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

………………………………………………

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

………………………………………………

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎี แก้วศรีจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

………………………………ประธานกรรมการ

(ดร.สินินาฏ จงคง)

……………………….....................กรรมการ

(ดร.สายสมร นิยมสรวญ)

……………………….....................กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

……………………….....................กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎี แก้วศรีจันทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

………………………………………………

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ เตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์- เซอร์โคเนียมด้วยเทคนิค
โซล-เจลและประเมินสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้น
ผู้เขียน นายเจริญพร แซ่โค้ว
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (Hydroxyapatite : HA) ได้รับความสนใจอย่างมากในการใช้เป็นวัสดุทดแทนศัลยกรรมกระดูกและทันตกรรม อย่างไรก็ตามไฮดรอกซีแอพาไทต์มีสมบัติเชิงกลที่ไม่ดี ไม่เหมาะ สมกับการใช้ในงาน ที่ต้องรับน้ำหนัก เช่น ใช้ในการทดแทนกระดูก ขา เป็นต้น วิทยานิพนธ์นี้จึงมี ความสนใจ ที่จะ ปรับปรุงสมบัติเชิงกลของไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยการสังเคราะห์นาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ จากสารตั้งต้น 2 ชนิด คือ แคลเซียมไนเตรต $[Ca(NO_3)_2]$ และแอมโมเนียมฟอสเฟต $[(HN_4)_2HPO_4]$ จากนั้น นำไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ ไปผสมกับเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในสัดส่วนโดยโมล 0.01, 0.1 และ 0.5 ตามลำดับ ให้ชื่อว่า HA/Zr 100, HA/Zr 10 และ HA/Zr 2 ตามลำดับ ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์ จะเตรียมด้วยเทคนิคจุ่มเคลือบและเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากการตรวจสอบลักษณะของสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์กับเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ ด้วยเทคนิค XRD และ FTIR พบว่าการเติมเซอร์โคเนียเป็นสาเหตุทำให้ ไฮดรอกซีแอพาไทต์เปลี่ยนไปเป็น เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง จากการวิเคราะห์ด้วย เทคนิค SEM แสดงให้เห็นว่าการเติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ทำให้ขนาดของเกรนและรูพรุน ของโครงเลี้ยงเซลล์ ลดลง โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการ เผาซินเตอร์ที่ 1250°C จะมีการ หลอมติดกันของเกรนมากกว่าการเผาซินเตอร์ที่ 1150°C และมีผลต่อการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์ที่มากกว่าด้วย

Thesis Title Preparation of a scaffold from (nano) hydroxyapatite-zirconium by sol-gel technique and evaluation of its physical properties

Author Mr. Jareonporn Saekhow

Major Program Chemical Engineering

Academic Year 2011

ABSTRACT

Hydroxyapatite (HA) has drawn worldwide attention as an important substitute material in orthopedics and dentistry. However, its mechanical properties are poor, because being unsuitable for load-bearing applications. Therefore, the application of bulk HA as the replacement for bone is limited. This research is aimed to improve the properties of HA by using sol-gel method for preparing nano-HA (nHA). $Ca(NO_3)_2$ and $(HN_4)_2HPO_4$ are used as starting reagents. The synthesized nHA is separately blended with ZrO_2 at a mole ratio to HA of 0.01, 0.1 and 0.5 and named HA/Zr 100, HA/Zr 10 and HA/Zr 2, respectively. Scaffolds are fabricated by dipping technique and then sintered at either 1150 or 1250°C for 2 h. X-ray diffraction (XRD) and Fourier transformed infrared (FTIR) spectroscopy were utilized to characterize both HA-ZrO_2 composites powders and scaffolds. Results show that the addition of ZrO_2 causes the transformation of hydroxylapatite phase to β-tricalcium phosphate. SEM evaluations show that the addition of ZrO_2 reduces HA-grain sizes and the scaffold-pores. Scaffolds sintered at 1250°C for 2 h have coalescence grains , occurring more than those sintered at 1150 °C. Moreover, apatite layers are formed in greater amounts when the scaffolds are sintered at 1250°C compaired to those sintered at 1150 °C.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร . เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ ผู้เขียนจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ ดร.สินินาฏ จงคง กรรมการผู้แทนคณะวิศวกรรมศาสตร์ และ ดร.สายสมร นิยมสรวญ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ และบัณฑิตวิทยาลัย ที่จัดสรรเงินทุนในการทำวิทยานิพนธ์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ และภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอบคุณพี่ๆน้องๆเพื่อนๆทุกคน ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิจัยรวมทั้งวิทยานิพนธ์

สุดท้ายผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาที่สนับสนุนส่งเสริมการศึกษาและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เจริญพร แซ่โค้ว

สารบัญ

เรื่อง หน้า

รายการตาราง (8)

รายการภาพประกอบ (10)

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 บทนำต้นเรื่อง 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 4

1.3 ขอบเขตการวิจัย 4

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร 5

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 5

2.1.1 กระดูก 5

2.2.2 วัสดุทดแทนกระดูก (Bone Substitites) 11

2.2.3 เซรามิกส์ (Ceramic) 18

2.2.4 วัสดุผสม (Composites) 19

2.2.5 ไฮดรอกซีแอพาไทต์ 21

2.2.6 เซอร์โคเนีย 25

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 30

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง 40

3.1 วัสดุและสารเคมี 40

3.2 อุปกรณ์ 40

3.3 เครื่องมือวิเคราะห์ 41

3.4 ขั้นตอนดำเนินการทดลอง 42

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 49

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 98

เอกสารอ้างอิง 100

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง หน้า

ภาคผนวก 105

ภาคผนวก ก . ทฤษฎีเพิ่มเติม 106

ภาคผนวก ข. ข้อมูลการทดลอง 108

ประวัติวัติผู้เขียน 113

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สมบัติเชิงกลของกระดูก 11

2.2 ชนิด สมบัติ และการใช้งานของวัสดุชีวภาพทางการแพทย์ 16

2.3 ปฏิกิริยาของวัสดุเมื่อฝังในร่างกาย 18

2.4 แคลเซียมฟอสเฟตรูปแบบต่างๆ 22

2.5 ผลความร้อนที่มีต่อการเปลี่ยนเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์ 23

3.1 อัตราส่วนโดยโมลของไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ 46

3.2 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย PBS ปริมาตร 1 ลิตร 48

4.1 อัตราส่วนโดยโมลของไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในการทดลองเริ่มต้น 49

4.2 ปริมาณธาตุองค์ประกอบในผลผลิตนาโนหลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF 51

4.3 ปริมาณธาตุองค์ประกอบหลักในผลผลิตนาโน หลังการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทนิค XRF เปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี 52

4.4 อัตราส่วนโดยโมล Ca/P ของผลผลิตนาโนในสูตรต่างๆ หลังเผาการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 53

4.5 ผลการตรวจสอบเฟสของผลผลิตนาโน ด้วยเทคนิค XRD 55

4.6 ส่วนประกอบทางเคมีของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้จากวิธีโซล-เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค EDX 58

4.7 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงและร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของเทอร์โมแกรมของสารผสมระหว่าง ไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ 63

4.8 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในสารผสมสูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 67

4.9 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในสารผสมสูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 71

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.10 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียไปของเทอร์โมแกรมของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน 83
4.11 ผลการตรวจสอบเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์และโครงเลี้ยงเซลล์ในสูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังแช่ในสารลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน 85

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่ หน้า

2.1 โครงสร้างของกระดูกเนื้อแน่น 7

2.2 การจัดเรียงอะตอมของ Calcium HA, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 21

2.3 โครงสร้างผลึกของเซอร์โคเนีย คิวบิก เตตระโกนอล และ โมโนคลินิกตามลำดับ 25

2.4 ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเซอร์โคเนีย ทั้ง 3 ระบบ 26

2.5 แผนภูมิวัฏภาคของ MgO ใน ZrO_2 28

2.6 แผนภูมิวัฏภาคของ Y_2O_3 ใน ZrO_2 29

2.7 แพทเทิร์น X-ray diffraction ของสารตั้งต้นที่ผ่านการอบแห้ง (ก) และผงที่ได้ภายหลังจากการให้ความร้อนในอากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 600°C (ข) และ 900°C (ค) 30

2.8 ภาพถ่าย SEM ของผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผ่านการให้ความร้อนอุณหภูมิ 900 °C ในอากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมง 31

2.9 อัตราส่วนของอะตอม Ca/P บนพื้นผิวของไฮดรอกซีแอพาไทต์ตามเวลาที่แช่ในสารละลาย SBF 32

2.10 แผนภาพการกำเนิดประจุลบบนพื้นผิวของไฮดรอกซีแอพาไทต์ และกระบวนการฟอร์มตัวของแอพาไทต์ที่มีลักษณะคล้ายกับที่พบในกระดูกภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF 33

2.11 สเปกตรัม FTIR แสดงการเติบโตของเม็ดผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ในสารละลาย SBF 34

2.12 TEM ของอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณ หภูมิ 600 °C (ก) และ 700°C (ข) 36

2.13 ภาพถ่าย TEM ของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่อบ 60°C (ก) หลังเผาแคลไซน์ที่ 700°C (ข) และภาพถ่าย SEM ของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เผาแคลไซน์ 700°C (ค) 37

2.14 ภาพตัดขวางของวัสดุผสม HA/YSZ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 950°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 39

3.1 การทำปฏิกิริยาระหว่าง 1 M $Ca(NO_3)_2 4H_2O$ และ 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ 43

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

3.2 เตาเผาที่ใช้ในการเผาแคลไซน์ที่ 900°C 44

3.3 แผนผังการเตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล 45

3.4 ใยบวบที่ผ่านการตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสตามที่ต้องการ 46

3.5 การเตรียมโครงเลี้ยงด้วยวิธีจุ่มเคลือบ ขณะจุ่มใยบวบลงไปในสารแขวนลอยเซรามิกส์ 47

3.6 โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการขึ้นรูปด้วยวิธีจุ่มเคลือบ ก่อนและหลังการเผาซินเตอร์ที่ อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C 47

4.1 แผนผังการเติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในขั้นตอนการเตรียมอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล 50

4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฏีและค่าจากการทดลองของโมลแคลเซียมในสูตรต่างๆ 52

4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฏีและค่าจากการทดลองของโมลฟอสฟอรัสในสูตรต่างๆ 53

4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฏีและค่าจากการทดลองของอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ในสูตรต่างๆ 54

4.5 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของผลผลิตนาโนสูตร N1 (ก) สูตร N2 (ข) สูตร N3 (ค) สูตร N4 (ง) สูตร N5 (จ) HA (ฉ) และ ZrO_2 (ช) 56

4.6 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างระดับจุลภาคของผงนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 57

4.7 EDX สเปกตรัมของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 58

4.8 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของไฮดรอกซีแอพไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจล หลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 59

4.9 เทอร์โมแกรม (TGA) ของสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์หลังผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงสูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) และไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HA) (ง) กับ เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ (ZrO_2) (จ) 60

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

4.10 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 64

4.11 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 65

4.12 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 66

4.13 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 68

4.14 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 69

4.15 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค) 70

4.16 เปรียบเทียบโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) เผาซินเตอร์ที่ 1150°C (ก ค และ จ) หรือ 1250°C (ข ง และ ฉ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 72

4.17 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) ก่อนแช่ (ก ค และ จ) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข ง และ ฉ) 74

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

4.18 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค) 75

4.19 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค) 76

4.20 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค) 77

4.21 เปรียบเทียบรูปร่างแอพาไทต์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) และสูตร HA/Zr 2 (ค) 79

4.22 เปรียบเทียบความว่องไวทางชีวภาพภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วันของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) เมื่อผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C (ก ค และ จ) หรือที่ 1250°C (ข ง และ จ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 81

4.23 เทอร์โมแกรม (TGA) ของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C (ก) หรือ 1250°C (ข) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน 82

4.24 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ในสารลาย PBS สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) และไฮดรอกซีแอพาไทต์ (ง) 86

4.25 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (ง) 87

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

4.26 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ในสารละลาย PBS 88

4.27 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน 90

4.28 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข) 91

4.29 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข) 92

4.30 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข) 93

4.31 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข) 93

4.32 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็น7 วัน (ข) 94

4.33 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข) 95

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

ก.1 การสั่นแบบต่างๆ ของพันธะในโมเลกุลของสาร 107

ข.1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็น เวลา 3 วัน 108

ข.2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน 109

ข.3 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน 109

ข.4 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน 110

ข.5 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน 111

ข.6 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน 112

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

กระดูกนับ เป็นอวัยวะที่สำคัญของ ร่างกายอย่างมาก ที่เห็นได้ชัดเจนคือ มีความแข็งแรงแต่น้ำหนักเบา เช่น กระดูกสันหลังช่วยให้เกิดมีความคล่องตัวในการเคลื่อนไหว พบว่า ความแข็งแรงกระดูกขนาด 1 ตารางนิ้ว สามารถรับน้ำหนักได้สูงถึง 2 ตัน ความทนต่อแรงดึงของกระดูกมีค่าเกือบเท่าโลหะ ในขณะที่กระดูกมีน้ำหนักน้อยกว่าโลหะถึง 3 เท่า แต่มีความยืดหยุ่นมากกว่าถึง 10 เท่า [1]

ร่างกาย ของมนุษย์ประกอบด้วย กระดูก 206 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 20 ของน้ำหนักร่างกาย กระดูกแต่ละชิ้นประกอบด้วยเนื้อเยื่อหลายชนิด อาทิเช่น เนื้อกระดูก (bone tissue) กระดูกอ่อน (cartilage) ไขมัน (fat) เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เซลล์ไขกระดูก (hematopoietic bone marrow) เส้นประสาทและหลอดเลือด หน้าที่หลักๆ ของกระดูกประกอบด้วย หน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึม โดยกระดูกเปรียบเสมือนแหล่งสะสมและรักษาสมดุล ของเกลือแร่ ได้แก่ แคลเซียมและฟอสฟอรัสของร่างกาย หน้าที่ทางด้านกายภาพ ได้แก่ การเป็นเกราะป้องกันอวัยวะภายใน การพยุงกล้ามเนื้อเพื่อช่วยในการเคลื่อนไหวร่างกาย และการกำหนดขนา ดรูปร่างของร่างกาย ช่วยป้องกันอันตรายให้กับอวัยวะ ภายในโพรงกระดูก ได้แก่ กระดูกสันหลังป้องกันไขสันหลัง กระดูกซี่โครงป้องกันหัวใจ ปอด และตับ กะโหลกศีรษะป้องกันเนื้อเยื่อสมอง เป็นต้น กระดูกขา ทำงานร่วมกับกล้ามเนื้อลาย เอ็น และข้อต่อ ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเคลื่อนไหว และ หน้าที่ทางด้านการสร้างเม็ดเลือด (hematopoietic function) เป็นต้น [2-3]

ในปัจจุบันพบว่ามนุษย์มีปัญหาเกี่ยวกับกระดูกเพิ่มมากขึ้น เช่น กระดูกหักและข้อเคลื่อนซึ่งเป็นปัญหาทางออร์โธปิดิกส์ที่พบได้บ่อย โดยมักเกิดขึ้น เมื่อได้รับ บาดเจ็บจากอุบัติเหตุ ตั้งแต่การบาดเจ็บเพียงเล็กน้อยไปจนถึงการบาดเจ็บที่รุนแรง หรือเกิดจาก โรคทางกระดูก เช่น โรคกระดูกพรุนในผู้สูงอายุและสตรีวัยหมดประจำเดือน โรคไขข้อหรือโรคมะเร็งกระดูก ปัญหาเหล่านี้ส่งผลต่อความแข็งแรงของกระดูก ความสามารถในการเคลื่อนไหวของร่างกาย รวมทั้งทำให้ผู้ป่วยเกิดความเจ็บปวด แม้ว่า ร่างกาย จะสามารถสร้างเซลล์กระดูกใหม่ ขึ้นทดแทนกระดูกในส่วนที่เสียหายได้ แต่ในบางกรณีถ้ากระดูกได้รับความเสียหายมากจน ร่างกายไม่สามารถสร้างกระดูก ใหม่

ขึ้นทดแทนได้ ก็จำเป็นจะต้องได้รับการรักษา เช่น ใช้แผ่นเหล็กช่วยยึดชิ้นส่วนกระดูกที่แตกหักให้อยู่กับที่ หรือใช้วิธีปลูกถ่ายกระดูก ซึ่งจะใช้เนื้อเยื่อกระดูกของผู้ป่วยเองมา ทำการ ปลูกถ่าย (Autograft bone) ส่วนใหญ่ศัลยแพทย์มักจะ นำชิ้นส่วนของกระดูกเชิงกรานมา ใช้ ในการซ่อมแซมกระดูกส่วนที่เสียหายเพราะไม่ส่งผลกระทบต่อผู้ป่วย มากนัก แต่วิธีนี้จำเป็นต้องใช้การผ่าตัด ร่วมด้วย ซึ่งทำให้เกิดความเจ็บปวด บริเวณที่ผ่าตัดเอากระดูกออกมา สำหรับกระดูกของผู้บริจาค (allograft bone) ก็สามารถนำมาใช้ได้แต่ มีความเสี่ยงที่จะเกิดการ ต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของผู้รับและการได้รับเชื้อโรคจากผู้บริจาค เป็นต้น [4-5]

ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีนวัตกรรมโครงร่างกระดูกเทียมหรือโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกเกิดขึ้น ซึ่งโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจะเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่เมื่อใช้ ทดแทนหรือฝังในร่างกาย แล้วจะทำหน้าที่เป็นตัวยึดกระดูกให้อยู่กับที่เป็นการชั่วคราว จนกว่าร่างกายจะสมานแผลได้เองและทำให้กระดูกที่แตกหักเชื่อมติดกัน อย่างสมบูรณ์ จากนั้นจึงเกิดการ ย่อยสลายในร่างกายโดย ไม่ปรากฏร่องรอยของปฏิกิริยาระหว่างผิวพื้นวัสดุกับอวัยวะที่รองรับ ทำให้ผู้ป่วย ไม่จำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดเอาวัสดุตัวยึดออกหลังจากแผลหายดีแล้ว นอกจากจะ ประหยัดค่าใช้จ่าย แล้ว ยัง ลดความเจ็บปวดและความเสี่ยงต่างๆ จากการผ่าตัดครั้งที่สองด้วย [3-4] ในการเตรียม โครงเลี้ยงเซลล์จะต้องคำนึงถึงสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกในด้านต่างๆด้วย ได้แก่ ความสามารถในการเป็นที่ยึดเกาะของเซลล์กระดูกได้ดี ความสามารถในย่อยสลายภายในร่างกาย อัตราการย่อยสลายตัวของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกต้องสมดุลกับอัตราการสร้างกระดูกใหม่ และผลของการย่อยสลายจะต้องไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย สมบัติเชิงกลของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกจะขึ้นอยู่กับประเภทของการใช้งาน เนื่องจากกระดูกในแต่ละส่วน ของร่างกาย มีสมบัติเชิงกลแตกต่างกัน สมบัติเชิงกลที่กล่าวถึง เช่น ความสามารถในการรับแรงกระแทก แรงอัด แรงดึง ความแข็งแรง และค่าความยืดหยุ่น รวมทั้งรูพรุนภายในของกระดูก ซึ่งจะส่งผลต่อความสามารถของเซลล์ที่จะใช้รับส่งอาหารและขับถ่ายของเสีย รวมทั้งการเจริญของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ โดยขนาดของรูพรุนจะต้องเหมาะสมเพียงพอที่เซลล์จะเข้าไปยึดเกาะได้

ส่วนการพิจารณา วัสดุที่ จะนำมา ใช้เพื่อเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์นั้นก็จำเป็นต้องคำนึงถึงด้วย เนื่องจากวัสดุที่เลือกใช้จะต้องมีสมบัติที่จำเป็นของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกครบถ้วน เพราะเมื่อใช้วัสดุชนิดนั้น ฝังหรือทดแทนอวัยวะในร่างกายแล้ว ปฏิกิริยาระหว่างวัสดุและอวัยวะที่รองรับก็จะขึ้นกับชนิดของวัสดุนั้นๆ ซึ่งวัสดุแต่ละชนิดจะคงไว้ซึ่งสมบัติประจำของตัวมันเอง เพื่อทำหน้าที่ต่อไปในร่างกายให้นาน ที่สุด ทั้งนี้ก็เพื่อประโยชน์สูงสุดของผู้ป่วย สามารถแบ่ง วัสดุที่ใช้ในการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ออกเป็นประเภทหลักๆ ได้แก่ โลหะ พอลิเมอร์ เซรามิกส์ และวัสดุเชิงประกอบ [6]

เนื่องจาก กระดูกเป็น วัสดุเชิงประกอบ ประเภทหนึ่ง กระดูกแต่ละส่วนมีองค์ประกอบแตกต่างกัน ทั้งในระดับโมเลกุล และโครงสร้างระดับจุลภาค ดังนั้นการใช้งานของวัสดุเชิงประกอบ ในทางการแพทย์ ต้องอาศัยเหตุผลที่ว่าวัสดุเพียงชนิดเดียว ไม่มีสมบัติที่เหมาะสมหรือเพียงพอต่อการ นำมาใช้งาน ต้องมีการผสมวัสดุหลายประเภท เข้าด้วยกัน โดยนำข้อดีของวัสดุแต่ละประเภทมาใช้ประโยชน์ ตัวอย่างของวัสดุเชิงประกอบ ทางการแพทย์ ได้แก่ วัสดุอุดฟัน และวัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน ซึ่งประกอบด้วยพลาสติกประเภท BIS-GMA ผสมกับผงซิลิกา เป็นทางเลือกในการใช้งานแทนอะมัลกัม เนื่องจากมีสีสันใกล้เคียง กับสีฟันตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีวัสดุที่ผลิตจากพลาสติกเสริมแรงด้วยเส้นใยคาร์บอน ทำให้มีสมบัติเชิงกลที่ใกล้เคียงกับกระดูกธรรมชาติมากขึ้นและดีกว่าการใช้โลหะ [6]

ในงานวิจัยนี้จึงได้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จาก วัสดุเชิงประกอบ โดยเลือกใช้วัสดุกลุ่มเซรามิกส์ คือ ไฮดรอกซีแอ พาไทต์ เนื่องจาก เป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่ มีองค์ประกอบหลัก ใกล้เคียงกับ กระดูกมนุษย์ และมีรายงานการใช้งานอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ และเซอร์โคเนียเพื่อ เป็นตัวช่วยเสริมแรง และปรับปรุง สมบัติเชิงกลของ ไฮดรอกซีแอพาไทต์ให้ดีขึ้น เนื่องจากเซอร์โคเนียมีความเสถียรและทนต่อความร้อนอุณหภูมิสูงได้จึงสามารถแทรกตัวและกระจายในผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ได้เมื่อเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิสูง วัสดุประเภทเซรามิกส์ ที่นำมาใช้มีข้อดีคือสามารถ กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อ กระดูกใหม่ และไม่ เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ตัวอย่างวัสดุเสริมที่มีรายงานการนำมาใช้ผลิต วัสดุสังเคราะห์เชิงประกอบของเซรามิกส์ ได้แก่ aluminium oxide (Al_2O_3), zirconium oxide (ZrO_2), titanium (Ti) และ titanium alloy เป็นต้น [7]

เนื่องจากไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่จำหน่ายโดยทั่วไปมีขนาดอนุภาคระดับไมครอน โครงงานวิจัยนี้จึงต้องการเตรียมไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีอนุภาคระดับนาโนและนำมาใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์กระดูก ด้วยเหตุผลที่ว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ในกระดูกมีอนุภาคระดับนาโนเช่นกัน ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสามารถประสานกับเนื้อกระดูกเดิมได้ดีขึ้น จากนั้นเสริมความแข็งแรงของโครงเลี้ยงเซลล์โดยเติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ลงไป ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเผาซินเตอร์ต่อลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคและเปรียบเทียบความว่องไวทางชีวภาพระหว่างที่เติม ZrO_2 และที่ไม่เติมว่าแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จาก วัสดุผสมระหว่าง ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และเซอร์โคเนียด้วยเทคนิคโซล-เจล และศึกษาสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้น

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษาอัตราส่วนโดยโมลของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ต่อไฮดรอกซีแอพาไทต์ ในช่วง 0.001 – 0.5
2. ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการเผาซินเตอร์ที่ 1150ºC และ 1250ºC
3. ศึกษาสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกที่เตรียมได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ โดยมีสมบัติทางกายภาพและชีวภาพที่เหมาะสมสามารถนำไปใช้งานทางการแพทย์ได้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 กระดูก

กระดูก (หรือ osseous tissue) เป็น dense connective tissue ประกอบด้วยเซลล์และ extracellular matrix เหมือนเนื้อเยื่อทั่วไป แต่มีการสะสม inorganic salt ใน bone matrix ทำให้กระดูกมีความแข็ง ซึ่งถ้าไม่รวม enamel และ dentin ของฟัน กระดูกเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงที่สุดของร่างกาย กระดูกทำหน้าที่ค้ำจุนร่างกาย เป็นที่ยึดเกาะของกล้ามเนื้อและเอ็น เพื่อทำให้ร่างกายสามารถเคลื่อนไหวได้ [8]

ชนิดของกระดูก (Types of bone)

สามารถจำแนกกระดูก ตามลักษณะรูปร่างได้ 4 ชนิด คือ

1. กระดูกทรงกระบอก (Tubular bone) หรือ กระดูกยาว (Long bone) ได้แก่ humerus, ulna, femur, tibia, fibula และกระดูกนิ้วมือและนิ้วเท้า (phalanges) เป็นต้น
2. กระดูกสั้น (Short bone) ได้แก่ กระดูกข้อมือ (carpal bone) และกระดูกข้อเท้า (tarsal bone) เป็นต้น
3. กระดูกแบน (Flat bone) ได้แก่ กระดูกบางชิ้นของกะโหลกศีรษะ เช่น กระดูกสะบัก (scapula) เป็นต้น
4. กระดูกรูปร่างแปลกๆ (Irregular bone) ได้แก่ กระดูกสันหลัง (vertrebra) กระดูกบางชิ้นของกะโหลกศีรษะและกระดูกขากรรไกรล่าง (mandible) เป็นต้น

นอกจากกระดูก 4 ชนิดนี้แล้ว ยังมีกระดูกอีกชนิด หนึ่งที่เรียกว่า sesamoid bone เป็นกระดูกที่เกิดขึ้นภายใน capsule ของข้อต่อหรือเอ็นยึดกล้ามเนื้อ (tendon) ทำหน้าที่ช่วยลดความเสียดทาน (friction) ได้แก่ กระดูกสะบ้า (patella) ซึ่งเป็น sesamoid bone ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกาย นอกจากนี้ยังพบได้บริเวณโคนนิ้วหัวแม่ มือและเท้า ส่วน Pneumatic bone เป็นกระดูกที่มีโพรงอยู่ภายใน ได้แก่ frontal, maxilla, sphenoid, และ ethmoid เป็นต้น [9-10]

ลักษณะโครงสร้างของกระดูก

กระดูกมีส่วนประกอบพื้นฐานเหมือนเนื้อเยื่ออื่นๆ คือมีเซลล์และเนื้อพื้น เนื้อพื้นของกระดูกนอกจากจะมีส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ (organic substances) อันได้แก่ คอลลาเจน , proteoglycan, glycoprotein และสารอื่นๆแล้ว ยังมีส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ (inorganic substance) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้กระดูกมีความแข็งแรง (rigidity) สารอนินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมฟอสเฟต อาจมีแมกนีเซียม ฟลูออไรด์ และซัลเฟต เล็กน้อย ที่สำคัญ คือ hydroxyapatite ทั้งกระดูกเนื้อพรุนและกระดูกเนื้อแน่นจะมีเซลล์และเนื้อพื้นระหว่างเซลล์ชนิดเดียวกันแต่แตกต่างกันที่ลักษณะการจัดองค์ประกอบต่าง และสัดส่วนของช่องไขกระดูกต่อเนื้อเยื่อกระดูก

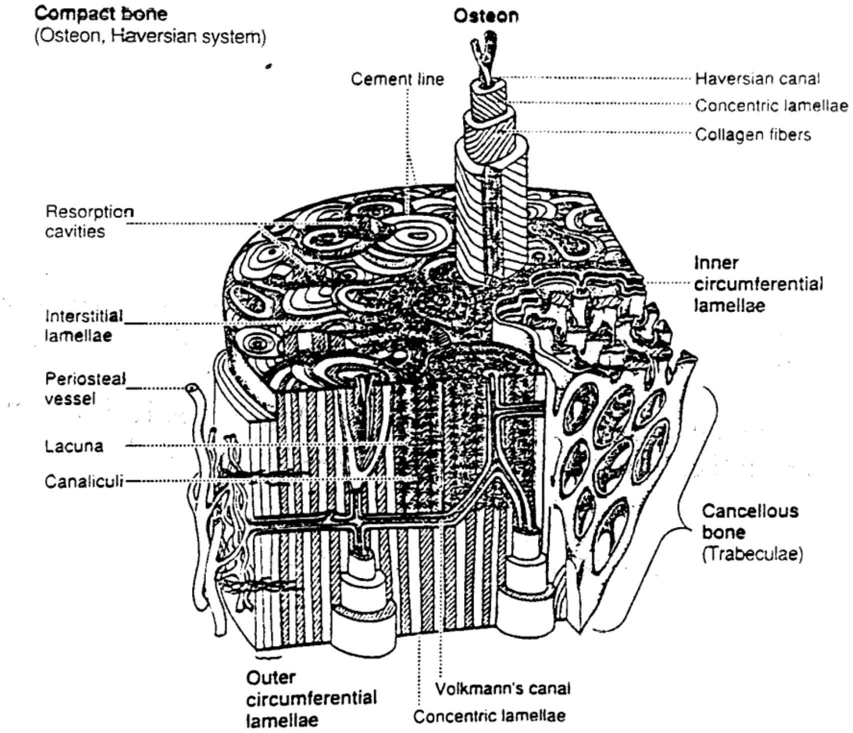
กระดูกเนื้อพรุน (Cancellous bone หรือ Spongy bone)

โครงสร้างของกระดูกเนื้อพรุนมีลักษณะเป็นชิ้นกระดูกเล็กๆ เรียกว่า trabeculae ประสานต่อกัน โดยมีช่องว่างแทรกอยู่ ซึ่งเป็นที่อยู่ของไขกระดูก จึงมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ เนื้อกระดูกบางส่วนมีลักษณะเป็นเสี้ยน (spicule) ยื่นออกไป การเรียงตัวของ trabrculae ในกระดูกเนื้อพรุนแม้จะดูไม่เป็นระเบียบ แต่ในกระดูกยาวที่ต้องรับน้ำหนัก จะมีการเรียงตัวของ trabeculae เป็นแนวที่จะช่วยรับหรือดูดซับน้ำหนักที่ผ่านกระดูกชิ้นนั้น

ความพรุนของเนื้อกระดูกทำให้มีพื้นที่ผิวมาก จึงเป็นส่วนที่มีเมแทบอลิซึมสูงและมีอัตราการหมุนเวียน (turnover rate) สูงเมื่อเปรียบเทียบกับกระดูกเนื้อแน่น การที่มีเลือดหล่อเลี้ยงโดยรอบ trabeculae เป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมเมแทบอลิซึมด้วยเช่นกัน เกลือแร่ที่มีอยู่ในกระดูกเนื้อพรุนเป็นส่วนที่หมุนเวียนได้เร็ว และช่วยก่อให้เกิดสมดุลของเกลือแร่ในเลือด

กระดูกเนื้อแน่น (Compact bone)

กระดูกทั้งหมดในร่างกายจะเป็นมวลของกระดูกเนื้อแน่นถึงร้อยละ 80 ทำหน้าที่เป็นส่วนเปลือกของกระดูกเกือบทุกชิ้น (ภาพประกอบที่ 2.1) โดยเฉพาะที่ diaphysis ของกระดูกยาวจะมีกระดูกเนื้อแน่นค่อนข้างหนากว่าที่อื่นๆ การเจริญของกระดูกนี้มีความเกี่ยวเนื่องกับแรง กดทับ กล่าวคือ ถ้ามีแรงกดมากความหนาของกระดูกก็จะเพิ่มตามไปด้วย


Compact bone
(Osteon, Haversian system)
Osteon
Cement line
Haversian canal
Concentric lamellae
Collagen fibers
Resorption cavities
Inner circumferential lamellae
Interstitial lamellae
Periosteal vessel
Lacuna
Canaliculi
Cancellous bone
(Trabeculae)
Outer circumferential lamellae
Volkmann's canal
Concentric lamellae

ภาพประกอบที่ 2.1 โครงสร้างของกระดูกเนื้อแน่น [11]

แร่ธาตุในกระดูก

แร่ธาตุในเนื้อกระดูกส่วนใหญ่เป็นสารอนินทรีย์ที่มีความสำคัญ โดยมีหน้าที่หลักคือ

1. ทำให้เนื้อกระดูกมีความแข็งแรงพอเหมาะที่จะต้านแรงที่มากระทำ คือมี mechanical strength ที่ดี

2. เป็นแหล่งสะสมแร่ธาตุหลักที่มีความสำคัญต่อสรีรวิทยาของร่างกาย และช่วยรักษาดุล (equilibrium) ของแร่ธาตุโดยปล่อยออกจากกระดูกหรือสะสมเข้าไปในกระดูก

แร่ธาตุหลักในเนื้อพื้นกระดูกคือแคลเซียมและฟอสฟอรัส พบว่าร้อยละ 99 ของปริมาณแคลเซียมและร้อยละ 90 ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดของร่างกาย ถูกสะสมในกระดูก แคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระดูกจะจับเป็นผลึกของ hydroxyapatite เป็นส่วนใหญ่ มีบางส่วนเท่านั้นที่จะพบในรูปของ amorphous calcium phosphate แร่ธาตุอื่นๆ ที่พบ ได้แก่ แมกนีเซียม โปแตสเซียม และฟลูออไรด์ รวมทั้งโลหะหนักบางชนิดซึ่งพบในปริมาณน้อย เช่น strontium และ radium แร่ธาตุเหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไอออนในสารเหลวนอกเซลล์กระดูก (extracellular fluid) ร้อยละ 40 ของปริมาณโซเดียมในร่างกายจะอยู่ในกระดูก โดยประมาณครึ่งหนึ่งจะอยู่ใน

สภาพพร้อมที่จะทำการแลกเปลี่ยนกับธาตุอื่นๆ แมกนีเซียมมีปริมาณร้อยละ 60 ของปริมาณทั้งหมดในร่างกาย และเชื่อว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมหลายอย่างของเซลล์กระดูก [10]

ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (hydroxyapatite) ในกระดูก

แคลเซียมและฟอสฟอรัสในเนื้อพื้นซึ่งรวมตัวเป็นผลึก hydroxyapatite [$Ca_{10}(PO_4)_2(OH)_2$ หรือ $3Ca_3(PO_4)_2Ca(OH)_2$] โครงสร้างโมเลกุลเป็นเสมือนโครงตาข่าย (lattice work) สามมิติ มีไอออนบวก (cations) เป็นแกนกลางล้อมรอบด้วยไอออนลบ (anions) ในลักษณะที่สมดุลกันพอดี เกิดจากการรวมกลุ่ม (aggregation) ของผลึกขนาดจิ๋วที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 40 - 50 นาโนเมตร ทำให้มีพื้นที่ผิวมากเมื่อเปรียบเทียบเป็นสัดส่วนกับปริมาตร ประมาณว่ามีพื้นที่ผิวสูงถึง 100 - 200 ตารางเมตรต่อน้ำหนักกระดูกหนึ่งกรัม จึงเอื้อต่อการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุหรือไอออนอย่างมาก แต่การแลกเปลี่ยนแร่ธาตุจะเกิดขึ้นเมื่อมีการสัมผัสกับสารเหลวของเนื้อกระดูก (bone tissue fluid) เท่านั้น จึงมีเพียงบางส่วนของพื้นผิวเท่านั้นที่มีการแลกเปลี่ยนไอออนเกิดขึ้น

ในบางสภาวะไอออนบางส่วนของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะถูกแทนที่ด้วยไอออนอื่นที่มีขนาดและประจุเหมือนกัน เช่น แมกนีเซียม strontium หรือตะกั่ว ที่อาจเข้ามาแทนที่แคลเซียม มีผลทำให้ผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์กลายเป็นผลึกที่ไม่สมบูรณ์และละลายน้ำได้ดีขึ้น ในทางตรงกันข้ามการแทนที่ของฟลูออไรด์กลับทำให้ผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงละลายน้ำได้ยากขึ้น ทำให้ผลึกมีความคงตัวมากขึ้น ถูกทำลายโดยเซลล์ osteoclast ได้ยากขึ้น แต่ถ้าร่างกายได้รับฟลูออไรด์มากเกินไป จะทำให้กระดูกมีลักษณะ sclerotic ซึ่งจะเปราะ และมีโครงสร้างผิดไปจากปกติ

โดยทั่วไปผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เพิ่งเกิดขึ้นใหม่ จะยังมีความไม่สมบูรณ์ในโครงสร้าง และมีน้ำห่อหุ้มอยู่มาก ทำให้ไอออนต่างๆ สามารถเข้าไปแทนที่ได้ง่าย แต่เมื่อกระดูกมีอายุมากขึ้น ผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น มีความสมบูรณ์ของโครงสร้างเต็มที่ และมีปริมาณน้ำในผลึกน้อย เพราะถูกแทนที่ด้วยแร่ธาตุเป็นส่วนใหญ่ ทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนไอออนเกิดขึ้นช้า [10]

การจับแฝงของแร่ธาตุในเนื้อพื้นกระดูก (Mineralization of matrix)

ถึงแม้ว่าจะมีความพยายามในการศึกษาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถเข้าใจถึงจุดเริ่มต้นและกลไกที่ทำให้เกิดการจับแฝงของแร่ธาตุโดยเฉพาะอย่างยิ่ง แคลเซียมในเนื้อพื้นกระดูกก็ตาม แต่จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่สามารถสรุปถึงกลไกที่แน่นอนได้ โดยมีเหตุผลที่สำคัญซึ่ง

เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าจริงๆ แล้ว ขบวนการต่างๆ ที่เกิดขึ้นต้องอาศัยปัจจัยและความพร้อมหลายประการร่วมกัน ไม่ได้เกิดจากปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นหลัก เช่น ร่างกายต้องพร้อมที่จะส่งแคลเซียมหรือฟอสฟอรัสไปยังตำแหน่งที่จะมีการจับแฝงของแร่ธาตุอย่างเพียงพอ เซลล์ต้องมีเมแทบอลิซึมสูงรวมทั้งเอนไซน์ต่างๆที่เกี่ยวข้อง และเนื้อพื้นโดยเฉพาะคอลลาเจนต้องอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์

ขั้นตอนต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการจับแฝงของแร่ธาตุในเนื้อกระดูกมีความสลับซับซ้อนและเกิดเกี่ยวเนื่องโดยตลอด สามารถแยกออกเป็น 4 ระยะ ดังนี้

1. การปรับเนื้อพื้น (Matrix modification) เนื้อพื้นที่จะมีการจับแฝงของแร่ธาตุจะถูกปรับให้พร้อม จากการศึกษาของ Wuthier พบว่า ความเข้มข้นของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในเนื้อพื้นส่วนนั้นจะสูงขึ้นโดยสอดคล้องกับการที่ไอออนสองชนิดนี้ใน mitochondria ของ osteoblast มีปริมาณลดลง การทำงานของ glycoproteins, sialoproteins และเอนไซน์ที่เกี่ยวข้องกับการเกาะของแคลเซียมจะเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้รวมถึง alkaline phosphatase และเอนไซน์ที่เกี่ยวข้องกับ pyrophosphate และ phosphate hydrolysis ด้วย

ลักษณะของ osteoblast จะมีส่วนที่ยื่นหรือแตกหน่อออกมาเป็น matrix vesicles ซึ่งภายในจะมีเอนไซน์หลายอย่างโดยเฉพาะ alkaline phosphatase ที่เชื่อว่ามีบทบาทสำคัญต่อการกระตุ้นให้เริ่มต้นการตกผลึกของแร่ธาตุในเนื้อพื้น

2. การก่อตัวของผลึก (Crystal nucleation) ผลึกที่จะก่อตัวขึ้นในเนื้อพื้นคือไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยก่อนที่จะเป็นผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สมบูรณ์จะผ่านการเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ได้หลายชนิด เช่น amorphous tricalcium phosphate, brushite และ octacalcium phosphate โดยปกติเชื่อว่าการที่ไม่มีการจับแฝงของแคลเซียมหรือแร่ธาตุอื่นในเนื้อเยื่อทั่วไปของร่างกายเพราะมีสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งอยู่ในเนื้อเยื่อเหล่านั้น เชื่อว่า pyrophosphate เป็นตัวยับยั้งที่สำคัญตัวหนึ่ง ดังนั้นก่อนที่จะมีการตกผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ในเนื้อพื้น เอนไซน์หลายชนิดจะถูกปล่อยออกมาเพื่อสลาย pyrophosphate และทำให้เกิดผลพลอยได้คือความเข้มข้นของฟอสเฟต ตรงบริเวณนั้นจะสูงขึ้น osteonectin ซึ่งเป็นโปรตีนในเนื้อพื้นมีส่วนเกี่ยวข้องในการเริ่มต้นการก่อตัวของผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์เช่นกัน

3. การเจริญของผลึก (Crystal growth) ทันทีที่มีการก่อตัวของผลึกแรกเกิดขึ้นในเนื้อพื้น จะมีการตกผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์เกิดต่อเนื่อง พอกลงบนพื้นผิวเดิม ทำให้มีจำนวนของผลึกมากขยายตัวออกไปโดยรอบอย่างรวดเร็ว ในระยะนี้ความเข้มข้นของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่สูงพอเหมาะจะช่วยเอื้อให้การตกผลึกขยายตัวออกไปได้ สำหรับการจัดโครงสร้างหรือการเรียงตัวของผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ในเนื้อพื้น จะถูกกำหนดโดยโครงสร้างของคอลลา

เจนซึ่งมีรูปแบบเฉพาะอยู่แล้ว โดยเชื่อว่าโปรตีนในเนื้อพื้น เช่น osteocalcin มีส่วนช่วยในการควบคุมการเจริญของผลึกในเนื้อพื้นด้วย

4. การขึ้นรูป (Remodeling) เนื้อพื้นที่มีการจับแฝงของแร่ธาตุแล้วจะไม่ได้หยุดอยู่เท่านั้น บางส่วนจะถูกละลาย (resorb) โดยการทำหน้าที่ของ osteoclast แล้วจะมีการสร้างขึ้นใหม่ (reform) อยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้นอกจากจะเป็นการปรับรูปเพื่อให้เหมาะกับการทำหน้าที่ ในการตอบสนองต่อ stress แล้วยังเป็นกลไกสำคัญในการทำให้แร่ธาตุในร่างกายอยู่ในสภาวะคงที่ (homeostasis) ได้ การละลายและการสร้างขึ้นใหม่ของกระดูกถือเป็นปรากฏการณ์ปกติที่เกิดขึ้นซึ่งอาจเรียกว่าเป็นการหมุนเวียนของเนื้อกระดูก (bone turnover) [10]

สมบัติเชิงกลของกระดูก

ส่วนประกอบของกระดูกที่เป็นสารอินทรีย์ซึ่งโดยมากเป็นคอลลาเจน ที่มีความเหนียวสูง ค่ามอดูลัสต่ำ และมีสมบัติอื่นๆ ที่เป็นลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์ สำหรับส่วนประกอบที่เป็นสารอนินทรีย์ จะทำให้กระดูกมีความแข็งมาก กระดูกจึงมีความเหนียวสูง และค่ามอดูลัสสัมพัทธ์สูง โดยที่ความเหนียวของกระดูกไม่ได้มาจากคอลลาเจนเท่านั้น แต่เกิดจากโครงสร้างจุลภาคของไฟเบอร์ที่มีความสลับซับซ้อนของคอลลาเจนและไฮดรอกซีแอพาไทต์

สมบัติเชิงกลของกระดูก แสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้น ชนิดของแรงที่ได้รับ ทิศทางของแรงที่ได้รับ และชนิดของกระดูก พบว่าเมื่อระดับของการตกตะกอนของเกลือแร่ในกระดูกเพิ่มมากขึ้น ความทนทานจะเพิ่มขึ้น ส่วนความเครียดจะลดลง อย่างไรก็ตามความทนทานและสมบัติเชิงกลอื่นๆ ของกระดูกจะขึ้นอยู่กับลักษณะของการจัดเรียงตัวของคอลลาเจน ไฟเบอร์ ความหนาแน่นของกระดูก ความพรุน โครงสร้างของเซลล์ และโครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์ภายในเนื้อพื้นของคอลลาเจน แต่ความเหนียวและปริมาตรของกระดูกจะลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น [12]

ตารางที่ 2.1 สมบัติเชิงกลของกระดูก [13]

สมบัติ	สมบัติเชิงกลของกระดูก		
	ชนิดกระดูก	Load Direction	ค่า
Youn’s Modulus (GPa)	Cortical	Longitudinal	20-22
		Transverse	12-14
	Trabecular	-	1-18
Compressive Strength (MPa)	Cortical	-	170-193
	Trabecular	-	4-12
Tensile Strength (MPa)	Cortical	Longitudinal	50-150
		Transverse	51
Flexural Strength (MPa)	Femur	-	190-209
Fracture Toughness (MPam$^{1/2}$)	Cortical	-	2-8

2.2.2 วัสดุทดแทนกระดูก (Bone Substitites)

ถึงแม้ว่ากระดูกปลูก (bone graft) จะเป็นที่ยอมรับกันว่ามีสมบัติเหมาะสมดีที่สุดสำหรับการใช้เพื่อแก้ปัญหาการติดของกระดูก (bone union) หรือเติมลงในส่วนของกระดูกที่บกพร่อง (bone defect) ก็ตาม แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นมักจะเป็นในกรณีที่ต้องใช้กระดูกปลูกจำนวนมาก โดยเฉพาะในการซ่อมสร้าง (reconstruction) ส่วนของกระดูกที่พร่องไปขนาดใหญ่ ซึ่งมักจะไม่สามารถหา autograft ขนาดที่พอเหมาะสมมาใช้ได้อย่างเพียงพอ ความพยายามที่จะแก้ปัญหาเหล่านี้จึงเกิดขึ้น โดยทำการศึกษาและพัฒนาสารซึ่งสามารถใช้ทดแทนกระดูก ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์มากมายหลายชนิด เพื่อให้มีโครงสร้างและสมบัติคล้ายกับกระดูกมากที่สุด

สมบัติของวัสดุทดแทนกระดูก

1. Biocompatibility หมายถึง การเข้ากับเนื้อเยื่อกระดูกในร่างกายได้ ทำให้มีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกผสมผสานเข้าไปภายในวัสดุทดแทนกระดูกจนเป็นเนื้อเดียวกัน โดยไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาซึ่งเป็นผลให้มีการสร้างเนื้อเยื่อ fibrous รอบๆ สารที่ใส่ทดแทน และไม่ขัดขวางการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกตรงตำแหน่งนั้นเข้าไปแทนที่

2. Biodegradability หมายถึง ความสามารถที่จะค่อยๆ ถูกสลายโดยกลไกต่างๆ ภายในร่างกาย ซึ่งจะทำให้วัสดุทดแทนกระดูกที่ใช้ค่อยๆ ถูกกำจัดออกไปจากตำแหน่งที่ใส่ หลังจากที่มีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปแทนที่แล้ว จะสลายและกำจัดออกไปจนหมดเมื่อหมดหน้าที่ ที่น่าสนใจคือ อัตราการสลายตัวของวัสดุทดแทนกระดูกต้องสอดคล้องกับอัตราการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกที่เข้าไปแทนที่ ถ้าหากการสลายตัวเกิดขึ้นเร็วเกินไปจะทำให้บริเวณที่ใส่วัสดุทดแทนกระดูกขาดความแข็งแรงและเกิดการแตกหรือหักได้เมื่อได้รับแรงกระทำ แต่ถ้าวัสดุทดแทนกระดูกสลายตัวได้ช้าหรือไม่มีการสลายตัวก็จะเป็นตัวขัดขวางการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูก ซึ่งจะมีผลต่อชีวกลศาสตร์ของกระดูกส่วนนั้นในระยะยาว

3. ความแข็งแรง เนื่องจากวัสดุทดแทนกระดูกส่วนใหญ่ถูกพัฒนาเพื่อให้แก้ปัญหาส่วนของกระดูกส่วนที่พร่องไป จึงต้องพิจารณาถึงความแข็งแรงของสารที่ใช้ด้วย โดยเฉพาะเมื่อใช้ขนาดใหญ่หรือใช้กับกระดูกที่ต้องรับน้ำหนัก วัสดุทดแทนกระดูกที่มีสมบัติอื่นๆ ที่ดี แต่มีความเปราะจึงมีการใช้อย่างจำกัดเมื่อเปรียบเทียบกับสารอื่นที่มีความแข็งแรงของโครงสร้างที่ดีกว่า

4. Osteoinductive capabilities หมายถึง ความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อกระดูกโดยรอบตรงตำแหน่งรอยโรค มีการเจริญเข้าไปภายในวัสดุทดแทนกระดูกที่ใช้ ความสามารถนี้เป็นจุดสำคัญจุดหนึ่งที่เป็นที่ต้องการ จึงมีความพยายามที่จะพัฒนาให้วัสดุทดแทนกระดูกมีสมบัติข้อนี้ ซึ่งปัจจุบันยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร จึงเป็นเหตุผลให้มีการผสมสารหรือส่วนประกอบอื่นๆ เข้ากับวัสดุทดแทนกระดูกเพื่อให้มีความสามารถดังกล่าว เช่น การใช้ bone morphogenetic protein (BMP) หรือแม้แต่การใช้ไขกระดูกหรือส่วนประกอบบางส่วนจากไขกระดูกหรือเลือดของผู้รับ เป็นต้น

5. Bioinert คือ เป็นสารที่มีความเฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นโดยง่าย สมบัติข้อนี้จะสามารถผสมสารอื่นที่จำเป็น เช่น ยาปฏิชีวนะ เข้ากับวัสดุทดแทนกระดูกที่จะใช้ได้โดยไม่เกิดปฏิกิริยาต่อกัน

6. การผลิตหรือการเตรียม มีขั้นตอนที่ง่าย สามารถทำรูปแบบหรือขนาดได้ง่ายตามความต้องการและสามารถเก็บไว้ใช้ได้นาน เป็นสมบัติปลีกย่อยที่บางครั้งทำให้มีผลต่อการเลือกใช้วัสดุทดแทนกระดูกบางชนิดมากกว่าชนิดอื่น

หน้าที่ของวัสดุทดแทนกระดูก

สารทดแทนกระดูก ถูกนำมาใช้โดยทำหน้าที่เป็นโครงซึ่งเอื้อต่อการเจริญเข้าไปของเนื้อเยื่อกระดูก หรืออาจกล่าวได้ว่าทำหน้าที่เป็น สื่อนำกระดูก (osteoconduction) เช่นเดียวกับการทำหน้าที่ของกระดูกปลูกโดยทั่วไป หากมองที่หน้าที่ส่วนนี้จะเห็นได้ว่า วัสดุทดแทนกระดูกที่มีโครงสร้างเป็นรูพรุน (porous structure) น่าจะเหมาะสมกว่าสารที่เป็นเนื้อแน่น

อย่างไรก็ตาม หน้าที่สำคัญอีกประการหนึ่งของวัสดุทดแทนกระดูก คือการให้ความแข็งแรงแก่กระดูกส่วนที่นำไปใช้ โดยเฉพาะกรณีที่ใช้วัสดุทดแทนกระดูกในการซ่อมสร้างส่วนกระดูกที่พร่องไปขนาดใหญ่ ฉะนั้นหากจะเน้นเป็นสารที่มีความแข็งแรง ก็จำเป็นจะต้องทำให้มีเนื้อแน่นพอสมควร [10]

วัสดุทดแทนกระดูก

แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กระดูกจากสิ่งมีชีวิต (bone graft) ได้แก่ กระดูกจากผู้ป่วยเอง (autograft) กระดูกจากผู้บริจาค (allograft) และกระดูกสัตว์ (xenograft หรือ heterograft)
2. วัสดุชีวภาพ (biomaterial) ได้แก่ โลหะ เซรามิก แก้ว และพอลิเมอร์ [14]

2.2.2.1 กระดูกจากสิ่งมีชีวิต (Bone Graft)

ถึงแม้ว่าธรรมชาติของเนื้อเยื่อในสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ซึ่งรวมถึงกระดูก จะมีสมรรถนะและศักยภาพในการซ่อมแซมหรือสร้างตัวเองอย่างน่าอัศจรรย์อยู่แล้วก็ตาม แต่การดำเนินการจะเป็นไปได้ต่อเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและไม่เกินความสามารถของธรรมชาติเท่านั้น บ่อยครั้งจึงเกิดปัญหาขึ้น เช่นกระดูกที่หักจนไม่สามารถสมานติดกันได้เหมือนเดิม ซึ่งเกิดขึ้นจากหลายสาเหตุ ทำให้กระดูกส่วนที่หักบางส่วนหลุดหายไป เกิดเป็นช่องว่างระหว่างปลายกระดูกซึ่งมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่ปลายกระดูกทั้งสองจะมีการสร้างหรืองอกขึ้นมาเชื่อมต่อกันได้ ปัญหาเหล่านี้มีมานานแล้วและได้มีความพยายามในการแก้ปัญหาโดยวิธีการต่างๆ การใช้กระดูกปลูกถ่ายก็เป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ ถึงแม้ในระยะเริ่มแรกจะมีผู้ให้ความสนใจน้อยหรือถึงกับคัดค้านก็ตาม

กระดูกปลูกที่มีการนำมาใช้ทางคลินิกมีแหล่งที่มาแตกต่างกัน สามารถจำแนกกระดูกปลูกถ่ายชนิดต่างๆ ได้ดังนี้

Autograft

หมายถึง การปลูกถ่ายที่นำเนื้อเยื่อมาจากตำแหน่งหนึ่ง ไปปลูกยังตำแหน่งอื่นในร่างกายของคนเดียวกัน ถือว่า autograft เป็นกระดูกปลูกที่มีสมบัติดีที่สุดและมีการริเริ่มใช้มานานแล้ว การใช้กระดูกปลูก autograft ให้ได้ผลดีที่สุด คือการปลูกลงในบริเวณที่กระดูกที่รับโดยรอบมีเลือดหล่อเลี้ยง และมีเนื้อเยื่ออ่อนที่มีชีวิตปกคลุม

ข้อดีของ autograft

1. มีศักยภาพสูงในการก่อให้เกิดกระดูกใหม่ ทั้งนี้เป็นผลจากการที่มีเซลล์ที่สามารถสร้างกระดูกติดมากับไขกระดูกจำนวนมากยังมีชีวิตอยู่และเริ่มทำการสร้างกระดูกอย่างรวดเร็ว
2. มีความสามารถสูงในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยเฉพาะเซลล์ mesenchyme ที่ยังไม่แปรเปลี่ยน (undifferentiated) ของผู้รับ ให้กลายเป็นเซลล์ต้นกำเนิดกระดูก
3. ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับปฏิกิริยาภูมิคุ้นกัน

ข้อเสียของ autograft

1. จำนวนหรือปริมาณของกระดูกที่จะนำมาใช้มีจำกัด โดยเฉพาะในเด็กเล็ก
2. อาจเกิดภาวะแทรกซ้อนหลังผ่าตัดตรงบริเวณตำแหนงที่เอากระดูกออกไป เช่น การคั่งของเลือด การติดเชื้อของแผลผ่าตัด
3. กระดูกตรงตำแหน่งที่ถูกตัดออกเกิดเสียความแข็งแรงบางส่วนไป

Allograft

หมายถึง การปลูกถ่ายที่กระทำระหว่างสิ่งมีชีวิตที่อยู่ใน species เดียวกัน แต่พันธุกรรมแตกต่างกัน เช่น การปลูกถ่ายข้ามคน (ซึ่งไม่ใช่แฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกัน) หรือสัตว์ที่อยู่ใน strain ต่างกัน

ข้อดีของ allograft

1. สามารถจัดหาและเก็บสำรองเป็นจำนวนมากในลักษณะของธนาคารกระดูก
2. มีความสะดวกในการนำมาใช้เพราะสามารถเลือกชนิด ขนาด และปริมาณของกระดูกปลูกที่ต้องการได้อย่างเหมาะสมในผู้รับแต่ละราย
3. โดยเทคนิคการเตรียมที่ดีและการจัดเก็บที่ดี สามารถเก็บไว้ได้นาน

ข้อเสียของ allograft

แอนติเจนที่เป็นส่วนประกอบที่อยู่ใน allograft จะกระตุ้นปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของผู้รับ ซึ่งการใช้ allograft สดจะทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันอย่างรุนแรง ส่งผลให้การเกิดกระดูกใหม่ในระยะเริ่มต้นหยุดชะงัก

Xenograft

หมายถึง การปลูกถ่ายที่กระทำระหว่างสิ่งมีชีวิตที่อยู่ใน species ต่างกัน เช่น ระหว่างวัวกับคน หรือระหว่างหนูกับกระต่าย เป็นต้น ความพยายามในการนำกระดูกสัตว์มาใช้เป็นกระดูกปลูกในคนนั้น มีสาเหตุมาจากปัญหาในการจัดหา autograft หรือ allograft มากกว่าที่จะคิดว่า xenograft จะทำหน้าที่เป็นกระดูกปลูกได้ดีกว่า ในระยะแรกๆ นอกจากกระดูกของสัตว์แล้ว มีการทดลองนำเอาส่วนอื่น เช่น งาช้าง เขาวัวมาใช้ ต่อมาพบว่า ทั้งงาช้างและเขาวัว ยากต่อการที่จะถูกผนึกเข้ากับกระดูกของผู้รับจึงเลิกใช้ไป ที่ยังมีการใช้ในระยะต่อๆ มา ได้แก่ กระดูกวัวหรือลูกวัว เนื่องจาก xenograft สดเกือบจะเรียกได้ว่าไม่มีการใช้ทางคลินิก [10]

2.2.2.2 วัสดุชีวภาพ (biomaterial)

วัสดุชีวภาพ คือ วัสดุที่ไม่มีชีวิตชนิดหนึ่งซึ่งได้นำมาใช้ในวงการแพทย์ โดยเป็นส่วนประกอบหรือแทนอวัยวะในร่างกายมนุษย์ เข้าได้กับระบบสรีระและชีวะของร่างกาย วัสดุชีวภาพที่นำมาใช้ในร่างกายจำเป็นต้องได้รับการทดสอบทั้งในสัตว์ทดลองและร่างกายมนุษย์ (in vivo) ก่อนในแง่เป็นวัสดุชีวภาพหรือไม่ และเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อข้างเคียงอย่างไร จึงจะนำมาใช้ได้อย่างค่อนข้างปลอดภัย [1] วัสดุชีวภาพนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ชนิด สมบัติ และการใช้งานของวัสดุชีวภาพทางการแพทย์ [6,15-16]

ชนิด	ตัวอย่างวัสดุที่นำใช้งาน	จุดเด่น	จุดด้อย	ตัวอย่างการใช้งาน
โลหะ (Metals)	ทองคำ เงิน แพลทินัม อะมัลกัม ไทเทเนียม	แข็งแรง หยุ่นเหนียวและมีโมดูลัสความยืดหยุ่นสูง	มีการปล่อยไอออนออกมาได้ สึกกร่อนได้ และมีน้ำหนักสูง	แผ่นโลหะยึดกระดูก ข้อต่อ ลวด
พอลิเมอร์ (Polymers)	อะคริลิก พีวีซี พอลิเอทิลีน ซิลิโคน	ปั้นเป็นรูปร่างได้ง่าย เหนียว ปรับรูปไปมาได้	แต่ไม่ค่อยแข็งแรงและเสื่อมสภาพได้	ไหมเย็บ ซีเมนต์หล่อกระดูก หลังคา ข้อเทียม ข้อต่อมีเดือย
เซรามิกส์ (Ceramics)	ไฮดรอกซีแอพาไทต์ อะลูมินา เซอร์โคเนีย	เฉื่อย แข็ง ต้านต่อการสึกหรอได้ดี เข้ากับร่างกายได้ดี และมีโมดูลัสความยืดหยุ่นสูง	ขึ้นรูปค่อนข้างยากและเปราะ	หัวข้อกระดูกเทียม ฉาบผิวโลหะ ใช้ทดแทนกระดูก
วัสดุผสมประกอบ (Composite)	ไฮดรอกซีแอพาไทต์/พลาสติก	เหนียว แข็งแรง เปลี่ยนแปลงสมบัติได้ตามต้องการ	ขึ้นรูปค่อนข้างยาก และสมบัติมักไม่สม่ำเสมอ	ฉาบผิวก้านข้อต่อกระดูกเทียม ใช้ทดแทนกระดูกแก้ม กะโหลกศีรษะ

ชนิดของวัสดุชีวภาพ

วัสดุชีวภาพสามารถแบ่งออกได้ 4 ชนิดใหญ่ๆ โดยพิจารณาในแง่ของปฏิกิริยาเนื้อเยื่อโต้ตอบต่อการกระตุ้นที่ผิวสัมผัส (interfacial response) และปฏิกิริยาของวัสดุเมื่อฝังในร่างกายแสดงในตารางที่ 2.3

ชนิดที่ 1 ได้แก่ วัสดุชีวภาพที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เช่น แผ่นโลหะและสกรูยึดกระดูกหัก วัสดุในกลุ่มนี้สามารถเข้ากันได้ดีกับอวัยวะที่ยึดหรือเนื้อเยื่อข้างเคียง อย่างไรก็ตาม มักมีปฏิกิริยา ระหว่าง เนื้อเยื่อ และ วัสดุที่ใช้ เสมอ โดยเกิดเป็นเนื้อเยื่อแผ่นบางๆ (fibrous capsule) หนา 0.1 - 10 μm ขึ้นรอบๆ วัสดุดังกล่าว จึงเกิดปัญหาขึ้นได้ โดยเฉพาะเมื่อมีแรงมากระทำ ทำให้ความคงทนถาวรของวัสดุที่ใช้มีขีดจำกัด

ชนิดที่ 2 เป็นวัสดุที่เกิดขึ้นจากการวิจัยเพื่อให้มีคุณภาพดีกว่าชนิดที่ 1 ในแง่ของความมั่นคงที่ผิวสัมผัส (interfacial stability) วัสดุในกลุ่มนี้มีรูพรุนเป็นตาข่ายที่กำหนดรูปแบบได้ (controlled network of porosity) เพื่อให้เนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตเข้าไปในรูพรุนที่ผิว วัสดุนี้คล้ายๆ กับเนื้อเยื่อบริเวณเชื่อมต่อระหว่างเอ็นและกระดูกหรือฟันกับเยื่อหุ้ม ตัวอย่างเช่น ข้อตะโพกเทียมชนิดผิวโลหะมีรูพรุน

ชนิดที่ 3 เป็นวัสดุที่วิจัยขึ้นเพื่อ ประสงค์ ให้เกิดปฏิกิริยาเคมีบริเวณผิววัสดุกับเนื้อเยื่อรองรับ ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นคือผิวสัมผัสจะประสานกันได้สนิทเหมือนธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น glass-ceramics, hydroxyapatite

ชนิดที่ 4 เป็นวัสดุ ชีวภาพ ที่เมื่อใช้แทนหรือฝังในอวัยวะของส่วนร่างกายนั้นๆ แล้ว เมื่อถึงเวลาที่ทำหน้าที่ครบถ้วนสมบูรณ์จะเกิดการเสื่อมสลายสภาพของวัสดุ และไม่ปรากฏร่องรอยของปฏิกิริยาระหว่างผิวพื้นวัสดุกับอวัยวะที่รองรับเลย วัสดุในกลุ่มนี้ถือว่าเป็นวัสดุที่ต้องการที่สุด แต่การผลิตทำได้ยากมากและที่มีอยู่ในปัจจุบันก็มีน้อยชนิดมาก ตัวอย่างเช่น tricalcium phosphate ceramics [15]

ตารางที่ 2.3 ปฏิกิริยาของวัสดุเมื่อฝังในร่างกาย [1]

ชนิด	ผลต่อเนื้อเยื่อต่างๆ ข้างเคียง	ผลลัพธ์ที่อาจเป็นไปได้
โลหะ	อักเสบ (Inflammatory) มีการสึกกร่อนและน้ำซึมเข้าได้ การหลวมและล้มเหลวเชิงกล	ผลเสียต่อสมบัติเชิงกล เกิดการอักเสบ
พอลิเมอร์	เกิดการบวม ดูดซึมเนื้อเยื่อไขมัน (Lipid absorption) น้ำซึมเข้าไปภายในวัสดุ (Leaching) การสึกหรอ (wear)	สูญเสียมิติ (dimensions) สมบัติเชิงกลเปลี่ยนไป เปลี่ยนแปลงเชิงกลและอาจเกิดการอักเสบเนื้อเยื่อได้ เปลี่ยนแปลงเชิงกล เกิดการอักเสบเนื้อเยื่อได้
เซรามิกส์และแก้ว	ล้มเหลวเชิงกล ไอออนถูกปล่อยออกมาจากแก้ว	การอักเสบเนื้อเยื่อเรื้อรัง

2.2.3 เซรามิกส์ (Ceramic)

เซรามิกส์เป็นวัสดุที่มีโลหะและอโลหะเป็นองค์ประกอบ ยึดกันด้วย ionic bond และ covalent bond จึงไม่มีอิเล็กตรอนอิสระเหลืออยู่ และเป็นวัสดุที่นำไฟฟ้าและความร้อนได้ไม่ดี แต่โปร่งแสง ปัจจุบันเซรามิกส์กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในการประยุกต์ใช้งานทางการแพทย์ เช่น ใช้วัสดุคาร์บอนเป็นแผ่นลิ้นหัวใจเทียม เอ็นเทียม เนื่องจากทำได้ง่ายและเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดี Alumina นำมาใช้งานเกี่ยวกับกระดูกและข้อเทียม เนื่องจากทนต่อแรงกดได้มากและมีความแข็งยิ่งยวดสูง

เซรามิกส์ชนิดมีรูพรุน (Porous Ceramics)

ข้อได้เปรียบของวัสดุชนิดนี้คือ เป็นวัสดุที่มีความมั่นคงเชิงกล (mechanical stability) จะเกิดขึ้นเมื่อมีกระดูกใหม่งอกเข้าไปในรูพรุนของผิววัสดุ อย่างไรก็ตาม วัสดุชนิดนี้ยังไม่มีความแข็งแรงเพียงพอที่จะใช้ประโยชน์ในแง่ของการรับน้ำหนัก จากการทดลองพบว่ากระดูกใหม่สามารถงอกเข้าไปในรูพรุนที่มีขนาดมากกว่า 100 μm ได้ มีการศึกษากันมากโดยใช้ปะการังซึ่ง

มีจุลโครงสร้างภายในแบบขนาดรูพรุนสม่ำเสมอเท่ากันและเชื่อมติดต่อกันเป็นแม่แบบ เพื่อหล่อให้ได้เซรามิกส์ที่มีรูพรุนออกมา

Resorbable Ceramics

วัสดุชนิดนี้สามารถหลอมเป็นเนื้อเดียวกับกระดูกข้างเคียงได้ เกิดจากสมบัติของเซลล์ทำลายกระดูกเอง แล้วมีเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนเกิดขึ้นมาแทนที่ เนื้อเยื่อกระดูกอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ทำหน้าที่แทนกระดูกเดิมที่ปกติได้ แต่ก็มีข้อเสีย คือ ประสิทธิภาพในการรับน้ำหนักของวัสดุจะอ่อนแอลงระหว่างกระบวนการปรับสภาพ ทำให้หักได้ จึงอาจจำเป็นต้องมีเครื่องช่วยยึดรับน้ำหนักชั่วคราวร่วมด้วย [1]

2.2.4 วัสดุผสม (Composites)

คือ วัสดุที่มีองค์ประกอบทางเคมีหรือโครงสร้างแตกต่างกันตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปมาผสมกัน วัสดุที่ได้จึงมีสมบัติของวัสดุเริ่มต้นรวมกัน โดยทั่วไปแล้วจะประกอบด้วยวัสดุตัวหนึ่งทำหน้าที่เป็นเนื้อหลักหรือเมทริกซ์ (matrix) ส่วนวัสดุที่เหลือทำหน้าที่เป็นเฟสที่กระจายตัวอยู่ (dispersed phase) ในเมทริกซ์นั้นหรืออาจเรียกว่าเฟสเสริมแรง (reinforced phase) [17]

วัสดุเนื้อหลัก [18] คือ วัสดุที่มีปริมาณมากในวัสดุ ผสม มีหน้าที่ห่อหุ้มหรือยึดจับวัสดุเสริมแรงให้ฝังตัวอยู่ได้และมักมีสมบัติที่ด้อยกว่าวัสดุเสริมแรง สมบัติที่ดีของวัสดุเนื้อหลัก คือ

1. ไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับวัสดุเสริมแรงในระหว่างการขึ้นรูปหรือระหว่างการเผาผนึก เพราะถ้าเกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้นจะทำให้สมบัติของวัสดุเนื้อหลักและวัสดุเสริมแรงเปลี่ยนไป เพราะฉะนั้นก่อนและหลังการขึ้นรูปหรือการเผาผนึก วัสดุเนื้อหลักกับวัสดุเสริมแรงควรจะมีรูปเหมือนกันยกเว้นบริเวณอันตรภาคที่อาจมีการเปลี่ยนแปลง
2. ไม่เปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพหรือรูปร่างของวัสดุเสริมแรง เช่น วัสดุเนื้อหลักต้องไม่ทำให้วัสดุเสริมแรงเกิดการแตกหรือหักได้ง่าย ควรจะมีความยืดหยุ่นพอให้วัสดุเสริมแรงเคลื่อนที่หรือขยับตัวได้บ้าง
3. ควรมีสถานะทางเคมีที่เสถียร (Chemically stable) ไม่เปลี่ยนแปลงสถานะหรือโครงสร้างได้ง่าย
4. สามารถที่จะห่อหุ้มวัสดุเสริมแรงได้ กล่าวคือ ยอมให้วัสดุเสริมแรงเข้าไปฝังตัวหรือกระจายตัวอยู่ได้โดยไม่หลุด

5. มีความต้านทานการเกิดความล้า (Fatigue) ความคืบ (Creep) และทนแรงกระแทก (impact) ได้ดี ถ้าวัสดุเนื้อหลักทนแรงกระแทกได้ไม่ดี จะเกิดรอยแตกและจะเคลื่อนไปชนวัสดุเสริมแรงที่ขวางอยู่ และถ้าหากวัสดุเสริมแรงมีความแข็งแรงกว่าแรงกระแทก ก็จะทำให้ไม่เกิดความเสียหายแก่วัสดุเสริมแรง

6. มีความเหนียวสูง (Toughness) คือ สามารถต้านทานรอยแตกร้าวของวัสดุ ในทางเซรามิกส์วัสดุเนื้อหลักส่วนใหญ่จะมีสมบัติที่เปราะ ยกเว้นเซรามิกส์ที่มีความเหนียว ได้แก่ เซอร์โคเนีย (ZrO_2)

7. ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำ (Hydration) ได้ง่าย เพราะจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในได้

8. สามารถเข้ากันได้ดีกับวัสดุเสริมแรง ทำให้เกิดพันธะที่แข็งแรง

9. ไม่เกิดการระเหยได้ง่าย (Volailize)

วัสดุเสริมแรง [18] คือ วัสดุที่มีปริมาณน้อยในวัสดุผสม มีสมบัติแตกต่างไปจากวัสดุเนื้อหลัก และสามารถทำให้วัสดุเนื้อหลักมีสมบัติที่ดีขึ้น ได้ โดยจะกระจายตัวหรือฝังตัวอยู่ในวัสดุเนื้อหลัก รวมทั้งการประกบแบบอัดซ้อนกับวัสดุเนื้อหลัก เป็นต้น

สมบัติที่ดีของวัสดุเสริมแรง [18]

1. เข้ากันได้ทางเคมีกับวัสดุเนื้อหลัก ทำให้เกิดพันธะที่แข็งแรง

2. เป็นตัวช่วยเสริมแรงสมบัติเชิงกลของวัสดุเนื้อหลัก ส่วนใหญ่จะมีค่าความแข็ง (Hardness) ความแข็งแกร่ง (Strong) และความแกร่ง (Stiff) มากกว่าวัสดุเนื้อหลัก

3. มีน้ำหนักเบา (Light weight) เมื่อนำมาใช้ในวัสดุผสมจะได้สมบัติเชิงกล ที่มีรูปแบบจำเพาะ (Specific properties)

4. ต้านทานต่อการกัดกร่อน (Corrosion)

5. มีความยืดหยุ่น (Flexibility) สูง

6. มีความเหนียว (Toughness) สูง

7. มีความแข็งแรง (Strength) สูง

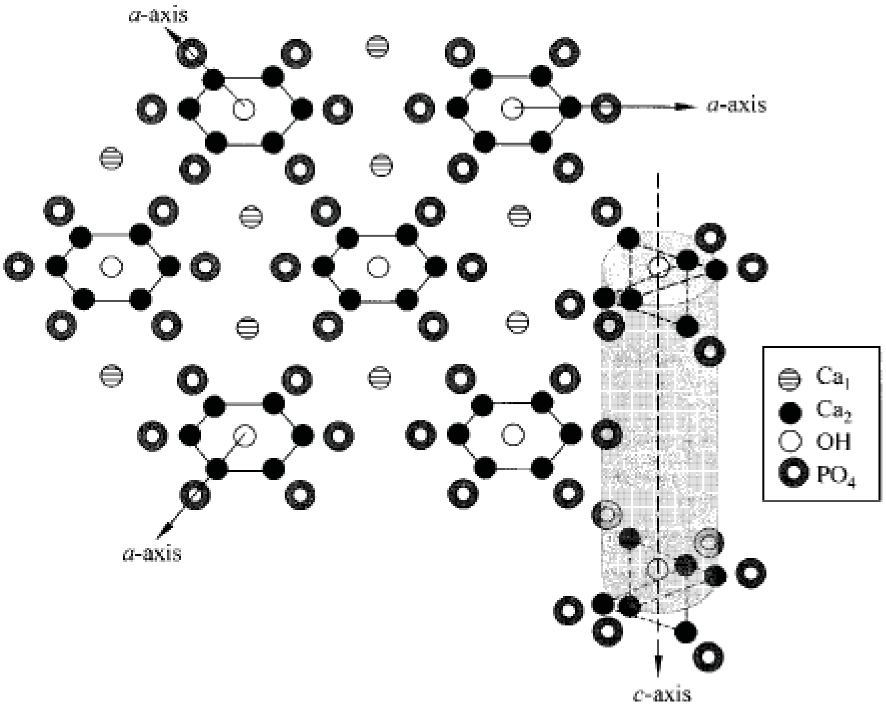
โดยทั่วไปรูปร่างและขนาด (Shape and Dimension) ของวัสดุเสริมแรงจะมีผลต่อสมบัติเชิงกลด้วย

2.2.5 ไฮดรอกซีแอพาไทต์

โครงสร้างและสมบัติทางเคมี [19]

ไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเซรามิกส์ชนิดหนึ่งที่มีการตอบสนองแบบว่องไวทางชีวภาพ มีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายกับกระดูกมนุษย์และเนื้อเยื่อแข็งชนิดอื่นของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย เป็นสื่อนำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์กระดูกเมื่อนำไปปลูกฝังในเนื้อกระดูก เป็นสารในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต

ไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์เป็นปริมาณสารสัมพันธ์ มีสูตรโมเลกุลเป็น $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ประกอบด้วย Ca^{2+} , PO_4^{3-} และ OH^- ในสัดส่วนต่อโมลของ Ca : P เท่ากับ 1.67 โครงสร้างแลตทิซของผลึกแอพาไทต์ มี Ca^{2+} บรรจุอยู่ภายในผลึกรูปเฮกซะโกนอลและมี OH^- ล้อมรอบอยู่ด้านข้าง การจัดเรียงตัวของอะตอมในผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ ดังภาพประกอบที่ 2.2



ภาพประกอบที่ 2.2 การจัดเรียงอะตอมของ Calcium HA, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

ความแตกต่างของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต สามารถสรุปองค์ประกอบทางเคมีและสัดส่วนโดยโมลของ Ca/P ได้ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แคลเซียมฟอสเฟตรูปแบบต่างๆ [20-21]

ชื่อ	สูตรทางเคมี	สัญลักษณ์	Phase's Name	Ca/P
Tetracalcium phosphate	$Ca_4O(PO_4)_2$	TetCP		2.0
Hydroxyapatite	$Ca_{10}O(PO_4)_6(OH)_2$	HA		1.67
α-Tricalcium phosphate	α-$Ca_3(PO4)_2$	α-TCP		1.50
β-Tricalcium phosphate	β-$Ca_3(PO4)_2$	β-TCP		1.50
Octacalcium phosphate	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	OCP		1.33
Dicalcium phosphate dihydrate	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	DCPD	Brushite	1.0
Dicalcium phosphate	$CaHPO_4$	DCPA	Monetite	1.0
Calcium pyrophosphate	$Ca_2P_2O_7$	CPP		1.0
Calcium pyrophosphate dihydrate	$Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	CPPD		1.0
Heptacalcium phosphate	$Ca_7(P_5O_{16})_2$	HCP		0.7
Tetracalcium dihydrogen phosphate	$Ca_4H_2P_6O_{20}$	TDHP		0.67
Monocalcium phosphate monohydrate	$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	MCPM		0.5
Calcium metaphosphate	$Ca(PO_3)_2$	CMP		0.5

การถูกแทนที่ของหมู่แอพาไทต์ [19]

สมบัติทางชีววิทยาของไฮดรอกซีแอพาไทต์ในร่างกายสิ่งมีชีวิตต่างจากไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ เนื่องจากมีโอกาสเกิดการแลกเปลี่ยนไอออน ทำให้เมื่อนำไฮดรอกซีแอพาไทต์มาใช้ในร่างกาย จะเกิดไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีแคลเซียมไม่เพียงพอในโครงสร้าง เมื่อดูจากสัดส่วนโมล Ca/P พบว่ามีค่าต่ำกว่า 1.67 ของไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ และปกติคาร์บอเนตไอออนจะเข้าไปแทนที่ในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์

ไอออน เช่น Ma^{2+}, Na^+, K^+, Sr^{2+} หรือ Ba^{2+} สามารถเข้าไปแทนที่ Ca^{2+} และ CO_3^{2-} H_2PO^{4-}, HPO_4^{2-} และ SO_4^{2-} สามารถแทนที่ PO_4^{3-} ส่วน F^-, Cl^- และ CO_3^{2-} สามารถเข้าไปแทนที่ OH^- ดังนั้นสูตรโมเลกุลที่เหมาะสมของไฮดรอกซีแอพาไทต์ทางชีววิทยา คือ $(Ca,M)_{10}(PO_4, Y)_6(OH,X)_2$ เมื่อ

M แทนไอออนบวก เช่น Ma^{2+}, Na^{+}, K^{+}, Sr^{2+}, Ba^{2+} เป็นต้น
Y แทนไอออนลบ เช่น CO_3^{2-}, H_2PO^{4-}, HPO_4^{2-}, SO_4^{2-} เป็นต้น
X แทนไอออนลบ เช่น F^{-}, Cl^{-}, CO_3^{2-} เป็นต้น

ผลของอุณหภูมิที่มีต่อไฮดรอกซีแอพาไทต์ [20]

เพื่อที่จะคำนวณผลของอุณหภูมิที่มีต่อไฮดรอกซีแอพาไทต์ จึงมีการศึกษาโดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น Differential Thermal Analysis (DTA), Thermo-Gravimetric Analysis (TGA), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) และ X-ray Diffraction (XRD) ซึ่งยากที่จะทำนายผลของอุณหภูมิที่มีต่อปฏิกิริยา dehydroxylation และ decomposition ที่เกิดขึ้น (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 ผลความร้อนที่มีต่อการเปลี่ยนเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์

อุณหภูมิ	ปฏิกิริยา
25-600°C	น้ำเกิดการระเหย
600-800°C	Decarbonation
800-900°C	Dehydroxylation of HA forming partially dehydroxylated (OHA) or completely dehydroxylated oxyhydroxyapatite (OA)
1050-1400°C	HA decomposes to form β-TCP and TTCP
< 1120°C	β -TCP is stable
1120-1470°C	β-TCP is converted to α-TCP
1550°C	Melting temperature of HA
1630°C	Melting temperature of TTCP, leaving behind CaO
1730°C	Melting of TCP

กระบวนการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์แบบเปียก [19]

เป็นกระบวนการสังเคราะห์ผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ ได้ผงที่มีพื้นผิวและความละเอียดสูง ต้นทุนการสังเคราะห์ต่ำ ง่ายต่อการทำเป็นสารละลายอิ่มตัว แต่กระบวนการนี้ทำให้ได้ผงไฮดรอกซีพาไทต์ไม่เป็นไปตามปริมาณสารสัมพันธ์ เนื่องจากมีการปนเปื้อนของไอออนต่างๆ จากการดึงดูดไอออนเหล่านั้น เข้ามาหาตัวเองได้มาก ความเสถียรตามธรรมชาติของแคลเซียมฟอสเฟต และปัจจัยทางจลนศาสตร์เชิงความร้อน ทั้งหมดนี้จะแสดงผลออกมาตามสภาวะของการทดลอง เช่น เมื่อสังเคราะห์ผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์จากสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวด ผลึกที่ได้เป็นไตรแคลเซียมฟอสเฟต และออกตะแคลเซียมฟอสเฟต แม้ปฏิกิริยาจะดำเนินไปเป็นเวลานาน แต่ปริมาณเฟสเล็กน้อยอื่นที่เกิดขึ้นยังคงพบอยู่ในผลผลิตสุดท้าย

กระบวนการสังเคราะห์แบบเปียกสามารถผลิตผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์และผงแคลเซียมฟอสเฟตที่ไม่มีรูปผลึกได้ทั้ง 2 ชนิด โดยปฏิกิริยาแบบหนึ่งเป็นการปรับให้สารละลายเป็นกลางด้วยกรดและด่าง เป็นการพัฒนากระบวนการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์ในช่วงแรก ดังสมการ

$$10Ca(OH)_2 + 6H_3PO_4 \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 18H_2O$$

ปฏิกิริยาอื่นๆ ที่เกิดจากเกลือของแคลเซียมและฟอสเฟต ได้แก่

$$10CaCl_2 + 6Na_2HPO_4 + 2H_2O \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 12NaCl + 8HCl$$

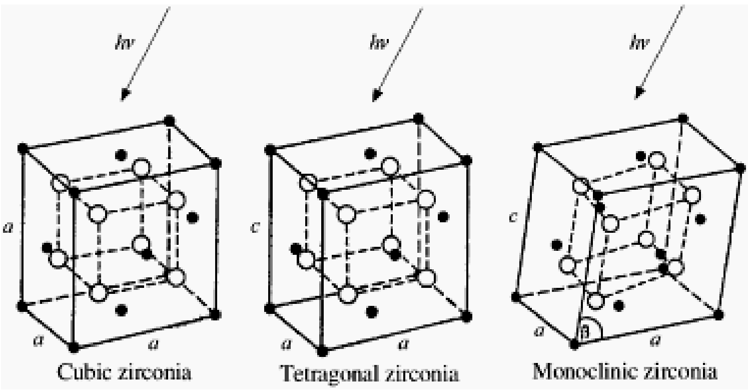
$$10Ca(NO_3)_2 + 6(NH_4)_2HPO_4 + 2H_2O \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 12NH_4NO_3 + 8HNO_3$$

$$6CaHPO_4 + 4Ca(OH)_2 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 6H_2O$$

$$3Ca_3(PO_4)_2 + Ca(OH)_2 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + H_2O$$

2.2.6 เซอร์โคเนีย

เซอร์โคเนียบริสุทธิ์เป็นผงสีขาว มีโครงสร้างผลึกสี่แบบ คือ โมโนคลินิก (Monoclinic) เตตระโกนอล (Tetragonal) ออโธรอมบิก (Orthorhombic) และคิวบิก (Cubic) ดังภาพประกอบ 2.3



Cubic zirconia Tetragonal zirconia Monoclinic zirconia

ภาพประกอบที่ 2.3 โครงสร้างผลึกของเซอร์โคเนีย คิวบิก เตตระโกนอล และ โมโนคลินิก ตามลำดับ

โครงสร้างผลึกแบบโมโนคลินิก จะเสถียรตั้งแต่อุณหภูมิห้องถึง 1100°C โดยประมาณ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นเตตระโกนอล การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกนี้ขึ้นกับอุณหภูมิไม่ขึ้นกับเวลา การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากเตตระโกนอลไปเป็นคิวบิก จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิประมาณ 2370°C และจะหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 2710°C การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างนี้จะเป็นแบบผันกลับได้ (Reversible transformation) แสดงความสัมพันธ์ได้ดังนี้

$$\text{Monoclinic} \xleftrightarrow{1170\ ^{\circ}\text{C}} \text{Tetragonal} \xleftrightarrow{2370\ ^{\circ}\text{C}} \text{Cubic} \xleftrightarrow{2710\ ^{\circ}\text{C}} \text{Melt}$$

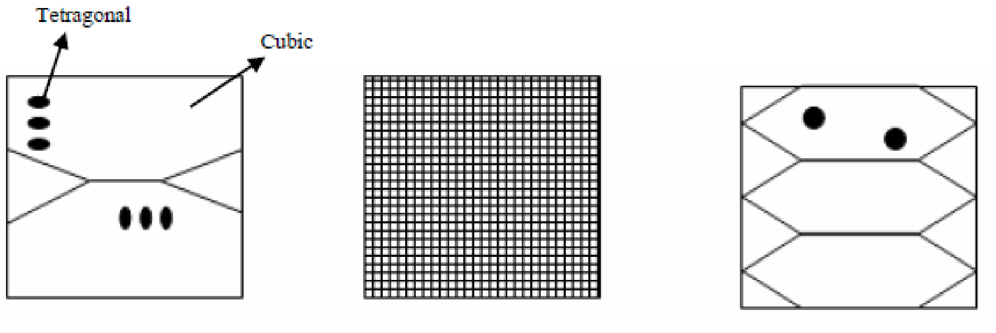
โครงสร้างผลึกแบบออโธรอมบิก พบในสภาวะที่มีความดันสูง เป็นสภาวะกึ่งเสถียร (Metastable) และสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกไปเป็นโมโนคลินิก ที่อุณหภูมิประมาณ 300°C ดังนั้นโครงสร้างผลึกออโธรอมบิก จึงเป็นเสมือนผลึกรูปที่สองของเตตระโกนอล

ในธรรมชาติเซอร์โคเนีย จะประกอบด้วย HfO_2 ~ 2 % เรียกว่า “Baddeleyite” เซอร์โคเนียที่มีโครงสร้างเป็นโมโนคลินิกจะมีความแข็ง (Hardness) สูงแต่จะเปราะ มีการหดตัวในแต่ละแกนไม่เท่ากัน [22]

รูปแบบเสถียรรูปของเซอร์โคเนีย [23]

เซอร์โคเนียไม่สามารถนำมาใช้งานได้ตามลำพังที่อุณหภูมิห้องจำเป็นที่จะต้องเติมสารสร้างความเสถียรบางตัวเข้าไป โดยสารที่นิยมใช้โดยทั่วไปได้แก่ แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) อิตเทรียมออกไซด์ (Y_2O_3) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) โดยสารดังกล่าวนี้จะทำให้เซอร์โคเนียสามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิห้องโดยจะไปทำให้โครงสร้างของเซอร์โคเนียเสถียรในรูปเตตระโกนอลหรือรูปลูกบาศก์ การเติมสารสร้างความเสถียรต่างชนิดและปริมาณที่ต่างกัน มีผลทำให้ได้โครงสร้างจุลภาคที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะความ แตกต่างของโครงสร้างจุลภาคได้เป็น 3 ลักษณะ (ภาพประกอบที่ 2.4) คือ

1. Partially stabilised zirconia
2. Tetragonal zirconia polycrytals
3. Partially stabilised zirconia in a non zirconia matrix



Partially Stabilised Zirconia

Tetragonal Zirconia Polycrystal

Partially Stabilised Zirconia in non Zirconia matrix

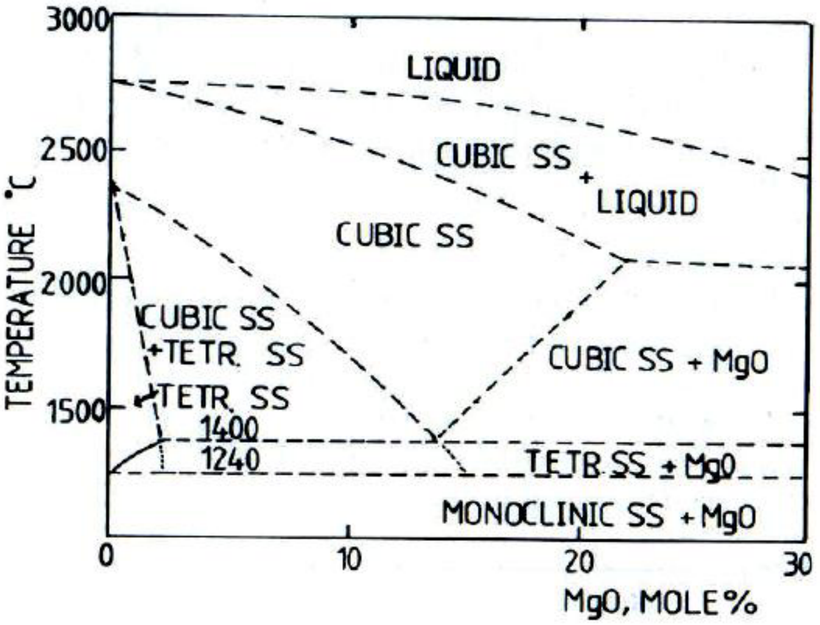
ภาพประกอบที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเซอร์โคเนีย ทั้ง 3 ระบบ [23]

จากลักษณะโครงสร้างจุลภาคที่ แตกต่างกัน จึงเกิดชื่อเรียกและสัญลักษณ์ของเซอร์โคเนียแตกต่างกันออกไปเช่น

TZP	Tetragonal zirconia polycrytals
PSZ	Partially stabilised zirconia
FSZ	Fully stabilised zirconia
TTC	Transformation toughened ceramics
ZTA	Zirconia toughened alumina
TTZ	Transformation toughened zirconia

Partially stabilised zirconia

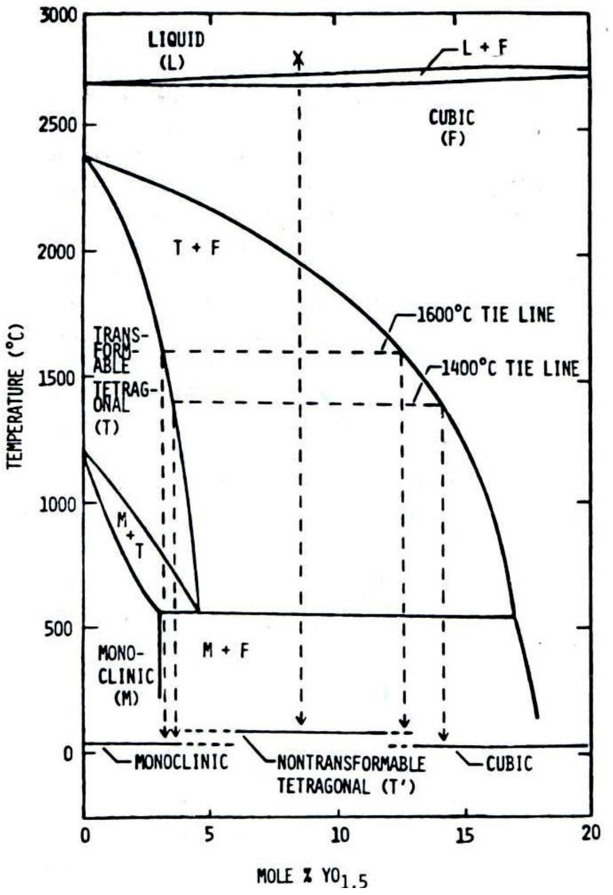
คือ เซอร์โคเนียที่บางส่วน มีความเสถียร (Stable) ในวัฏภาคเตตระโกนอล และกระจายอยู่ในวัฏภาคลูกบาศก์ การทำให้เกิดโครงสร้างลักษณะนี้โดยทั่วไปจะใช้ MgO, CaO เป็นสารเพิ่มความเสถียร เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิวัฏภาคในภาพประกอบที่ 2.5 ในระบบของ ZrO_2 และ MgO เมื่อปริมาณของ MgO อยู่ในช่วง 6 – 8 %mol จะพบว่าที่อุณหภูมิประมาณ 2000°C – 2450°C จะเกิดสารละลายของแข็ง (Solid Solution) ในวัฏภาคลูกบาศก์ หากทำให้สารละลายของแข็งนี้เย็นตัวอย่างรวดเร็ว (Quench) มาอยู่ในบริเวณที่เกิดสารละลายของแข็ง จะเกิดนิวเคลียสของสารละลายของแข็งวัฏภาคเตตระโกนอลที่สามารถควบคุมขนาดของนิวเคลียสได้ โดยควบคุมอัตราการลดของอุณหภูมิ (Cooling Rate) จากอุณหภูมิดังกล่าวมาที่อุณหภูมิห้อง จากกระบวนการ นี้จะได้ PSZ ซึ่งผลึกของ t-ZrO2 สามารถเปลี่ยนรูปเป็นโมโน คลินิกเซอร์โคเนีย (m-ZrO2) ได้เมื่อมีแรงจากภายนอกมากระทำ ซึ่งเป็นกระบวนการเกิดความเหนียวที่สำคัญกระบวนการหนึ่ง



ภาพประกอบที่ 2.5 แผนภูมิวัฏภาคของ MgO ใน ZrO_2

Tetragonal Zirconia Polycrystals (TZP)

คือ เซอร์โคเนียที่เสถียรอยู่ในวัฏภาคเตตระโกนอลทั้งหมด เกิดจากการใช้ Y_2O_3 เป็นสารสร้างความเสถียร เมื่อพิจารณาแผนภูมิวัฏภาคในระบบ ZrO_2 – Y_2O_3 (ภาพประกอบที่ 2.6) บริเวณ 0 - 5%mole ของ Y_2O_3 จะพบว่าที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 1300°C ถึง 1650°C เซอร์โคเนียจะอยู่ในวัฏภาคเตตระโกนอลเกือบ 100% ซึ่งหากทำให้เซอร์โคเนียที่อยู่ในสภาพ นี้เย็นตัวอย่างรวดเร็วมาที่อุณหภูมิห้อง จะได้เซอร์โคเนียที่อยู่ในรูปของ TZP



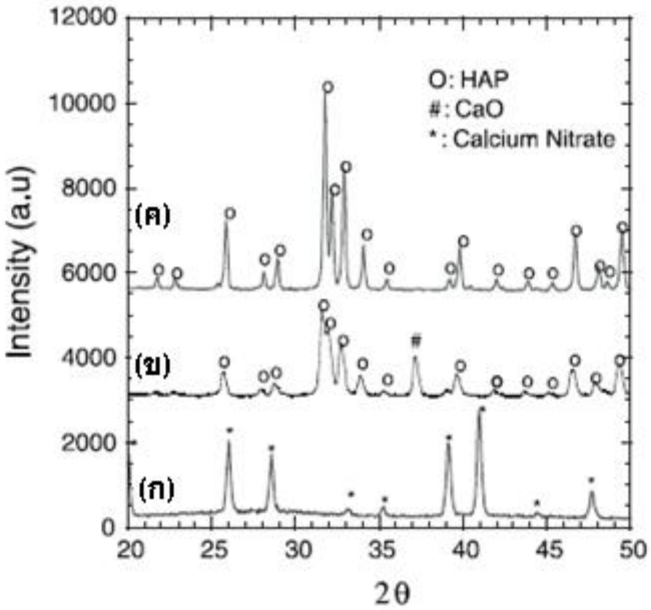
ภาพประกอบที่ 2.6 แผนภูมิวัฏภาคของ Y_2O_3 ใน ZrO_2

Partially stabilised zirconia in a non zirconia matrix

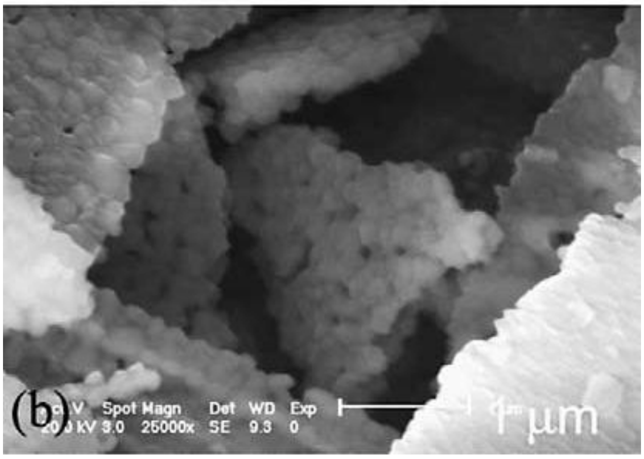
คือ เซอร์โคเนียที่มีความละเอียดระดับไมครอนกระจายอยู่ในเนื้อหลัก (Matrix) อื่นที่ไม่ใช่เซอร์โคเนีย เช่น อะลูมินา หรือ มูลไลท์ หากกระจายอยู่ในเนื้อหลักที่เป็นอะลูมินาโดยทั่วไปจะเรียกว่า Zirconia toughened alumina (ZTA) หรือหากเซอร์โคเนียกระจายอยู่ในเนื้อหลักซึ่งเป็นมูลไลท์ก็จะเรียกว่า Zirconia toughened mullite (ZTM)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kim และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์ผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีโครงสร้างขนาดนาโนด้วยวิธีโซล -เจล จาก $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$ และ P_2O_5 ในสัดส่วนโดยโมล 10 : 3 โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ปริมาตรต่างๆ กันเป็นตัวทำละลาย ลักษณะของเจลที่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นความโปร่งใสและความโปร่งแสงของสารละลายเริ่มต้น การทดสอบด้วยเทคนิค FTIR ร่วมกับ XRD เพื่อศึกษาโครงสร้างอสัณฐานของไฮดรอกซีแอพาไทต์ในเจลที่ผ่านการอบแห้ง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมงในอากาศ พบว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เกิดขึ้นมีเพียงเฟสเดียว (ภาพประกอบที่ 2.7) จากภาพถ่าย SEM อนุภาคไฮดรอกซีแอพาไทต์ดังกล่าวมีขนาด 50 – 150 นาโนเมตร (ภาพประกอบที่ 2.8) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์โดยวิธีโซล-เจลที่อุณหภูมิต่ำได้ วัสดุที่ได้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เคลือบพื้นผิวของวัสดุต่างๆ

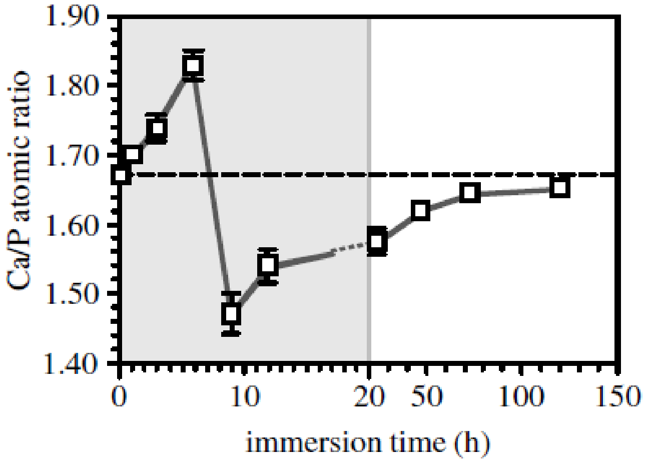


ภาพประกอบที่ 2.7 แพทเทิร์น X-ray diffraction ของสารตั้งต้นที่ผ่านการอบแห้ง (ก) และผงที่ได้ภายหลังจากการให้ความร้อนในอากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 600°C (ข) และ 900°C (ค)



ภาพประกอบที่ 2.8 ภาพถ่าย SEM ของผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผ่านการให้ความร้อนอุณหภูมิ 900°C ในอากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

Kim และคณะ [25] ได้ศึกษากลไกการสะสมแร่ธาตุทางชีวภาพ (biomineralization) ของแอพาไทต์ที่มีลักษณะคล้ายกระดูก (bone-like apatite) เปรียบเทียบกับไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยประเมินผลในสารละลายที่จำลองของเหลวในร่างกายมนุษย์ (SBF) ทำการตรวจสอบพื้นผิวของวัสดุตามระยะเวลาที่แช่ในสารละลาย SBF ด้วยเทคนิค TEM และ EDX พบว่าอัตราส่วนของ Ca/P (Ca/P atomic ratio) เริ่มต้นคำนวณได้เท่ากับ 1.67 และจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเวลาที่แช่ในสารละลาย SBF ในช่วงแรกของการแช่ พื้นผิวจะมีสัดส่วนของ Ca/P เพิ่มขึ้นเป็น 1.83 เนื่องจากการฟอร์มตัวของเฟสอะมอร์ฟัส (amorphous) ของ Ca-rich calcium phosphate แต่สัดส่วน Ca/P จะลดลงเป็น 1.47 ในการแช่ช่วงที่สอง เนื่องจากการฟอร์มตัวเฟสอะมอร์ฟัสของ Ca-poor calcium phosphate ส่วนในช่วงที่สามของการแช่ พื้นผิวจะมีสัดส่วน Ca/P เพิ่มขึ้นอีกครั้งเป็น 1.65 ซึ่งเป็นการเกิดผลึกนาโนแอพาไทต์ที่มีลักษณะคล้ายกับที่พบในกระดูก (ภาพประกอบที่ 2.9)



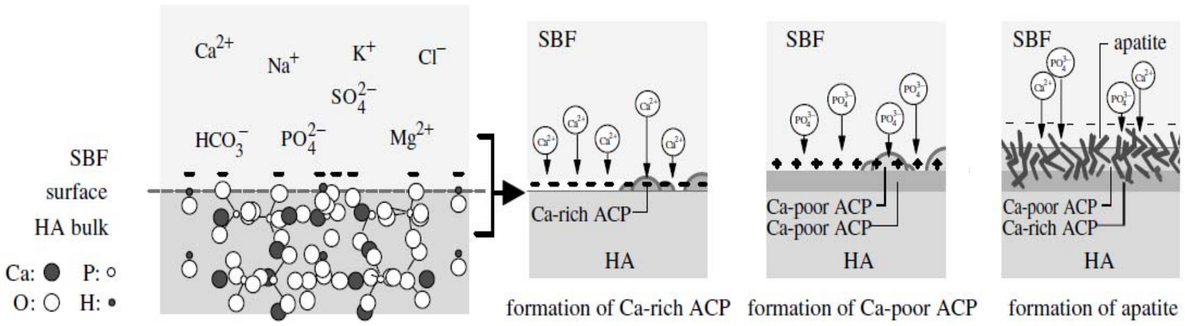
ภาพประกอบที่ 2.9 อัตราส่วนของอะตอม Ca/P บนพื้นผิวของไฮดรอกซีแอพาไทต์ตามเวลาที่แช่ในสารละลาย SBF

การฟอร์มตัวของแอพาไทต์บนพื้นผิวภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังภาพประกอบที่ 2.10

ขั้นที่ 1. เกิดการฟอร์มตัวของ Ca-rich ACP บนไฮดรอกซีแอพาไทต์ จะเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาการแช่ประมาณ 0 – 6 ชั่วโมง เป็นผลมาจากการมีปฏิกิริยาต่อกันระหว่างพื้นผิวของไฮดรอกซีแอพาไทต์กับแคลเซียมไอออนในสารละลาย SBF

ขั้นที่ 2. เกิดการฟอร์มตัวของ Ca-poor ACP บนไฮดรอกกซีแอพาไทต์ในช่วงระยะเวลาการแช่ประมาณ 6 – 9 ชั่วโมง ในช่วงนี้พบว่า Ca-rich ACP บนพื้นผิวจะทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนในสารละลายและฟอร์มตัวเป็น Ca-poor ACP

ขั้นที่ 3. ในช่วงระยะเวลาการแช่ที่ 9 – 12 ชั่วโมง Ca-poor ACP บนไฮดรอกซีแอพาไทต์จะตกผลึกเป็นแอพาไทต์ที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบคล้ายกับแร่ธาตุที่พบในกระดูก หลังจากนั้นเมื่อระยะเวลาของการแช่เพิ่มขึ้นผลึกแอพาไทต์จะโตขึ้นซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของแคลเซียมและฟอสเฟตไอออนในสารละลาย SBF และตกตะกอนลงมา


SBF
surface
HA bulk
Ca: ● P: ○
O: ○ H: •
Ca^{2+}
Na^+
K^+
Cl^-
SO_4^{2-}
HCO_3^-
PO_4^{2-}
Mg^{2+}
SBF
Ca-rich ACP
HA
formation of Ca-rich ACP
SBF
Ca-poor ACP
Ca-poor ACP
HA
formation of Ca-poor ACP
SBF
apatite
Ca-poor ACP
Ca-rich ACP
HA
formation of apatite

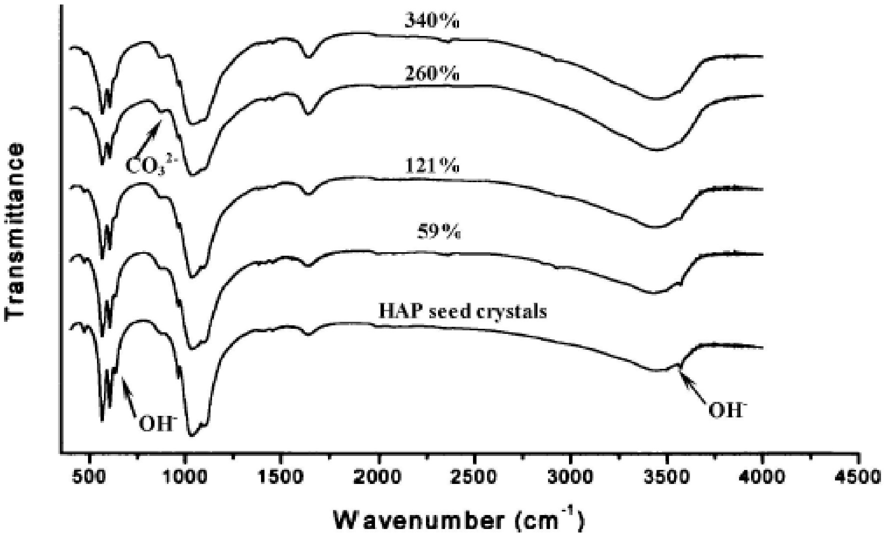
ภาพประกอบที่ 2.10 แผนภาพการกำเนิดประจุลบบนพื้นผิวของไฮดรอกซีแอพาไทต์ และกระบวนการฟอร์มตัวของแอพาไทต์ที่มีลักษณะคล้ายกับที่พบในกระดูกภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF

Bigi และคณะ [26] ได้ทำการเตรียมผลึกขนาดนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล ศึกษาอัตราส่วนของ Ca/P ที่มีผลต่อโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเจลไฮดรอกซีแอพาไทต์และผลึกนาโนที่เกิดขึ้น การเตรียมจะใช้ $Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$ และ $(NH_4)_2HPO_4$ ในตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์ในสัดส่วน 1 : 1 ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37°C โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารตั้งต้นตามอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ให้ได้ 1.00, 1.67 และ 2.55 นำตัวอย่างเจลที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 และ 80°C พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 300°C เพียงพอที่จะทำให้เกิดไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์จากเจลที่มีอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ที่ 1.00 และ 1.67 ซึ่งแตกต่างกับเจลที่อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ที่ 2.55 เนื่องจากเกิดองค์ประกอบของสารเฟสที่สองหมายความว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ได้ไม่บริสุทธิ์และความเป็นผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะเพิ่มขึ้น

Spanos และคณะ [27] ได้ทำการศึกษาการเติบโตของเม็ดผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์ในสารละลาย SBF ตรวจสอบการตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟตในสารละลายอุณหภูมิ 37 °C ศึกษาจลนศาสตร์ของการฟอร์มตัวของเฟสแร่ธาตุโดยใช้วิธี constant supersaturation ซึ่งใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษา biomineralization ใน Tris-Buffer เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากสารประกอบอินทรีย์ ทดสอบการเติบโตของผลึกในสารละลาย SBF ที่มีความเข้มข้นอิ่มตัวยวดยิ่งต่างๆ กัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟตเกิดขึ้นเฉพาะบนผิวที่ถูกกระตุ้นเท่านั้น การเติบโตของผลึกถูกควบคุมโดยกระบวนการแพร่ ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อขอบเขตการเติบโตของผลึกเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามหาก

ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์ลดลงในขณะที่ขอบเขตของการเติบโตเพิ่มขึ้นจะบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของเฟสแอพาไทต์ที่ไม่เป็นไปตาม stoichiometry ทำให้อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ในตะกอนลดลงเมื่อขอบเขตการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

สเปกตรัม FTIR ของตะกอนแสดงในภาพประกอบที่ 2.11 ขอบเขตการเติบโตที่ 875 cm^{-1} สอดคล้องกับหมู่ carbonate vibration ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณคาร์บอเนตในการฟอร์มตัวของแร่ธาตุ เป็นไปได้ว่าคาร์บอเนตเข้าไปแทนที่ฟอสเฟตไอออนผ่านกรดฟอสเฟตไอออน (HPO_4^{2-}) ระหว่างกระบวนการเติบโตของผลึก ซึ่งอาจเกิดกับการเจริญเติบโตของกระดูกในร่างกายเช่นกัน ส่วนพันธะที่สอดคล้องกับไอออนของ OH$^-$ ที่ 3570 และ 634 cm^{-1} มีค่าลดลง



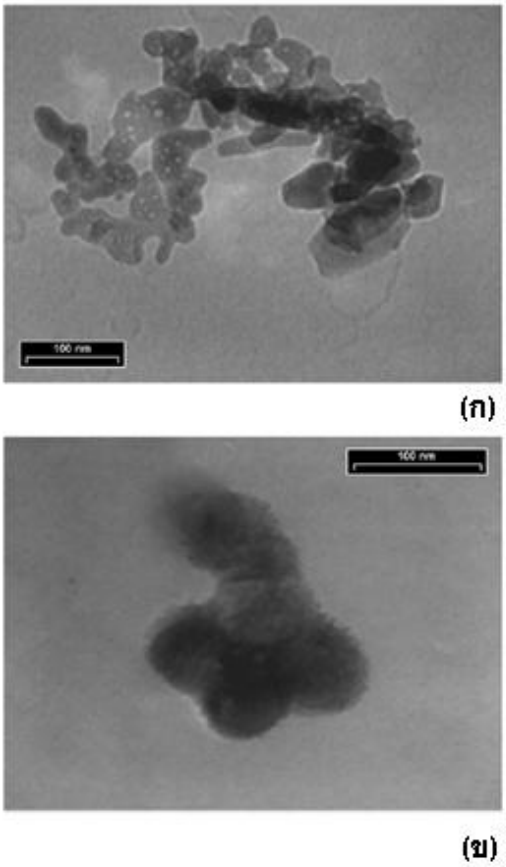
ภาพประกอบที่ 2.11 สเปกตรัม FTIR แสดงการเติบโตของเม็ดผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ในสารละลาย SBF

Rajabi-Zamani และคณะ [28] ได้ศึกษาการสังเคราะห์ผลึกนาโนของผงคาร์บอเนตไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีนอน อัลออกไซด์โซล-เจล โดยผสม $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ และ P_2O_5 ในเอทานอลเกิดเป็นโซล ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยากันนาน 48 ชั่วโมงแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะได้เจล นำเจลที่ได้ไปเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 300, 450, 600 และ 750°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำการทดสอบ XRD และ FTIR เพื่อดูลักษณะเฉพาะของผงที่ได้จากการเผาแคลไซน์ ส่วนระดับความเป็นผลึกและขนาดของผลึกคำนวณจากการทดสอบ XRD สังเกตผงผลึกโดยใช้ SEM และ TEM ผลึกที่สังเคราะห์ได้มีขนาดนาโนเมื่อผ่านการเผาแคลไซน์ที่

อุณหภูมิ 450°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสร้างพันธะคาร์บอเนตและการเพิ่มขึ้นของขนาดและระดับความเป็นผลึก

Hosseini และคณะ [29] ได้ศึกษาพารามิเตอร์ที่มีผลต่อกระบวนการโซล-เจลที่ส่งผลต่อ พัฒนาการของ เฟสในไฮดรอกซีแอพาไทต์ เตรียมไฮดรอกซีแอพาไทต์จาก $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$ และ $PO(OC_2H_5)_3$ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของแคลเซียมและฟอสฟอรัสตามลำดับ โซลของฟอสฟอรัสเตรียมในตัวกลางที่เป็นน้ำ จากนั้นกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการฟอร์มตัวของแอพาไทต์ พบว่าระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณ CaO ลดลง การเพิ่มอุณหภูมิของโซลให้สูงถึง 80°C มีผลดีต่อการทำให้เฟสที่ไม่บริสุทธิ์หายไปและเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเผาแคลไซน์มากกว่า 600°C มีผลทำให้เฟสของแคลเซียมฟอสเฟตที่ไม่บริสุทธิ์หายไปเช่นกัน เมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระหว่างการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยเทคนิค IR, XRD และ SEM พบว่าขนาดของผลึกจะเพิ่มขึ้นแต่ micro-strain จะลดลงเมื่ออุณหภูมิที่ใช้เผาแคลไซน์เพิ่มสูงขึ้น

Fathic และคณะ [30] ได้ประเมินสมบัติของผงไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจล อย่างง่าย โดยใช้แคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรต ($Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$) และฟอสฟอริคเพนตะออกไซด์ (P_2O_5) ในอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P เท่ากับ 1.67 ในตัวกลางที่เป็น เอทานอล ศึกษาองค์ประกอบในแต่ละเฟส ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของอนุภาคด้วยเทคนิค XRD, SEM และ TEM ตามลำดับ พบว่ามีโครงสร้างอสัณฐานและเฟสของผลึกเกิดขึ้นในเจลของสารตั้งต้นที่ผ่านการอบแห้ง ประกอบด้วยไฮดรอกซีแอพาไทต์เพียงอย่างเดียว เมื่อผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 600°C จะเกิดการจับตัวกันเป็นก้อนและเป็น ผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีขนาด 25 - 28 นาโนเมตร ส่วนผงที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 700°C จะมีขนาดอนุภาคมากกว่า 30 นาโนเมตร (ภาพประกอบที่ 2.12) นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้เผาทำให้ไฮดรอกซีแอพาไทต์สลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมออกไซด์ ดังนั้นในการเตรียมผลึกนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะสามารถปรับปรุงปฏิกิริยาที่ผิวสัมผัสและความเสถียรของผิวสัมผัสเมื่อปรับสภาวะการเตรียมให้เหมาะสม



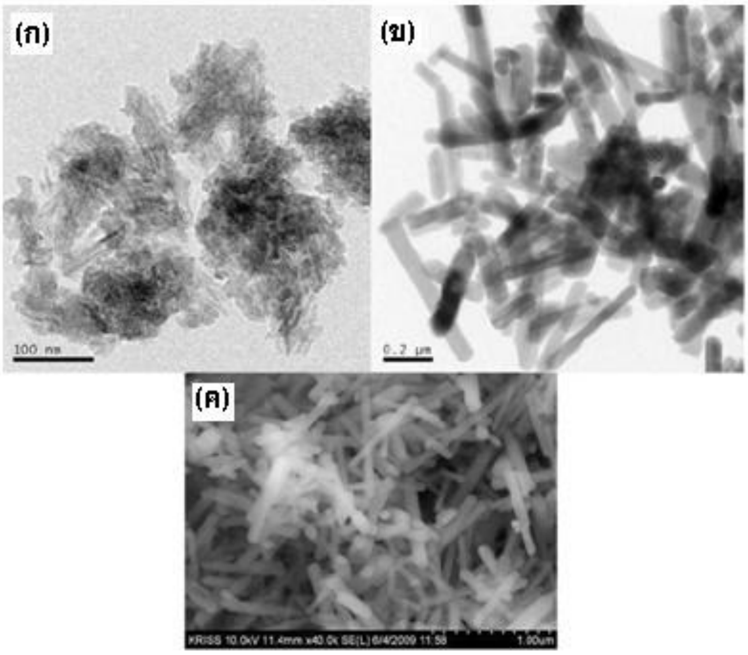
ภาพประกอบที่ 2.12 TEM ของอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 600°C (ก) และ 700°C (ข)

Velu และคณะ [31] ได้ศึกษาการเตรียมไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีขนาดนาโนด้วยวิธีโซลเจลโดยใช้กรดอัลจินิกเป็น Complexing Agent โดยใช้สารละลายแคลเซียมไนเตรตและสารละลายแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งของ Ca และ P ตามลำดับ ให้ความร้อนเพื่ออบเจลที่อุณหภูมิในช่วง 110 – 900°C ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากโซลเป็นเจลหรือจากเจลเป็นไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยเทคนิค XRD, FT-IR และ TGA พบว่าเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะเริ่มฟอร์มตัวในช่วง 110 – 200°C และจะเกิดเป็นเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สมบูรณ์ที่ 300°C จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค TEM พบว่าที่ 300°C มีอนุภาคที่มีรูปผลึกเป็นเฮกซะโกนอลขนาด 50 - 100 นาโนเมตรเกิดขึ้น วิธีนี้จึงสามารถใช้เตรียมไฮดรอกซีแอพาไทต์เพียงเฟสเดียวที่อุณหภูมิการเผาแคลไซน์ที่ต่ำ และนำไปเคลือบวัสดุอื่นเพื่อประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ได้

Lee และคณะ [32] ได้ศึกษาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์โดยวิธีโซล -เจล ซึ่งมีแคลเซียมไนเตรตและโพตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นสารตั้งต้นของแคลเซียมและฟอสฟอรัสตามลำดับ ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวกลางในการเตรียมโซล ใช้แอมโมเนียมปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 9 อบเจลให้แห้งที่อุณหภูมิ 60°C ปฏิกิริยาการเกิดไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นดังแสดง

$$10Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O + 6KOH \xrightarrow{20NH_4OH} Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 6KOH + 20NH_4NO_3 + 52H_2O$$

หลังจากการอบแห้งนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิระหว่าง 300 – 700°C ตรวจสอบองค์ประกอบในเฟสต่างๆ ด้วยเทคนิค XRD, EDX และ FT-IR พบว่าผงที่ผ่านการเผาแคลไซน์มีความบริสุทธิ์สูงและมีโครงร่างผลึกแบบเฮกซะโกนอล มีรูปร่างเป็นแท่งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 - 90 นาโนเมตรและยาว 400 – 500 นาโนเมตร (ภาพประกอบที่ 2.13) นอกจากนี้ความเป็นผลึกจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเผาแคลไซน์เพิ่มขึ้น



ภาพประกอบที่ 2.13 ภาพถ่าย TEM ของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่อบ 60°C (ก) หลังเผาแคลไซน์ที่ 700°C (ข) และภาพถ่าย SEM ของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เผาแคลไซน์ 700°C (ค)

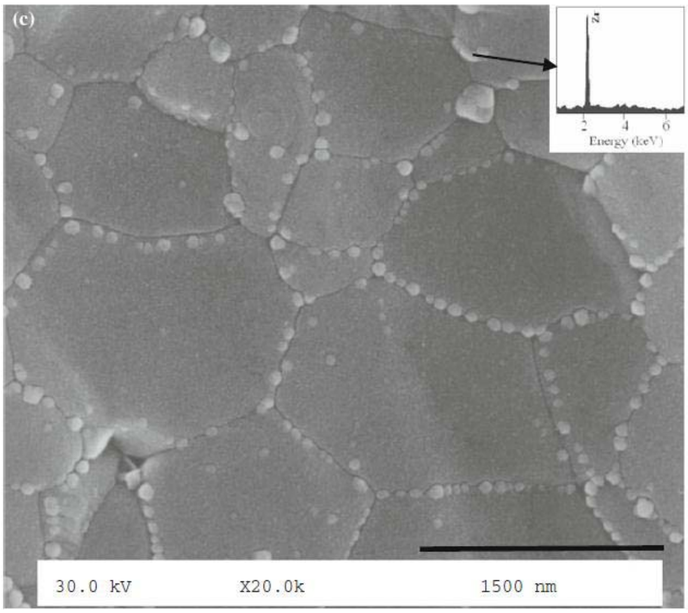
Salehi และคณะ [33] ได้ศึกษาการเตรียมวัสดุผสมไฮดรอกซีแอพาไทต์ / เซอร์โคเนียด้วยวิธีโซล-เจล โดยเตรียมจากไฮดรอกซีแอพาไทต์และ อิตเทรีย-สเตบิไลซ์เซอร์โคเนีย (YSZ) ที่มี Y_2O_3 อยู่ 0, 3, 5, และ 8 เปอร์เซ็นต์โดยโมล ทำการทดสอบวัสดุผสมที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค XRD, XRF, FTIR, SEM และ TEM พบว่าการสร้างเฟสผสมประสบความสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ โดยมีปริมาตรหน่วยเซลล์ของไฮดรอกซีแอพาไทต์เพิ่มขึ้นเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของไอออนแคลเซียมและเซอร์โคเนียม โครงสร้างที่เกิดขึ้นไม่มีความเป็นระเบียบมีขนาด 40 - 80 นาโนเมตร โดยอนุภาคของ อิตเทรียสเตบิไลซ์เซอร์โคเนีย เป็นทรงกลมมีขนาด 20 - 30 นาโนเมตร และเกิดการแยกตัวของไอออนของธาตุอีทเรียมที่บริเวณขอบเกรนของอนุภาค ZrO_2 ทำให้การเติบโตของเกรนในอนุภาค ZrO_2 เกิดได้ช้าลง วิธีการนี้จึงสามารถใช้สังเคราะห์ผงวัสดุผสมไฮดรอกซีแอพาไทต์และอิตเทรีย-สเตบิไลซ์ เซอร์โคเนียขนาดนาโน เพื่อใช้ปรับปรุงสมบัติวัสดุที่จะนำมาใช้ทางชีวการแพทย์ได้

Sanosh และคณะ [34] ได้ศึกษาการสังเคราะห์ผลึกนาโนของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (β-Tricalcium phosphate, (β-TCP)) บริสุทธิ์ด้วยวิธีโซล -เจล โดยใช้แคลเซียมไนเตรต (calcium nitrate) และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogenphosphate) เป็นสารตั้งต้น มีการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายเพื่อเตรียมโซลของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและปรับ pH ของปฏิกิริยาด้วยแอมโมเนีย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังแสดง

$$3Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O + 2KH_2PO_4 \xrightarrow{6NH_4OH} Ca_3(PO_4)_2 + 2KOH + 6NH_4NO_3 + 16H_2O$$

เมื่อได้เจลของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตแล้วจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40°C ทำการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 200 – 800°C จะได้เป็นผงเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต นำไปทดสอบลักษณะเฟสโดยเทคนิค XRD และ FTIR ทดสอบขนาดอนุภาคและโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาโดยเทคนิค TEM พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการเผาแคลไซน์เพิ่มขึ้นจะทำให้ความเป็นผลึกและขนาดผลึกของอนุภาคเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์การกระจายตัวของอนุภาคที่ผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 800°C พบว่าอนุภาคมีการกระจายของขนาดในช่วงแคบๆที่ 70 - 80 นาโนเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD คือ 83 ± 6 นาโนเมตร

Vasconcelos และคณะ [35] ได้ศึกษาการปรับปรุงโครงสร้างขนาดไมโครด้วยวิธีโซล-เจลเพื่อให้ได้ผลึกขนาดนาโนของวัสดุผสมไฮดรอกซีแอพาไทต์ /เซอร์โคเนีย เตรียมเจลของไฮดรอกซีแอพาไทต์โดยผสม $P(C_2H_5O)_3$ 0.1 โมล ในตัวกลางที่เป็นน้ำ/แอธานอล (1 : 1) หลังจากนั้นเติม $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ 0.167 โมล กวนผสมเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เติม NH_4OH ลงไป แล้วแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งไม่ต้องเติม ZrO_2 จึงได้ไฮดรอกซีแอพาไทต์เพียงเฟสเดียว อีกส่วนหนึ่งเติมผง ZrO_2 ลงไปจะได้เจลของ HA/YSZ จากนั้นนำไปเผาในบรรยากาศที่มีไอน้ำเพื่อควบคุมความร้อนในเตาเผาให้คงที่ ทำให้การเปลี่ยนแปลงจากโซลเป็นเจลเกิดได้ดีขึ้น การกระจายตัวของเซอร์โคเนียบริเวณขอบเกรนภายในเมทริกซ์ของไฮดรอกซีแอพาไทต์แสดงในภาพประกอบที่ 2.14 และตรวจพบว่ามีเฟสโมโนคลีนิกของ ZrO_2 เกิดขึ้นบนพื้นผิวที่เกิดการแตก ซึ่งช่วยให้สมบัติเชิงกลของวัสดุแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้การเปลี่ยนจากเฟสเตตระโกนอลเป็นเฟสโมโนคลีนิกยังช่วยทำให้ความเหนียวของวัสดุเพิ่มขึ้นด้วย



ภาพประกอบที่ 2.14 ภาพตัดขวางของวัสดุผสม HA/YSZ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 950°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและสารเคมี

1. แคลเซียมไนเตรต ($Ca(NO_3)_2 4H_2O$, Analytical grade) ยี่ห้อ Carlo Erba Reagents
2. ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$, Analytical grade) ยี่ห้อ Carlo Erba Reagents
3. เซอร์โคเนียมออกไซด์ (ZrO_2 , Analytical grade) ยี่ห้อ Riedel-de Haen
4. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH, Analytical grade) ยี่ห้อ J.T. Baker ความเข้มข้น 28.0 – 30.0 %
5. กรดไนตริก (HNO_3, Analytical grade) ยี่ห้อ March ความเข้มข้น 65%
6. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ยี่ห้อ Sigma-Aldrich
7. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl, Analytical grade) ยี่ห้อ Lab-scan
8. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส (Na_2HPO_4, Analytical grade) ยี่ห้อ Univar
9. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl, Analytical grade) ยี่ห้อ Seelze-Hannover
10. โพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4 , Analytical grade) ยี่ห้อ J.T. Baker
11. น้ำปราศจากไอออน (deionized water)
12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Analytical grade) ยี่ห้อ Fluka
13. กรดไฮโดรคลอริก (HCl, Analytical grade) ยี่ห้อ Lab-scan
14. ใยบวบ (luffa fiber)

3.2 อุปกรณ์

1. เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hot plate stirrer) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น MR Hei-Standard
2. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Sortorius รุ่น Docu-pH meter
3. เครื่องชั่งน้ำหนักรุ่น PG5002-S (Mettler Toledo , Switzerland)
4. Magnetic Bar
5. บีกเกอร์ขนาด 100 และ 1000 มิลลิลิตร
6. ขวดรูปชมพู่
7. กรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร
8. ขาตั้งและแคมป์
9. กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร
10. ขวดเก็บสารขนาด 1 ลิตร
11. ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร
12. บิวเรต
13. เทอร์โมมิเตอร์
14. หลอดหยด
15. กระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman
16. ชุดเครื่องกรองสุญญากาศ
17. ช้อนตักสาร
18. กระจกนาฬิกา
19. โกร่งบดยา
20. ครูซิเบิล (Crusible)
21. Forcept
22. ตู้อบ
23. ตู้ควัน
24. กรรไกร
25. เตาเผาซินเตอร์ บริษัทมีเจริญ เอ็นจิเนียร์ริ่ง จำกัด
26. ขวดน้ำกลั่น

3.3 เครื่องมือวิเคราะห์

1. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) JEOL รุ่น JSM-5800 LV
2. เครื่องเทอร์โมกราวิเมทริก (Thermogravimetric Analyzer, TGA) Perkin Elmer รุ่น TGA7
3. เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (X-Ray Diffractometer, XRD) Philips รุ่น X'Pert MPD
4. เครื่องวัดการคายรังสีเอ็กซ์ (X-Ray Fluorescence Spectrometer, XRF) Philips รุ่น PW2400
5. เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourrier Infrared Spectrophotometer, FT-IR) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Spectrum one
6. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) JEOL รุ่น JSM-5800 LV ติดตั้ง Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometer (EDX) ของ Oxford

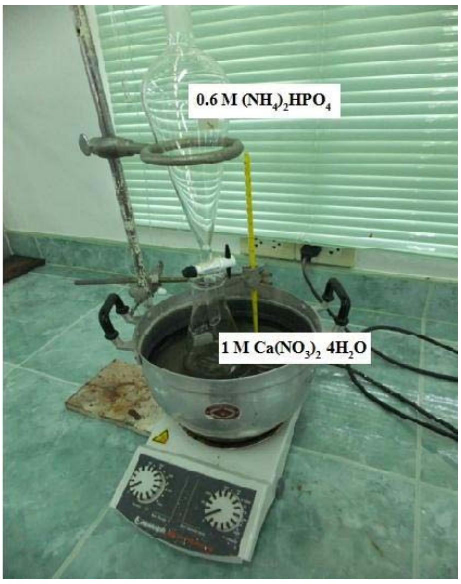
3.4 ขั้นตอนดำเนินการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้ ได้แบ่งกิจกรรมการทดลองออกเป็น 4 กิจกรรมหลักๆ คือ

กิจกรรมที่ 3.4.1 เตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล

ก. เตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยรีเอเจนต์ 2 ชนิดดังนี้

- เตรียมสารละลาย 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ในน้ำ
- เตรียมสารละลาย 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ ในน้ำ
- นำสารละลาย 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ และ 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ อย่างละ 100 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากัน โดยหยด 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ ลงในสารละลาย 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3.1 พร้อมทั้งกวนผสมที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 20 นาทีหลังจากนั้นทำการ กวนต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 3.1 การทำปฏิกิริยาระหว่าง 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ และ 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$

ข. หยด conc. HNO_3 ลงไปละลายตะกอนจนได้เป็นสารละลายใส

ค. หยด Ammonium hydroxide ลงไปเพื่อให้เกิดการตกตะกอนสีขาวขุ่น พร้อมทั้งปรับ pH ของสารละลายให้ได้ pH เท่ากับ 11

ง. นำตะกอนที่ได้ไป กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำ DI ผ่านเครื่องกรองสุญญากาศหลายๆ ครั้ง

จ. อบตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 65°C เมื่อตะกอนแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยาซึ่งจะได้เป็นผงละเอียดสีขาว

ฉ. นำผงตะกอนไป เผาแคลไซน์ในบรรยากาศที่ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ในเตาเผาดังแสดงในภาพประกอบที่ 3.2 ซึ่งจะได้เป็นผงของอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์

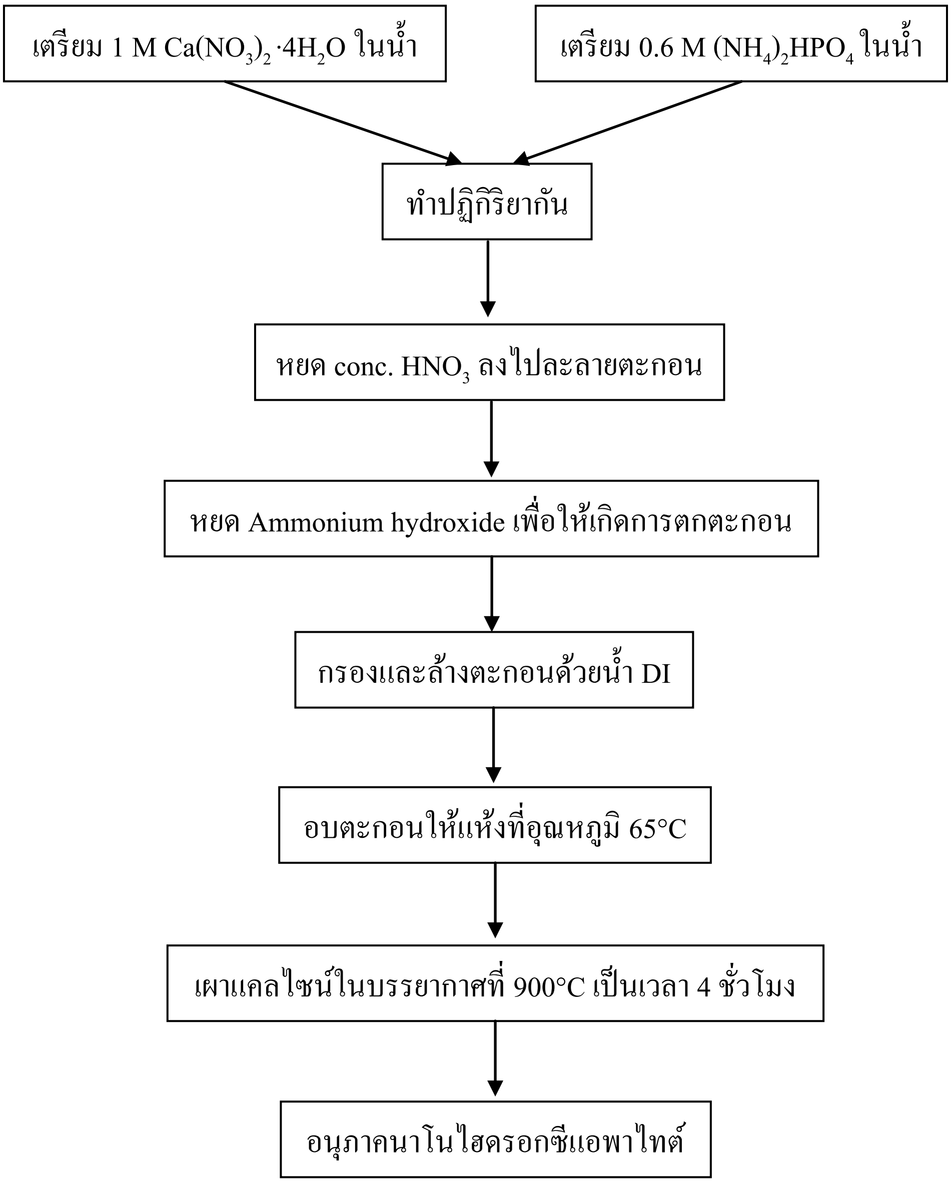
ภาพประกอบที่ 3.2 เตาเผาที่ใช้ในการเผาแคลไซน์ที่ 900°C

ช. นำผงที่ได้ไปทดสอบเบื้องต้น โดยดูขนาดของอนุภาค ด้วย SEM และวิเคราะห์ ธาตุองค์ประกอบในสารที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค XRD และ EDX

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์ ดังแสดง [36]

$$10Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O + 6(NH_4)_2HPO_4 + HNO_3 + 9NH_4OH \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 21NH_4NO_3 + 47H_2O$$

จะพบว่าเมื่อนำสารละลาย 1 M $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$ และ 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ อย่างละ 100 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากันจะได้ 0.1 โมลของ $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ หรือเท่ากับ 10.0462 กรัม


เตรียม 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ในน้ำ
เตรียม 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ ในน้ำ
ทำปฏิกิริยากัน
หยด conc. HNO_3 ลงไปละลายตะกอน
หยด Ammonium hydroxide เพื่อให้เกิดการตกตะกอน
กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำ DI
อบตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 65°C
เผาแคลไซน์ในบรรยากาศที่ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
อนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์

ภาพประกอบที่ 3.3 แผนผังการเตรียมอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล

กิจกรรมที่ 3.4.2 เตรียมสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์กับเซอร์โคเนียมไดออกไซด์และการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์

ก. นำอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ผสมเซอร์โคเนีย มไดออกไซด์ตามอัตราส่วนโดยโมล ดังแสดงในตาราง 3.1

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนโดยโมลของไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์

สูตร	อัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA	อัตราส่วนโดยโมล HA/ZrO_2 (HA/Zr)
HA/Zr 100	0.01	100
HA/Zr 10	0.1	10
HA/Zr 2	0.5	2

ข. การเตรียมใยบวบ โดยนำใยบวบแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วอบให้แห้งในตู้อบ ตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1.5 x 1.5 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3.4

ภาพประกอบที่ 3.4 ใยบวบที่ผ่านการตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสตามที่ต้องการ

ค. การเตรียมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 1% (1% PVA)

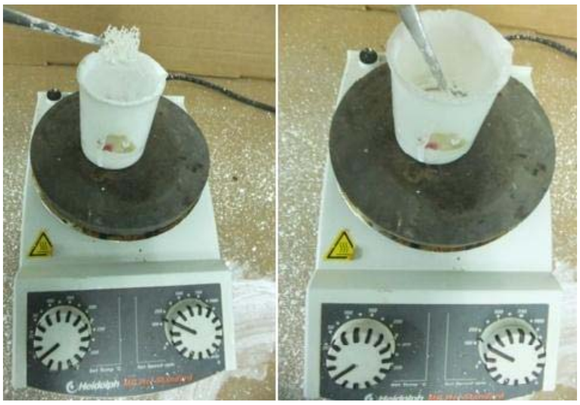
ชั่งพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 1 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนให้ได้ประมาณ 80 มิลลิลิตรกวนผสมบนเครื่องให้ความร้อน ด้วย magnetic stirrer จนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ละลายจนหมดและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ง. การเตรียมโครงเลี้ยงด้วยวิธีจุ่มเคลือบ (Dipping Method)

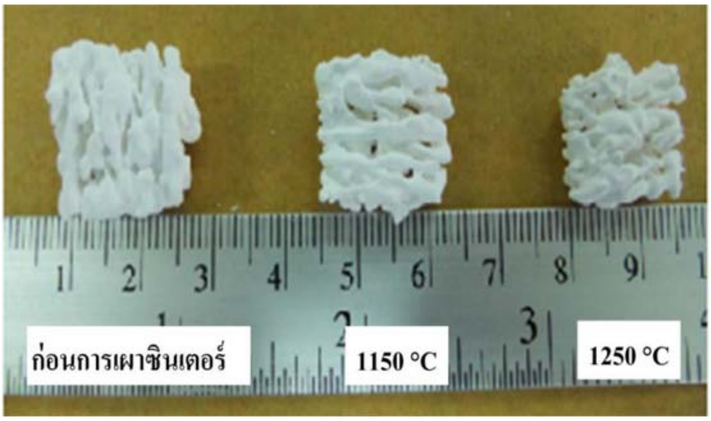
นำไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมออกไซด์ (HA+ZrO_2) ที่ผสมกันไว้แล้ว กระจายในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในบีกเกอร์ อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง เท่ากับ 5 ต่อ 1 กวนผสมบน magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที จะได้สารแขวนลอยเซรามิกส์

จ. นำใยบวบที่เตรียมไว้มาจุ่มลงไปในสารแขวนลอยเซรามิกส์ ตั้งทิ้งไว้ 10 วินาที ขณะจุ่มใยบวบจะมีการกวนสารผสมตลอดเวลา นำใยบวบที่ผ่านการจุ่ม ครั้งที่ 1 มาเคาะเพื่อไล่สารแขวนลอยเซรามิกส์ที่อุดตันออกและเป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผม (ภาพประกอบที่ 3.5) ทำการจุ่มเคลือบซ้ำจนได้ความหนาตามที่ต้องการ (ภาพประกอบที่ 3.6)

ฉ. นำโครงเลี้ยงเซลล์ไปเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 3.5 การเตรียมโครงเลี้ยงด้วยวิธีจุ่มเคลือบ ขณะจุ่มใยบวบลงไปในสารแขวนลอยเซรามิกส์



ภาพประกอบที่ 3.6 โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการขึ้นรูปด้วยวิธีจุ่มเคลือบ ก่อนและหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C และ 1250°C

กิจกรรมที่ 3.3.3 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์

ก. เตรียมสารละลาย PBS ซึ่งมีส่วนประกอบในสารละลายปริมาตร 1 ลิตร ตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย PBS ปริมาตร 1 ลิตร [37]

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	80
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส (Na_2HPO_4)	14.4
โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	2
โพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4)	2.4

โดยนำสารประกอบทั้ง 4 ชนิด ละลายน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.4 และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

ข. นำโครงเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากการเผาซินเตอร์แช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน แล้วนำไปศึกษาสมบัติทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเทคนิค SEM, XRD และ FTIR

กิจกรรมที่ 3.4.4 การศึกษาสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกที่เตรียมได้

ก. วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยเครื่อง SEM

วิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน

ข. วิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักเมื่อได้รับความร้อนโดยเทคนิค Thermogravimetric Analysis (TGA)

ค. วิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์กับโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเครื่อง XRD

วิเคราะห์หาสารประกอบในโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

ง. วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชั่นของสารที่ใช้เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยด้วยเครื่อง FTIR

วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชั่นของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

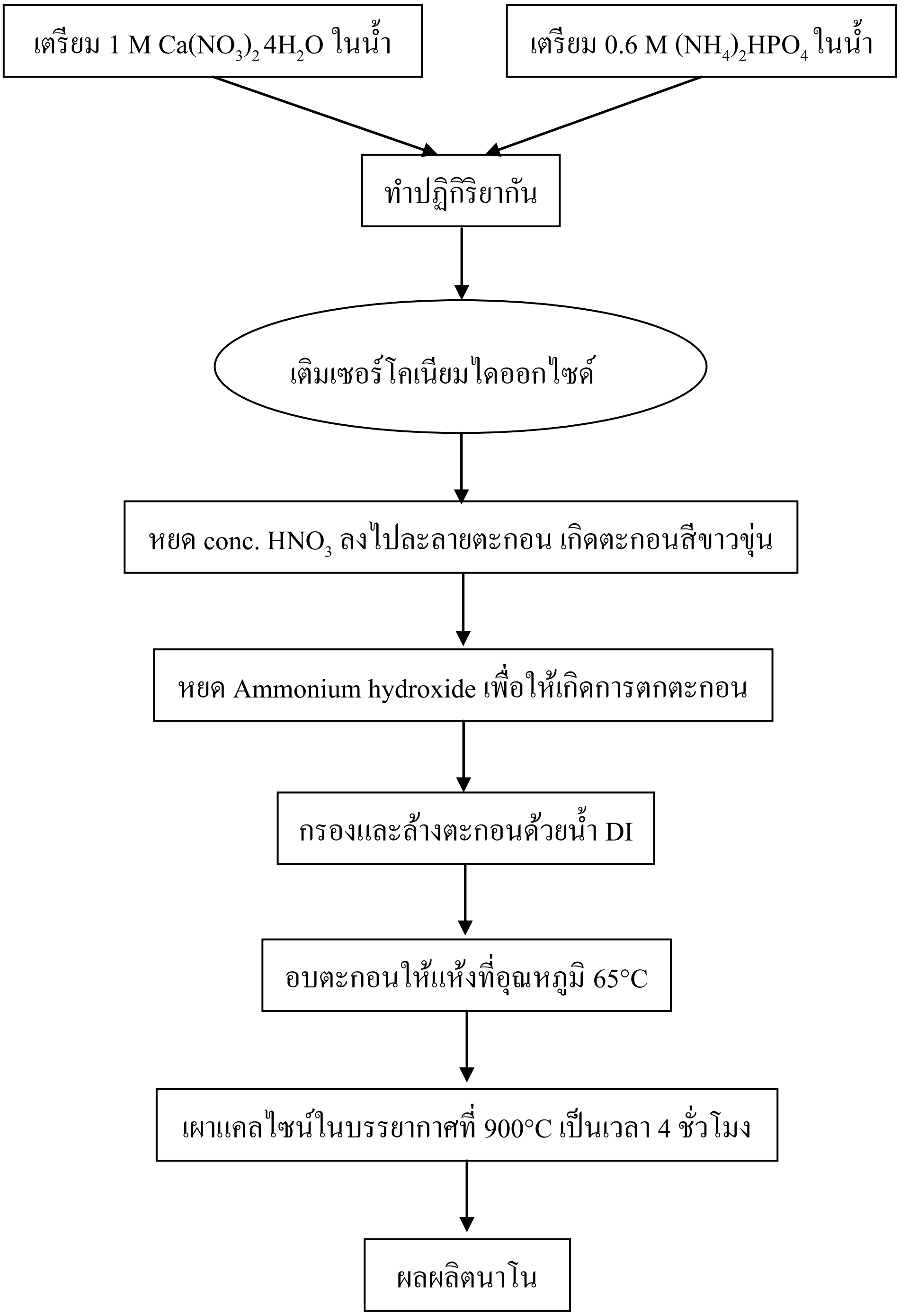
ในบทนี้จะเสนอผลการตรวจสอบผงนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้ด้วยวิธีโซล-เจล การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จากสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ที่มีอัตราส่วนโดยโมลแตกต่างกัน ทำการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C และศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ ดังนี้

4.1 ผลการเตรียมอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์-เซอร์โคเนียด้วยวิธีโซล-เจล

การทดลองเริ่มต้นได้เติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ลงในขั้นตอนของการเตรียมอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล -เจล (กิจกรรมที่ 3.4.1 ในบทที่ 3) เป็นอัตราส่วนโดยโมลดังแสดงในตารางที่ 4.1 หลังจากปฏิกิริยาระหว่าง สารละลาย 1 M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ และ 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ พบว่าเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ละลายได้น้อยมากในกรด conc. HNO_3 จึงมีตะกอนเซอร์โคเนียมไดออกไซด์เหลืออยู่ มีลักษณะสีขาวขุ่น สรุปขั้นตอนการทดลองในภาพประกอบที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 อัตราส่วนโดยโมลของไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ ในการทดลองเริ่มต้น

สูตร	อัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA
N 1	0.001
N 2	0.003
N 3	0.005
N 4	0.007
N 5	0.01


เตรียม 1 M $Ca(NO_3)_2 4H_2O$ ในน้ำ
เตรียม 0.6 M $(NH_4)_2HPO_4$ ในน้ำ
ทำปฏิกิริยากัน
เติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์
หยด conc. HNO_3 ลงไปละลายตะกอน เกิดตะกอนสีขาวขุ่น
หยด Ammonium hydroxide เพื่อให้เกิดการตกตะกอน
กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำ DI
อบตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 65°C
เผาแคลไซน์ในบรรยากาศที่ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
ผลผลิตนาโน

ภาพประกอบที่ 4.1 แผนผังการเติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในขั้นตอนการเตรียมอนุภาคนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล-เจล

เมื่อนำผงนาโน ที่เป็นผลผลิตมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF (ตารางที่ 4.2) พบว่าปริมาณธาตุที่เราสนใจ คือ Ca กับ P ซึ่งเป็นธาตุที่พบในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์ และ Zr ที่เราต้องการให้มีการแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์ นอกจากนั้นจะเป็นสารปนเปื้อนที่อาจจะมาจากสารตั้งต้นที่ไม่บริสุทธิ์หรือมีการปนเปื้อนระหว่างทำการทดลอง

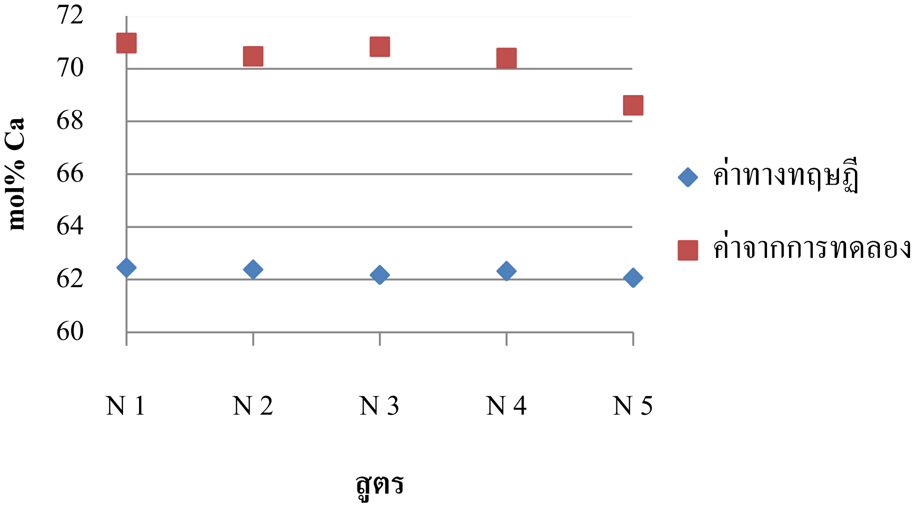
ตารางที่ 4.2 ปริมาณธาตุองค์ประกอบในผลผลิตนาโนหลังเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF

สูตร	Concentration (wt%)							
	Al	Si	P	Ca	Fe	Sr	Zr	O
N 1	-	0.05	14.80	47.00	-	น้อยมาก	0.16	38.00
N 2	-	0.04	14.89	46.56	-	น้อยมาก	0.48	38.03
N 3	น้อยมาก	0.04	14.66	46.66	-	น้อยมาก	0.77	37.87
N 4	น้อยมาก	น้อยมาก	14.59	46.37	-	น้อยมาก	1.24	37.79
N 5	-	0.05	15.33	44.79	น้อยมาก	น้อยมาก	1.56	38.28

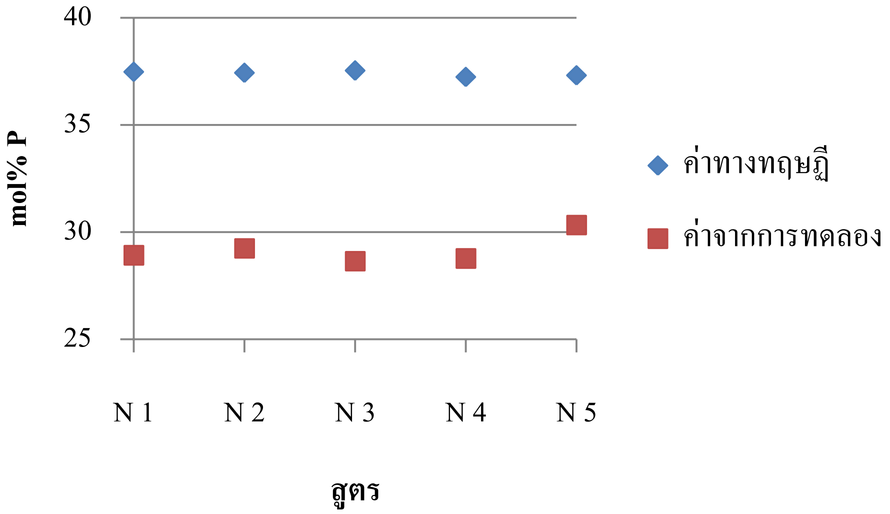
เมื่อนำปริมาณธาตุที่เราสนใจมาวิเคราะห์เป็นโมลเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบค่าทางทฤษฎีและค่าจากการทดลองดังตารางที่ 4.3 พบว่าค่าจากการทดลองเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียเพิ่มขึ้น ปริมาณแคลเซียมจะมีแนวโน้มลดลง (ภาพประกอบที่ 4.2) และค่าฟอสฟอรัสมีแนวโน้มจะคงที่ (ภาพประกอบที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้องกับค่าทางทฤษฎี อาจเนื่องมาจากเซอร์โคเนียมบางส่วนมีการเข้าไปแทนที่แคลเซียมในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์ทำให้ปริมาณแคลเซียมมีค่าลดลง แต่ไม่มีไอออนประจุลบหรือมีไอออนประจุเล็กน้อยเข้าไปแทนที่ฟอสฟอรัสจึงทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสมีแนวโน้มที่คงที่

ตารางที่ 4.3 ปริมาณธาตุองค์ประกอบหลักในผลผลิตนาโน หลังการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF เปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎี

สูตร	ค่าทางทฤษฎี			ค่าจากการทดลอง		
	mol% Ca	mol% P	mol%Zr	mol% Ca	mol% P	mol%Zr
N 1	62.45	37.47	0.07	70.97	28.91	0.11
N 2	62.39	37.43	0.18	70.46	29.24	0.30
N 3	62.18	37.53	0.29	70.84	28.64	0.53
N 4	62.32	37.24	0.44	70.40	28.77	0.83
N 5	62.06	37.31	0.63	68.61	30.33	1.06



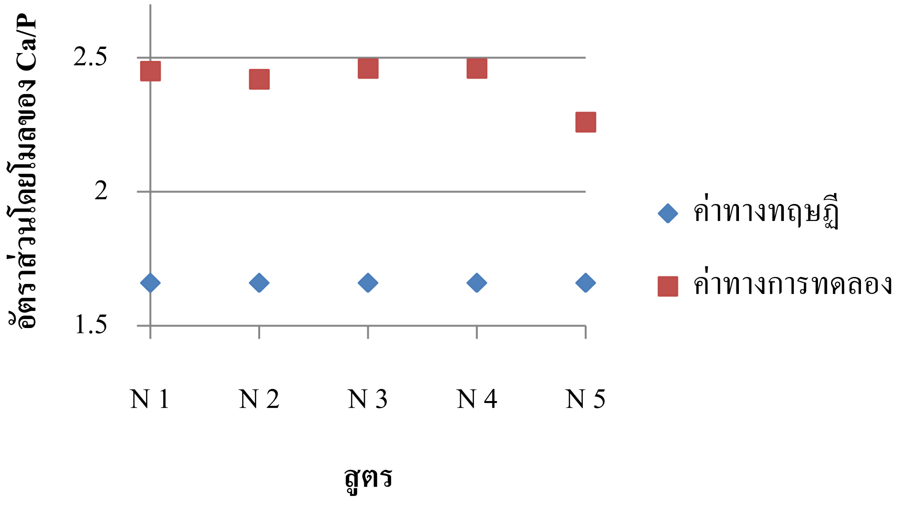
ภาพประกอบที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฎีและค่าจากการทดลองของโมลแคลเซียมในสูตรต่างๆ



ภาพประกอบที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฎีและค่าจากการทดลองของโมลฟอสฟอรัสในสูตรต่างๆ

ตารางที่ 4.4 อัตราส่วนโดยโมล Ca/P ของผลผลิตนาโนในสูตรต่างๆ หลังเผาการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

สูตร	Ca/P mol ratio	
	ค่าทางทฤษฎี	ค่าทางการทดลอง
N 1	1.66	2.45
N 2	1.66	2.42
N 3	1.66	2.46
N 4	1.66	2.46
N 5	1.66	2.26



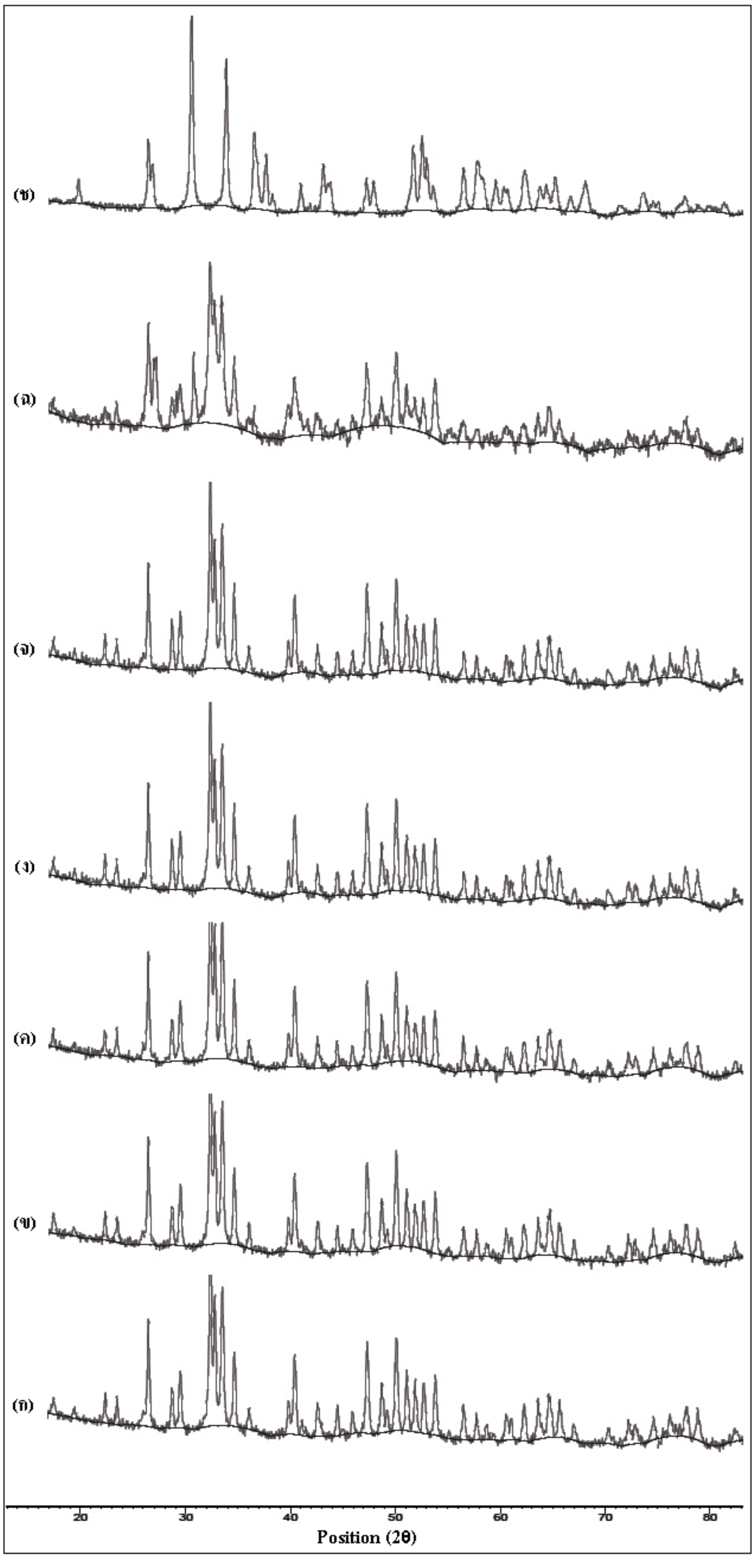
ภาพประกอบที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทางทฤษฎีและค่าจากการทดลองของอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ในสูตรต่างๆ

จากตารางที่ 4.4 และภาพประกอบที่ 4.4 พบว่าอัตราส่วนโดยโมล Ca/P จากการทดลองมีค่ามากกว่าค่าที่ได้ทางทฤษฎี เนื่องมาจากเซอร์โคเนียมบางส่วนเข้าไปแทนที่แคลเซียมในโครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์ โดยสูตร N2 และ N5 มีค่าอัตราส่วนโดยโมล Ca/P น้อยกว่าสูตรอื่นๆ เล็กน้อย อาจเป็นผลมาจากเซอร์โคเนียมเข้าไปแทนที่แคลเซียมในโครงสร้างผลึกมากกว่าสูตรอื่นๆ เนื่องจากปริมาณของแคลเซียมลดลงกว่าสูตรอื่นๆ เล็กน้อยดังภาพประกอบที่ 4.2 เมื่อยืนยันผลด้วยการตรวจสอบเฟสของผลผลิตนาโน ด้วยเทคนิค XRD (ตารางที่ 4.5) พบว่าเฟสของผลผลิตนาโนทุกสูตรมีอัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA แตกต่างกันและตรวจพบเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์เพียงเฟสเดียวไม่พบเฟสของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์เลย ซึ่งยืนยันผลอีกครั้งด้วยแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ดังภาพประกอบที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการตรวจสอบเฟสของผลผลิตนาโน ด้วยเทคนิค XRD

สูตร	ชื่อทางเคมี	สูตรทางเคมี
N 1	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
N 2	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
N 3	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
N 4	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
N 5	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

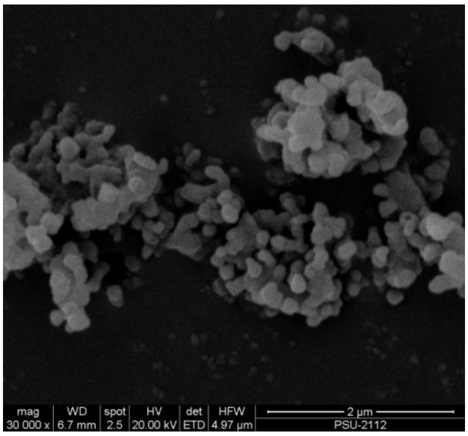
แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของผลผลิตนาโน (ภาพประกอบที่ 4.5) พบว่า มีพีคตรงกับแพทเทิร์นของไฮดรอกซีแอพาไทต์ ได้แก่ตำแหน่ง 26.0, 31.8, 33.0 และ 39.9 องศา แต่ไม่ปรากฏพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในทุกๆ สูตร พีคที่สำคัญของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ ได้แก่ตำแหน่งที่ 28, 31.3 และ 34.2 องศา แสดงให้เห็นว่าปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ที่เติมอาจมีปริมาณน้อยเกินไปทำให้การปรับปรุงสมบัติของไฮดรอกซีแอพาไทต์เกิดได้น้อย รวมทั้งในขั้นตอนการเติมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์และละลายตะกอนด้วย conc. HNO_3 เพื่อให้ได้สารละลายใสนั้น (ขั้นตอน 3.4.1 ข. และ ค.) พบว่าสารละลายไม่ใส ยังคงมีตะกอนเซอร์โคเนียไดออกไซด์เหลืออยู่ แสดงว่าเซอร์โคเนียละลายแตกตัวเป็นไอออนของเซอร์โคเนียมได้น้อย ทำให้ไม่สามารถคาดเดาว่าเซอร์โคเนียมแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์มีปริมาณมากหรือน้อย จึงเป็นเหตุผลให้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการทดลองโดยทำการสังเคราะห์ผงนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล -เจลก่อนแล้วผสมเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในสัดส่วนต่างๆ กัน ก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์และศึกษาสมบัติอื่นๆ ต่อไป



ภาพประกอบที่ 4.5 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของผลผลิตนาโนสูตร N1 (ก) สูตร N2 (ข) สูตร N3 (ค) สูตร N4 (ง) สูตร N5 (จ) HA (ฉ) และ ZrO_2 (ช)

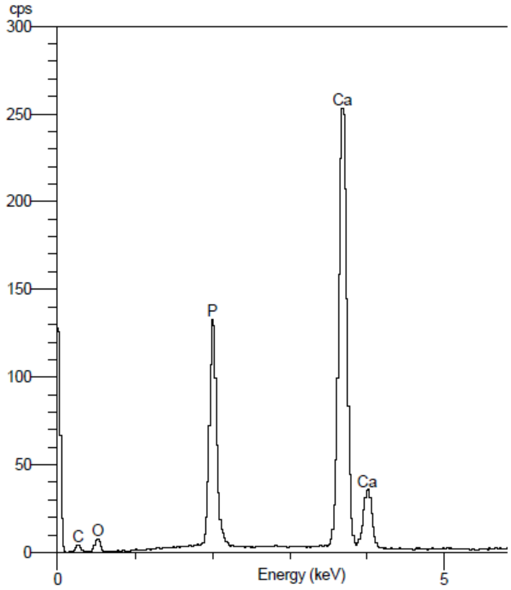
4.2 ผลทางจุลภาคของอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้

ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM ของโครงสร้างทางจุลภาคของผงนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมโดยวิธีโซล -เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แสดงในภาพประกอบที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าอนุภาคไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้เป็นทรงกลมที่มีขนาด 191.86 ± 38.82 นาโนเมตร และจับกันเป็นกลุ่มก้อนเนื่องจากอนุภาคบางส่วนเกิดการหลอมรวมกันเมื่อเผาแคลไซน์ที่ 900°C



ภาพประกอบที่ 4.6 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างระดับจุลภาคของผงนาโนไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณธาตุด้วยเทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอ็กซ์จากอิเล็กตรอนในแต่ละชั้นของธาตุ ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และภาพประกอบที่ 4.7

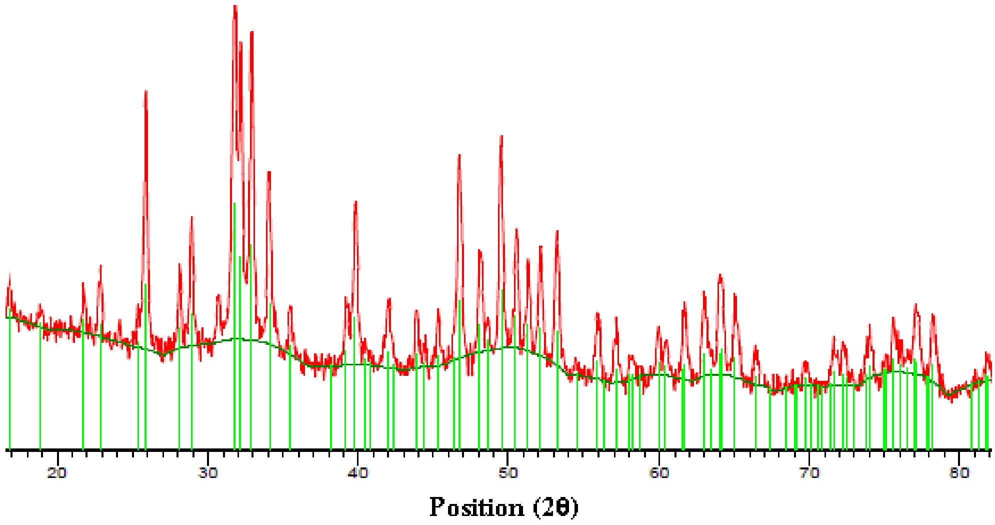


ภาพประกอบที่ 4.7 EDX สเปกตรัมของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.6 ส่วนประกอบทางเคมีของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้จากวิธีโซล -เจลหลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค EDX

ชนิดของธาตุองค์ประกอบ	ปริมาณธาตุ (mol%)
C	6.810
O	31.126
P	18.736
Ca	42.328

จากการหาส่วนประกอบทางเคมีของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้ พบว่าประกอบด้วยธาตุหลัก คือ แคลเซียมและฟอสฟอรัส โดยมีอัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.26 ซึ่งมากกว่าอัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสของไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ที่มีค่า เท่ากับ 1.67 อาจเป็นผลมาจากไอออนประจุลบเข้าไปแทนที่ฟอสฟอรัสในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอพาไทต์ จึงทำให้อัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสมีค่ามากขึ้น จากนั้นได้ทำการทดสอบผลด้วยเทคนิค XRD เพื่อยืนยันว่าสารดังกล่าวเป็นไฮดรอกซีแอพาไทต์ ผลการวิเคราะห์แสดงในภาพประกอบที่ 4.8

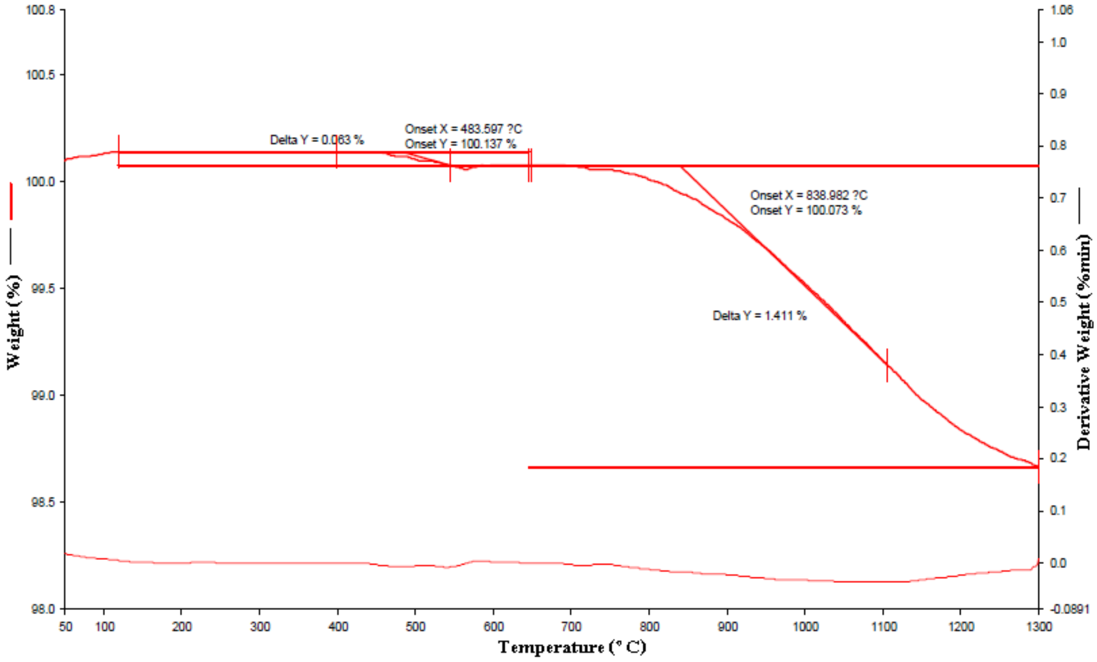


ภาพประกอบที่ 4.8 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของไฮดรอกซีแอพไทต์ที่เตรียมด้วยวิธีโซล-เจล หลังผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

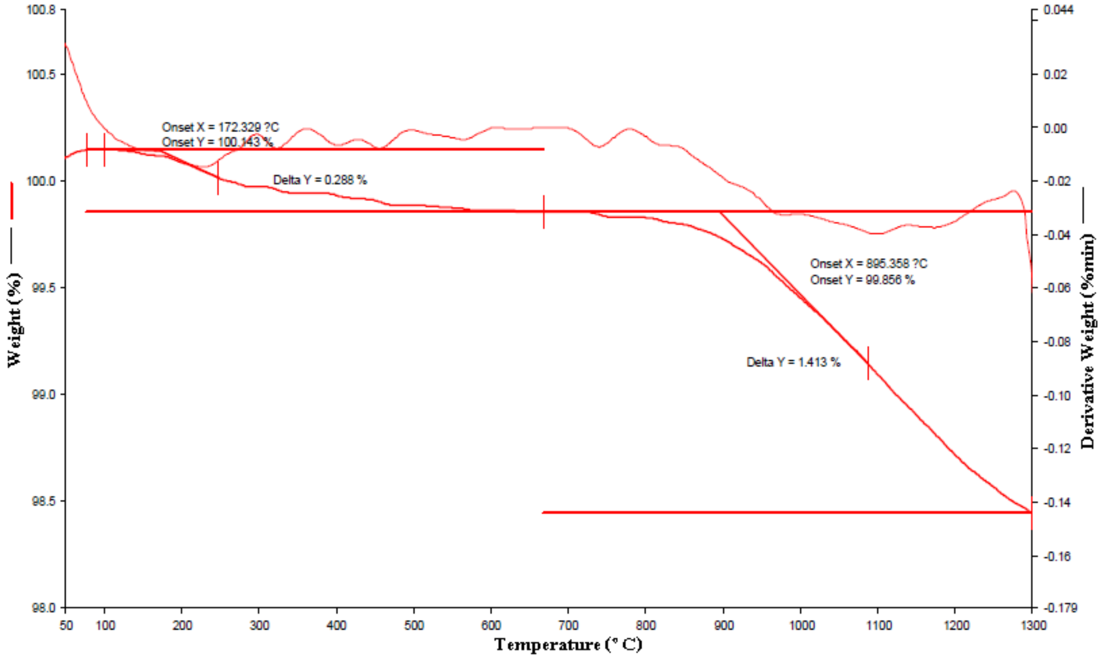
พบว่าแพทเทิร์น XRD ของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้ตรงกับฐานข้อมูล JCPDF หมายเลข 084-1998 ที่มีสูตรทางเคมี คือ $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ จึงยืนยันได้ว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่เตรียมได้จากการทดลองเป็นไฮดรอกซีแอพาไทต์ ซึ่งจะนำไปใช้ในการเตรียมสารผสมระหว่าง ไฮดรอกซีแอพาไทต์และ เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ต่อไป

4.3 สมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ที่มีอัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA ต่างกัน โดยมีการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

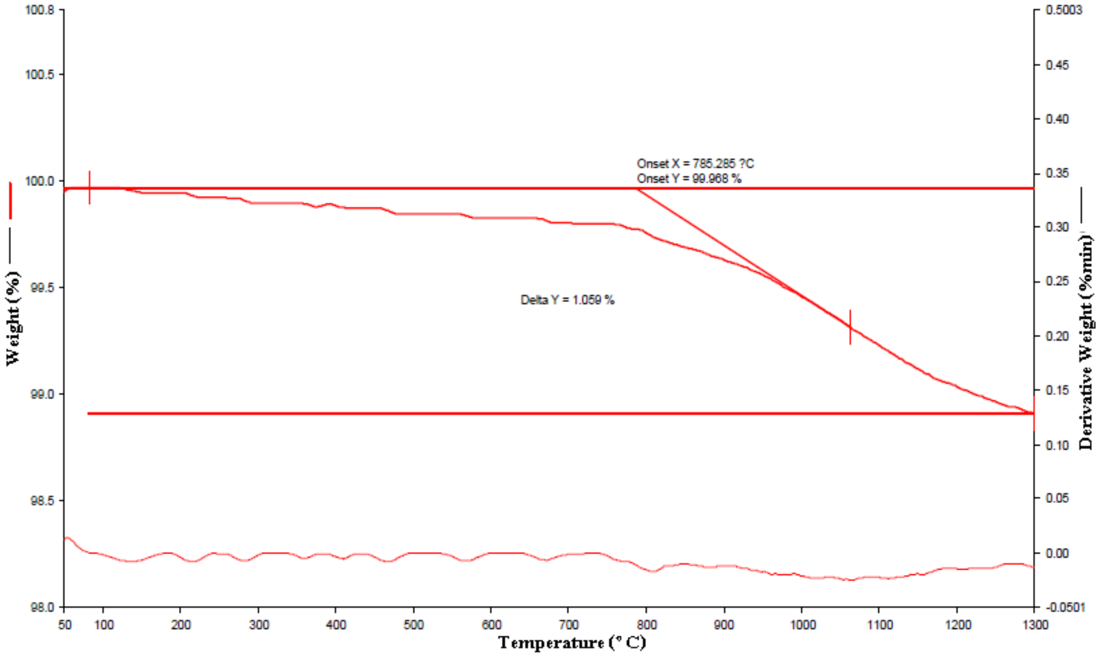
ก. วิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนัก ของสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ด้วยเทคนิค TGA



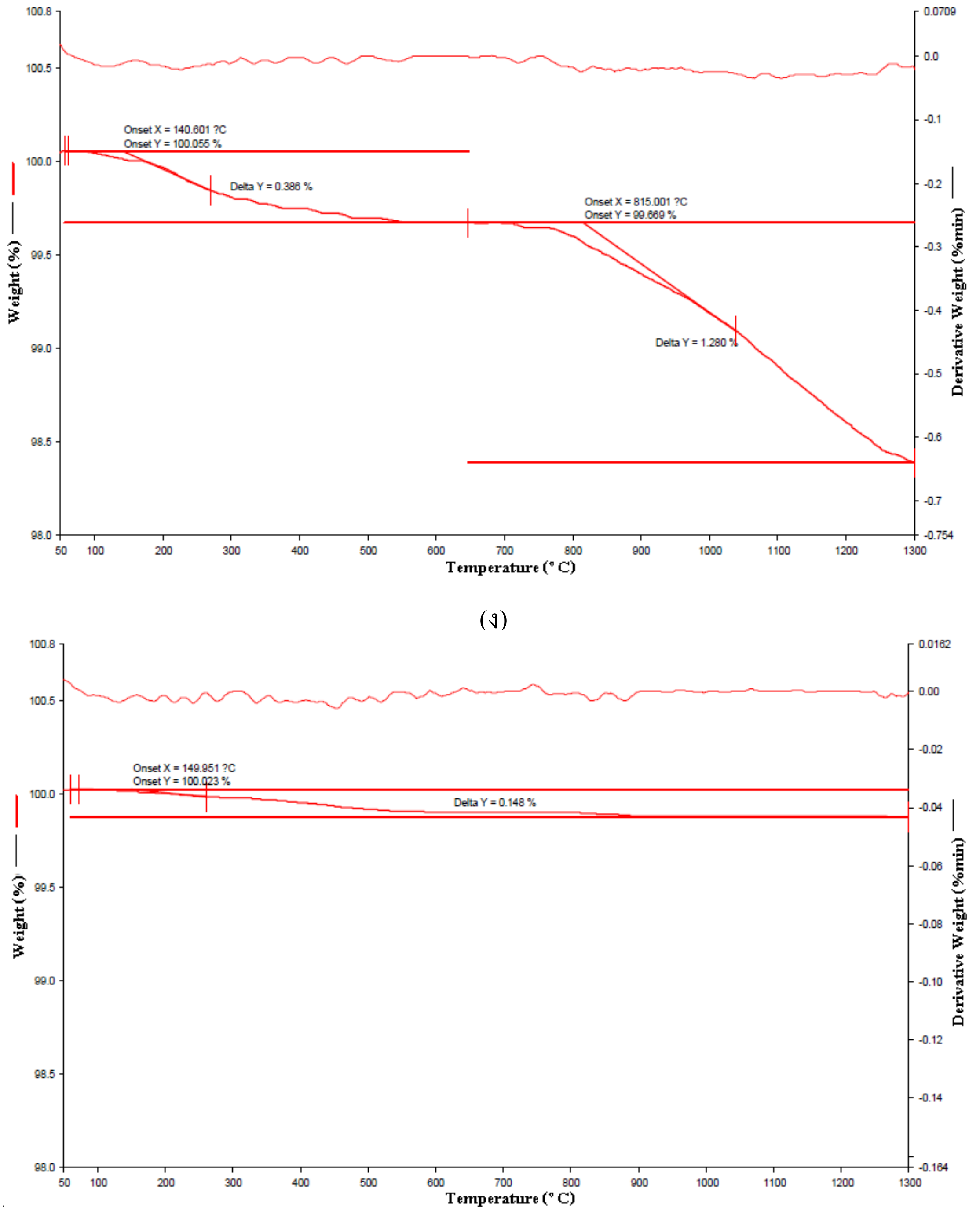
(ก)


100.8
100.5
100.0
99.5
99.0
98.5
98.0
Weight (%)
0.044
0.02
0.00
-0.02
-0.04
-0.06
-0.08
-0.10
-0.12
-0.14
-0.16
-0.179
Derivative Weight (%min)
50
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
Temperature (° C)
Onset X = 172.329 ?C
Onset Y = 100.143 %
Delta Y = 0.288 %
Onset X = 895.358 ?C
Onset Y = 99.856 %
Delta Y = 1.413 %

(ข)


100.8
100.5
100.0
99.5
99.0
98.5
98.0
Weight (%)
0.5003
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.0501
Derivative Weight (%min)
50
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
Temperature (° C)
Onset X = 785.285 ?C
Onset Y = 99.968 %
Delta Y = 1.059 %

(ค)



(ง)

(จ)

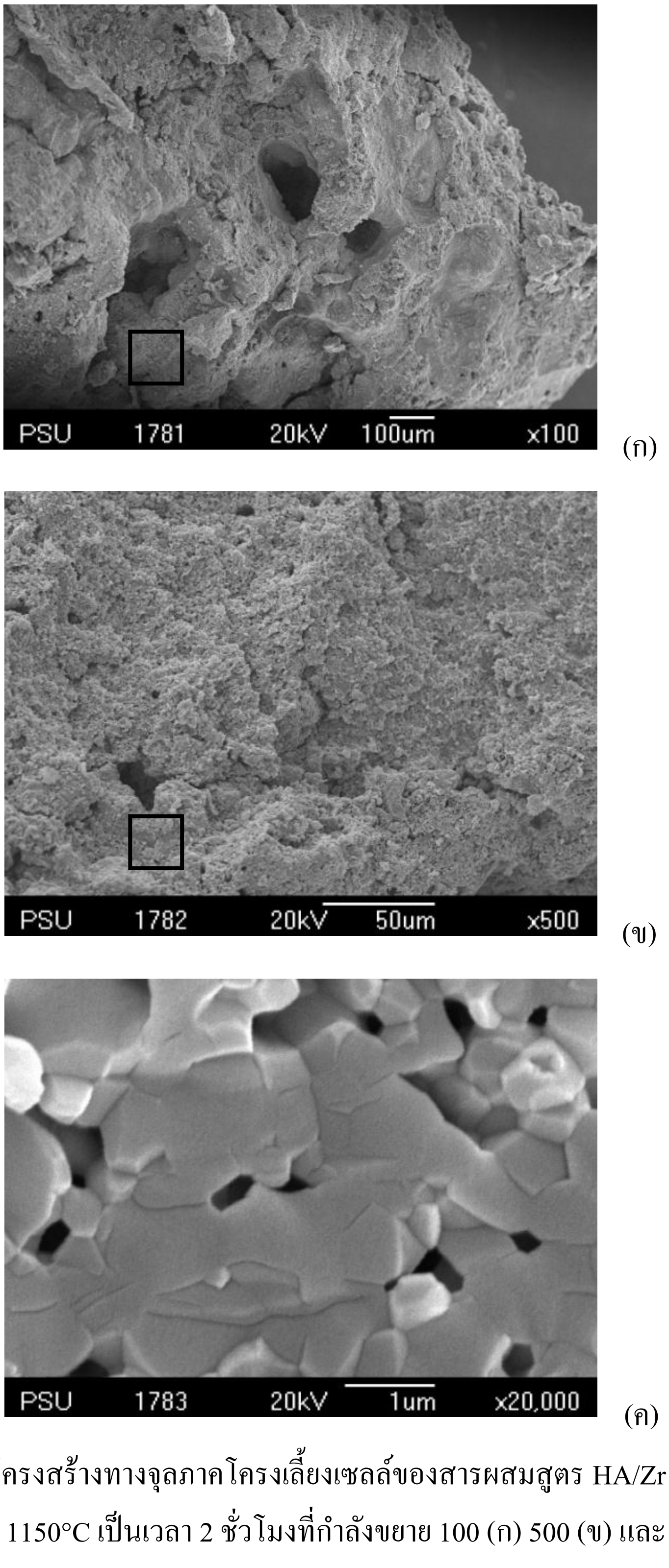
ภาพประกอบที่ 4.9 เทอร์โมแกรม (TGA) ของสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์หลังผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงสูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) และไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HA) (ง) กับ เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ (ZrO_2) (จ)

ตารางที่ 4.7 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงและร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของเทอร์โมแกรมของสารผสมระหว่าง ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และ เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ ไฮดรอกซีแอพาไทต์ และเซอร์โคเนียมไดออกไซด์

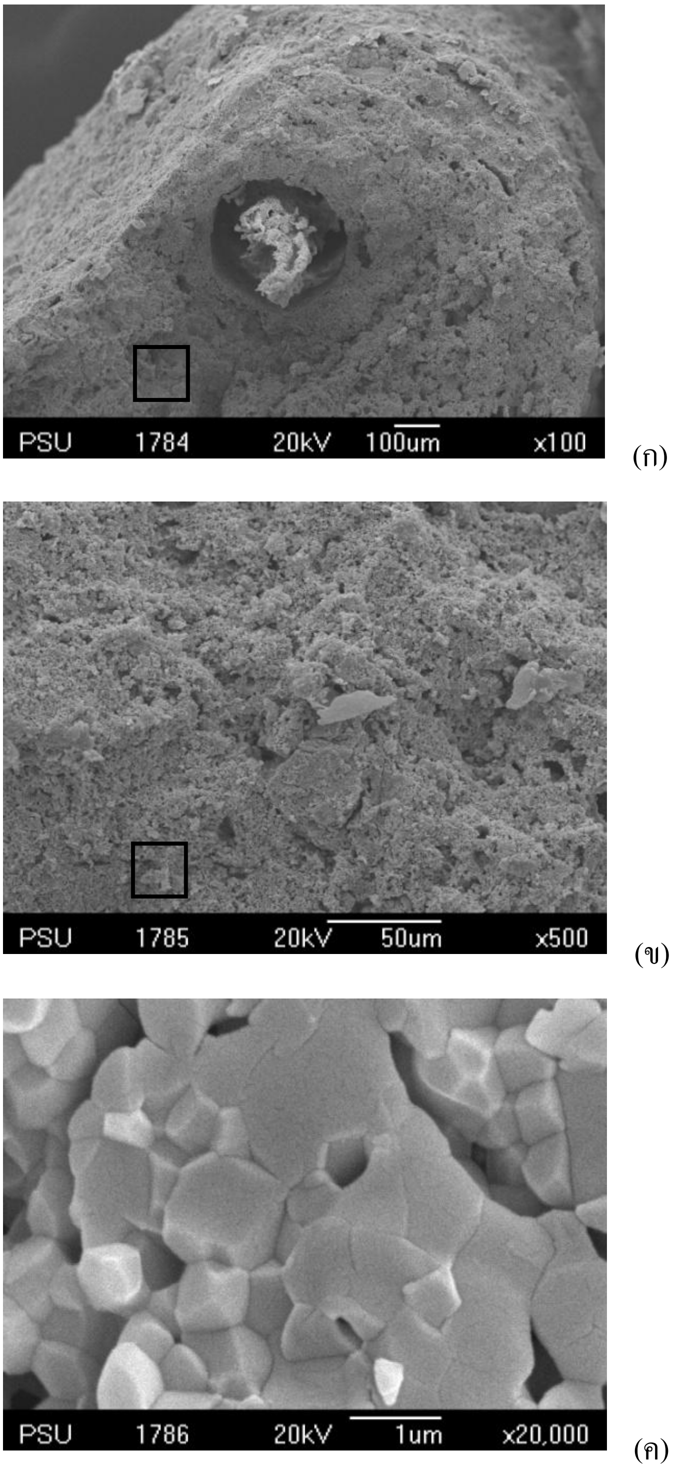
สูตร	ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลง (°C)	ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสีย
HA/Zr 100	483.59 - 540.00	0.063
	838.98 - 1300.00	1.411
HA/Zr 10	172.33 - 660.00	0.288
	895.35 -1300.00	1.413
HA/Zr 2	785.28 - 1300.00	1.059
HA	140.61 - 630.00	0.386
	815.00 - 1300.00	1.280
ZrO_2	149.95 - 890.00	0.148

จากภาพประกอบที่ 4.9 และตารางที่ 4.7 พบว่าสารแต่ละชนิดมีอุณหภูมิที่สูญเสียน้ำหนักและร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปแตกต่างกัน โดยในช่วงอุณหภูมิ 140.00 – 700.00°C ของสูตร HA/Zr 100 สูตร HA/Zr 10 และไฮดรอกซีแอพาไทต์ พบว่ามีการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการสลายตัวของความชื้นภายนอกหรือภายในโมเลกุลและของสารปนเปื้อน ส่วนอุณหภูมิในช่วง 700.00°C เป็นต้นไป พบว่า มีการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการเปลี่ยนเฟสโดย สูตร HA/Zr 100 มีอุณหภูมิในช่วง 838.98 - 1300.00°C สูตร HA/Zr 10 ช่วง 895.35 - 1300.00°C สูตร HA/Zr 2 ช่วง 785.28 - 1300.00°C และไฮดรอกซีแอพาไทต์ ช่วง 815.00 - 1300.00°C นอกจากนี้ยังพบว่าเซอร์โคเนียมไดออกไซด์มีความเสถียรทางความร้อน โดยมีการสลายตัวของความชื้นภายนอกหรือภายในโมเลกุลและของสารปนเปื้อนในช่วงอุณหภูมิ 149.95 – 890.00°C แสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมเพิ่มขึ้นจะทำให้สารผสมสามารถทนความร้อนได้สูงขึ้น โดยสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 มีอุณหภูมิการสลายตัวที่สูงกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในระดับหนึ่งสารผสมจะสามารถทนความร้อนได้ต่ำลงเห็นได้จากสูตร HA/Zr 2 จะมีอุณหภูมิการสลายตัวที่ต่ำกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์

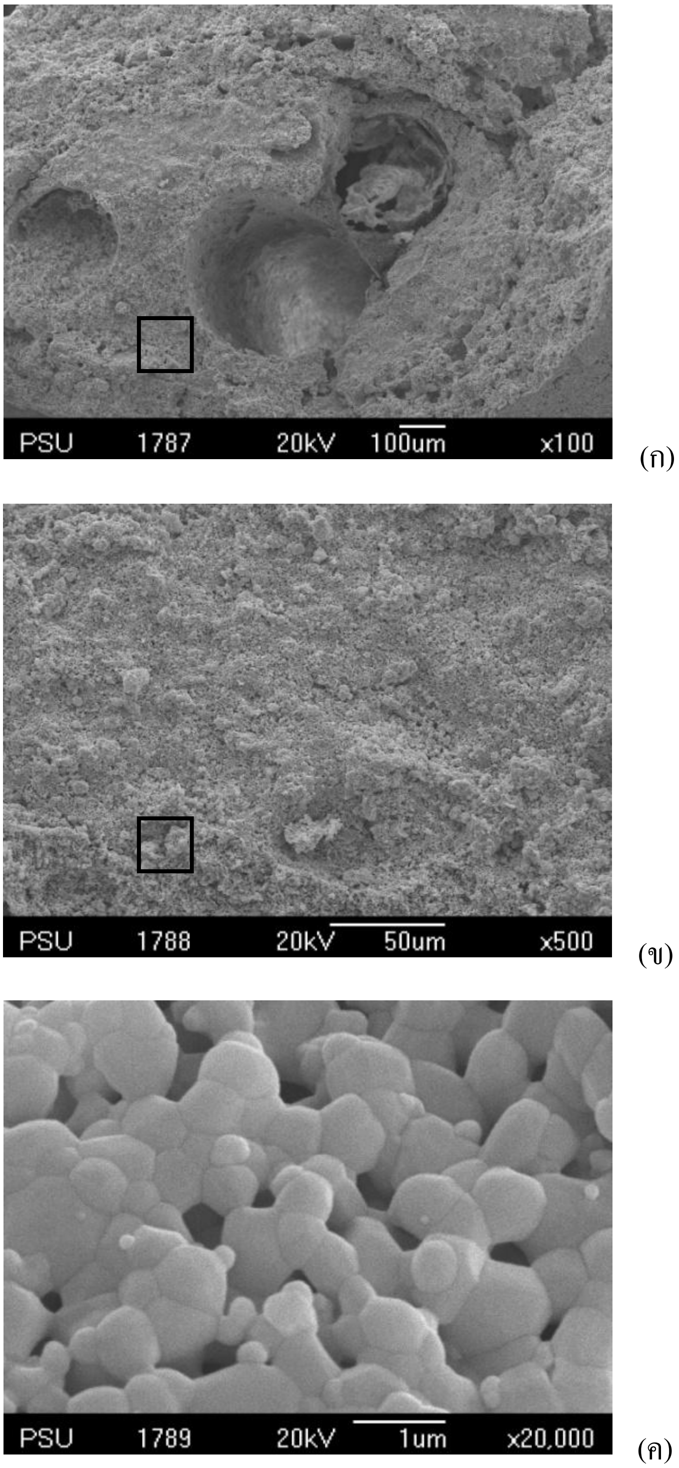
ข. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ภายหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM


PSU
1781
20kV
100um
x100
(ก)
PSU
1782
20kV
50um
x500
(ข)
PSU
1783
20kV
1um
x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.10 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)


PSU 1784 20kV 100um x100
(ก)
PSU 1785 20kV 50um x500
(ข)
PSU 1786 20kV 1um x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.11 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)


PSU 1787 20kV 100um x100
(ก)
PSU 1788 20kV 50um x500
(ข)
PSU 1789 20kV 1um x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.12 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)

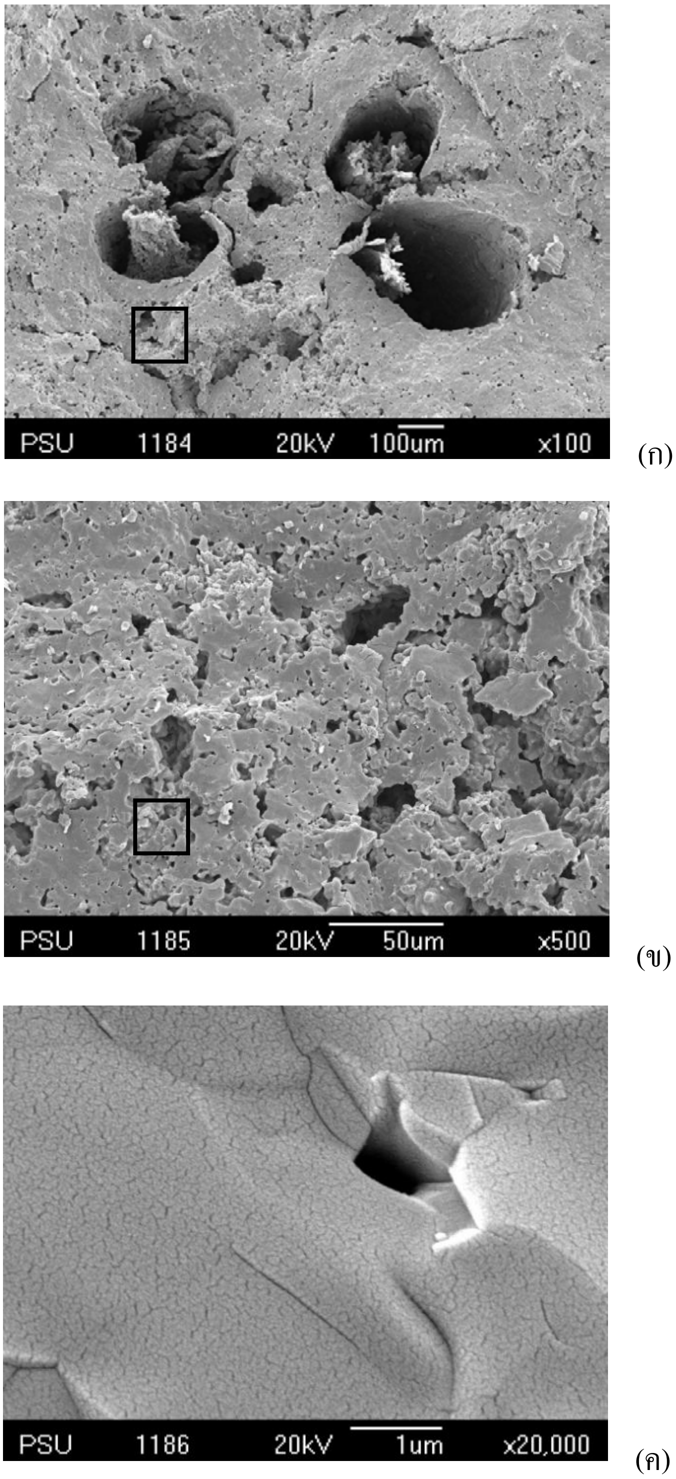
ตารางที่ 4.8 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในสารผสมสูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สูตร	รูพรุนขนาดใหญ่ (μm)	รูพรุนขนาดเล็ก (nm)
HA/Zr 100	131.43 ± 52.88	677.78 ± 115.47
HA/Zr 10	286.67 ± 0.00	411.11 ± 50.19
HA/Zr 2	266.67 ± 94.28	333.33 ± 194.37

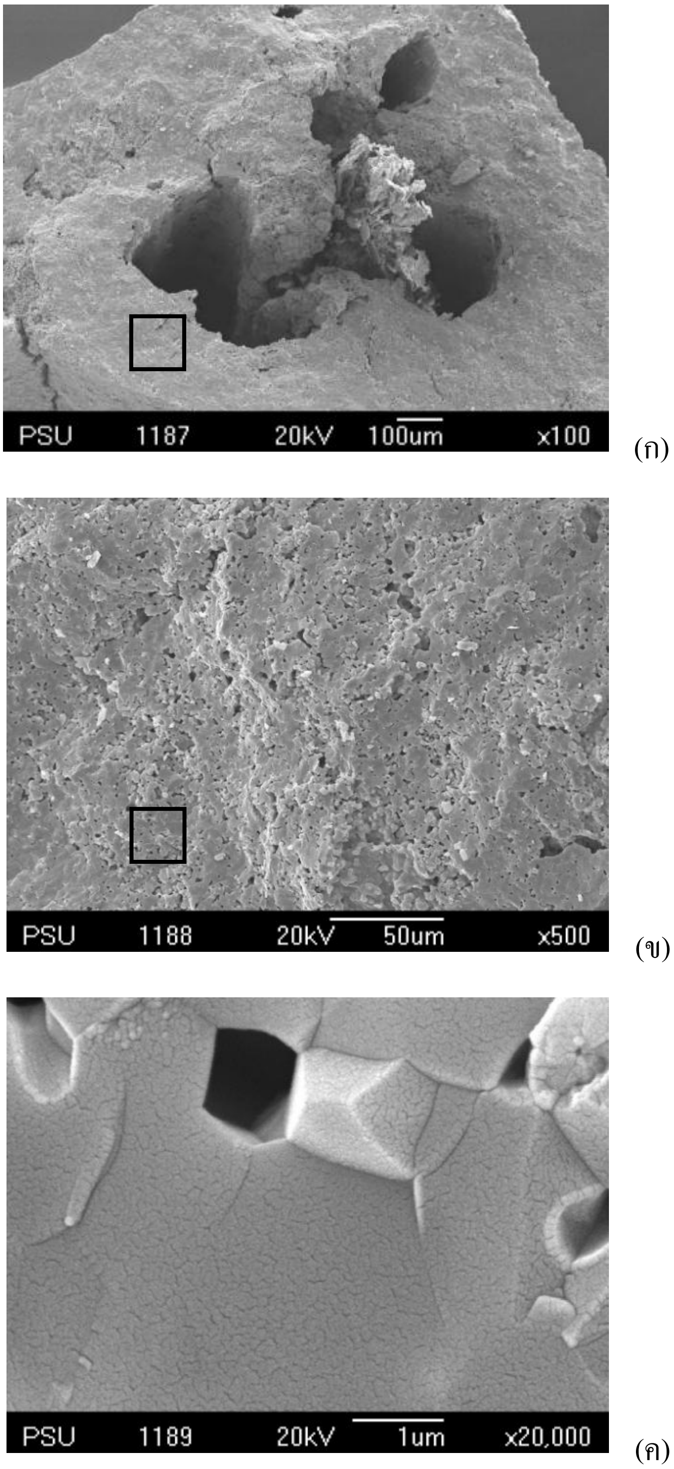
โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ของสูตรต่างๆ หลังการเผาซินเตอร์ที่ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีขนาดรูพรุน 2 ลักษณะ คือ รูพรุนขนาดใหญ่ และรูพรุนขนาดเล็ก โดยรูพรุนขนาดใหญ่ (ภาพประกอบที่ 4.10, 4.11, 4.12 ก. และตารางที่ 4.8) เกิดจากการสลายตัวของใยบวบเมื่อเผาซินเตอร์โดยขนาดที่แตกต่างเกิดจากเส้นใยบวบมีขนาดแตกต่างกัน รูพรุนขนาดใหญ่นี้มีลักษณะเชื่อมต่อกันตลอดทั้งโครงเลี้ยงเซลล์ ส่วนรูพรุนขนาดเล็กบริเวณพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ (ภาพประกอบที่ 4.10, 4.11, 4.12 ข. และ ค. และตารางที่ 4.8) นั้นพบว่าเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมเพิ่มขึ้นขนาดของเกรนและรูพรุนจะเล็กลง และรูพรุนมีการกระจายตัวเพิ่มขึ้น [38-39] ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเซอร์โคเนียมไดออกไซด์มีเสถียรภาพทางความร้อนสูง จึงไม่หลอมรวมกับอนุภาคไฮดรอกซีแอพาไทต์ และเมื่อเติมในปริมาณมากขึ้นจะไปขัดขวางไม่ให้อนุภาคของไฮดรอกซีแอพาไทต์หลอมรวมกันเป็นเกรนขนาดใหญ่จึงเกิดเป็นรูพรุนขนาดเล็กกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

โดยขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์มีผลต่อความสามารถในการยึดเกาะของเซลล์และการสร้างเป็นเนื้อเยื่อ ขนาดรูพรุนที่เล็กเกินไปจะส่งผลให้การเจริญเติบโตของเซลล์และการแพร่กระจายของสารอาหารภายในโครงเลี้ยงเซลล์ถูกจำกัด หากขนาดของรูพรุนมีขนาดใหญ่เกินไปจะทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสลดลง ส่งผลให้การยึดเกาะของเซลล์ลดลงด้วย [40] ซึ่งรูพรุนที่เหมาะสมจะต้องมีรูพรุนแบบเปิดชนิดเชื่อมต่อกันโดยตลอดอยู่ภายใน เพื่อสนับสนุนการเจริญ เติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกพร้อมหลอดเลือดให้สอดแทรกเข้าไปในเนื้อวัสดุโดยเนื้อเยื่อจะมีชีวิตและแข็งแรงเมื่อรูพรุนขนาดใหญ่กว่า 50 ถึง 150 ไมครอน แต่จะไม่พบเนื้อเยื่อหลอดเลือดถ้าขนาดรูพรุนเล็กกว่า 100 ไมครอน ดังนั้นความพรุนที่เหมาะสมที่สุดคือต้องมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 ถึง 500 ไมครอน มีความพรุน 18-74% [14] ซึ่งสอดคล้องกับรูพรุนขนาดใหญ่ที่เตรียมได้ดังตารางที่ 4.7 ส่วนรูพรุนขนาดเล็กระดับนาโนเมตรจะช่วยให้สามารถประสานเข้ากับเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายได้ดียิ่งขึ้น

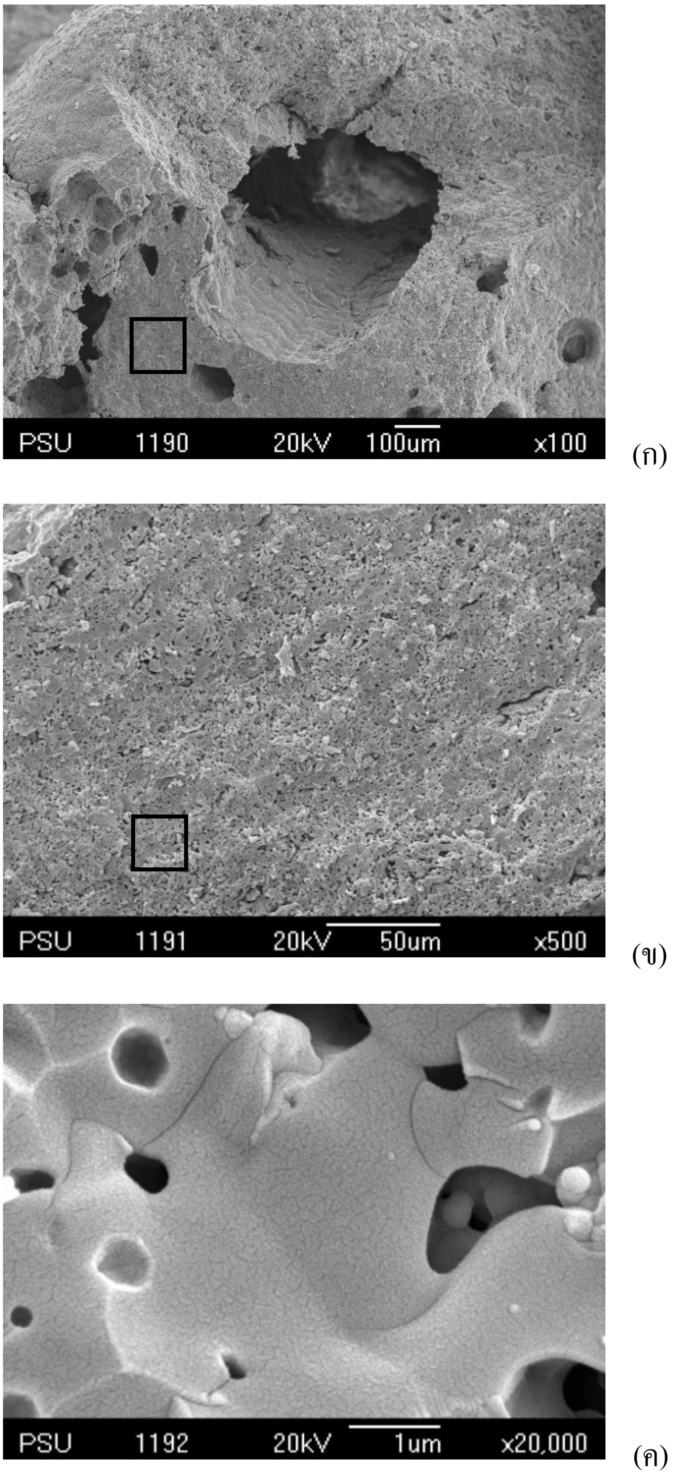
ค. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ภายหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM แสดงดังภาพประกอบที่ 4.13 – 4.15


PSU 1184 20kV 100um x100
(ก)
PSU 1185 20kV 50um x500
(ข)
PSU 1186 20kV 1um x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.13 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)


PSU 1187 20kV 100um x100
(ก)
PSU 1188 20kV 50um x500
(ข)
PSU 1189 20kV 1um x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.14 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)


PSU 1190 20kV 100um x100
(ก)
PSU 1191 20kV 50um x500
(ข)
PSU 1192 20kV 1um x20,000
(ค)

ภาพประกอบที่ 4.15 โครงสร้างทางจุลภาคโครงเลี้ยงเซลล์ของสารผสมสูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่กำลังขยาย 100 (ก) 500 (ข) และ 20000 เท่า (ค)

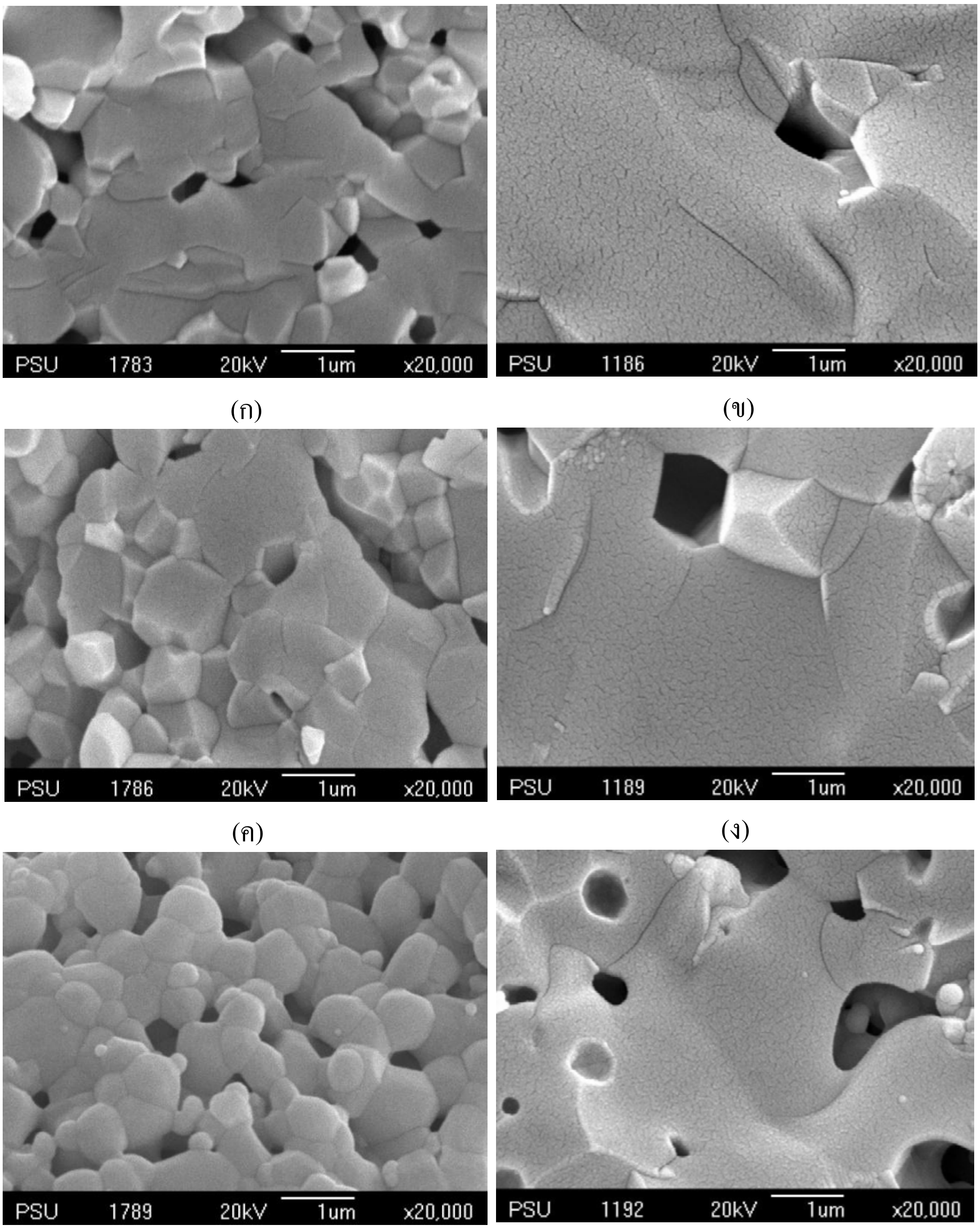
โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ หลังการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีลักษณะรูพรุนและอิทธิพลของเซอร์โคเนียเหมือนกับโครงเลี้ยงเซลล์หลังการเผาซินเตอร์ที่ 1150°C โดยขนาดรูพรุนที่คำนวณได้จากภาพประกอบที่ 4.13, 4.14 และ 4.15 แสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ในสารผสมสูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สูตร	รูพรุนขนาดใหญ่ (μm)	รูพรุนขนาดเล็ก (nm)
HA/Zr 100	264.00 ± 51.98	827.58± 176.43
HA/Zr 10	214.29 ± 67.76	724.14 ± 146.29
HA/Zr 2	400 ± 0.00	502.46 ± 162.79

ง. ผลของอุณหภูมิที่ใช้เผาซินแตอร์ที่มีต่อโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์

โครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ภายหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แสดงในภาพประกอบที่ 4.16 พบว่าอุณหภูมิที่ใช้เผาซินเตอร์มีผลต่อพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอนุภาคไฮดรอกซีแอพาไทต์จะหลอมรวมกันได้ดีกว่าการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิต่ำ [41] สังเกตได้จากพื้นผิวจะเชื่อมติดกันเป็นเนื้อเดียวกันกลายเป็นเกรนขนาดใหญ่ (ภาพประกอบที่ 4.16 ข ง และ ฉ) ส่วนการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิต่ำ จะสังเกตเห็นขอบเกรนอย่างชัดเจนแม้จะมีการเชื่อมติดกันเป็นเนื้อเดียวแต่เกรนมีขนาดเล็กกว่า (ภาพประกอบที่ 4.16 ก ค และ จ)


PSU 1783 20kV 1um x20,000
PSU 1186 20kV 1um x20,000
PSU 1786 20kV 1um x20,000
PSU 1189 20kV 1um x20,000
PSU 1789 20kV 1um x20,000
PSU 1192 20kV 1um x20,000

(ก) (ข)

(ค) (ง)

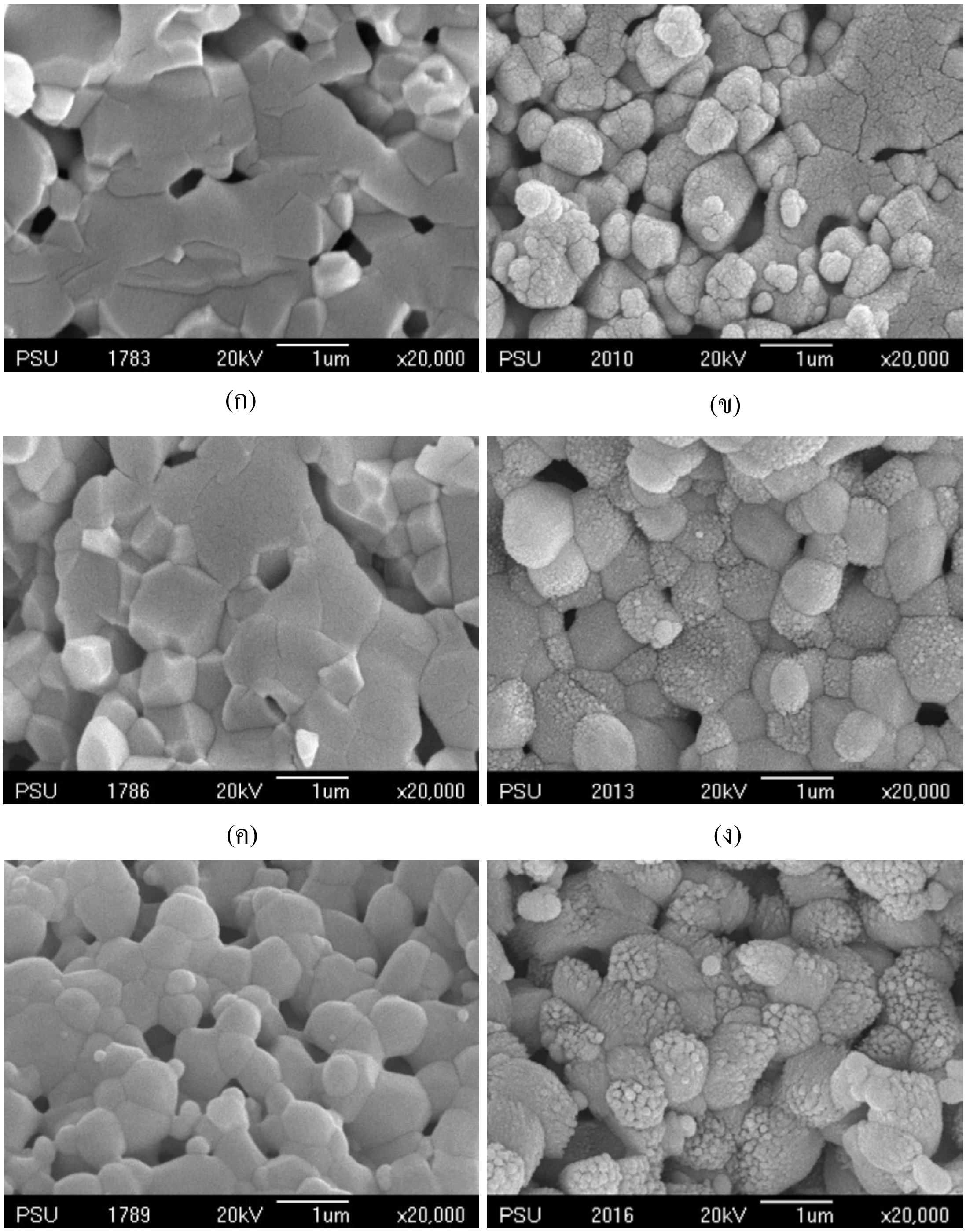
(จ) (ฉ)

ภาพประกอบที่ 4.16 เปรียบเทียบโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) เผาซินเตอร์ที่ 1150°C (ก ค และ จ) หรือ 1250°C (ข ง และ ฉ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.4 ความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ (Bioactivity of scaffold)

ก. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เผาซินเตอร์อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

ผลการวิเคราะห์แสดงในภาพประกอบที่ 4.17 พบว่าพื้นผิวโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่มีลักษณะเรียบ หลังการแช่เป็นเวลา 3 วัน ลักษณะพื้นผิวจะเริ่มขรุขระ โดยเริ่มมีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์เกิดขึ้น เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละสูตรพบว่า สูตร HA/Zr 100 พื้นผิวมีการบวมตัวแต่ยังสังเกตเห็นผลึกแอพาไทต์ได้ไม่ชัดเจน ส่วนสูตร HA/Zr 10 พื้นผิวจะมีลักษณะขรุขระมากขึ้นและสังเกตเห็นผลึกแอพาไทต์เป็นทรงกลมเช่นเดียวกับสูตร HA/Zr 2 แต่ผลึกแอพาไทต์ในสูตร HA/Zr 10 มีขนาดเล็กกว่า แสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้การก่อตัวของผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีขึ้น กล่าวคือสูตร HA/Zr 2 มีการฟอร์มตัวของผลึกแอพาไทต์ดีที่สุด


PSU 1783 20kV 1um x20,000
PSU 2010 20kV 1um x20,000
PSU 1786 20kV 1um x20,000
PSU 2013 20kV 1um x20,000
PSU 1789 20kV 1um x20,000
PSU 2016 20kV 1um x20,000

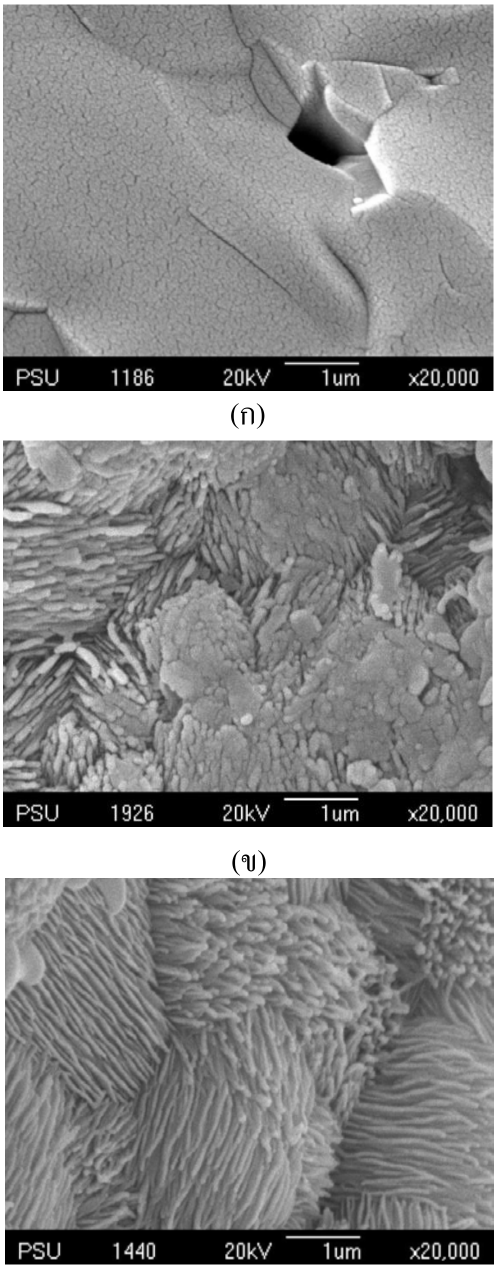
(ก) (ข)

(ค) (ง)

(จ) (ฉ)

ภาพประกอบที่ 4.17 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) ก่อนแช่ (ก ค และ จ) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข ง และ ฉ)

ข. โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เผาซินเตอร์อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM แสดงดังภาพประกอบที่ 4.18 – 4.20

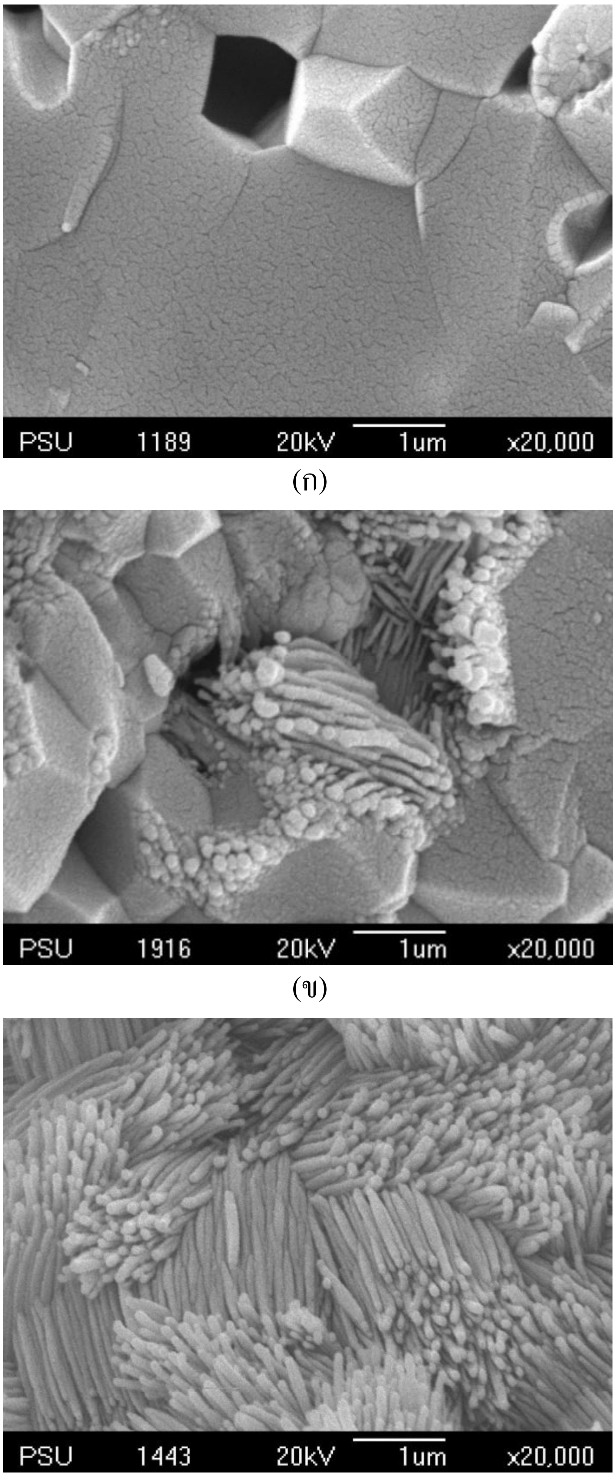

PSU 1186 20kV 1um x20,000
PSU 1926 20kV 1um x20,000
PSU 1440 20kV 1um x20,000

(ก)

(ข)

(ค)

ภาพประกอบที่ 4.18 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค)

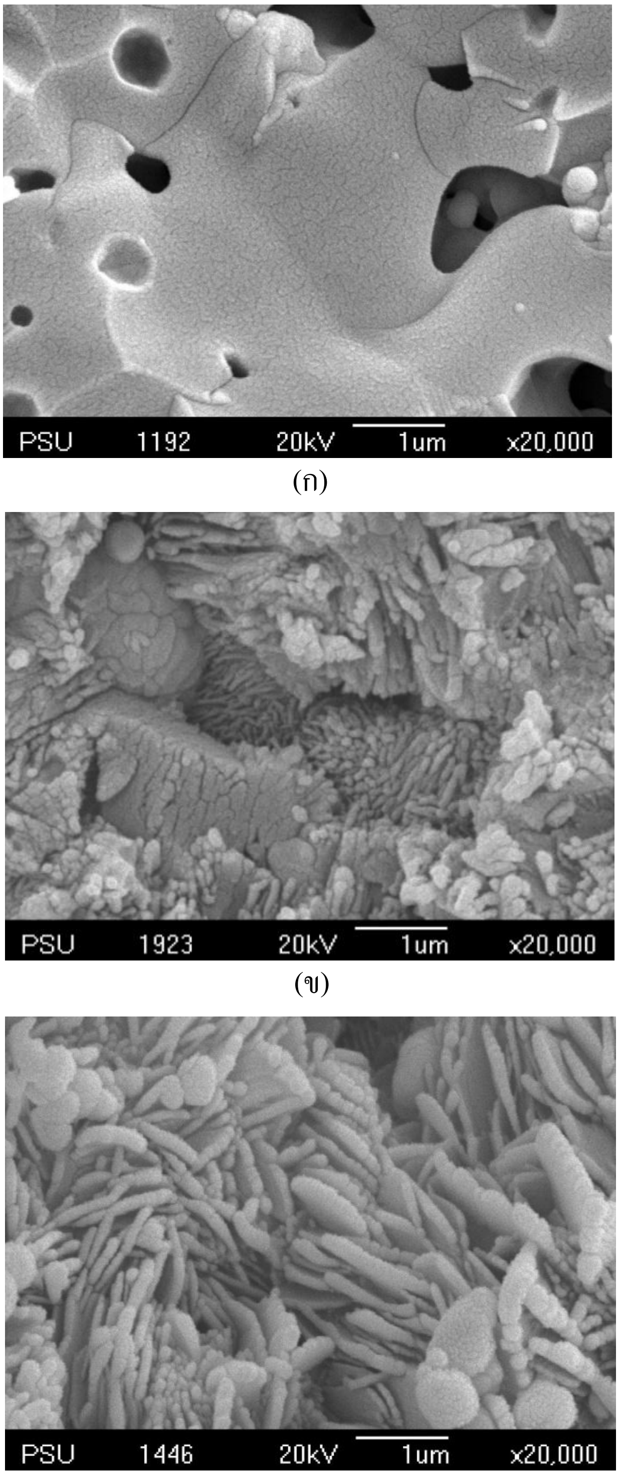

PSU 1189 20kV 1um x20,000
PSU 1916 20kV 1um x20,000
PSU 1443 20kV 1um x20,000

(ก)

(ข)

(ค)

ภาพประกอบที่ 4.19 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค)


PSU 1192 20kV 1um x20,000
PSU 1923 20kV 1um x20,000
PSU 1446 20kV 1um x20,000

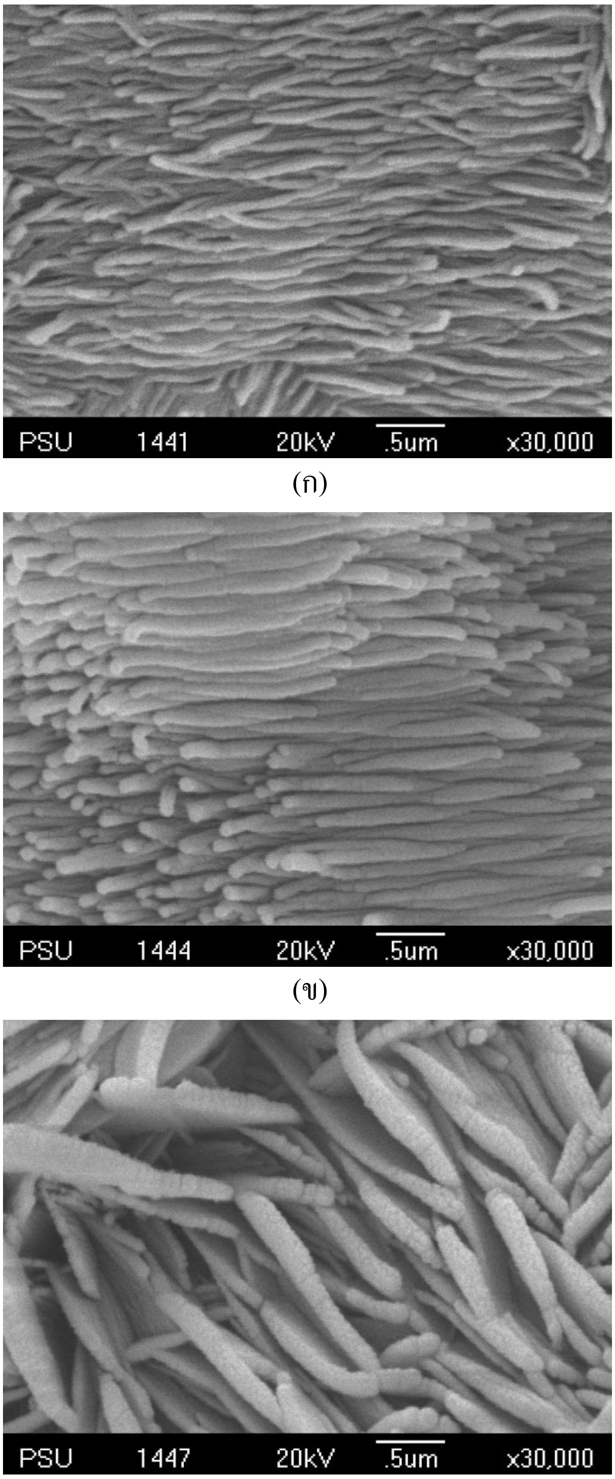
(ก)

(ข)

(ค)

ภาพประกอบที่ 4.20 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน (ข) และ 7 วัน (ค)

จากภาพประกอบที่ 4.18, 4.19 และ 4.20 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีอัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA ต่างกันและผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ในสารละลาย PBS จะมีลักษณะเรียบ แต่เมื่อผ่านการแช่เป็นเวลา 3 วัน พื้นผิวจะเริ่มมีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์ โดยสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 ผลึกแอพาไทต์จะเริ่มก่อตัวบริเวณขอบเกรนซึ่งเห็นได้ชัดเจนในสูตร HA/Zr 10 (ภาพประกอบที่ 4.19 (ข)) ส่วนสูตร HA/Zr 2 จะเริ่มก่อตัวตลอดทั้งเกรนในลักษณะเป็นแผ่น (ภาพประกอบที่ 4.20 (ข)) และเมื่อผ่านการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าจะมีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์เกือบสมบูรณ์ทั้ง 3 สูตร โดยแต่ละสูตรมีลักษณะของผลึกแอพาไทต์แตกต่างกัน (ภาพประกอบที่ 4.21) โดยในสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 (ภาพประกอบที่ 4.18 และ 4.19 (ค)) ผลึกแอพาไทต์ที่ได้จะมีรูปร่างเหมือนกัน คือ คล้ายตัวหนอนที่มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ แต่สูตร HA/Zr 10 จะมีขนาดของผลึกแอพาไทต์ใหญ่กว่าสูตร HA/Zr 100 ส่วนสูตร HA/Zr 2 (ภาพประกอบที่ 4.20 (ค)) จะมีรูปร่างของผลึกแอพาไทต์แตกต่างออกไปอย่างชัดเจน กล่าวคือ เป็นแผ่นซ้อนกัน แสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์เพิ่มขึ้นมีผลทำให้การก่อตัวของผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีขึ้น


PSU 1441 20kV .5um x30,000
PSU 1444 20kV .5um x30,000
PSU 1447 20kV .5um x30,000

(ก)

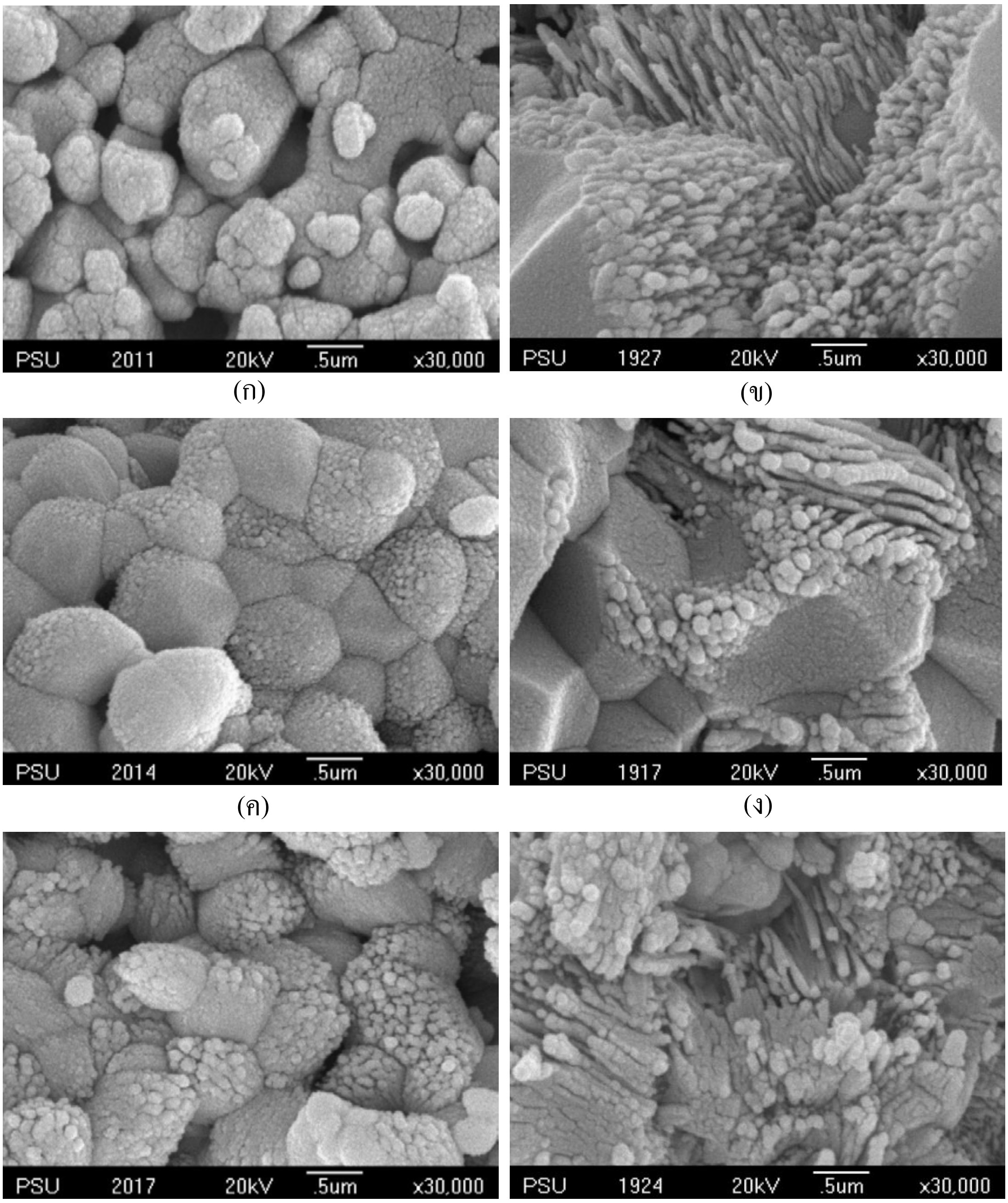
(ข)

(ค)

ภาพประกอบที่ 4.21 เปรียบเทียบรูปร่างแอพาไทต์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) และสูตร HA/Zr 2 (ค)

ค. ผลของอุณหภูมิที่ใช้เผาซินเตอร์ที่มีต่อความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์

โครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลายเป็นเวลา 3 วัน แสดงในภาพประกอบที่ 4.22 พบว่าที่อุณหภูมิการเผาซินเตอร์ 1250°C การก่อตัวของผลึกแอพาไทต์จะเกิดขึ้นได้ดีกว่าเมื่อเผาซินเตอร์ที่ 1150°C สังเกตได้จากสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 ที่อุณหภูมิการเผาซินเตอร์ 1250°C (ภาพประกอบที่ 4.22 (ข) และ (ง)) จะเริ่มมีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์บริเวณขอบเกรนที่มีลักษณะคล้ายตัวหนอนอย่างชัดเจน ส่วนเมื่อเผาซินเตอร์ที่ 1150°C (ภาพประกอบที่ 4.22 (ก) และ (ค)) จะมีการบวมตัวของพื้นผิวและเริ่มเกิดผลึกแอพาไทต์เป็นทรงกลมขนาดเล็กบริเวณผิวของเกรนเท่านั้น ส่วนสูตร HA/Zr 2 พบว่าเมื่อเผาซินเตอร์ที่ 1250°C (ภาพประกอบที่ 4.22 (ฉ)) จะมีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์ตลอดทั้งเกรนลักษณะเป็นแผ่นซึ่งแตกต่างจากเผาซินเตอร์ที่ 1150°C (ภาพประกอบที่ 4.22 (จ)) ซึ่งผลึกแอพาไทต์ที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นทรงกลมบริเวณผิวของเกรน ทั้งนี้เป็นผลมาจากสูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน เกิดการฟอร์มตัวเป็นผลึกแอพาไทต์ที่มีรูปผลึกแตกต่างกัน จึงน่าจะเป็นแอพาไทต์ต่างชนิดกันยืนยันผลด้วยเทอร์โมแกรม (TGA) ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 หลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C ในภาพประกอบที่ 4.23

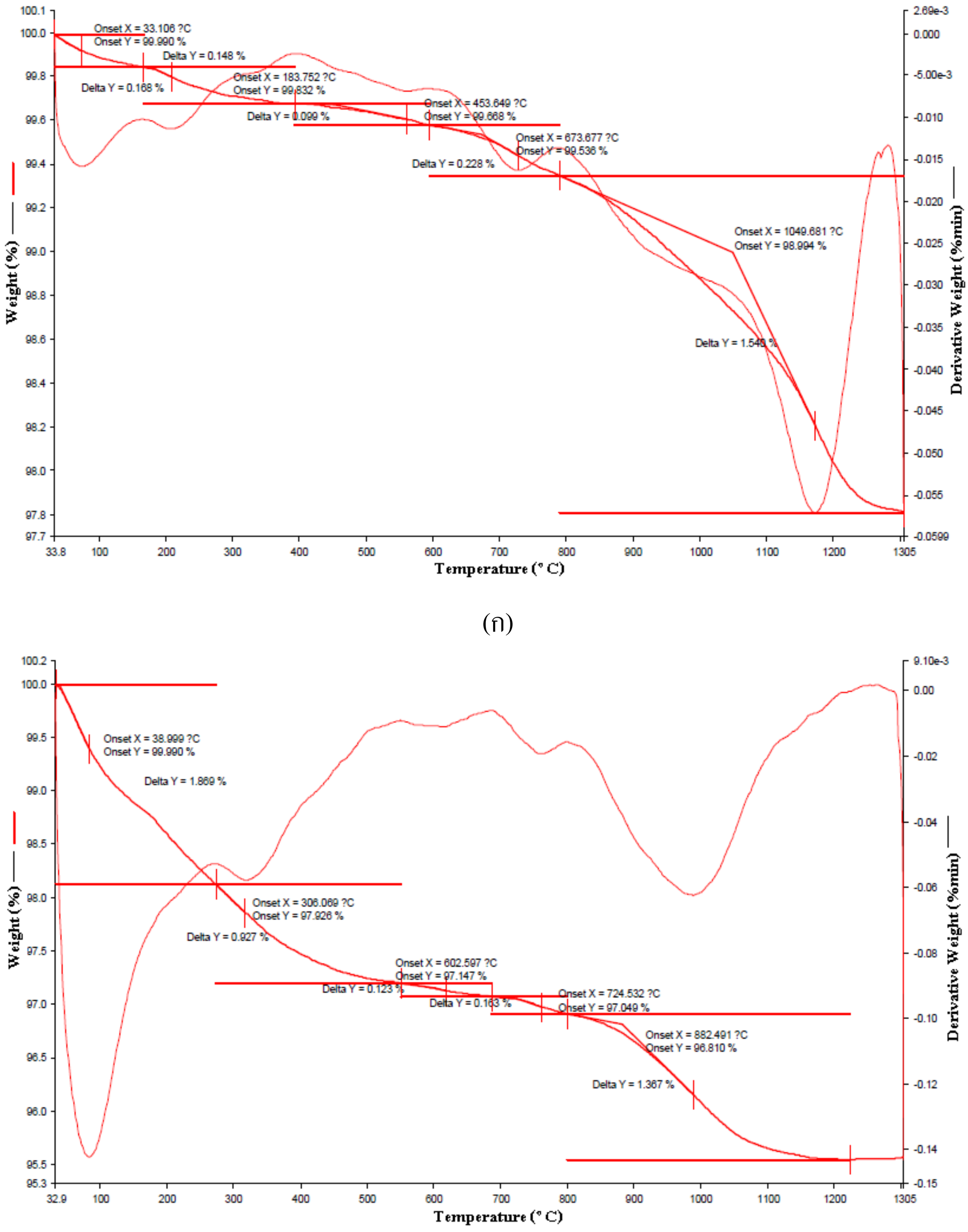

PSU 2011 20kV .5um x30,000
PSU 1927 20kV .5um x30,000
PSU 2014 20kV .5um x30,000
PSU 1917 20kV .5um x30,000
PSU 2017 20kV .5um x30,000
PSU 1924 20kV .5um x30,000

(ก) (ข)

(ค) (ง)

(จ) (ฉ)

ภาพประกอบที่ 4.22 เปรียบเทียบความว่องไวทางชีวภาพภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วันของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 100 (ก และ ข) สูตร HA/Zr 10 (ค และ ง) และสูตร HA/Zr 2 (จ และ ฉ) เมื่อผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C (ก ค และ จ) หรือที่ 1250°C (ข ง และ จ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



(ก)

(ข)

ภาพประกอบที่ 4.23 เทอร์โมแกรม (TGA) ของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C (ก) หรือ 1250°C (ข) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน
]]>

ตารางที่ 4.10 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียไปของเทอร์โม - แกรมของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน

อุณหภูมิการเผาซินเตอร์ที่ (°C)	ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลง (°C)	% น้ำหนักที่สูญเสีย
1150	33.11 - 175.00	0.148
	183.75 - 399.00	0.168
	453.65 - 600.00	0.099
	673.68 - 785.00	0.228
	1049.68 - 1305.00	1.540
1250	39.00 - 285.00	1.869
	306.07 - 550.00	0.927
	602.60 - 690.00	0.123
	724.53 - 800.00	0.163
	882.49 - 1225.00	1.367

จากภาพประกอบที่ 4.23 และตารางที่ 4.10 พบว่าลักษณะเทอร์โมแกรมของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C และ 1250°C มีเสถียรทางความร้อนแตกต่างกัน โดยเมื่อซินเตอร์ที่ 1150°C ผลึกแอพาไทต์ที่เกิดขึ้นมีการสลายตัวในช่วงอุณหภูมิ 1049.68 - 1305.00°C ซึ่งสูงกว่าแอพาไทต์ที่เกิดบนโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C จะมีการสลายตัวในช่วงอุณหภูมิ 882.49 - 1225.00°C แสดงให้เห็นได้ว่าผลึกแอพาไทต์ของโครงเลี้ยงเซลล์ สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C และ 1250°C เป็นแอพาไทต์คนละชนิดกัน

ง. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ด้วยเทคนิค XRD

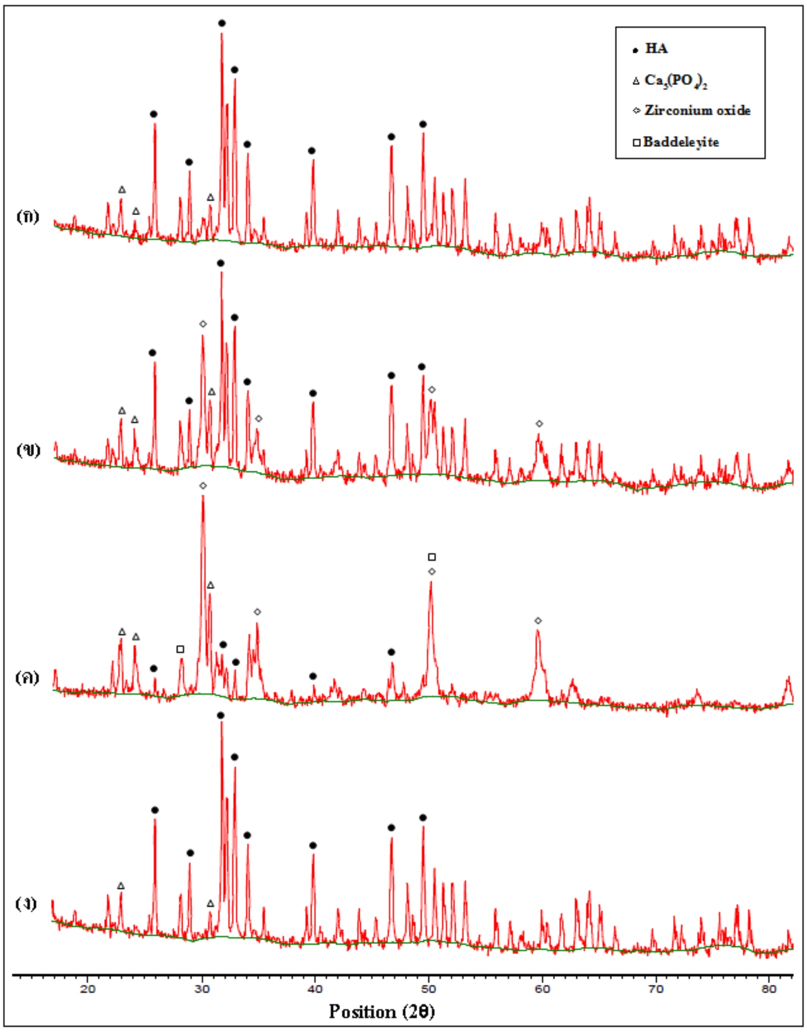
ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD แสดงในตารางที่ 4.11 พบว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ซึ่งผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีบางส่วนสลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต โดยยังคงมีไฮดรอกซีแอพาไทต์บางส่วนที่ยังไม่มีการสลายตัว นอกจากนี้ไม่สามารถทราบได้ว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์มีการสลายเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตในปริมาณเท่าไร ดังสมการ [30,33,42]

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \longrightarrow Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x} + xCa_3(PO_4)_2 + xCaO + xH_2O$$

พบว่าสูตร HA/Zr 100 สูตร HA/Zr 10 และสูตร HA/Zr 2 เกิดผลลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ ไฮดรอกซีแอพาไทต์บางส่วน สลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ส่วนสูตร HA/Zr 100 ไม่พบเฟสของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ สูตร HA/Zr 10 เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ไม่มีการเปลี่ยนเฟส ส่วนสูตร HA/Zr 2 พบเซอร์โคเนียมไดออกไซด์บางส่วนเปลี่ยนเป็น แบดเดลเลไอต์ (Baddeleyite) ซึ่งก็คือการเปลี่ยนเฟสจากเตตระโกนอลเป็นโมโนคลินิก นอกจากนี้เมื่อแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 มีเฟสของสารองค์ประกอบเหมือนกับก่อนการแช่ ส่วนสูตร HA/Zr 2 ก็เช่นเดียวกันเพียงแต่ไม่มีเฟสของ เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ปรากฏให้เห็น โดยสามารถดูได้จากตารางที่ 4.10 และแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ดังภาพประกอบที่ 4.24 และ 4.25

ตารางที่ 4.11 ผลการตรวจสอบเฟสของไฮดรอกซีแอพาไทต์และโครงเลี้ยงเซลล์ในสูตรต่างๆที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังแช่ในสารลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

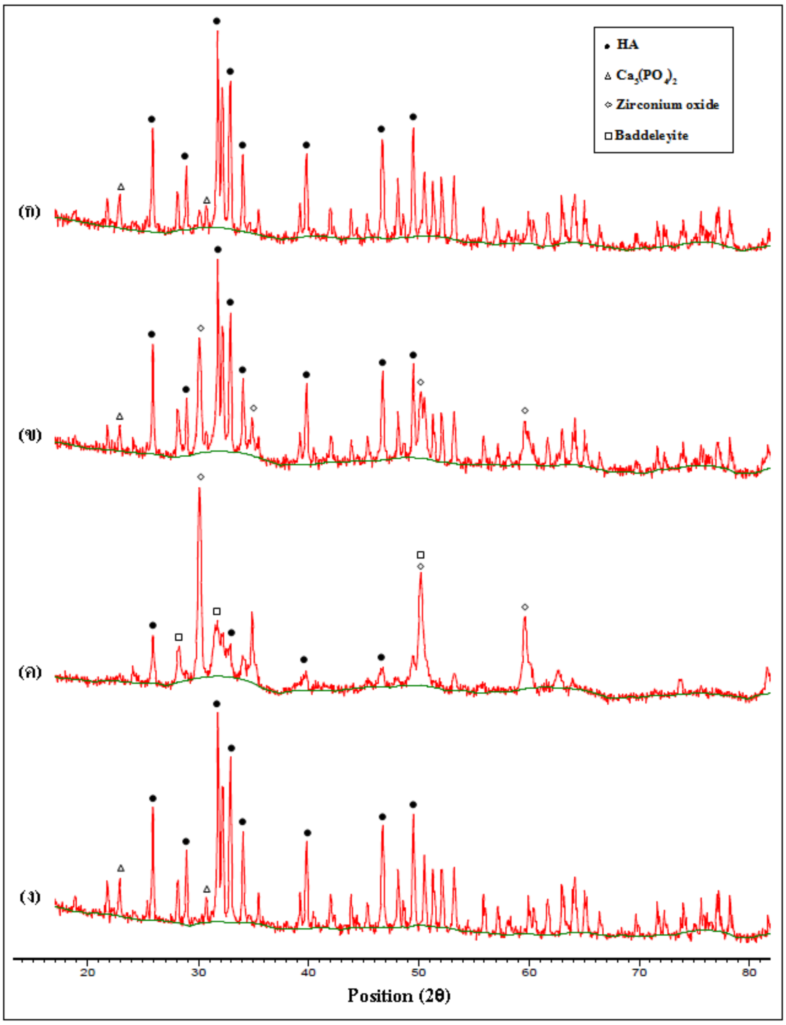
	สูตร	ชื่อทางเคมี	สูตรทางเคมี
ก่อนแช่	HA	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$
	HA/Zr 100	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$
	HA/Zr 10	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate Zirconium Oxide	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$ ZrO_2
	HA/Zr 2	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate Zirconium Oxide Baddeleyite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$ ZrO_2 ZrO_2
หลังแช่	HA/Zr 100	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate Zirconium Oxide	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$ ZrO_2
	HA/Zr 10	Hydroxyapatite ß-Tricalcium Phosphate Zirconium Oxide	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ $Ca_3(PO_4)_2$ ZrO_2
	HA/Zr 2	Hydroxyapatite Zirconium Oxide Baddeleyite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ZrO_2 ZrO_2



ภาพประกอบที่ 4.24 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ในสารลาย PBS สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) และไฮดรอกซีแอพาไทต์ (ง)

จากภาพประกอบที่ 4.24 และตารางที่ 4.11 เมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์เพิ่มขึ้นไฮดรอกซีแอพาไทต์จะสลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นด้วย [35,38] เห็นได้จากทุกสูตรมีอินเทนซิตี้ (intensity) ของพีคเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น โดยสูตร HA/Zr 2 พีคของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตจะมีอินเทนซิตี้มากที่สุดแสดงว่ามีไฮดรอกซีแอพาไทต์สลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมากที่สุด ซึ่งตำแหน่งที่เห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนคือ 24.1, 30.8, 31.8 และ 32.9 องศา ส่วนสูตร HA/Zr 100 ไม่พบพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ สูตร HA/Zr 10 และสูตร HA/Zr 2 พบพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของ

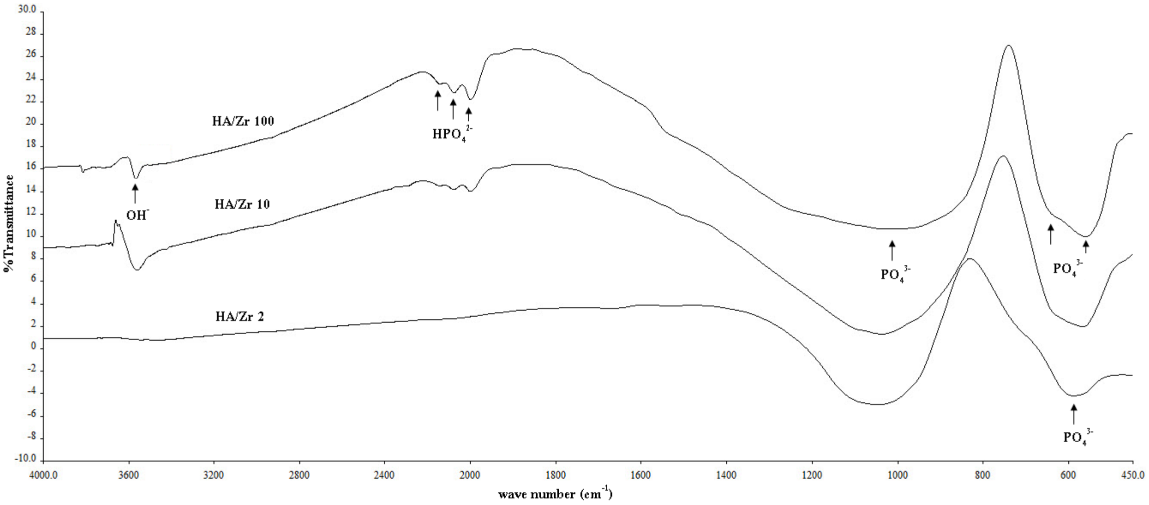
เซอร์โคเนียมไดออกไซด์ซึ่งมีอินเทนซิตี้ของพีคค่อยๆ เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน สังเกตได้ชัดเจนที่ตำแหน่ง 30, 34.5 และ 59.4 องศา โดยสูตร HA/Zr 2 มีอินเทนซิตี้ของพีคเซอร์โคเนียมไดออกไซด์มากที่สุด แสดงว่ามีปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์มากที่สุด และมีเซอร์โคเนียมไดออกไซด์บางส่วนเปลี่ยนโครงสร้างผลึกเป็น แบดเดลเลไอต์ เนื่องจากพบพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของแบดเดลเลไอต์ สังเกตได้ที่ตำแหน่ง 28.27, 34.2 และ 50.2 องศา



ภาพประกอบที่ 4.25 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน สูตร HA/Zr 100 (ก) สูตร HA/Zr 10 (ข) สูตร HA/Zr 2 (ค) ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (ง)

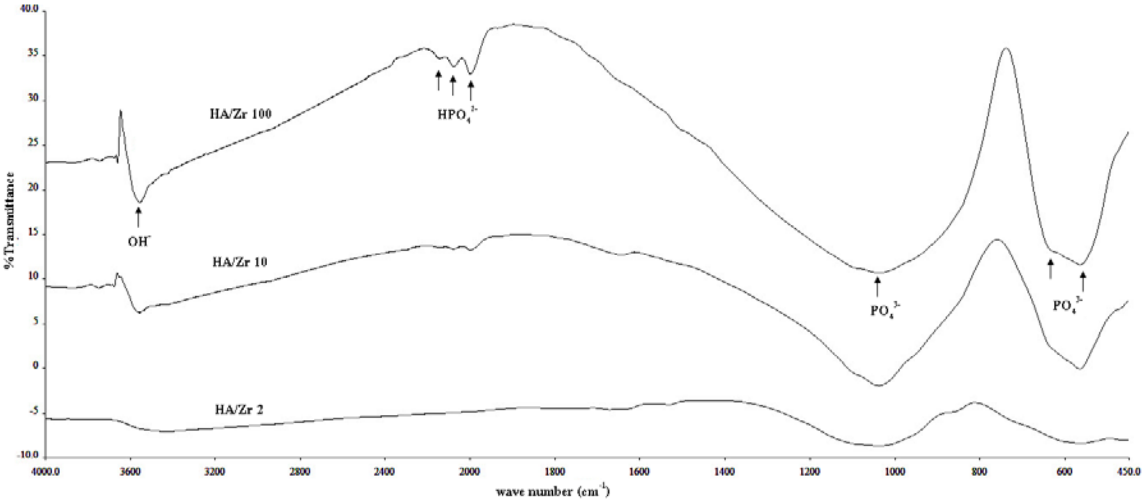
จากภาพประกอบที่ 4.25 และตารางที่ 4.11 พบว่าพีคของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตของสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 ลดลง สังเกตเห็นได้ชัดเจนที่ตำแหน่ง 24.1 และ 31.8 องศา โดยสูตร HA/Zr 2 ไม่พบพีคที่ตรงกับแพทเทิร์นของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ส่วนสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 ปรากฏพีคของไฮดรอกซีแอพาไทต์มีอินเทนซิตี้ของพีคมาก แสดงว่าความเป็นผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์มีมาก แต่สูตร HA/Zr 2 มีอินเทนซิตี้ของพีคไฮดรอกซีแอพาไทต์ต่ำแสดงว่ามีความเป็นผลึกของไฮดรอกซีแอพาไทต์น้อย สังเกตเห็นได้ที่ตำแหน่ง 31.8, 32.9 และ 34 องศา นอกจากนี้ยังพบว่าทุกสูตรมีพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ โดยที่สูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 พบพีคที่มีอินเทนซิตี้ต่ำในตำแหน่งที่ 30.8 องศา ส่วนสูตร HA/Zr 2 พบพีคที่มีอินเทนซิตี้สูงในตำแหน่ง 30, 34.9 และ 50.1 องศา และพบพีคที่สอดคล้องกับแพทเทิร์นของแบดเดลเลไอต์ด้วย

จ. ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ด้วยเทคนิค FTIR



ภาพประกอบที่ 4.26 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ในสารละลาย PBS

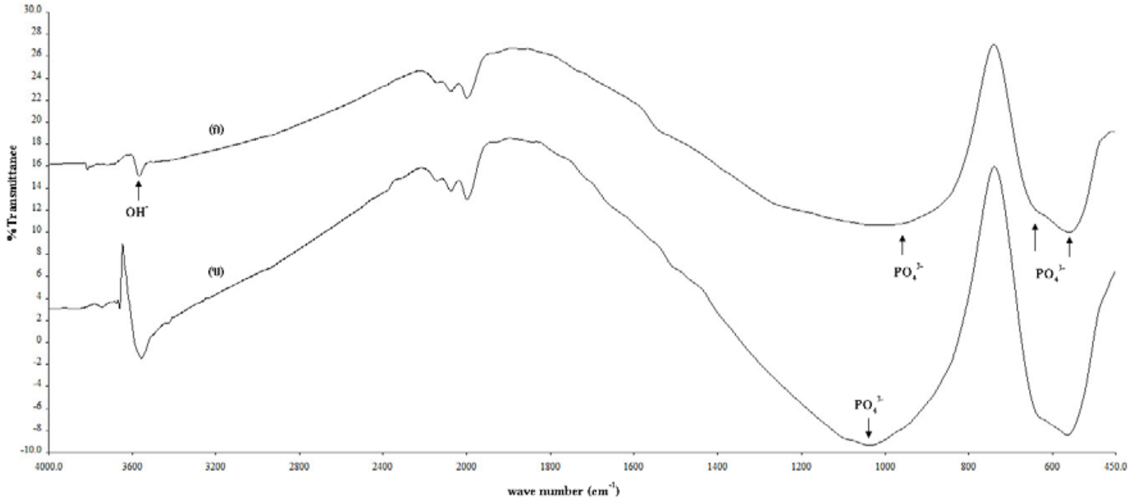
จากภาพประกอบที่ 4.26 พบว่าสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 พบพีคของหมู่ hydroxyl (OH^-) ที่มีการสั่นแบบ bending ที่ 3575 cm^{-1} [24,33] หมู่ HPO_4^{2-} ในช่วง 2200 – 2000 cm^{-1} [43] และหมู่ phosphate (PO_4^{3-}, พันธะ O-P-O) ที่มีการสั่นแบบ bending (v_4) [38] จะพบที่เลขคลื่นเดียวกันคือ 582 และ 620 cm^{-1} ส่วนเลขคลื่นที่ 961 cm^{-1} จะเป็นหมู่ tetrahedral phosphate (PO_4^{3-}, พันธะ P-O) ที่มีการสั่นแบบ symmetric stretching (v_1) ของสูตร HA/Zr 100 และ 1054 cm^{-1} เป็นหมู่ phosphate (PO_4^{3-}, พันธะ P-O) ที่มีการสั่นแบบ asymmertric stretching (v_3) ของสูตร HA/Zr 10 [44] จากที่กล่าวมา ทำให้ทราบได้ว่าสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 มีสเปกตรัมที่ระบุถึงโครงสร้างผลึกไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่ประกอบด้วยพันธะ O-H และ P-O และพีคของหมู่ HPO_4^{2-} จะระบุถึงไฮดรอกซีแอพาไทต์บางส่วนที่สลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต โดยสูตร HA/Zr 100 มีความลึกของพีคมากกว่าสูตร HA/Zr 10 แสดงให้เห็นว่าสูตร HA/Zr 100 มีไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สลายตัวเป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตแต่สลายตัวได้ไม่สมบูรณ์มากกว่าสูตร HA/Zr 10 ซึ่งหมู่ HPO_4^{2-} จะไม่ปรากฏในสูตร HA/Zr 2 ที่พบเพียงแต่พีคของหมู่ phosphate ที่มีการสั่นแบบ bending (v_4) ที่ 594 cm^{-1} และการสั่นแบบ asymmertric stretching (v_3) ที่ 1054 cm^{-1} โดยไม่ปรากฏพีคของหมู่ hydroxyl แสดงให้เห็นว่าในสูตร HA/Zr 2 เกิดการสลายตัวของไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ประกอบด้วยพันธะ P-O เกือบจะสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่ฟอสเฟตในช่วงระหว่าง 1200 - 900 cm^{-1} ทั้ง 3 สูตรจะเกิดการสั่นของพันธะเคมีที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าหมู่ฟอสเฟตมีความแข็งแรงของพันธะเคมีที่แตกต่างกัน โดยสูตร HA/Zr 10 และสูตร HA/Zr 2 การสั่นของพันธะเคมีเป็นแบบ asymmertric stretching ซึ่งจะมีความแข็งแรงของพันธะเคมีมากกว่าสูตร HA/Zr 10 ที่มีการสั่นแบบ symmetric stretching



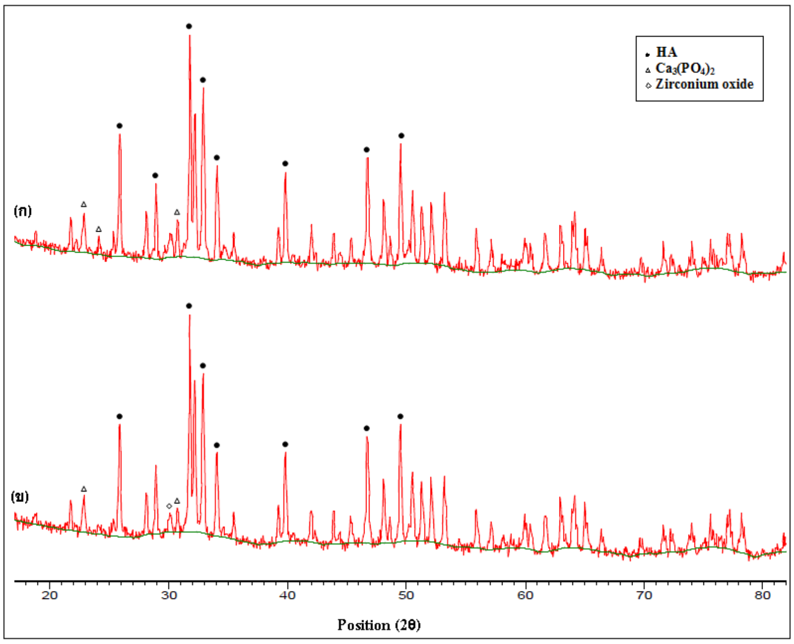
ภาพประกอบที่ 4.27 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

จากภาพประกอบที่ 4.27 พบว่าพีคในช่วงเลขคลื่น 1200 - 900 cm^{-1} ซึ่งตรงกับหมู่ PO_4^{3-} เมื่อเทียบกับก่อนแช่ในสารละลาย PBS (ภาพประกอบที่ 2.26) มีความแตกต่างกัน โดยสูตร HA/Zr 100 จะมีการเลื่อนตำแหน่งของพีคก่อนแช่ที่ 961 cm^{-1} เป็น 1054 cm^{-1} ภายหลังการแช่ แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของหมู่ PO_4^{3-} และมีการฟอร์มตัวขึ้นใหม่ทำให้พันธะมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น สูตร HA/Zr 10 พีคหลังการแช่จะมีความลึกเพิ่มมากขึ้น แสดงว่ามีหมู่ PO_4^{3-} เพิ่มมากขึ้น และสูตร HA/Zr 2 พีคหลังการแช่จะมีความลึกลดลง ซึ่งพีคของหมู่ PO_4^{3-} ที่ 594 cm^{-1} ก็แสดงผลเช่นเดียวกัน แสดงว่าหมู่ PO_4^{3-} มีปริมาณลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าพีคของหมู่ OH^- และ PO_4^{3-} ของสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 มีความลึกของพีคมากกว่าสูตร HA/Zr 2 ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากสูตร HA/Zr 100 และสูตร HA/Zr 10 มีปริมาณหมู่ OH^- และ PO_4^{3-} มากกว่าสูตร HA/Zr 2 แสดงว่ามีปริมาณไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มากกว่า

ฉ. ผลการเปรียบเทียบโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

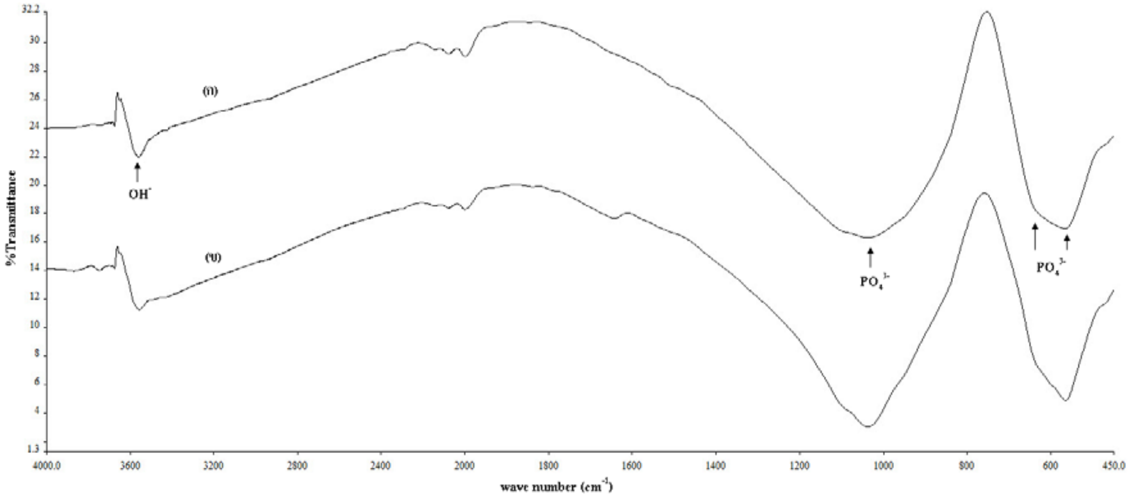


ภาพประกอบที่ 4.28 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข)

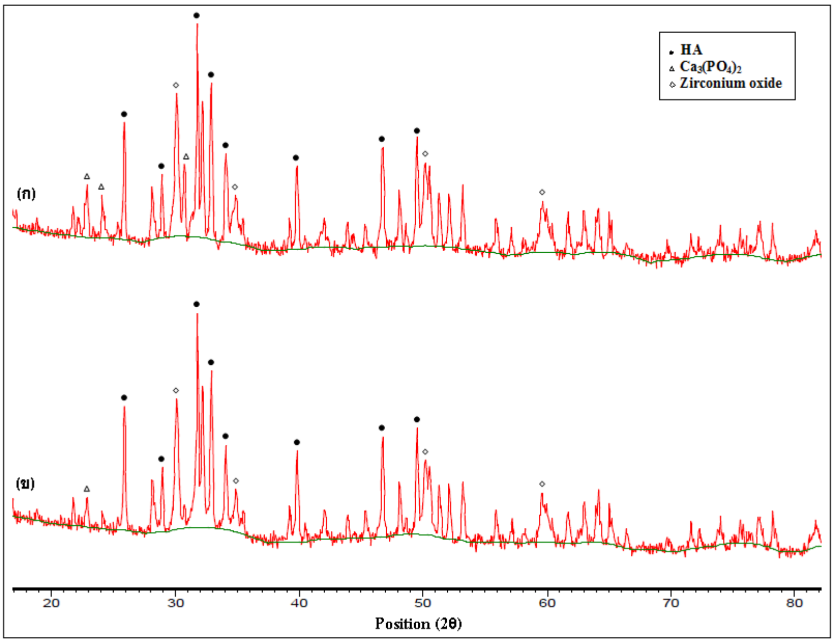


ภาพประกอบที่ 4.29 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข)

จากภาพประกอบที่ 4.28 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่จะมีหมู่ PO_4^{3-} ที่ 961 cm^{-1} แต่ภายหลังการแช่พีคจะเปลี่ยนเป็น 1054 cm^{-1} แสดงให้เห็นว่าหมู่ PO_4^{3-} มีการเปลี่ยนแปลงพันธะเคมี คือ มีการสลายตัวของหมู่ PO_4^{3-} ที่ 961 cm^{-1} และมีการฟอร์มตัวใหม่เป็น 1054 cm^{-1} ซึ่งทำให้มีพันธะมีความแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่ OH^- และ PO_4^{3-} ภายหลังการแช่พีคมีความลึกเพิ่มขึ้นแสดงว่ามีการสลายตัวเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและฟอร์มตัวเป็นแอพาไทต์มากขึ้น ยืนยันผลอีกครั้งด้วยเทคนิค XRD (ภาพประกอบที่ 4.29) พบว่าพีคของเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตตำแหน่งที่ 24.1 และ 30.8 องศา มีอินเทนซิตี้ลดลงเล็กน้อย

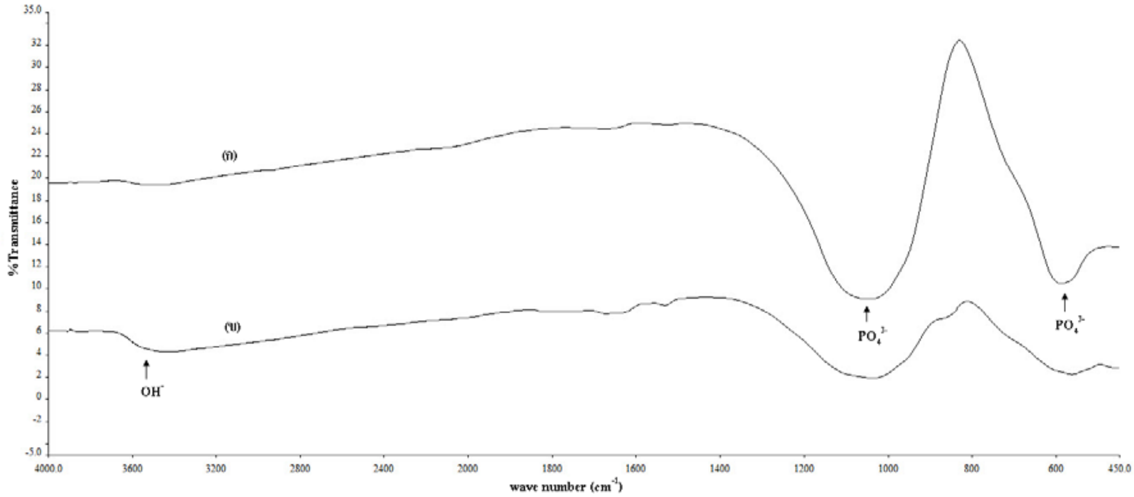


ภาพประกอบที่ 4.30 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข)

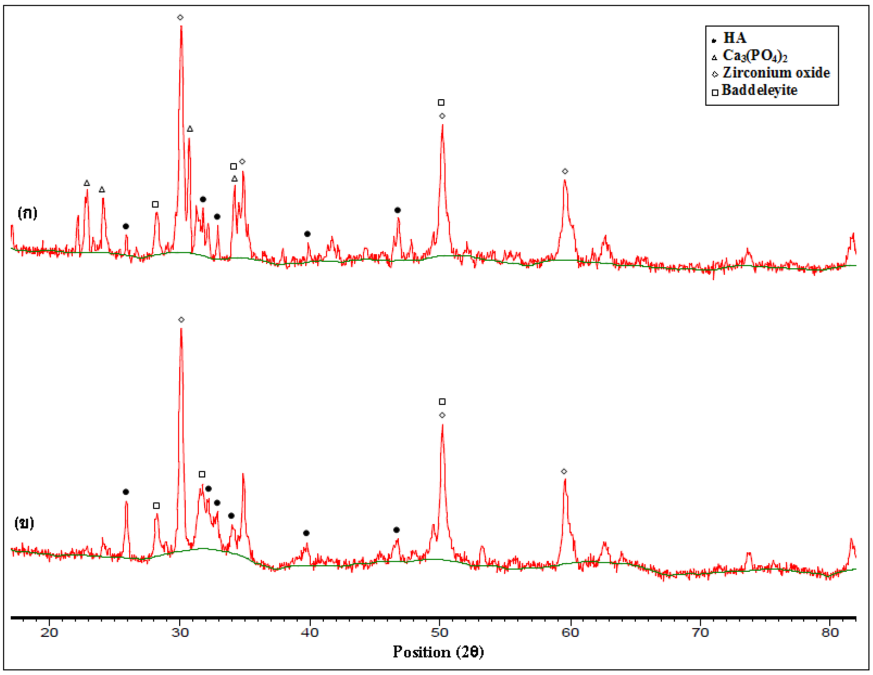


ภาพประกอบที่ 4.31 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข)

จากภาพประกอบที่ 4.30 พบหมู่ PO_4^{3-} ที่ 582, 620 และ 1054 cm^{-1} ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS มีความลึกของพีคเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีการสลายตัวและฟอร์มเป็นแอพาไทต์มากขึ้น ยืนยันผลด้วยเทคนิค XRD (ภาพประกอบที่ 4.31) โดยไม่ปรากฏพีคที่ตำแหน่ง 24.1 และ 30.8 องศาของเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วันแสดงได้ว่าเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีการสลายตัว



ภาพประกอบที่ 4.32 สเปกตรัม FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็น7 วัน (ข)



ภาพประกอบที่ 4.33 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (ข)

จากภาพประกอบที่ 4.32 พบพีคของหมู่ OH^- ที่ 3575 cm^{-1} ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS มีความลึกของพีคเพิ่มขึ้น ส่วนหมู่ PO_4^{3-} ที่ 594 และ 1054 cm^{-1} ภายหลังการแช่มีความลึกของพีคลดลงอย่างมาก แสดงให้เห็นว่าเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีการสลายตัวและฟอร์มเป็นแอพาไทต์ทั้งหมด ยืนยันผลอีกครั้งด้วยเทคนิค XRD (ภาพประกอบที่ 4.33) นั่นคือไม่ปรากฏพีคของเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 หลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

ผลการทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ภายหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถอธิบายการฟอร์มตัวของแอพาไทต์บนพื้นผิวแคลเซียมฟอสเฟตในสารละลาย PBS โดยอาศัยทฤษฎีเกี่ยวกับ สมดุลทางไดนามิกส์ (dynamic equilibrium) การละลาย (dissolution) และการสะสม (deposition) ตามลำดับ [45]

แคลเซียมฟอสเฟตเมื่อแช่ในสารละลาย PBS ที่ปราศจาก Ca^{2+} พื้นผิวของแคลเซียมฟอสเฟตจะมีการละลายทำให้ความเข้มข้นของ Ca^{2+} และ PO_4^{3-} ในสารละลายมีค่าสูงขึ้นจนกระทั่งความเข้มข้นของไอออนในสารละลายมีความอิ่มตัว (supersaturated) จึงเริ่มมีการตกตะกอนบนพื้นผิวของแคลเซียมฟอสเฟตและเกิดการฟอร์มตัวเป็นผลึกแอพาไทต์ [45] ดังสมการ [46]

$$5Ca^{2+} + 3PO_4^{3-} + OH^- \longrightarrow Ca_5(PO_4)_3OH$$

เห็นได้จากการวิเคราะห์ XRD และ FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์ภายหลังผ่านการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งพบว่าภายหลังการแช่มีพีคการกระเจิงของรังสีเอ็กซ์ของไฮดรอกซีแอพาไทต์เพิ่มขึ้นและมีหมู่ OH^- ปรากฏเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อมีการละลายของพื้นผิวแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องก็จะเป็นการเพิ่ม Ca^{2+} และ PO_4^{3-} ในสารลาย PBS จึงมีการสะสมผลึกแอพาไทต์บนพื้นผิวเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นกัน ดังนั้นผลึกแอพาไทต์จะมีการเติบโตเป็นผลึกที่มีขนาดใหญ่ขึ้น [25,45] เห็นได้จากโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วันในภาพประกอบที่ 4.13, 4.14 และ 4.15

นอกจากนี้พบว่าเมื่อปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์และอุณหภูมิในการเผาซินเตอร์เพิ่มขึ้นจะมีการตกผลึกของแอพาไทต์ได้ดีขึ้นด้วย ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่ามีการสลายตัวของไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 หลังการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งพบว่ามีผลึกแอพาไทต์ที่แตกต่างจากสูตรอื่นๆ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากโครงเลี้ยงเซลล์สูตรนี้มีการสลายตัวของไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเกือบทั้งหมด ดูได้จากการวิเคราะห์ XRD และ FTIR ก่อนการแช่ในสารละลาย PBS พบว่าที่อุณหภูมิในการเผาซินเตอร์เดียวกัน (1250°C) พีคของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะต่ำกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ในสูตรอื่นๆ และการวิเคราะห์ FTIR ก็พบว่าหมู่ OH^- ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 นี้ปรากฏไม่ชัดเจน โดย Yiping Tian และคณะ [45] ค้นพบว่าการละลาย (dissolution) ของพื้นผิวแคลเซียมฟอสเฟตเป็นปัจจัยหนึ่งในการฟอร์มตัวของผลึกแอพาไทต์

โดยไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีค่า Ksp = $10^{-117.1}$ ซึ่งเป็นค่าการละลายที่ต่ำกว่าไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มีค่า Ksp = $10^{-25.5}$ เมื่อไฮดรอกซีแอพาไทต์ถูกแช่ในสารละลาย PBS ที่ปราศจาก Ca^{2+} จึงเป็นไปได้ยากกว่าที่ความเข้มข้นของไอออนในสารละลายจะมีค่าสูงถึงสภาวะที่ก่อให้เกิดผลึกแอพาไทต์ เป็นเหตุผลให้ไฮดรอกซีแอพาไทต์เกิดการฟอร์มตัวเป็นผลึกแอพาไทต์ได้ช้ากว่าไตรแคลเซียมฟอสเฟต สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ได้ว่าที่ปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์และอุณหภูมิการเผาซินเตอร์ต่ำจะมีสัดส่วนไฮดรอกซีแอพาไทต์มากกว่าเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟต จึงทำให้เกิดผลึกแอพาไทต์ได้ช้ากว่าที่ปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์และอุณหภูมิการเผาซินเตอร์สูงที่มีสัดส่วนเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมากกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล -เจล และเตรียมเป็นสารผสมระหว่างไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้กับเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ในอัตราส่วนโดยโมล ZrO_2/HA ต่างๆ ได้แก่ 0.01, 0.1 และ 0.5 โดยกำหนดเป็นสูตร HA/Zr 100 HA/Zr 10 และ HA/Zr 2 ตามลำดับ จากนั้นทำการขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเทคนิคจุ่มเคลือบและเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถสรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะได้ดังนี้

สรุปผล

ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอพาไทต์ด้วยวิธีโซล -เจลและเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าผลผลิตที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคนาโนของไฮดรอกซีแอพาไทต์ที่มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาด 191.86 ± 38.82 นาโนเมตร และมีสัดส่วน Ca/P เท่ากับ 2.66

ในส่วนโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ภายหลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150°C หรือ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สรุปผลได้ดังนี้

1. ปัจจัยของปริมาณเซอร์โคเนียมไดออกไซด์ (ZrO_2)

1.1 เมื่อปริมาณ ZrO_2 เพิ่มขึ้น สารผสมจะสามารถทนความร้อนได้สูงกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ เนื่องมาจาก ZrO_2 มีความเสถียรทางความร้อนสูง แต่เมื่อปริมาณ ZrO_2 สูงถึงค่าหนึ่ง (สูตร HA/Zr 2) จะพบว่าสารผสมจะทนความร้อนได้ต่ำกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์บริสุทธิ์ เนื่องจาก ZrO_2 บางส่วนมีการเปลี่ยนเฟสเป็นแบดเดลเลไอต์

1.2 เมื่อปริมาณ ZrO_2 เพิ่มขึ้น ขนาดเกรนและรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์จะมีขนาดเล็กลง เนื่องจากอนุภาค ZrO_2 มีความเสถียรทางความร้อนสูงกว่าอนุภาคของไฮดรอกซีแอพาไทต์จึงไม่หลอมรวมกับอนุภาคของไฮดรอกซีแอพาไทต์และขัดขวางไม่ให้หลอมติดกันเป็นเกรนขนาดใหญ่

1.3 เมื่อปริมาณ ZrO_2 เพิ่มขึ้นจะทำให้การก่อตัวของผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีขึ้น เนื่องจากปริมาณ ZrO_2 ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้มีการสลายตัวของไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น โดยเบต้า -ไตรแคลเซียมฟอสเฟต มีค่าการละลายสูงกว่าไฮดรอกซีแอพาไทต์จึงทำให้การก่อตัวเป็นผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีกว่า

2. ปัจจัยของอุณหภูมิในการเผาซินเตอร์

2.1 เมื่ออุณหภูมิในการเผาซินเตอร์เพิ่มขึ้นอนุภาคของไฮดรอกซีแอพาไทต์จะหลอมติดกันเป็นเกรนที่มีขนาดใหญ่กว่าการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้เนื้อโครงเลี้ยงเซลล์มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น

2.2 เมื่ออุณหภูมิการเผาซินเตอร์สูงขึ้น การสลายตัวของไฮดรอกซีแอพาไทต์เป็นเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตจะเพิ่มมากขึ้น และทำให้การก่อตัวเป็นผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีกว่าการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิต่ำ

ดังนั้นพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 เผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะมีการก่อตัวเป็นผลึกแอพาไทต์เกิดได้ดีที่สุด แต่เนื่องจากรูปร่างผลึกแอพาไทต์ที่แตกต่างกันระหว่างสูตร HA/Zr 10 และสูตร HA/Zr 2 จากการเผาซินเตอร์ที่ 1250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อาจทำให้การยึดเกาะของเซลล์และสมบัติอื่นๆ แตกต่างกัน ทั้งสองสูตรจึงเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาและทดสอบสมบัติอื่นๆ เช่น การยึดเกาะของเซลล์ ความเป็นพิษต่อร่างกาย เป็นต้น เพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพและเกิดผลดีที่สุด

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้ในงานวิจัยนี้ ทำให้ได้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมที่จะนำไปสู่การวิจัยและการประยุกต์ใช้งานต่อไป ดังนี้

1. ปรับเปลี่ยนวิธีการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์และสารสร้างรูพรุนด้วยวิธีอื่น เช่น ใช้เครื่องอัด ไฮดรอลิกในการอัดขึ้นรูป เพื่อที่จะได้โครงเลี้ยงเซลล์ที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และสามารถนำไปใช้ในกระดูกส่วนที่รับน้ำหนักได้ เนื่องจากการขึ้นรูปด้วยเทคนิคจุ่มเคลือบโดยใช้ใยบวบเป็นแม่แบบ สามารถรับน้ำหนักได้น้อยเนื่องจากมีความพรุนสูงจึงเหมาะสำหรับนำไปใช้ในส่วนของกระดูกพรุน (spongy bone)

2. นำไปประยุกต์ใช้กับระบบนำส่งยา เนื่องจากโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ภายหลังการแช่ในสารละลาย PBS มีการก่อตัวของผลึกแอพาไทต์ได้ดีทำให้พื้นผิวเพิ่มมากขึ้น เหมาะสมที่จะใช้บรรจุหรือนำพา (carry) ยา

เอกสารอ้างอิง

[1] พิบูลย์ อิทธิระวิวงศ์. 2547. *กระดูก วัสดุชีวภาพ กลศาสตร์ชีวภาพ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด.

[2] พยาธิวิทยาของกระดูก ตอนที่ 1 กระดูกปกติ. http://www.med.cmu.ac.th/dept/patho/cai/patho_jongkolnee/bones/chapter1.htm (สืบค้นเมื่อ 6 มกราคม 2554).

[3] หน้าที่ของกระดูก . http://www.stou.ac.th/study/sumrit/11-53(500)/page6-11-53(500).html (สืบค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2553).

[4] กระดูกเทียมจากเศษไม้ . http://www.baanmaha.com/communit/thread25269.html (สืบค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2553).

[5] สมศักดิ์ คุปต์นิรัติศัยกุล . แนวทางการรักษาผู้ป่วยกระดูกหัก-ข้อเคลื่อน . http://ortho.md.chula.ac.th/student/SHEET/somsak/3016410.html (สืบค้นเมื่อ 6 มกราคม 2554).

[6] ประเภทของวัสดุการแพทย์. http://guru.sanook.com/enc_preview.php?id=2921 (สืบค้นเมื่อ 8 มกราคม 2554).

[7] Ceramic application in medicine. http://enghome.eng.psu.ac.th/mne/knowledge/studentt/Ceramic%20Medic49/medicine.html (สืบค้นเมื่อ 4 มกราคม 2554).

[8] วนิดา ศรีไพโรจน์ธิกูล . BONE. http://www.dt.mahidol.ac.th/departments/anatomy/course/DTAN233/sheet/Bonei-ii.pdf (สืบค้นเมื่อ 8 มกราคม 2554).

[9] กระดูก (Bone). http://www.lib.kmutt.ac.th/st4kid/nonFlash/services/getText.jsp?id=127 (สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2554).

[10] สุกิจ แสงนิพันธ์กูล. 2534. *กระดูกและกระดูกอ่อน*. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น:โรงพิมพ์ศิริภัณฑ์ ออฟเซ็ท.

[11] Bone Structure. http://www.engin.umich.edu/class/bme456/bonestructure/bonestructure.htm (สืบค้นเมื่อ 3 มกราคม 2555).

[12] อนิรุทธิ์ คำใจ. 2548. การหาลักษณะเฉพาะและการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของเซรามิกไฮดรอกซีแอพาไทต์เพื่อใช้ทดแทนกระดูกมนุษย์ . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต , สาขาวิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[13] Reidy, C. 2010. Comparative sintering of zirconia and hydroxyapatite-zirconia composites. Deparment of Materials Science and Technology, Faculty of Science & Engineering, University of Limerick, Ireland.

[14] สิทธิพร บุณยนิตย์, ศักดิพล เทียนเสม, อนิรุทธิ์ รักสุจริต, อนุชา รักสันติ, รังสฤษฏิ์ คุณวุฒิ และ สุรสิทธิ์ เหล่าสถิรวงศ์ . 2554. กระดูกโชติกา 1 : การผลิตและการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ. *วารสารประสาทศัลยศาสตร์* 2(1): 1-14.

[15] วัสดุชีวภาพการแพทย์ออร์โธปิดิกส์ . ภาควิชาออร์โธปิดิกส์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . http://ortho.md.chula.ac.th/index.php?option=com_content&view=article&id=80:2010-10-29-08-20-19&catid=43:2010-10-29-08-15-48&Itemid=98 (สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2554).

[16] ÖZGÜR, M. 2008. The effect of surface modification of biomaterials on the cellular interaction. The Degree of Master of Science in Biotechnology. The Graduate School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology, Turkey.

[17] สุภาสินี ลิมปานุภาพ . บทที่ 10 คอมโพสิต . http://www.physics.kku.ac.th/315205/sites/default/files/chapter10.pdf (สืบค้นเมื่อ 7 ตุลาคม 2554).

[18] จิตติ รินเสนา . 2551. การขึ้นรูปวัสดุเชิงประกอบอะลูมินา -อะลูมิเนียมแบบอัดซ้อน . วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต . สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

[19] รังสฤษฏิ์ คุณวุฒิ. 2553. โครงสร้างและสมบัติเชิงกลของวัสดุผสมไฮดรอกซีแอพาไทต์กับแป้งข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต . สาขาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ . มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[20] Hasan, S. 2009. Design of experiment analysis of high velocity oxy-fuel coating of hydroxyapatite. The Degree of Master of Engineering. School of Mechanical and Manufacturing Engineering, Faculty of Engineering and Computing, Dublin City University, Ireland.

[21] Sahin, E. 2006. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-alumina-zirconia biocomposites. The Degree of Master of Science in Materials Science and Engineering. The Graduate School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology, Turkey.

[22] อนุรัตน์ ภูวานคำ. 2548. การพัฒนาวัสดุเชิงประกอบอะลูมินา-มูลไลท์-เซอร์โคเนีย สำหรับงานทางวิศวกรรม . วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต . สาขาวิสวกรรมเซรามิก คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

[23] อรวรรณ อุดมพร , พิษณุ พูลเจริญศิลป์, รณยุทธ ไพศาล และลัดดา โพธิ์เตี้ย. 2548. การเตรียมและการหาลักษณะเฉพาะของสารละลายของแข็ง $BaO\text{-}ZrO_2$. คณะวิทยาศาสตร์ , มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

[24] Kim, I.S. and Kumta, P.N. 2004. Sol–gel synthesis and characterization of nanostructured hydroxyapatite powder. Materials Science and Engineering, B 111: 232–236.

[25] Kim, H., Himeno, T., Kawashita, M., Kokubo, T. and Nakamura, T. 2004. The mechanism of biomineralization of bone-like apatite on synthetic hydroxyapatite: an *in vitro* assessment. Journal of the Royal Society Interface, 1: 17–22.

[26] Bigi, A., Boanini, E. and Rubini, K. 2004. Hydroxyapatite gels and nanocrystals prepared through a sol–gel process. Journal of Solid State Chemistry, 177: 3092–3098.

[27] Spanos, N., Misirlis, D.Y., Kanellopoulou, D.G. and Koutsoukos, P.G. 2006. Seeded growth of hydroxyapatite in simulated body fluid. Journal of Materials Science, 41**:** 1805–1812.

[28] Rajabi-Zamani, A.H., Behnamghader, A. and Kazemzadeh A. 2008. Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nonalkoxide sol–gel method. Materials Science and Engineering, C 28: 1326–1329.

[29] Hosseini, H.E., Housaindokht, M.R. and Chahkandi, M. 2007. Effects of parameters of sol–gel process on the phase evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite. Materials Chemistry and Physics, 106: 310–316.

[30] Fathi, M.H. and Hanifi, A. 2007. Evaluation and characterization of nanostructure hydroxyapatite powder prepared by simple sol–gel method. Materials Letters, 61: 3978–3983.

[31] Velu, G. and Gopal, B. 2009. Preparation of nanohydroxyapatite by a sol–gel method using alginic acid as a complexing agent**.** Journal of the American Ceramic Society, 92 [10]: 2207–2211.

[32] Padmanabhan, S.K., Balakrishnan, A., Chu, M.C., Lee, Y.J., Kim, T.N. and Cho, S.J. 2009. Sol-gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorod. Particuology, 7: 466-470.

[33] Salehi, S. and Fathi, M.H. 2010. Fabrication and characterization of sol–gel derived hydroxyapatite/zirconia composite nanopowders with various yttria contents. Ceramics International, 36: 1659–1667.

[34] Sanosh, K.P., Chu, M.C., Balakrishnan, A., Kim, T.N. and Cho, S.J. 2010. Sol-gel synthesis of pure nano sized β-tricalcium phosphate crystalline powders. Current Applied Physics, 10: 68-71.

[35] Vasconcelos , H.C. and Barreto, M.C. 2010. Tailoring the microstructure of sol–gel derived hydroxyapatite /zirconia nanocrystalline composites**.** Nanoscale Research Letters. DOI 10.1007/s11671-010-9766-z.

[36] Theiszova, M., Jantova, S., Letasiova, S., Valík, L. and Palou, M.T. 2008. Comparative study of a new composite biomaterial fluor-hydroxyapatite on fibroblast cell line NIH-3T3 by direct test. Biologia, 63/2: 273-281.

[37] Kaewsichan, L. Riyapan, D. Prommajan, P. and Kaewsrichan, J. 2011. Effects of sintering temperatures on micro-morphology, mechanical properties, and bioactivity of bone scaffolds containing calcium silicate. ScienceAsia, 37: 240–246.

[38] Curran, D.J., Fleming, T.J., Towler, M.R. and Hampshire, S. 2010. Mechanical properties of hydroxyapatite–zirconia compactssintered by two different sintering methods. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 21:1109–1120.

[39] Chiu, C.Y., Hsu, H.C. and Tuan, W.H. 2005. Effect of zirconia addition on the microstructural evolution of porous hydroxyapatite. Ceramics International, 33: 715–718.

[40] ชนิกา ชื่นแสงจันทร์ และสาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2554. โครงเลี้ยงเซลล์ย่อยสลายได้. สรรสาระเทคโลโนยีชีวภาพ. 1(2) : 4

[41] Assollant, D. Ababou, A. Champion, E. and Heughebaert, M. 2003. Sintering of calcium phosphate hydroxyapatite Ca10(PO4)6(OH)2 I. Calcination and particle growth. Journal of the European Ceramic Society, 23: 229–241.

[42] Evis, Z. 2007. Reactions in hydroxylapatite–zirconia composites. Ceramics International, 33: 987–991.

[43] Hing, K.A., Revell, P.A., Smith, N. and Buckland, T. 2006. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds. Biomaterials, 27: 5014–5026.

[44] Koutsopoulos, S. 2002. Systhesis and characterization of hydroxyapatite crystal: A review study on the analytical method. Journal of Biomedical Materials Research, 62: 600-612.

[45] Tian, Y., Wei, S., Guo, L. and Li, H. 2006. Effects of the immersion solutions on the morphology and structure of bone-like apitite formed on calcium phosphate bioceramics. American Journal of Applied Sciences (Special Issue): 5-10.

[46] Yu, S., Hariram, K.P., Kumar, R., Cheang, P. and Aik, K.K. 2005. In vitro apatite formation and its growth kinetics on hydroxyapatite/polyetheretherketone biocomposites. Biomaterials, 26: 2343–2352.

[47] บทที่ 10 อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี . http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM328/CM328-10.pdf (สืบค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2554).

[48] เสนีย์ เครือเนตร. IR and FT-IR. http://cyberclass.msu.ac.th/cyberclass/cyberclass-uploads/libs/document/IR_2299.pdf (สืบค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2554).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ทฤษฎีเพิ่มเติม

FTIR สเปคโตรมิเตอร์ [47]

อินฟราเรดให้ข้อมูลที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการหาหมู่ฟัง ก์ชันในโมเลกุลของสาร ประกอบอินทรีย์ ย่านอินฟราเรดในสเปคตรัมของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ให้ประโยชน์มากที่สุดในด้านเคมีอินทรีย์คือ ย่านความถี่ระหว่าง 4,000 – 650 ซม$^{-1}$ (ซม$^{-1}$ เป็นหน่วยของจำนวนคลื่นต่อวินาที หรือเรียกว่า เลขคลื่น) และความยาวคลื่นระหว่าง 2.5 – 15 สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความยาวคลื่นและเลขคลื่น คือ

$$\text{ความยาวคลื่น } (\mu m) = \frac{10{,}000}{\text{เลขคลื่น (ซม}^{-1})}$$

อินฟราเรด สเปคตรัม เป็นการพลอตระหว่างความถี่ (เลขคลื่น, ซม$^{-1}$) หรือความยาวคลื่น (μm) และ Transmittance (T) Transmittance เป็นอัตราส่วนระหว่างความเข้มของรังสีที่ผ่านสารตัวอย่าง (Transmitted radiation, I) และความเข้มของรังสีที่ตกกระทบสารตัวอย่าง

สมการที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีที่ผ่านสารตัวอย่างและความเข้ม ของรังสีที่ตกกระทบสารตัวอย่าง คือ

$$\text{Transmittance} = \frac{I}{I_0}$$

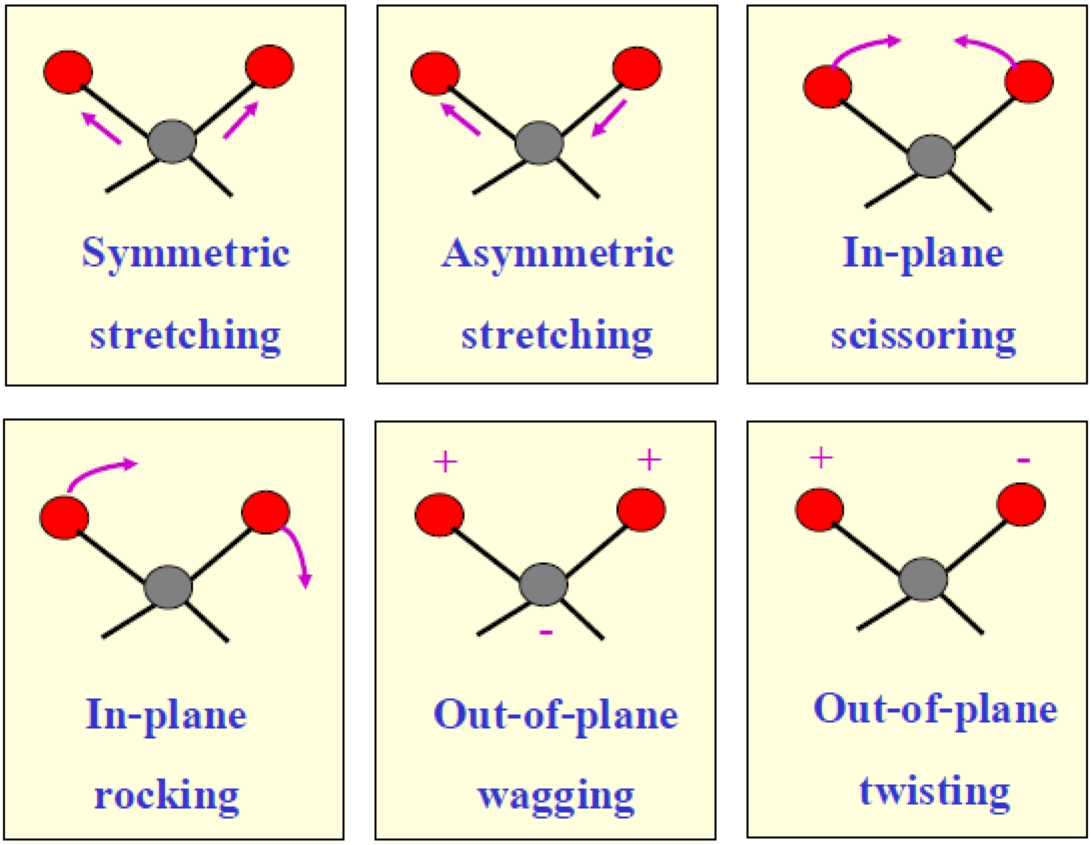
I = ความเข้มของรังสีที่ผ่านตัวกลาง

I_0 = ความเข้มของรังสีที่ตกกระทบตัวกลาง

% Transmittance = 100 T

การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดตรงกับพลังงานในช่วง 2 - 10 กิโลแคลอรี่ต่อโมล พลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านนี้ก่อให้เกิดการสั่นแบบยืด (stretching) และแบบงอ (bending) ของพันธะในโมเลกุลของสาร การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดเป็นขบวนการควันไทส์ (quantized) กล่าวคือ การที่สารจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดนั้น ความถี่ของรังสีที่ถูกดูดกลืนจะต้อง

ตรงกับความถี่ของการสั่นของพันธะเท่านั้น การสั่นแบบต่างๆ ของพันธะในโมเลกุลของสาร ดังแสดงในภาพประกอบที่ ก.1


Symmetric stretching
Asymmetric stretching
In-plane scissoring
In-plane rocking
+
+
-
Out-of-plane wagging
+
-
Out-of-plane twisting

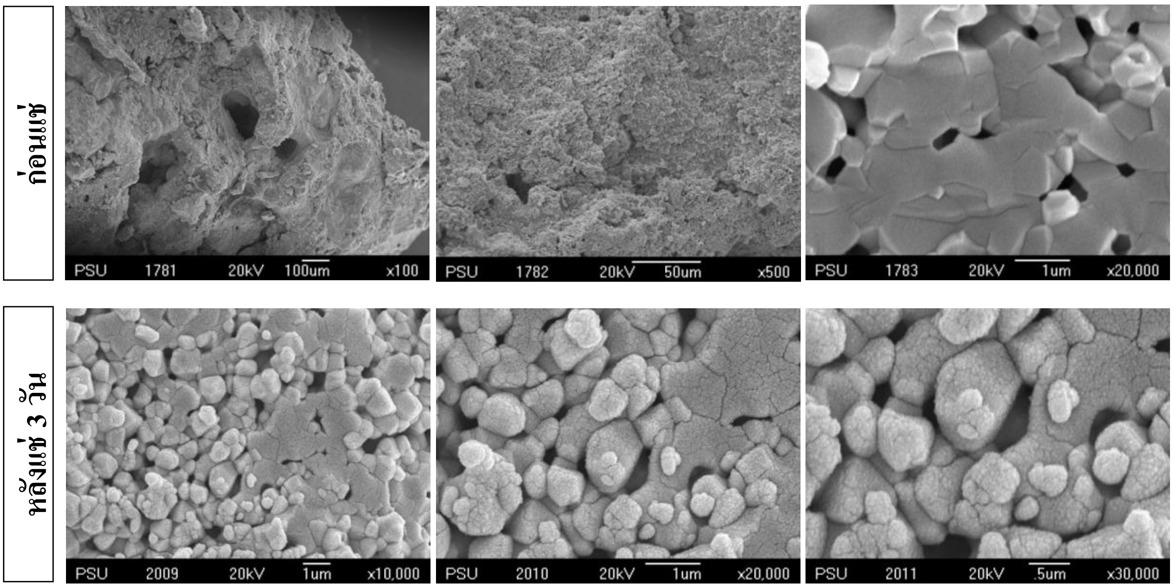
ภาพประกอบที่ ก.1 การสั่นแบบต่างๆ ของพันธะในโมเลกุลของสาร [48]

ภาคผนวก ข

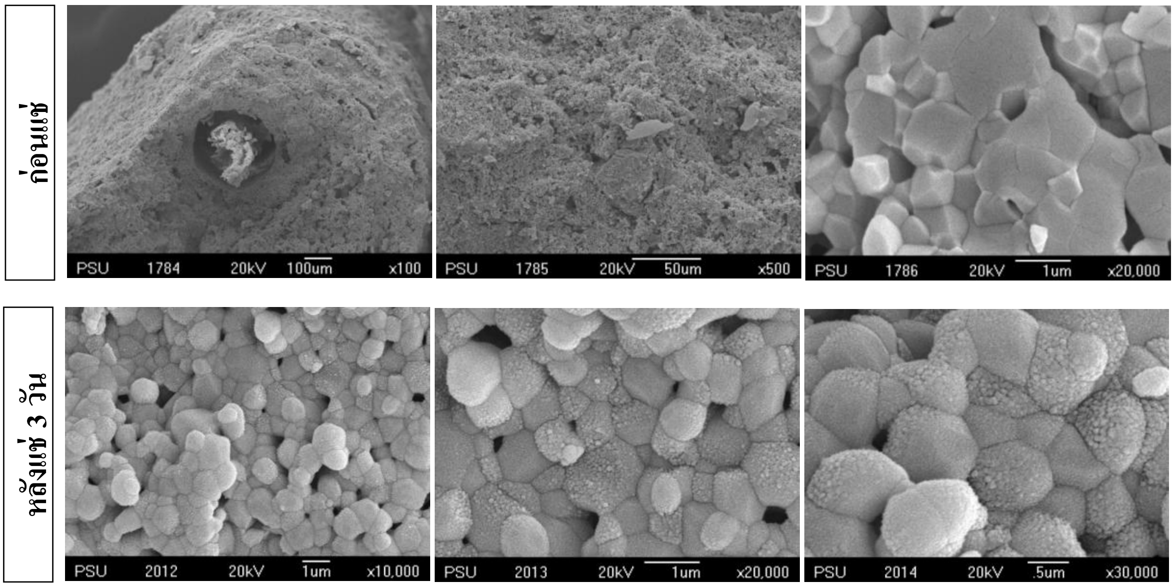
ข้อมูลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ SEM

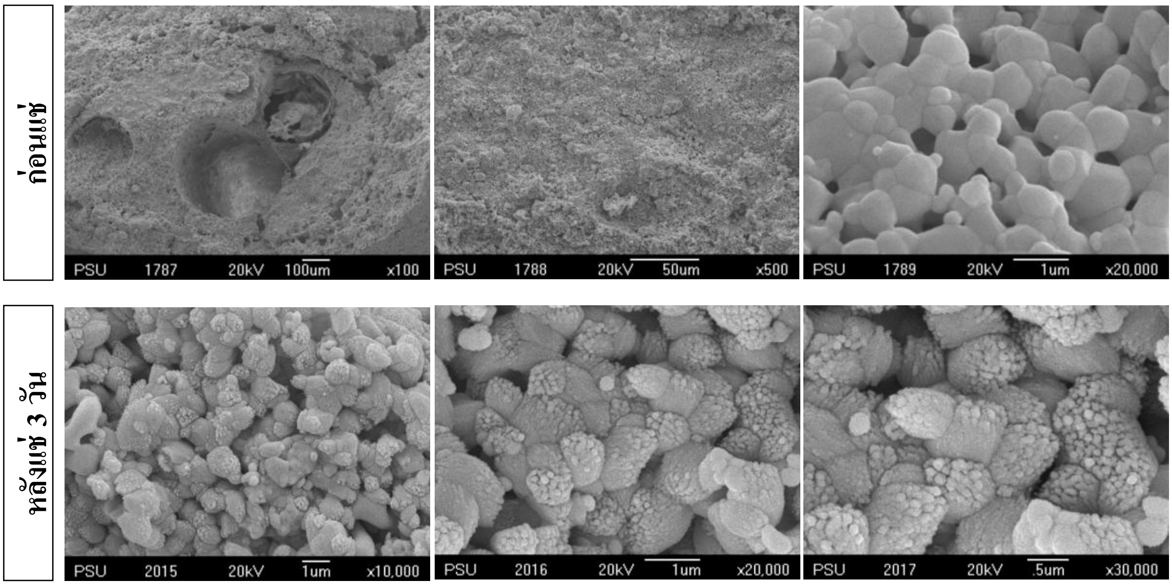
1. ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ หลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง


ก่อนแช่
PSU 1781 20kV 100um x100
PSU 1782 20kV 50um x500
PSU 1783 20kV 1um x20,000
หลังแช่ 3 วัน
PSU 2009 20kV 1um x10,000
PSU 2010 20kV 1um x20,000
PSU 2011 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน

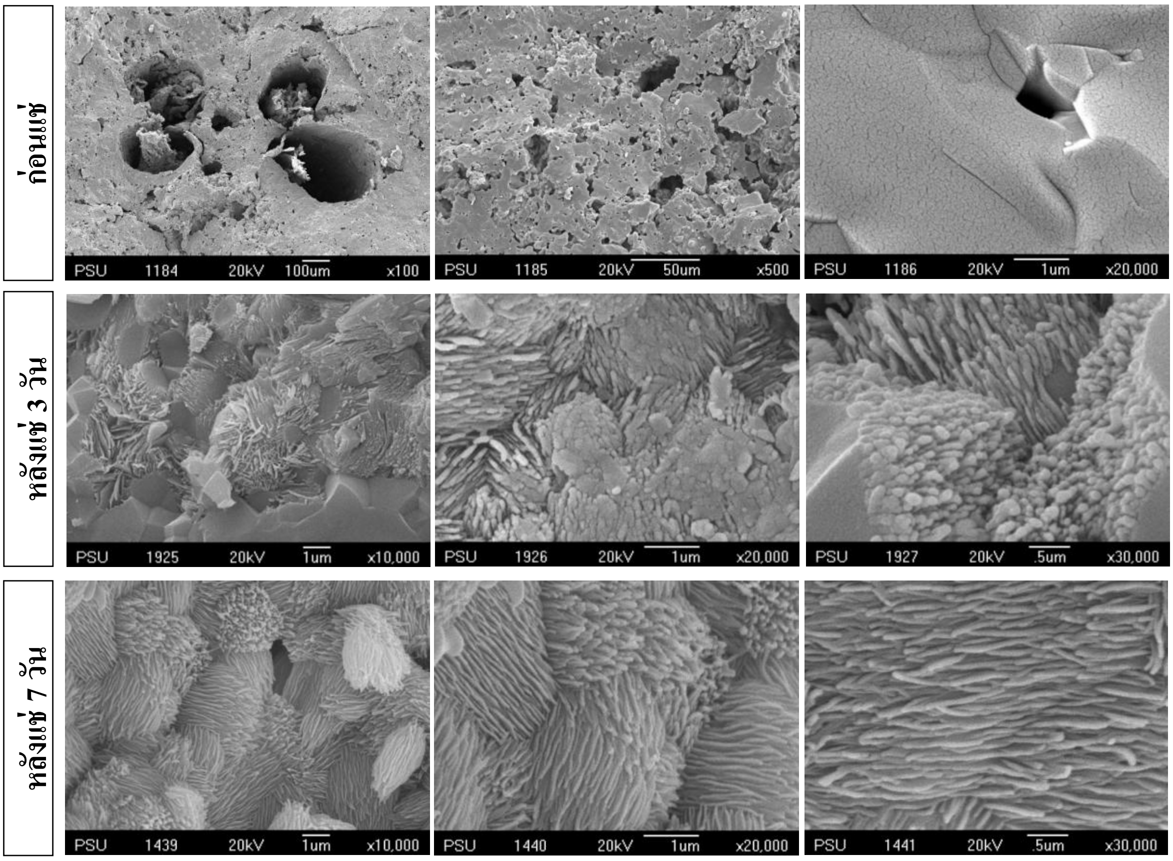

ก่อนแช่
PSU 1784 20kV 100um x100
PSU 1785 20kV 50um x500
PSU 1786 20kV 1um x20,000
หลังแช่ 3 วัน
PSU 2012 20kV 1um x10,000
PSU 2013 20kV 1um x20,000
PSU 2014 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน

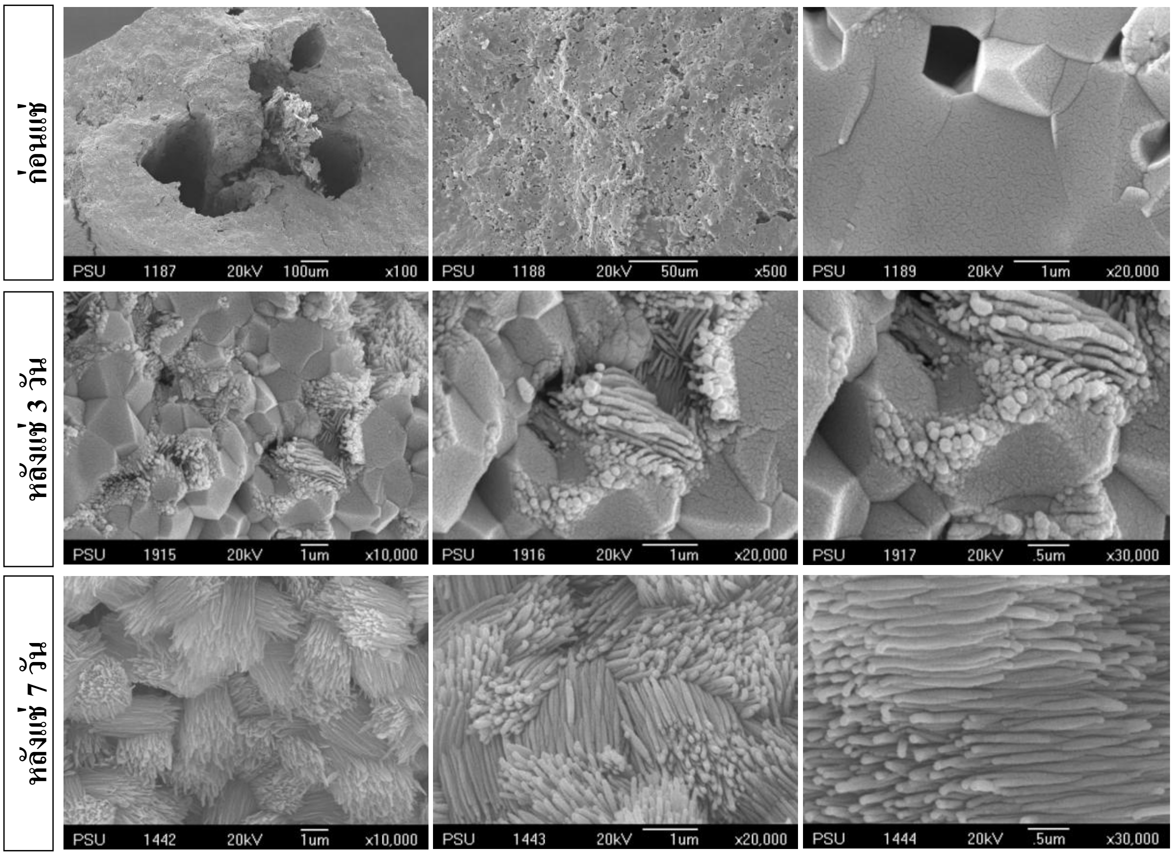

ก่อนแช่
PSU 1787 20kV 100um x100
PSU 1788 20kV 50um x500
PSU 1789 20kV 1um x20,000
หลังแช่ 3 วัน
PSU 2015 20kV 1um x10,000
PSU 2016 20kV 1um x20,000
PSU 2017 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.3 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 วัน

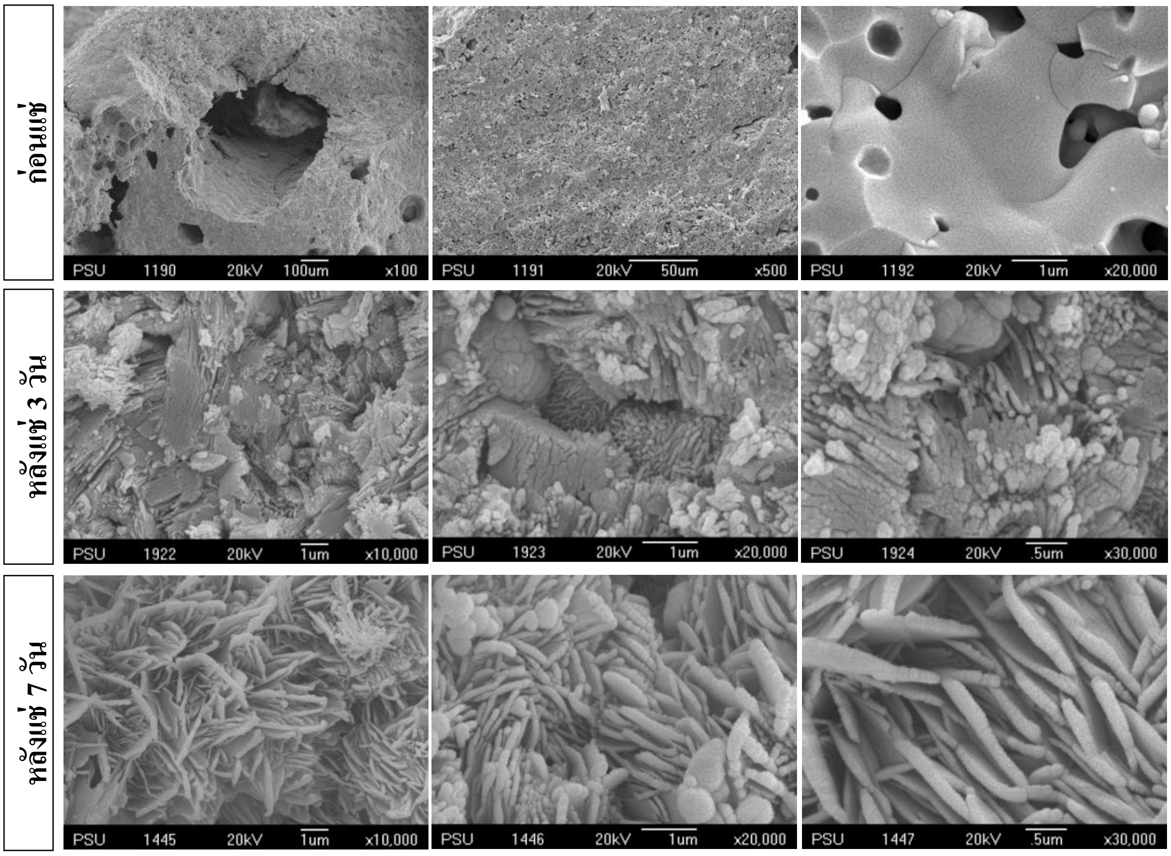
2. ผลการวิเคราะห์ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ หลังการเผาซินเตอร์ที่อุณหภมิ 1250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง


ก่อนแช่
หลังแช่ 3 วัน
หลังแช่ 7 วัน
PSU 1184 20kV 100um x100
PSU 1185 20kV 50um x500
PSU 1186 20kV 1um x20,000
PSU 1925 20kV 1um x10,000
PSU 1926 20kV 1um x20,000
PSU 1927 20kV .5um x30,000
PSU 1439 20kV 1um x10,000
PSU 1440 20kV 1um x20,000
PSU 1441 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.4 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 100 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน


ก่อนแช่
หลังแช่ 3 วัน
หลังแช่ 7 วัน
PSU 1187 20kV 100um x100
PSU 1188 20kV 50um x500
PSU 1189 20kV 1um x20,000
PSU 1915 20kV 1um x10,000
PSU 1916 20kV 1um x20,000
PSU 1917 20kV .5um x30,000
PSU 1442 20kV 1um x10,000
PSU 1443 20kV 1um x20,000
PSU 1444 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.5 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 10 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน


ก่อนแช่
หลังแช่ 3 วัน
หลังแช่ 7 วัน
PSU 1190 20kV 100um x100
PSU 1191 20kV 50um x500
PSU 1192 20kV 1um x20,000
PSU 1922 20kV 1um x10,000
PSU 1923 20kV 1um x20,000
PSU 1924 20kV .5um x30,000
PSU 1445 20kV 1um x10,000
PSU 1446 20kV 1um x20,000
PSU 1447 20kV .5um x30,000

ภาพประกอบที่ ข.6 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร HA/Zr 2 ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 3 และ 7 วัน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายเจริญพร แซ่โค้ว

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5310120098

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	**ชื่อสถาบัน**	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**
วิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2553

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสาขาความเป็นเลิศด้านวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน