สมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจาก แคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต

Physical Properties of Scaffolds Prepared from Calcium Phosphate and Calcium Silicate

นิชา เทพศรี

Nicha Thepsri

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 สมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต

ผู้เขียน นางสาวนิชา เทพศรี

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..... (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……..... (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

…….....……ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกฤทธิรา รัตนวิไล)

...……...…….....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

...…….....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจษฎ์ แก้วศรีจันทร์)

.....……..กรรมการ (ดร.พินทุ์สุดา วีรวัฒน์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

……

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	สมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต
ผู้เขียน	นางสาวนิชา เทพศรี
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของปริมาณแคลเซียมซิลิเกต (CS) ที่เติมในเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (β-TCP) ต่อสมบัติทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ ที่เตรียมโดยเทคนิคการจุ่มเคลือบแล้วผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สมบัติทางชีวภาพและโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS ทดสอบด้วยเทคนิค SEM, ใช้เทคนิค XRD และ FTIR เพื่อดูเฟสและหมู่ฟังก์ชั่นที่เปลี่ยนแปลง นำผลไปยืนยันการเกิดของชั้นแอปาไทต์บนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ จากผลการทดลอง พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมทุกสูตรมีรูพรุนที่เชื่อมต่อกันเป็นโครงข่าย และมีความพรุนสูง โดยมีรูพรุนสองชนิดเกิดขึ้น คือ รูพรุนขนาดเล็ก และรูพรุนขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของเกรนลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CS ในวัสดุผสม และการรวมตัวกันของเกรนจะเกิดดีขึ้นเมื่อซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C หลังจากแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน พบชั้นของแอปาไทต์ซึ่งมีรูปร่างเป็นแผ่นเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงเท่านั้น คาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากการละลายของไอออนต่างๆ ในเนื้อวัสดุ ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิต่ำกว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และชั้นแอปาไทต์เกิดขึ้นได้ดีเมื่อเพิ่มปริมาณ CS ผลจากเทคนิค XRD และ FTIR ทำให้ยืนยันได้ว่าแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นเป็นชนิดไฮดรอกซีแอปาไทต์ และสามารถสรุปได้ว่า CS ช่วยปรับปรุงสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของ β-TCP ได้

Thesis Title	Physical Properties of Scaffolds Prepared from Calcium Phosphate and Calcium Silicate
Author	Miss Nicha Thepsri
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2011

ABSTRACT

Calcium silicate (CS) at different concentrations has been added in β-Tricalcium phosphate (β-TCP) for studying its effect on biological property of scaffolds, prepared by dipping technique and sintered at either 1150 or 1250˚C for 2 hours. *In vitro* bioactivity and morphology of the scaffolds before and after immersion in PBS were performed by SEM. XRD and FTIR were used to examine phase changes and functional groups, respectively, and to confirm the formation of apatite layer on the immersed surfaces. Results showed that the scaffolds were porous with interconnected pores of two different sizes, macro- and micropores. The grain size decreased by increasing CS concentration with coalesced grains when sintered at the higher temperature. After soaking the scaffolds in PBS for 14 days, plate like apatite was found to deposite on the surface of scaffolds sintered at the high temperature. This might be due to the highly dissolved materials in the medium, although those sintered at the lower temperature did not exist. The formation of apatite layer were pronounced by increasing CS concentration. The results of XRD and FTIR confirmed that the apatite layer was hydroxyapatite. In summary, CS could be used effectively to improve the *in vitro* bioactivity of TCP/CS composite.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(8)
รายการภาพประกอบ	(10)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กระดูก (bone)	4
2.2 กระดูกปลูก (bone graft)	8
2.3 วัสดุชีวภาพ (biomaterials)	10
2.4 คุณสมบัติของวัสดุชีวภาพ	12
2.5 วัสดุเซรามิกส์ชีวภาพ (bioceramics)	13
2.6 วัสดุพรุน (porous materials) และโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffolds)	16
2.7 เซรามิกส์แคลเซียมฟอสเฟตในทางการแพทย์	18
2.8 เซรามิกส์แคลเซียมซิลิเกต	23
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	25
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	33
3.1 สารเคมี	33
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	34
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน	35

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง	40
4.1 ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์เบื้องต้นของวัสดุผสม	40
4.2 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์	44
4.3 สมบัติทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น	49
4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง	67
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	71
บรรณานุกรม	73
ภาคผนวก	79
ภาคผนวก ก	80
ภาคผนวก ข	91
ประวัติผู้เขียน	97

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ส่วนประกอบของกระดูกเปลือกนอกในผู้ใหญ่	5
2.2	ข้อดีและข้อเสียของกระดูกปลูกแต่ละชนิด	9
2.3	ประเภทของวัสดุชีวภาพ จำแนกตามวัสดุที่ผลิต	10
2.4	ปฏิกิริยาของวัสดุเมื่อฝังในร่างกาย	12
2.5	สมบัติทางกายภาพของเนื้อเยื่อและวัสดุชีวภาพ	15
2.6	ตัวอย่างสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่นำมาใช้ในทางการแพทย์	18
2.7	สมบัติต่างๆ ของไฮดรอกซีแอปาไทต์	20
2.8	สมบัติต่างๆ ของไตรแคลเซียมฟอสเฟต	22
2.9	องค์ประกอบทางเคมีของแคลเซียมซิลิเกต	23
2.10	สมบัติต่างๆ ของแคลเซียมซิลิเกต	24
3.1	อัตราส่วนของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วัสดุผสมต่อน้ำ 1 ลิตร	36
3.2	สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลาย PBS	39
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม	40
4.2	อัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสเฟอรัส (Ca/P) และแคลเซียมต่อผลรวมของซิลิกอนและฟอสฟอรัส (Ca/(Si+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ	41
4.3	ชนิดของผลึกที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD	42
4.4	ชนิดของผลึกที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS	54
4.5	องค์ประกอบทางเคมีของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	65
4.6	ค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	66
4.7	ปริมาณไอออนชนิดต่างๆ ในน้ำเลือด สารละลาย SBF และสารละลาย PBS	68

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข.1	องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900˚C จากเทคนิค XRF	91
ข.2	ปริมาณธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และซิลิกอน ในสารตั้งต้น	93
ข.3	อัตราส่วนโดยโมลของซิลิกอนต่อผลรวมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (Si/(Ca+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ ของค่าทางทฤษฎีและค่าที่ได้จากการทดลอง	94
ข.4	องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C วิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF	94
ข.5	ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1, F2 และ F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และ 1,250˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	96

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่		หน้า
2.1	กระดูกชนิดต่างๆ จำแนกตามลักษณะรูปร่าง	6
2.2	ภาพตัดขวางของกระดูกยาว	7
2.3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค้นและความเครียด	8
2.4	วิวัฒนาการของวัสดุชีวภาพในการใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก	14
2.5	เซรามิกส์พรุนที่ขึ้นรูปโดยวิธีการเคลือบบนแม่แบบใยบวบธรรมชาติ (ก) และโครงสร้างทางจุลภาคที่ได้ (ข)	17
2.6	วัสดุชีวภาพในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต	18
2.7	โครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีแอปาไทต์	20
2.8	โครงสร้างผลึกแคลเซียมซิลิเกตโดยเรียงตัวเป็นโครงสร้างแบบสายโซ่เดี่ยว	24
2.9	รูปร่างผลึกของแคลเซียมซิลิเกต	25
3.1	แผนงานการสังเคราะห์วัสดุผสม	36
3.2	ใยบวบสำหรับใช้เป็นแม่แบบ (ก) ใยบวบที่ผ่านการจุ่มเคลือบจนได้ความหนาเท่าที่ต้องการก่อนการซินเทอริ่ง (ข) ชิ้นงานที่ผ่านการซินเทอริ่งแล้ว (ค) เปรียบเทียบชิ้นงานก่อนและหลังการซินเทอริ่ง (ง)	37
3.3	ขั้นตอนการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์	38
4.1	อัตราส่วนโดยโมลของซิลิกอนต่อผลรวมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (Si/(Ca+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ	41
4.2	แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของตัวอย่างดังนี้ แคลเซียมซิลิเกต (ก) แคลเซียมฟอสเฟต (ข) วัสดุผสมสูตร F1 (ค) วัสดุผสมสูตร F2 (ง) วัสดุผสมสูตร F3 (จ) และวัสดุผสมสูตร F4 (ฉ)	43
4.3	ภาพ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250°C (ง จ และ ฉ) ที่กำลังขยาย 200 เท่า	45

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่		หน้า
4.4	ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า	47
4.5	ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก) และ 1,250˚C (ข) ที่กำลังขยาย 20,000 เท่า	48
4.6	ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า	50
4.7	ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า	51
4.8	ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยาย 20,000 (ก) และ 40,000 เท่า	52
4.9	แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก) F2 (ข) และ F3 (ค) ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS	55
4.10	แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และ หลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)	56

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4.11 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และ หลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)	57
4.12 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)	57
4.13 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก) F2 (ข) และ F3 (ค) ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	58
4.14 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	60
4.15 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	60
4.16 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	62
4.17 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	62
4.18 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	64

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
4.19 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	64
ก.1 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	80
ก.2 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	81
ก.3 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	82
ก.4 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	83
ก.5 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	84
ก.6 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน	85
ก.7 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C	86
ก.8 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C	86
ก.9 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C	87
ก.10 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F4 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C	87

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
ก.11 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS	88
ก.12 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS	88
ก.13 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS	89
ก.14 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	89
ก.15 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	90
ก.16 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน	90
ข.1 ขนาดของรูพรุนขนาดใหญ่ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ)	95

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ประชากรกว่าหนึ่งล้านคนของประเทศสหรัฐอเมริกาที่สูญเสียอวัยวะหรือเนื้อเยื่อได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดเพื่อเปลี่ยนอวัยวะถึงแปดล้านครั้งจึงจะลุล่วงไปด้วยดี แม้ว่าการผ่าตัดจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยดีขึ้นและบางกรณีอาจช่วยรักษาชีวิตของผู้ป่วยได้ แต่ก็มีปัญหาที่เกิดขึ้น เช่น ไม่มีผู้บริจาคอวัยวะ ในขณะที่ความต้องการมีสูง ดังตัวอย่างที่เกิดขึ้นในปี ค.ศ. 1996 มีผู้บริจาคอวัยวะ 20,000 คน แต่ผู้ที่ต้องการมีจำนวนสูงถึง 50,000 คน งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) จึงเป็นศาสตร์ที่ไม่อาจมองข้ามได้ [1]

งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อเป็นศาสตร์ที่นำหลักการของวิศวกรรมและวิทยาศาสตร์กายภาพมาประยุกต์ใช้กับหลักการของวิทยาศาสตร์ชีวภาพและการแพทย์ เพื่อการฟื้นฟูรักษา และพัฒนาหน้าที่การทำงานของเนื้อเยื่อ โดยมีจุดประสงค์หลักในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อวัยวะเพื่อใช้ทดแทนของเดิมที่สูญเสียไป ในปัจจุบันงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อมีการพัฒนาและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง ดังเห็นได้จากงานวิจัยทางด้านนี้ที่มีการตีพิมพ์อย่างมากมาย ผลผลิตของงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่มีให้เห็น เช่น การผลิตวัสดุทดแทนผิวหนัง การสร้างกระดูก และการสร้างกระดูกอ่อน เป็นต้น [2]

กระดูกเป็นส่วนสำคัญของระบบโครงร่างของร่างกาย โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างซึ่งเป็นที่ยึดเกาะของกล้ามเนื้อและเอ็น นอกจากนั้นยังทำหน้าที่ป้องกันอวัยวะส่วนอื่นที่มีความสำคัญ เช่น สมองและไขสันหลัง ซึ่งถูกปกป้องโดยกะโหลกศีรษะ และกระดูกสันหลัง เป็นต้น ทั้งกระดูกและกระดูกอ่อนมีวิวัฒนาการจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ที่มีความยืดหยุ่นและความเหนียว มีการเรียงตัวของใยคอลลาเจนที่เป็นรูปแบบเฉพาะ และการจัดลักษณะโครงสร้างในชิ้นกระดูกเกิดขึ้นอย่างเหมาะสม ทำให้กระดูกมีลักษณะพิเศษคือมีน้ำหนักเบา แต่มีความแข็งแรงมากในการรับน้ำหนัก พบว่าการปรับรูปของกระดูก (bone remodeling) มีการดำเนินไปอย่างต่อเนื่องเพื่อให้เหมาะสมกับหน้าที่ในแต่ละส่วนของร่างกาย ถึงแม้ว่าธรรมชาติของเนื้อเยื่อในสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่รวมถึงกระดูก จะมีสมรรถนะและศักยภาพในการซ่อมหรือสร้างตัวเอง แต่ทั้งนี้ต้องอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมและไม่เกินความสามารถของธรรมชาติเท่านั้น บ่อยครั้งจึงเกิดปัญหาขึ้น เช่น กระดูกที่หักไม่

สามารถสมานติดกันได้เหมือนเดิม ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ หรือบางครั้งผลจากการบาดเจ็บทำให้กระดูกบางส่วนที่หักหลุดหายไป เกิดเป็นช่องว่างระหว่างปลายกระดูกซึ่งมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่ปลายกระดูกทั้งสองจะมีการสร้างหรืองอกขึ้นมาเชื่อมต่อกันได้ จึงได้มีความพยายามที่จะแก้ปัญหาโดยวิธีการต่างๆ เช่น กระดูกที่สูญเสียไปสามารถทดแทนได้โดยกระดูกที่ตัดออกมาจากอวัยวะส่วนอื่นของร่างกายผู้ป่วยเอง (Autograft bone) ซึ่งจะมีศักยภาพสูงในการสร้างกระดูกใหม่ และไม่มีปัญหาเกี่ยวกับปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน แต่มีข้อจำกัดในด้านจำนวนหรือปริมาณ ดังนั้นการใช้กระดูกที่ได้รับการบริจาคจากผู้อื่น (Allograft bone) จึงมีความเป็นไปได้สูงกว่า และได้รับความนิยมมากขึ้น ซึ่งกระดูกชนิดนี้มีปริมาณสำรองเป็นจำนวนมากและหากมีเทคนิคการเตรียมและจัดเก็บที่ดี ก็สามารถเก็บได้นาน แต่ส่วนใหญ่จะมีปัญหาด้านปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของผู้รับ นอกจากนี้ยังมีความพยายามในการนำกระดูกสัตว์ (Xenograft bone) เช่น กระดูกวัวหรือลูกวัว มาใช้เนื่องจากมีปัญหาในการจัดหากระดูกทั้งสองประเภทแรก แต่พบว่ามีปัญหาเกี่ยวกับความเข้ากันไม่ได้ของเนื้อเยื่อระหว่างกระดูกสัตว์และกระดูกคน ปัจจุบันจึงไม่มีการใช้กระดูกประเภทหลังนี้แล้ว ดังนั้นในความพยายามที่จะแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับกระดูกข้างต้น จึงมีการศึกษาและพัฒนาสารซึ่งจะนำมาใช้ทดแทนกระดูก เพื่อให้มีโครงสร้างและสมบัติทางชีวภาพ/กายภาพ คล้ายกับกระดูกตามธรรมชาติมากที่สุด [3, 4]

วัสดุสังเคราะห์ที่ใช้ทางการแพทย์ในปัจจุบันมีหลายชนิดทั้งที่ผลิตจากโลหะ พอลิเมอร์ เซรามิกส์ และวัสดุผสม แต่ละชนิดมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกันไป โลหะมีข้อดีด้านความแข็งแรงและความเหนียว แต่มีข้อเสียคือน้ำหนักมาก และอาจเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ พอลิเมอร์เป็นวัสดุคล้ายเนื้อเยื่ออ่อน มีความยืดหยุ่นและไม่เกิดการกัดกร่อน แต่บางชนิดไม่สามารถย่อยสลายในร่างกายและมีความสามารถในการรับแรงต่ำ วัสดุเซรามิกส์มีความสามารถเข้ากันได้ดีกับเนื่อเยื่อในร่างกาย แต่มีความเปราะและไม่ยืดหยุ่น ส่วนวัสดุผสมจะเป็นการนำข้อดีของวัสดุแต่ละชนิดมารวมกัน จึงทำให้ข้อจำกัดในการใช้งานลดลง โดยงานวิจัยนี้จะทำการเตรียมวัสดุผสมจากเซรามิกส์สองชนิด คือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งเป็นเซรามิกส์ในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต มีส่วนประกอบคล้ายกระดูกมนุษย์ จึงเข้ากันได้ดีกับร่างกายมนุษย์ (biocompatibility) และสามารถเชื่อมต่อกับกระดูกรอบๆ ได้ดี (bioactive) และแคลเซียมซิลิเกต ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกได้ (Osteoinduction) [5, 6]

การประยุกต์ใช้งานของวัสดุเซรามิกส์และวัสดุผสม มีทั้งที่นำไปใช้ในรูปผง โดยจะนำไปเคลือบลงบนโลหะ เพื่อให้เนื้อเยื่อมีการยึดติดที่ดีขึ้น หรือจะนำมาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ มีทั้งประเภทเนื้อแน่นและเนื้อโปร่ง เพื่อเลียนแบบโครงสร้างของกระดูกมนุษย์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีเทคโนโลยีในการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีรูปร่าง โครงสร้าง และรูปแบบตามที่ต้องการ รวมทั้งการ

กำหนดสมบัติทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ในด้านพื้นที่ผิว ความพรุนและขนาดรูพรุน โดยโครงเลี้ยงเซลล์นี้จะทำหน้าที่เป็นโครงให้เซลล์เกาะและต้องมีช่องทางสำหรับลำเลียงสารอาหาร เมื่อเวลาผ่านไปเซลล์จะเติบโตขึ้นแทนที่พร้อมด้วยกับการสลายตัวของโครงเลี้ยงเซลล์ ทำให้เนื้อเยื่อที่สูญเสียไปสามารถกลับมาทำงานได้อย่างปกติ [4, 7]

จากแนวคิดดังกล่าวข้างต้นทำให้เกิดงานวิจัยชิ้นนี้ขึ้น เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมและลักษณะทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้จากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต โดยมีจุดประสงค์คือ หาสัดส่วนวัสดุทั้งสองที่เหมาะสม เพื่อให้ได้วัสดุผสมที่มีสมบัติทางชีวภาพที่ดี รวมทั้งศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่งที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

งานวิจัยชิ้นนี้มีจุดประสงค์เพื่อการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุชีวภาพซึ่งเตรียมจากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต จากนั้นศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวภาพเบื้องต้นของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1. เตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต

1.3.2. หาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ ซึ่งได้แก่ อัตราส่วนของแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต และอุณหภูมิในการซินเทอริ่ง

1.3.3. ทดสอบสมบัติทางกายภาพและสมบัติอื่นๆ ได้แก่ การศึกษาโครงสร้างทางจุลภาค และความเข้ากันได้ของโครงเลี้ยงเซลล์กับร่างกายมนุษย์เบื้องต้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุผสมชนิดแคลเซียมฟอสเฟต-แคลเซียมซิลิเกต ที่มีสมบัติทางกายภาพและชีวภาพเหมาะสม เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้งานต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระดูก

2.1.1 ส่วนประกอบของกระดูก

กระดูกประกอบด้วยเซลล์และวัตถุพื้นฐานที่เป็นเส้นใย (extracellular matrix of fiber) และแก่นรากฐาน (ground substance) ซึ่งถูกสร้างโดยเซลล์กระดูก ส่วนประกอบที่ทำให้กระดูกแตกต่างจากเนื้อเยื่ออื่นๆ คือกระดูกมีส่วนประกอบของอนินทรียสาร (inorganic materials) สูง ซึ่งพบในรูปของเกลือแร่ (mineral salts) ส่วนใหญ่เป็นพวกแคลเซียมและฟอสเฟต ในรูปของไฮดรอกซีแอปาไทต์ (hydroxyapatite, HA) สูตรโมเลกุลคือ $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ผลึกมีลักษณะเป็นแผ่นหรือเข็ม ยาวประมาณ 40-60 นาโนเมตร กว้าง 20 นาโนเมตร และหนาประมาณ 1.5-5 นาโนเมตร [4] สารประกอบอนินทรีย์นี้จะมีผลทำให้กระดูกมีสมบัติเชิงกลที่ดีมาก สารอนินทรีย์ในกระดูกนอกจากจะประกอบไปด้วยไอออนของแคลเซียม ฟอสเฟต และไฮดรอกซิลแล้ว ยังมีไอออนอื่นๆ เช่น คาร์บอเนต ซึ่งพบมากถึง 8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โซเดียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม สตรอนเซียม สังกะสี แบเรียม คอปเปอร์ อลูมิเนียม เหล็ก ฟลูออรีน คลอรีน และซิลิกอน ปริมาณเล็กน้อย (น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) โดยไอออนต่างๆ นี้จะแทรกตัวอยู่ในโครงสร้าง HA และมีความสำคัญต่อกระบวนการทางชีววิทยา [8] ขณะที่ส่วนประกอบพวกอินทรียสาร (organic) ได้แก่ คอลลาเจน ไกลโคโปรตีน (glycoproteins) ฟอสโฟโปรตีน (phosphoproteins) โปรตีโอไลปิด (proteolipids) และมิวโคโปลีแซคคาไรด์ (mucopolysaccharides) ซึ่งรวมเรียกว่าเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน (osteoid) จะทำให้กระดูกมีความยืดหยุ่น

ไอออนที่กระจายในโครงสร้างของไฮดรอกซีแอปาไทต์แต่ละชนิดมีบทบาทแตกต่างกัน เช่น แมกนีเซียม สตรอนเซียม และตะกั่ว ซึ่งเป็นไอออนที่มีขนาดและประจุเหมือนแคลเซียม จะมาแทนที่ตำแหน่งแคลเซียมในไฮดรอกซีแอปาไทต์ ทำให้ผลึกของ HA กลายเป็นผลึกที่ไม่สมบูรณ์และมีความสามารถในการละลายดีขึ้น ในขณะที่ฟลูออไรด์ คลอไรด์ จะแทนที่ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งการแทนที่ของฟลูออไรด์นี้จะส่งผลต่อขนาดผลึก คือทำให้ผลึกใหญ่ขึ้น และมีความสามารถในการละลายต่ำลง ทำให้ผลึกมีความมั่นคงมากขึ้น แต่ถ้าร่างกายได้รับมากเกินไปจะ

ทำให้กระดูกมีการก่อตัวของโครงสร้างผิดปกติ ซึ่งกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนนี้ล้วนต้องอาศัยน้ำเป็นตัวกลางในการแพร่กระจายนั่นเอง [3]

สมบัติเชิงกลของกระดูกขึ้นอยู่กับทั้งส่วนของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ โดยส่วนของสารอนินทรีย์ให้น้ำหนักชื้นเปียก (wet weight) ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของกระดูก ส่วนสารอินทรีย์ประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักชื้นเปียก ที่เหลือเป็นน้ำ 8-9 เปอร์เซ็นต์ สารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยคอลลาเจนเป็นส่วนใหญ่ ทำให้กระดูกมีรูปร่างคงที่และช่วยต้านแรงตึง (tension) ส่วนสารอนินทรีย์จะช่วยต้านแรงกดอัด (compression) กระดูกที่เอาสารอนินทรีย์ออก (demineralized) จะทำให้กระดูกมีสมบัติเชิงกลที่ดีมาก แต่ในขณะเดียวกันจะเปราะและแตกหักง่าย [9]

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของกระดูกเปลือกนอกในผู้ใหญ่ [9]

ส่วนประกอบ	น้ำหนักแห้ง (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเปียก (เปอร์เซ็นต์)
อินทรียสาร	18.5	15.5
อนินทรียสาร	70.0	59.9
แก่นรากฐาน	3.3	2.8
น้ำ	8.2	22.7

2.1.2 ชนิดของกระดูก [3]

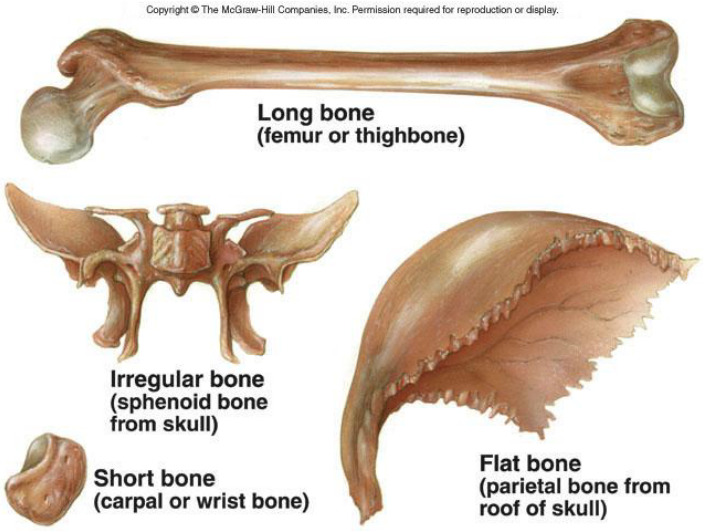
กระดูกเป็นอวัยวะที่มีรูปร่างหลายลักษณะ เพื่อให้สอดคล้องกับการทำงานของกระดูกในแต่ละส่วน สามารถจำแนกชนิดของกระดูกตามลักษณะรูปร่างได้ 4 ชนิด (รูปที่ 2.1) คือ

1) กระดูกทรงกระบอก (Tubular bone) หรือกระดูกยาว (long bone) ได้แก่ กระดูกแขนและขา

2) กระดูกสั้น (short bone) เช่น กระดูกฝ่ามือ ฝ่าเท้า และกระดูกนิ้ว

3) กระดูกแบน (flat bone) เช่น กะโหลกศีรษะ กระดูกเชิงกราน กระดูกสะบัก เป็นต้น

4) กระดูกรูปร่างอื่นๆ (irregular bone) เช่น กระดูกสันหลัง กระดูกข้อมือ และกระดูกข้อเท้า เป็นต้น



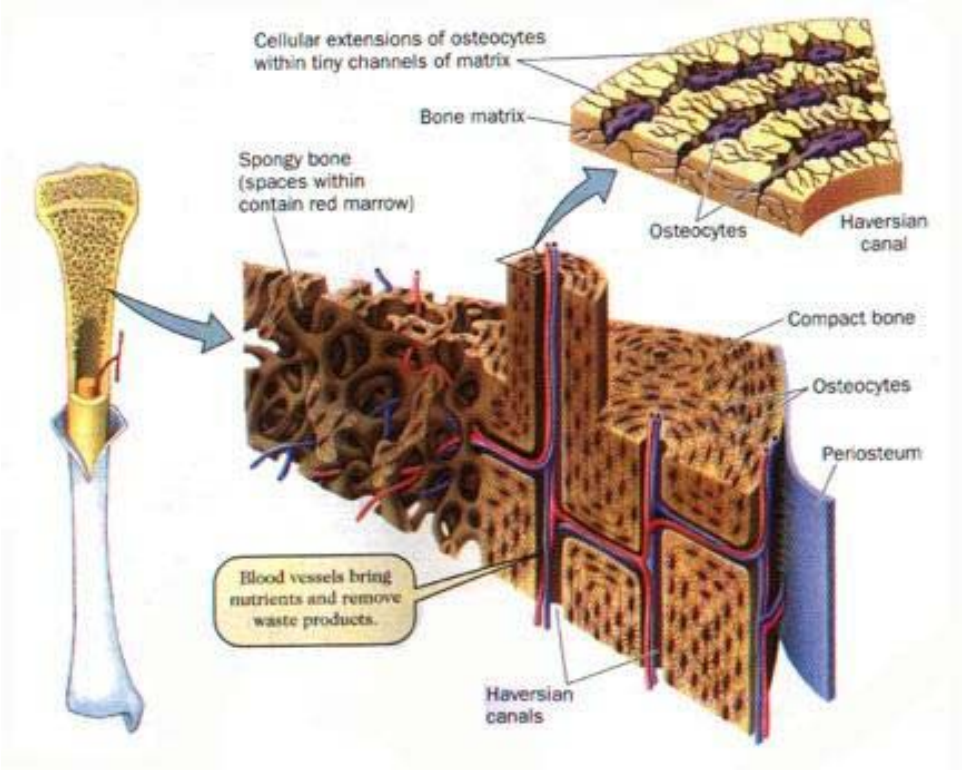
รูปที่ 2.1 กระดูกชนิดต่างๆ จำแนกตามลักษณะรูปร่าง [10]

นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกชนิดของกระดูกตามลักษณะเนื้อกระดูกได้ 2 ประเภท คือ

1) กระดูกเนื้อแน่น (compact bone) มีมวลถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของมวลกระดูกทั้งหมดในร่างกาย เมื่อศึกษาภาพตัดขวางของกระดูกเนื้อแน่น ดังรูปที่ 2.2 จะเห็นเนื้อกระดูกเรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นบาง ล้อมรอบท่อเล็กๆ (central canal หรือ haversian canal) ซึ่งทำหน้าที่ลำเลียงอาหารไปสู่เซลล์ และยังมีเส้นใยคอลลาเจนซึ่งจับตัวเป็นมัดเล็กๆ ก่อให้เกิดการประสานเป็นข่ายซึ่งให้ความแข็งแรงสูง

2) กระดูกเนื้อโปร่ง (spongy หรือ cancellous bone) มีลักษณะเป็นกระดูกชิ้นเล็กๆ (trabeculae) ประสานต่อกัน มีรูพรุนคล้ายฟองน้ำ โดยช่องว่างที่แทรกอยู่จะเป็นที่อยู่ของไขกระดูก กระดูกชิ้นเล็กนี้จะมีการจัดวางตัวไม่เป็นระเบียบ ยกเว้นในกระดูกยาวที่ต้องรับน้ำหนัก โดยจะมีการจัดเรียงตัวในแนวที่ช่วยรับหรือดูดซับน้ำหนักที่จะต้องผ่านกระดูกชิ้นนั้น และพบว่าในกระดูกเนื้อโปร่งจะเป็นบริเวณที่มีเมแทบอลิซึมและอัตราการหมุนเวียน (turnover rate) สูงเมื่อเทียบกับกระดูกเนื้อแน่น เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากกว่า

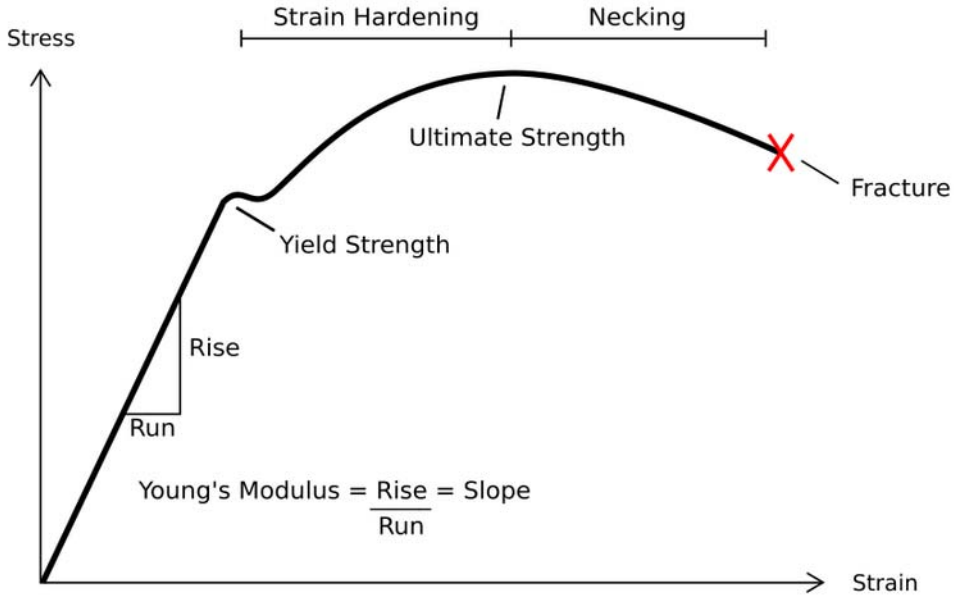
กระดูกโดยทั่วไปจะมีกระดูกเนื้อแน่นเป็นส่วนเปลือก (cortex) ซึ่งจะทำหน้าที่ให้ความแข็งแรง ส่วนเนื้อกระดูกที่อยู่ภายในจะมีส่วนที่เป็นกระดูกเนื้อโปร่ง และไขกระดูก (bone marrow)



รูปที่ 2.2 ภาพตัดขวางของกระดูกยาว [11]

2.1.3 สมบัติของกระดูกเชิงวิศวกรรม [9]

สมบัติทางกลศาสตร์ที่สำคัญของกระดูก คือ ความแข็งแรง (strength) และความแข็ง (stiffness) หากมีแรงจากภายนอก (loading) มากระทำ จะทำให้กระดูกมีรูปร่างผิดไป (deformity) หรือเปลี่ยนแปลงขนาดได้ สามารถเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค้น (stress) และความเครียด (strain) ได้ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค้นและความเครียด [12]

ในช่วงแรกความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค้นและความเครียดเป็นแบบเชิงเส้น คือสามารถยืดหดได้ (elastic region) ถ้ากระดูกได้รับแรงกระทำในช่วงนี้จะสามารถคืนรูปเดิมได้ ถ้าหากได้รับแรงกระทำเพิ่มขึ้นจนถึงจุดล้า (yield point) กระดูกจะมีสภาพคล้ายพลาสติก (plastic region) คือจะไม่คืนรูปเดิมแม้เอาแรงกระทำออก เกิดการเปลี่ยนรูปอย่างถาวร (permanent deformation) และกระดูกจะหักเมื่อเพิ่มแรงกระทำเรื่อยๆ จนถึงจุดล้มเหลว (ultimate failure point)

สมบัติเชิงกลของกระดูกขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้าน เช่น อายุของกระดูก ปริมาณความชื้น ชนิดของแรงที่ได้รับ ทิศทางของแรง และชนิดของกระดูก นอกจากนี้แล้วยังขึ้นกับโครงสร้างของกระดูก เช่น ลักษณะของการจัดเรียงตัวของคอลลาเจน ความพรุน โครงสร้างของเซลล์ และโครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีแอปาไทต์ [4, 9]

2.2 กระดูกปลูก (bone graft)

กระดูกปลูก (bone graft) คือ กระดูกที่มีการปลูกถ่ายจากพื้นที่หนึ่งของโครงกระดูกไปยังอีกบริเวณหนึ่ง เพื่อช่วยในการรักษาอาการบาดเจ็บ หรือแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ [13] โดยมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง เช่น รูปร่างและขนาดของกระดูกปลูก ตำแหน่งที่ผิดปกติ เทคนิคการผ่าตัด และการดูแลรักษาหลังการผ่าตัด เป็นต้น [14] วัสดุปลูกต้องเป็นสื่อนำให้เกิดการสร้างกระดูกใหม่ได้ โดย

ไม่ทำให้เกิดการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของผู้ที่ได้รับ ไม่เป็นพาหะนำโรค นอกจากนี้แล้วยังต้องเป็นวัสดุที่หาได้ง่าย และขั้นตอนการเตรียมไม่ยุ่งยาก สามารถจำแนกตามแหล่งที่มาของกระดูกได้ดังนี้ [3]

1) Autograft bone คือ เนื้อเยื่อกระดูกที่ปลูกถ่ายภายในร่างกายของคนคนเดียวกัน หรือถ้าเป็นการปลูกถ่ายในสัตว์ทดลอง ก็จะเป็นการปลูกถ่ายในสัตว์ตัวเดียวกัน กระดูกปลูกชนิดนี้มีสมบัติดีที่สุด

2) Allograft bone คือ เนื้อเยื่อกระดูกที่ได้จากสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกัน เช่น เนื้อเยื่อกระดูกที่ได้รับการบริจาคจากผู้อื่น เป็นต้น

3) Xenograft bone คือ เนื้อเยื่อกระดูกที่ได้จากสิ่งที่มีชีวิตต่างสายพันธุ์ เช่น ระหว่างคนกับวัว หรือระหว่างหนูกับกระต่าย เป็นต้น

ตาราง 2.2 ข้อดีและข้อเสียของกระดูกปลูกแต่ละชนิด [3]

ประเภท	ข้อดี	ข้อเสีย
Autograft	- มีศักยภาพสูงในการก่อให้เกิดกระดูกใหม่ - มีความสามารถสูงในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันธุ์ - ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน	- ปริมาณของกระดูกปลูกมีจำกัด ปัญหาที่เกิดขึ้นมักจะเป็นกรณีที่ต้องปลูกกระดูกจำนวนมาก หรือมีชิ้นใหญ่ - อาจเกิดภาวะแทรกซ้อนหลังผ่าตัด - กระดูกตรงตำแหน่งที่ให้อาจมีความแข็งแรงน้อยลง
Allograft	- สามารถจัดหาและเก็บสำรองได้เป็นจำนวนมาก - มีความสะดวกในการใช้เพราะสามารถเลือกชนิด ขนาด และกำหนดปริมาณให้ได้อย่างเหมาะสมในผู้รับแต่ละราย	- แอนติเจนใน allograft สด จะส่งผลต่อปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของผู้รับ - ผู้รับอาจเสี่ยงต่อการติดเชื้อในระหว่างกระบวนการผ่าตัด
Xenograft	- สามารถแก้ข้อจำกัดด้านปริมาณและการจัดหาของกระดูกประเภท autograft และ allograft	- ยากที่จะเข้ากับกระดูกของผู้รับ เนื่องจากทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย

ถึงแม้ว่ากระดูกปลูกจะเป็นที่ยอมรับกันว่ามีสมบัติดีที่สุด แต่ก็มีข้อจำกัดบางประการ ดังตาราง 2.2 ดังนั้นมนุษย์จึงได้พยายามแก้ปัญหาเหล่านี้ โดยมีการศึกษาและพัฒนาวัสดุซึ่งจะสามารถใช้ทดแทนกระดูก ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติ และสารสังเคราะห์ โดยพยายามที่จะให้มีโครงสร้างและสมบัติคล้ายกับกระดูกมากที่สุด [3]

2.3 วัสดุชีวภาพ (biomaterials)

วัสดุชีวภาพคือวัสดุที่สามารถใช้แทนส่วนหนึ่งส่วนใดของเนื้อเยื่อในอวัยวะ หรือส่วนหนึ่งส่วนใดในร่างกายมนุษย์ที่เสื่อมสภาพ สามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยไม่เกิดการทำลายสภาวะสมดุลภายในร่างกาย วัสดุชีวภาพถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการรักษาและแทนที่กระดูกที่มีความผิดปกติจากโรคหรืออาการบาดเจ็บ ซึ่งต้องใช้ความรู้ในด้านต่างๆ ได้แก่ วัสดุศาสตร์ ชีววิทยา วิทยาศาสตร์เคมี วิทยาศาสตร์การแพทย์ และกลศาสตร์ มาประยุกต์รวมกันเพื่อให้ได้วัสดุชีวภาพที่สามารถใช้งานได้จริง ไม่ทำให้เกิดการต่อต้านจากร่างกาย และสามารถเข้ากันได้กับร่างกายได้อย่างดี [14] ในทางการแพทย์สามารถแบ่งวัสดุชีวภาพได้เป็น 2 ประเภทหลักๆ ได้แก่ [5]

1. วัสดุทางชีววิทยา (biological material) ได้แก่ เนื้อเยื่อ และวัสดุธรรมชาติ เช่น ไม้ เส้นใยธรรมชาติ

2. อวัยวะเทียม (artificial implant materials) ได้แก่ วัสดุสังเคราะห์ที่สามารถทำหน้าที่แทนวัสดุประเภทแรก และทำงานได้เช่นเดียวกับอวัยวะจริง

นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกประเภทของวัสดุชีวภาพตามวัสดุที่ใช้ผลิตได้ 4 ประเภท แสดงดังตาราง 2.3

ตารางที่ 2.3 ประเภทของวัสดุชีวภาพ จำแนกตามวัสดุที่ผลิต [15, 16]

วัสดุที่ใช้	ข้อดี	ข้อเสีย	ตัวอย่างการใช้งานทางการแพทย์
1. วัสดุพอลิเมอร์ (Polymer) ได้แก่ ยาง ซิลิโคน เทฟลอน ไนลอน	- มีความยืดหยุ่นสูง - ความหนาแน่นต่ำ - สามารถผลิตได้ง่าย	- ไม่แข็งแรง - สามารถเกิดการเสียสภาพได้เมื่อมีการใช้ในระยะเวลานาน - บางชนิดอาจมีความเป็นพิษ หรือเสียสภาพ	- การเย็บตกแต่ง (Sutures) - เส้นเลือดเทียม (Artorics) - สะโพก (Hip) - หู (Ear) - จมูก (Nose)

ตารางที่ 2.3 ประเภทของวัสดุชีวภาพ จำแนกตามวัสดุที่ผลิต (ต่อ)

วัสดุที่ใช้	ข้อดี	ข้อเสีย	ตัวอย่างการใช้งานทางการแพทย์
2. โลหะ (Metal) ได้แก่ ไททาเนียมและโลหะผสม สแตนเลส ทองคำ เงิน แพลทินัม	- มีค่าความแข็งแรงดึงและทนทานต่อแรงกระแทกสูง - ทนทานต่อการขัดถู - เหนียว	- เกิดการสึกกร่อนและปล่อยสารที่เป็นพิษต่อร่างกายได้ - ยากต่อการขึ้นรูป - ความหนาแน่นสูง	- ข้อต่อ (Joint replacements) - รากฟันเทียม (Dental root implacements) - กระดูกและส่วนยึดกระดูก (Bone plates and screws)
3. เซรามิกส์ (Ceramics) ได้แก่ อะลูมิเนียมออกไซด์ (aluminium oxide) แคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) ไฮดรอกซีแอปาไทต์ (hydroxyapatite) ไบโอกลาส (bioglass)	- มีความเข้ากันได้ดีกับร่างกาย - ทนต่อการกัดกร่อน - มีทั้งเฉื่อยและว่องไวทางชีวภาพ - ทนทานต่อการกดอัด	- เปราะ - ไม่มีความยืดหยุ่น - ความเหนียวต่ำ	- ฟันปลอม (Dental) - ข้อต่อ (Joint replacements) - เคลือบกระดูกและฟัน
4. วัสดุผสม (Composites) ได้แก่ Ceramics-coated metal, Carbon-coated material	- แข็งแรง - มีสมบัติเชิงกลที่เหมาะสมสำหรับการใช้งาน - ทนทานต่อการกัดกร่อน	- ยากในการผลิต	- ข้อต่อ (Joint replacements) - ลิ้นหัวใจเทียม (Artificial heart valve)

สมบัติที่สำคัญที่สุดของวัสดุชีวภาพทุกชนิด คือการเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อในร่างกาย โดยต้องดูปฏิกิริยาที่เนื้อเยื่อมีต่อวัสดุ (body reaction) และพฤติกรรมของวัสดุเมื่อฝังในร่างกาย (behavior of material) [17] แสดงตัวอย่างปฏิกิริยาตอบสนองของวัสดุเมื่อฝังในร่างกายมนุษย์ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ปฏิกิริยาของวัสดุเมื่อฝังในร่างกาย [9]

ชนิด	ผลต่อเนื้อเยื่อต่างๆ	ผลลัพท์ที่อาจเป็นได้
โพลิเมอร์	เกิดการบวม ดูดซึมไขมัน (lipid absorption) น้ำซึมเข้าในวัสดุ (leaching) เกิดการสึกหรอ (wear)	สมบัติเชิงกลเปลี่ยนไป เกิดการเปลี่ยนรูปร่าง อาจเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อ
โลหะ	เกิดการอักเสบ การสึกกร่อน	ส่งผลเสียต่อสมบัติเชิงกล และอาจทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อ
เซรามิกส์และแก้ว	อาจเกิดการเสียสภาพ เนื่องจากการปลดปล่อยไอออนจากวัสดุ	เกิดการอักเสบฉับพลันหรือเรื้อรัง

2.4 สมบัติของวัสดุชีวภาพ [3, 4, 18]

วัสดุชีวภาพที่ดี ควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

1. Biocompatibility คือความสามารถที่เข้ากับเนื้อเยื่อกระดูกในร่างกายได้ ซึ่งจะทำให้มีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกผสานเข้าไปภายในสารทดแทนกระดูกจนเป็นเนื้อเดียวกัน

2. Biodegradability คือความสามารถที่จะค่อยๆ ถูกสลายโดยกลไกต่างๆ ภายในร่างกาย ซึ่งจะทำให้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ค่อยๆ ถูกกำจัดออกไปจากตำแหน่งที่ใส่หลังจากมีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปแทนที่แล้ว จนในที่สุดเมื่อหมดหน้าที่แล้ว โครงเลี้ยงเซลล์ที่ดีควรจะสามารถถูกร่างกายสลายและกำจัดออกไปให้หมด จุดสำคัญที่น่าสนใจคืออัตราของการสลายตัวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ดีจะต้องสอดคล้องกับอัตราการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกที่เข้าไปแทนที่ เพราะถ้าหากการสลายตัวเกิดขึ้นเร็วเกินไป จะทำให้บริเวณที่ใส่โครงเลี้ยงเซลล์ขาดความแข็งแรง และเกิดการแตกหรือหักได้เมื่อได้รับแรงกระทำ เนื่องจากการเจริญของกระดูกยังเข้าไปไม่มากพอที่จะทำหน้าที่แทน แต่ถ้าการสลายตัวเกิดขึ้นช้าหรือไม่มีการสลายตัว โครงเลี้ยงเซลล์นั้นก็จะเป็นตัวขัดขวางการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูก ทำให้เนื้อเยื่อกระดูกไม่สามารถเจริญเข้าไปแทนที่ได้ ซึ่งจะมีผลต่อชีวกลศาสตร์ของกระดูกส่วนนั้นในระยะยาว

3. สมบัติทางกายภาพต่างๆ ต้องมีความเหมาะสม โดยต้องมีความแข็งแรงและทนต่อแรงที่ได้รับ โดยปราศจากรอยร้าวหรือการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง และวัสดุที่ใช้ต้องมีแรงยึดเหนี่ยวภายในและระหว่างโมเลกุลที่มากพอ ซึ่งปัจจัยดังกล่าวเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาโดยเฉพาะเมื่อใช้กับกระดูกในส่วนที่ต้องรับน้ำหนัก วัสดุทดแทนกระดูกที่มีคุณสมบัติอื่นๆ ดี แต่มีความเปราะก็มีโอกาสที่จะสามารถใช้ได้จำกัดเมื่อเทียบกับวัสดุอื่นที่มีความแข็งแรงของโครงสร้างดีกว่า

4. Osteoinductive capabilities คือความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อกระดูกมีการเจริญเข้าไปในโครงเลี้ยงเซลล์

5. Bioinert คือโครงเลี้ยงเซลล์ต้องเป็นสารที่มีความเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นโดยง่าย

6. การผลิตและการเตรียม ต้องมีขั้นตอนที่ง่าย สามารถทำรูปแบบหรือขนาดได้ง่ายตามความต้องการและสามารถเก็บไว้ใช้งานได้นาน

7. อื่นๆ นอกจากสมบัติข้างต้นแล้วในการออกแบบโครงเลี้ยงเซลล์ จำต้องพิจารณาถึงสมบัติที่จะใช้กับเซลล์แต่ละชนิด รวมถึงปัจจัยทางด้านหน้าที่และโครงสร้าง และปัจจัยที่ไม่ควรมองข้ามคือเรื่องของช่องว่างที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ เช่น การแลกเปลี่ยนก๊าซหรือของเหลว การหายใจ การกินอาหาร และผลกระทบจากกิจกรรมเหล่านี้จะใช้สื่อกลางในการแลกเปลี่ยนสารต่างๆ ซึ่งสื่อกลางนี้คือเลือด ดังนั้นในการเลี้ยงเนื้อเยื่อบางชนิดจำต้องมีการสร้างทางเดินของเลือดด้วย ซึ่งเส้นเลือดระหว่างเซลล์นั้นมีขนาดประมาณ 100 ไมครอน ดังนั้นการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีขนาดรูพรุนต่ำ จึงต้องนำเรื่องนี้มาพิจารณาด้วย

2.5 วัสดุเซรามิกส์ชีวภาพ (bioceramics)

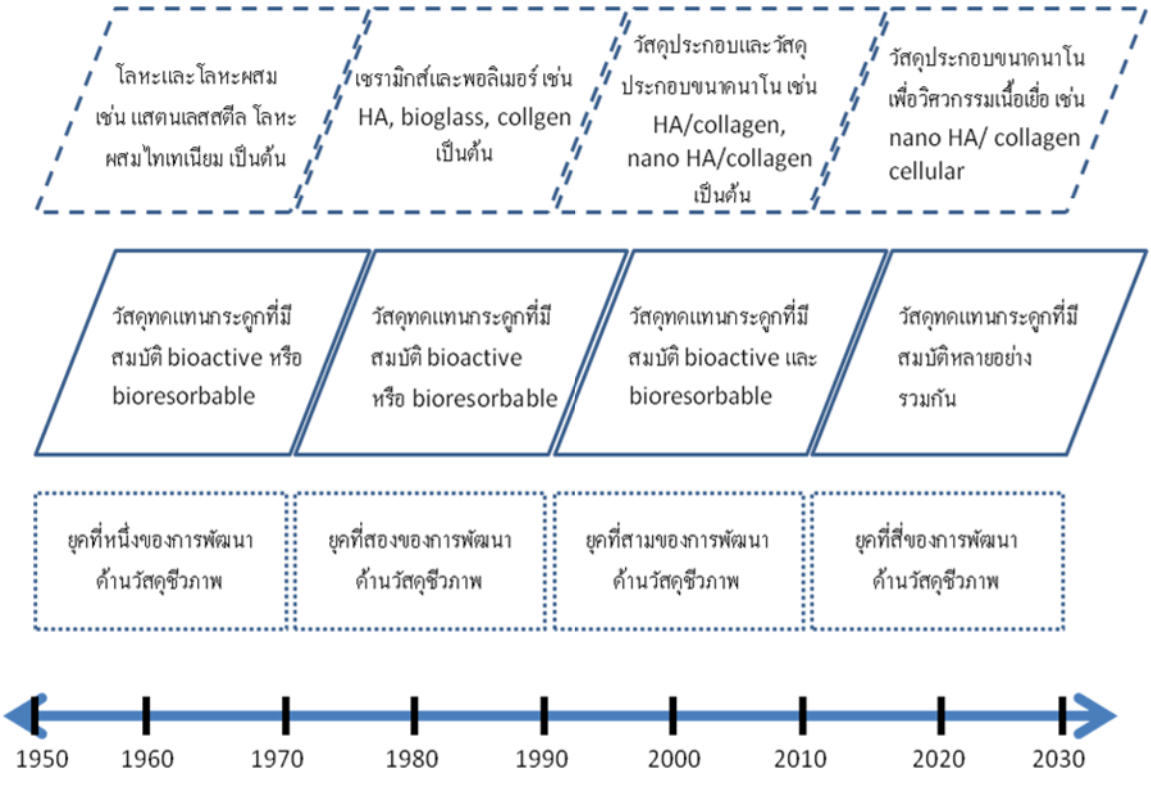
ในระยะ 30-40 ปีที่ผ่านมา มีการพัฒนาความรู้ในด้านการนำวัสดุเซรามิกส์ชีวภาพมาใช้งานด้านวัสดุทดแทนกระดูกในการปลูกถ่ายกระดูก (รูปที่ 2.4) และมีการดัดแปลงให้เข้ากับการใช้งานในแต่ละส่วนของร่างกายมนุษย์ [17] สามารถจำแนกประเภทของวัสดุเซรามิกส์ชีวภาพตามประเภทการตอบสนองของร่างกายและกลไกการยึดติดระหว่างเนื้อเยื่อกับวัสดุเซรามิกส์ชีวภาพได้เป็น 4 ประเภท ได้แก่ [5]

1. เซรามิกส์ค่อนข้างเฉื่อย (nearly inert, bioinert ceramics) เมื่อถูกใส่แทนที่อวัยวะภายในร่างกายแล้วไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี หรือเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ยึดติดกับเนื้อเยื่อด้วยโครงสร้างทางกายภาพ โดยเนื้อเยื่อจะตอบสนองโดยการสร้างเส้นใยห่อหุ้มวัสดุชนิดนี้ เพื่อป้องกันไม่ให้วัสดุสัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อ เมื่อเกิดการเคลื่อนที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อ จะทำให้ความหนาของชั้นเส้นใยเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ความสามารถในการยึดติดกับกระดูกลดลง และอาจเกิดการเลื่อนหลุดได้ง่าย ตัวอย่างวัสดุประเภทนี้ เช่น อลูมินา เซอร์โคเนีย เป็นต้น

2. เซรามิกส์ที่มีรูพรุน (porous ceramics) เมื่อถูกใส่แทนที่อวัยวะ ร่างกายจะสร้างเนื้อเยื่อใหม่แทรกเข้าไปในรูพรุน จึงช่วยลดปัญหาการเลื่อนหลุดได้ แต่ถ้ามีการเคลื่อนที่บริเวณรอยต่ออาจจะทำให้เส้นเลือดฝอยขาด ส่งผลให้เนื้อเยื่อในรูพรุนตาย เกิดอาการบาดเจ็บและติดเชื้อได้ ตัวอย่างวัสดุประเภทนี้ เช่น ไฮดรอกซีแอปาไทต์ โลหะพรุนที่เคลือบด้วยไฮดรอกซีแอปาไทต์ เป็นต้น

3. เซรามิกส์ที่สามารถถูกดูดซับหรือย่อยสลายได้ (resorbable or biodegradable ceramics) วัสดุประเภทนี้สามารถย่อยสลายได้เมื่ออยู่ภายในร่างกาย และถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อที่ร่างกายสร้างขึ้น สารที่ย่อยสลายได้ต้องไม่เป็นพิษกับร่างกาย และสามารถถูกกำจัดได้ด้วยระบบเมแทบอลิซึมของร่างกาย และอัตราการย่อยสลายของวัสดุควรมีค่าใกล้เคียงกับอัตราการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน ตัวอย่างวัสดุประเภทนี้ เช่น ไทเทเนียมฟอสเฟต ไบโอกลาส (bioactive glasses®) เป็นต้น

4. เซรามิกส์ที่ว่องไวทางชีวภาพ (bioactive ceramics) ต้องมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ CaO SiO_2 และ P_2O_5 เมื่อใส่แทนที่อวัยวะในร่างกาย จะเกิดปฏิกิริยาเคมีเกิดเป็น HA บริเวณผิวรอยต่อระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อ ชั้นของ HA จะช่วยยึดวัสดุชีวภาพกับเนื้อเยื่อ จึงช่วยลดปัญหาเรื่องการเลื่อนหลุดได้ ตัวอย่างวัสดุประเภทนี้ เช่น ไบโอกลาส และ HA เป็นต้น



รูปที่ 2.4 วิวัฒนาการของวัสดุชีวภาพในการใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก [16]

ตารางที่ 2.5 สมบัติทางกายภาพของเนื้อเยื่อและวัสดุชีวภาพ [19]

Materials	Young's modulus (GPa)	Tensile strength (MPa)
Soft tissues		
Articular cartilage	10.5	27.5
Fabrocartilage	159.1	10.4
Ligament	303.0	29.5
Tendon	401.5	46.5
Skin	0.1-0.2	7.6
Hard tissues		
Cortical bone	7-30	50-150
Cancellous bone	1-14	7.4
Dentine	11-17	21-53
Enamel	84-131	10
Metals		
Titanium	110	300-740
Stanless steel	190	500-950
Ti-6Al-4V alloy	120	860-1140
Co-Cr alloy	210	665-1200
Ceramics		
Alumina	380	310
Zirconia	200	420
Hydroxyapatite	30-100	50-190
Polymers biodegradable		
Poly (L-lactic acid)	2.7	50
Poly (D,L-lactic acid)	1.9	29
Poly (caprolactone)	0.4	16

ตารางที่ 2.5 สมบัติทางกายภาพของเนื้อเยื่อและวัสดุชีวภาพ (ต่อ)

Materials	Young's modulus (GPa)	Tensile strength (MPa)
Non-biodegradable		
Polyethylene	0.88	35
Polyurethane	0.02	35
Composites		
HA/PE (40/60)	4.29	20.67
Bioglass/PE (40/60)	2.54	10.15
Glass-ceramic/PE (40/60)	2.84	14.87

2.6 วัสดุพรุน (porous materials) และโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffolds)

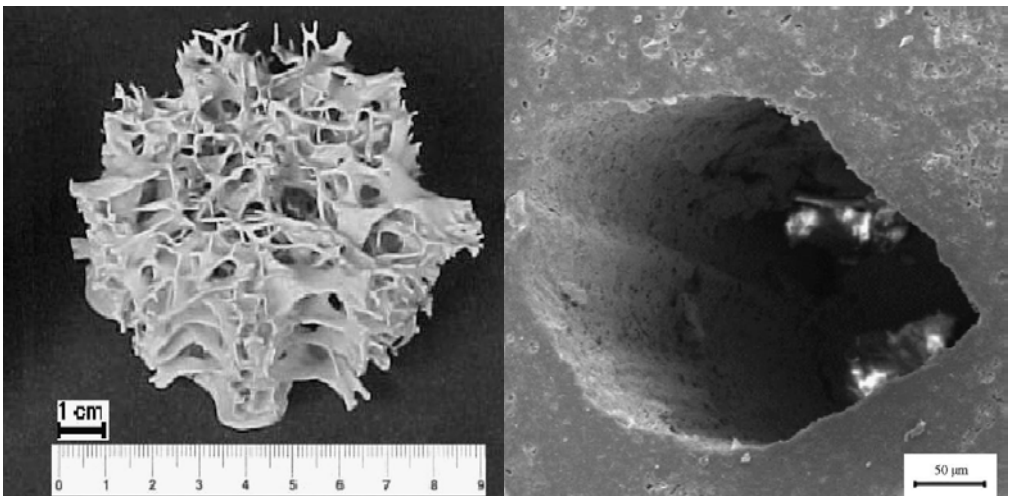
ปัจจุบันมีการนำวัสดุพรุนมาใช้อย่างกว้างขวาง และมีจุดประสงค์ในการใช้งานอย่างหลากหลาย เช่น นำไปใช้ในโครงสร้างที่มีความยืดหยุ่น ในอุตสาหกรรมการผลิตเบาะกันกระแทก ฉนวนกันความร้อน ตัวกรอง ทุ่นลอย วัสดุกันกระแทก เป็นต้น และนำมาใช้เป็นวัสดุชีวภาพ โดยเฉพาะวัสดุประเภทเซรามิกส์ ซึ่งเซรามิกส์พรุน (porous ceramics) นี้ เป็นวัสดุที่สามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกายมากกว่าวัสดุเนื้อแน่น เนื่องจากมีอัตราส่วนของพื้นที่หน้าตัดต่อปริมาตรสูง [19] แต่อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของเซรามิกส์พรุนยังไม่เพียงพอที่จะใช้ประโยชน์ในแง่ของการรับน้ำหนัก เช่น ทำเป็นข้อเทียม ตะโพกเทียม แต่จะนำไปใช้ในการทดแทนอวัยวะอื่นที่ไม่ต้องรับน้ำหนักมาก [9]

เซรามิกส์พรุนที่ถูกนำไปปลูกแทนกระดูกในร่างกาย สามารถเรียกว่า "โครงเลี้ยงเซลล์" (scaffolds) ได้เช่นกัน ในกรณีที่ใช้ทดแทนกระดูกส่วนที่ไม่รองรับน้ำหนัก สามารถนำโครงเลี้ยงเซลล์ปลูกในร่างกายได้เลย จากนั้นจะเกิดการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อในร่างกายเจริญเข้าไปภายในรูพรุน โดยมีของเหลวในร่างกายเป็นตัวกลาง แต่ในกรณีที่ปลูกบริเวณที่ต้องรองรับน้ำหนัก จะต้องทำการเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเต็มพื้นที่ของรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ จากนั้นจึงทำการใส่เข้าไปแทนที่อวัยวะที่ต้องการ และปล่อยให้กลุ่มเซลล์เจริญเติบโต ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ก็ถูกย่อยสลายไป นอกจากนี้ขนาดรูพรุนก็ยังเป็นปัจจัยที่สำคัญมาก โดยขนาดรูพรุนควรอยู่ในช่วง 75-150 ไมโครเมตร และควรเป็นรูพรุนแบบเปิดให้เนื้อเยื่อกระดูกและเส้นเลือดสามารถเจริญเข้าไปได้

เพื่อเป็นที่ว่างที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ เช่น การแลกเปลี่ยนก๊าซหรือของเหลว การหายใจ เป็นต้น [20, 21]

การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์ในปัจจุบัน ได้มีการใช้เทคโนโลยีต่างๆ หลากหลายเพื่อการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีรูปร่าง โครงสร้าง และรูปแบบตามที่ต้องการ รวมถึงคุณสมบัติทางกายภาพในด้านพื้นที่ผิว ความพรุน และขนาดรูพรุนภายใน สามารถสร้างรูพรุนได้หลายวิธี เช่น การสร้างรูพรุนจากก๊าซ (gas foaming) การสร้างรูพรุนโดยอาศัยสมบัติการละลายหรือระเหิดของสารสร้างรูพรุน (soluble or volatile poragen processing) การผสม (phase-mixing) และการเคลือบบนแม่แบบ (template coating) เป็นต้น โดยสามวิธีแรกจะทำให้ได้วัสดุที่มีความหนาแน่นและความแข็งแรงสูงกว่า และมีการกระจายตัวของรูพรุนที่สม่ำเสมอ ส่วนวิธีการเคลือบบนแม่แบบนั้นจะควบคุมรูปร่างของโครงเลี้ยงเซลล์ได้ดีกว่า ให้รูพรุนแบบเปิด ความพรุนสูง และมีโครงสร้างที่เชื่อมโยงกันเป็นโครงข่าย (รูปที่ 2.5) [20]

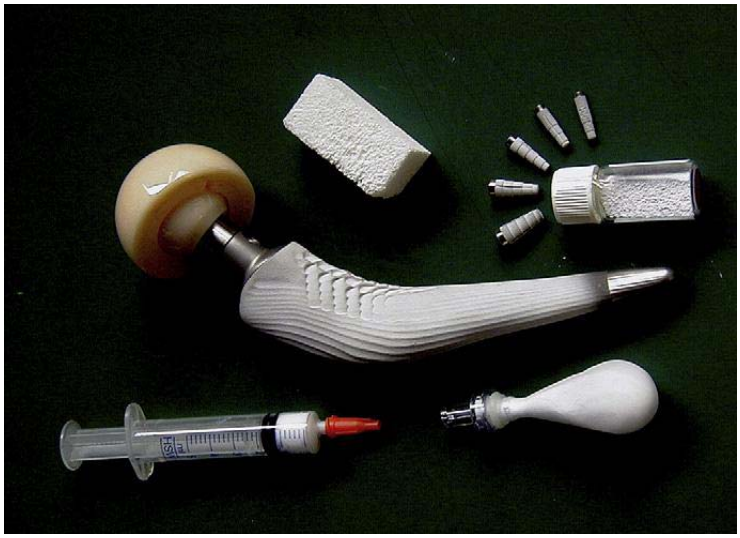
การเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์โดยวิธีการเคลือบนี้ ทำได้โดยการนำวัสดุที่ต้องการเคลือบมาเตรียมเป็นสเลอรี (slurry) ทำการจุ่มเคลือบบนแม่แบบ แล้วซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูง ในขั้นตอนการซินเทอริ่งนี้จะทำให้แม่แบบสลายตัว ได้เป็นโครงสร้างที่มีความพรุนสูงถึงประมาณ 70-90 เปอร์เซ็นต์ [20] มีทั้งรูพรุนขนาดเล็ก (micro-pores) และรูพรุนขนาดใหญ่ (macro-pores) ซึ่งขนาดของรูพรุนขนาดใหญ่นี้จะขึ้นอยู่กับชนิดและโครงสร้างของแม่แบบที่ใช้ เช่น เส้นใย (fiber meshes) ไฮโดรเจล (hydrogels) และโฟม (foam) เป็นต้น [22]



รูปที่ 2.5 เซรามิกส์พรุนที่ขึ้นรูปโดยวิธีการเคลือบบนแม่แบบใยบวบธรรมชาติ (ก) และโครงสร้างทางจุลภาคที่ได้ (ข) [23]

2.7 เซรามิกส์แคลเซียมฟอสเฟตในทางการแพทย์

วัสดุแคลเซียมฟอสเฟตถูกนำมาใช้เป็นวัสดุชีวภาพในการรักษาความบกพร่องของกระดูกและฟัน ตั้งแต่ ค.ศ.1980 เนื่องจากพบว่ามีความสามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกาย และมีความว่องไวทางชีวภาพ และหลังจากมีการค้นพบว่าวัสดุประเภทนี้มีสมบัติในการเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อเจริญได้ก็ยิ่งทำให้มีการใช้อย่างแพร่หลายมากขึ้น วัสดุในกลุ่มนี้ เช่น ไฮดรอกซีแอปาไทต์ (hydroxyapatite) ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate) [17, 24] และอื่นๆ แสดงดังตารางที่ 2.5



รูปที่ 2.6 วัสดุชีวภาพในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต [5]

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ [25]

Name	Formula	อัตราส่วนโดยโมล Ca/P	Mineral
Monocalcium phosphate monohydrate	$Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$	0.50	-
Dicalcium phosphate	$CaHPO_4$	1.00	Monetite
Dicalcium phosphate dihydrate	$CaHPO_4.2H_2O$	1.00	Brushite
Octocalcium phosphate	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	1.33	-

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ (ต่อ)

Name	Formula	อัตราส่วนโดยโมลCa/P	Mineral
Precipitated hydroxyapatite	$Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$	1.50-1.67	-
Monocalcium phosphate	$Ca(H_2PO_4)_2$	0.50	-
Sintered hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1.67	Hydroxyapatite
Oxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6O$	1.67	-
Tetracalcium phosphate	$Ca_4(PO_4)_2O$	2.00	Hilgenstockite

2.7.1 ไฮดรอกซีแอปาไทต์ (hydroxyapatite, HA)

2.7.1.1 โครงสร้างผลึกไฮดรอกซีแอปาไทต์

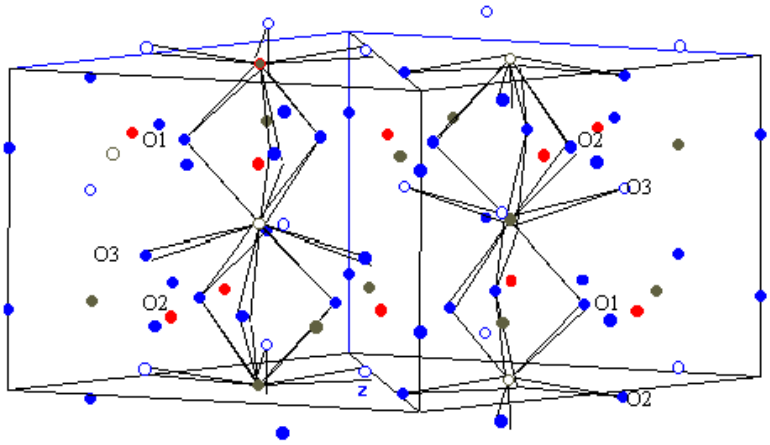
HA มีสูตรทางเคมี $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ มีอัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P เท่ากับ 1.67 และอัตราส่วนโดยน้ำหนักเท่ากับ 2.15 ประกอบด้วย แคลเซียม และฟอสฟอรัส 39.68 และ 18.45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักตามลำดับ มีรูปผลึกเป็นเฮกซะโกนอล (hexagonal) ดังรูปที่ 2.7 คำว่า “ไฮดรอกซีแอปาไทต์” มาจาก “ไฮดรอกซี (hydroxy)” ซึ่งหมายถึงไฮดรอกไซด์ไอออน (hydroxide ion) และคำว่า “แอปาไทต์ (apatite)” เป็นชื่อของผลึกที่มีองค์ประกอบเป็น $M_{10}(ZO_4)_6X_2$

โดย M = Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, Mg, Na, K ฯลฯ

Z = P, V, As, S, Si, Ge, Cr, B ฯลฯ

X = OH, OD, CO_3, O, BO_2, F, Cl, Br ฯลฯ [9]

ในโครงสร้างผลึกของ HA อาจมีไอออนอื่นๆ มาแทนที่ที่ตำแหน่ง Ca^{2+}, PO_4^{3-} และ OH^- จะส่งผลให้ค่าแลตทิซพารามิเตอร์ (lattice parameter) โครงสร้างผลึก (crystal morphology) ความเป็นผลึก (crystallinity) ค่าการละลาย (solubility) และความเสถียรทางความร้อน (thermal stability) เปลี่ยนแปลงไป [17]



รูปที่ 2.7 โครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีแอปาไทต์ [26]

2.7.1.2 สมบัติโดยทั่วไปของไฮดรอกซีแอปาไทต์

สมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของ HA แสดงดังตาราง 2.6

ตารางที่ 2.7 สมบัติต่างๆ ของไฮดรอกซีแอปาไทต์ [22]

Properties	Experimental data
Chemical composition	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
Color	White
Young's modulus (GPa)	80-110
Elastic modulus (GPa)	114
Compressive strength (MPa)	400-900
Bending strength (MPa)	115-200
Density (g cm^{-3})	3.16
Relative density (%)	95-99.5
Decomposition temperature (˚C)	>1614
Melting point (˚C)	1,000
Biocompatibility	High
Bioactivity	High
Biodegradation	Low
Osteoinduction	No

ในส่วนของความสามารถในการละลายของ HA นั้น พบว่าสามารถละลายได้ในกรด ละลายในน้ำได้เพียงเล็กน้อย และไม่ละลายในสารละลายอัลคาไลน์ มีค่าการละลายในน้ำกลั่น (pKs) ประมาณ 120 ดังสมการ 2.1

$$pKs = -\log[Ca]_{10}[PO_4]_6[OH]_2 \approx 120 \qquad (2.1)$$

ความสามารถในการละลายจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีกรดอะมิโน โปรตีน เอนไซม์ และสารอินทรีย์อื่นๆ และยังขึ้นอยู่กับรูปร่าง ความพรุน ขนาดผลึก ความเป็นผลึก นอกจากนี้พบว่า HA ที่ผ่านการซินเทอริ่งจะมีความสามารถในการละลายลดลง [15]

ด้านความเสถียรทางความร้อน พบว่าเมื่อ HA ได้รับความร้อน จะเกิดการเปลี่ยนแปลง ดังสมการ 2.3 และ 2.4 โดย HA ที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีการจัดเรียงตัวที่ไม่สมบูรณ์ สูตรทั่วไปที่ใช้กล่าวแทน HA แสดงดังสมการที่ 2.2

$$Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH).nH_2O \;\; ; 0 < x < 1 \; ; n = 0\text{-}2.5 \qquad (2.2)$$

$$Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH).nH_2O \xrightarrow{<700^\circ} Ca_{10-x}(P_2O_7)_x(PO_4)_{6-x} + nH_2O \qquad (2.3)$$

$$Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH).nH_2O \xrightarrow{700\text{-}800^\circ C} (1-x)Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 3xCa_3(PO_4)_2 + nH_2O \qquad (2.4)$$

เมื่อซินเทอริ่ง HA ที่อุณหภูมิสูงกว่า 800˚C จะทำให้ HA แตกตัวเป็น $Ca_3(PO_4)_2$ และ $Ca_4P_2O_9$ ดังสมการ 2.5 และ 2.6 [15]

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \xrightarrow{>800^\circ} Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2-2x}O_xA_x + xH_2O \qquad (2.5)$$

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2-2x}O_xA_x \xrightarrow{>1,300^\circ} 2Ca_3(PO_4)_2 + Ca_4P_2O_9 \qquad (2.6)$$

นอกจากการซินเทอริ่งจะทำให้ HA สลายตัวแล้ว ยังมีผลต่อสมบัติบางประการ เช่น ความพรุน ความหนาแน่น ขนาดของเกรน การกระจายตัวของอนุภาค และความแข็งแรงอีกด้วย โดยพบว่า การซินเทอริ่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 1,000˚C จะส่งผลให้อนุภาคเริ่มเชื่อมติดกัน (coalescence) แต่ยังไม่มีผลต่อกระบวนการแน่นตัวของวัสดุ (no densification) และพื้นที่ผิวหรือความพรุนยังไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อทำการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิในช่วง 1,000-1,200˚C พบการ

เจริญเติบโตของเกรน เกิดกระบวนการแน่นตัว ทำให้ความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และยังมีการสลายตัวของ HA ซึ่งการสลายตัวของ HA นี้จะชัดเจนมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่งสูงขึ้น [14, 27]

2.7.2 ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate, TCP)

TCP มีสูตรทางเคมีคือ $Ca_3(PO_4)_2$ มีสมบัติคล้าย HA คือสามารถใส่ทดแทนกระดูกที่บกพร่องได้ โดยไม่เกิดการต่อต้าน สมานรอยหักโดยมีเนื้อเยื่อเจริญเข้าไปภายในโครงเลี้ยงเซลล์ได้ และยังมีจุดเด่นคือสามารถสลายตัวได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับ HA ซึ่งการสลายตัวของ TCP นี้ไม่ก่อให้เกิดพิษต่อระบบต่างๆ ในร่างกาย เนื่องจากการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ไม่ทำให้ระดับของแคลเซียมและฟอสเฟตในเลือดสูงกว่าปกติ [3] ตารางที่ 2.7 แสดงสมบัติต่างๆ ของ TCP

ตารางที่ 2.8 สมบัติต่างๆ ของไตรแคลเซียมฟอสเฟต [28, 29]

Properties	Experimental data
Chemical composition	$Ca_3(PO_4)_2$
Color	White
Young's modulus (GPa)	33-90
Compressive strength (MPa)	460-687
Bending strength (MPa)	115-200
Density (g cm^{-3})	3.07
Melting point (°C)	1,670
Biocompatibility	High
Bioactivity	High
Biodegradation	Medium
Osteoinduction	No

2.8 เซรามิกส์แคลเซียมซิลิเกต [6, 30]

2.8.1 ข้อมูลทั่วไปของแคลเซียมซิลิเกต

แคลเซียมซิลิเกต (calcium silicate, CS) ชนิดโวลลาสโตไนต์ (wollastonite) มีสูตรทางเคมีคือ $CaSiO_3$ สามารถเกิดและสลายตัวได้เมื่อมีความร้อนและความดันมาเกี่ยวข้อง ดังสมการที่ 2.7 และ 2.8

$$CaCO_3 + SiO_2 \longrightarrow CaSiO_3 + CO_2 \qquad (2.7)$$

$$CaSiO_3 \longrightarrow CaO + SiO_2 \qquad (2.8)$$

CS นี้เป็นแร่ธาตุที่ประกอบไปด้วยส่วนประกอบหลักคือ CaO และ SiO_2 ซึ่ง CS ที่เกิดขึ้นเองธรรมชาติจะมีไอออนของโลหะปนอยู่ในปริมาณเล็กน้อย แสดงองค์ประกอบของ CS ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.9 องค์ประกอบทางเคมีของแคลเซียมซิลิเกต

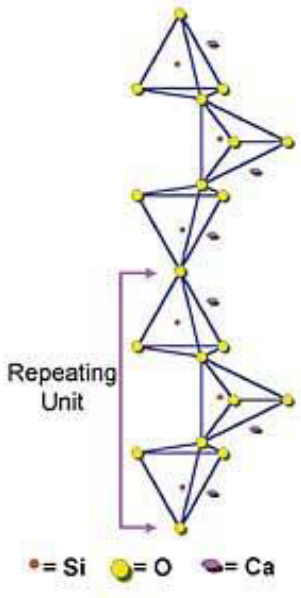
ส่วนประกอบทางเคมี	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
CaO	47.00
SiO_2	50.00
Fe_2O_3	1.00
Al_2O_3	0.30
K_2O	0.10
MnO	0.10
MgO	0.30
TiO_2	0.05
P_2O_5	0.04
Moisture	0.20
Loss on ignition	0.20
Undemined	0.71

ตารางที่ 2.10 สมบัติต่างๆ ของแคลเซียมซิลิเกต

Properties	Experimental data
Chemical composition	$CaSiO_3$
Color	White
Density (g cm^{-3})	2.87-3.09
Melting point (˚C)	1,540
Biocompatibility	High
Bioactivity	High
Biodegradation	Medium
Osteoinduction	High

2.8.2 โครงสร้างผลึกของแคลเซียมซิลิเกต

CS มีรูปร่างผลึกเป็นแท่งยาว คล้ายเข็ม (Acicular) (รูป 2.9) อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวตั้งแต่ 1:2 ถึง 1:20 ซึ่งถ้ามีอัตราส่วนสูง จะสามารถใช้เพื่อจุดประสงค์ในการเสริมแรงได้



รูปที่ 2.8 โครงสร้างผลึกแคลเซียมซิลิเกตโดยเรียงตัวเป็นโครงสร้างแบบสายโซ่เดี่ยว [31]

รูปที่ 2.9 รูปร่างผลึกของแคลเซียมซิลิเกต [32]

2.8.3 สมบัติทางเคมีของแคลเซียมซิลิเกต

CS บริสุทธิ์จะค่อนข้างเฉื่อย สามารถละลายน้ำได้บ้าง ค่าความสามารถในการละลายเท่ากับ 0.0095 g/100 ml มีปฏิกิริยาดังสมการที่ 2.9 และ CS จะทำปฏิกิริยาได้ดีกับกรด เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟูริก กรดฟอสฟอริก กรดไนตริก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลกติก กรดฟอร์มิก เป็นต้น แสดงปฏิกิริยาการละลายในกรดฟอสฟอริก ดังสมการที่ 2.10

$$CaSiO_3 + nH_2O \longrightarrow Ca(OH)_2 + SiO_2.(n\text{-}1)H_2O \qquad (2.9)$$

$$3CaSiO_3 + 2H_3PO_4 \longrightarrow Ca_2(PO_4)_2 + 2H_2SiO_3 \qquad (2.10)$$

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

C. Wang และคณะ [33] ได้ทำการสังเคราะห์วัสดุผสมจากเบตา-แคลเซียมซิลิเกต (β-CS) และเบตา-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (β-TCP) โดยมีเป้าหมายคือรวมสมบัติที่ดีของวัสดุทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน คือ สมบัติการเป็นสื่อนำให้เกิดการสร้างกระดูก (osteoconductivity) ของ β-TCP และสมบัติการเชื่อมต่อกับกระดูกที่ดี (bioactivity) และการกระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อใหม่ (osteostimulation) ของ β-CS เพื่อให้เกิดการซ่อมสร้างเนื้อเยื่อกระดูกอย่างมีประสิทธิภาพ โครงเลี้ยงเซลล์แบบพรุนที่มีอัตราส่วนของ β-TCP ต่อ β-CS ต่างกัน ขึ้นรูปโดยการเคลือบบนแม่แบบพอลิเมอร์ที่มีรูพรุนขนาดใหญ่ กระจายตัวสม่ำเสมอ และเชื่อมต่อกันเป็นร่างแห แล้วนำไปซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูง จากนั้นนำโครงเลี้ยงเซลล์ขนาด 6×12 มิลลิเมตร ไปปลูกถ่ายในกระดูกโคนขาของกระต่ายขาวนิวซีแลนด์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เวลา 4, 12 และ 26 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับ

โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจาก β-TCP หรือ β-CS บริสุทธิ์ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุม จากการศึกษาสมบัติการย่อยสลายทางชีวภาพและประสิทธิภาพการงอกใหม่ของกระดูก พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่มี β-CS ปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และ 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักมีผลทำให้เซลล์เนื้อเยื่อใหม่เจริญและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และให้ค่าการสลายตัวที่ลดลง ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ β-CS บริสุทธิ์ กระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อใหม่ไม่ดีนัก และมีอัตราการสลายตัวที่เร็ว ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์ β-TCP บริสุทธิ์สามารถกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ระดับปานกลาง เนื่องจากมีสมบัติ osteostimulation ค่อนข้างต่ำ จะเห็นได้ว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของ β-CS อยู่ด้วยไม่เพียงแต่จะแสดงสมบัติ osteoinductivity ที่ดีเท่านั้น แต่ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ได้อย่างรวดเร็ว ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าจะสามารถปรับโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีสมบัติตามที่ต้องการได้ด้วยการควบคุมอัตราส่วนของ β-TCP และ β-CS ให้เหมาะสม

G. Muralitharan และคณะ [27] ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่งต่อสมบัติต่างๆ ของไฮดรอกซีแอปาไทต์ (HA) โดยทำการสังเคราะห์ HA ที่เป็นปริมาณสารสัมพันธ์ขึ้น แล้วนำไปขึ้นรูปด้วยวิธีการอัดที่ความดัน 40 MPa ให้เป็นทรงกระบอกสูง 20 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปซินเทอริ่งที่อุณหภูมิช่วง 1,000-1,450˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิของการซินเทอริ่งส่งผลต่อความหนาแน่น การหดตัว และขนาดเกรนของ HA กล่าวคือเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลให้มีการหดตัว ความหนาแน่น และขนาดของเกรนเพิ่มขึ้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือที่ 1,250˚C ส่งผลให้โครงเลี้ยงเซลล์มีความหนาแน่นสูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ และมีความแข็งแรงเท่ากับ 6.08 GPa อย่างไรก็ตามเมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่งสูงกว่า 1,400˚C ความหนาแน่นและความแข็งแรงจะลดลง เนื่องจากพบว่า HA เริ่มสลายตัวที่อุณหภูมิ 1,400˚C และเปลี่ยนเป็น α-TCP และที่อุณหภูมิ 1,450˚C จะสลายตัวเป็น β-TCP เตตระแคลเซียมฟอสเฟต (tetracalcium phosphate, TTCP) และแคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide, CaO)

H. Guo และคณะ [34] ได้ทำการพัฒนาวัสดุผสมระหว่างแคลเซียมซิลิเกต (CS) และแคลเซียมฟอสเฟต (CP) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการซ่อมแซมกระดูกอย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มขึ้น ในขั้นตอนแรกได้ศึกษาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิที่ใช้เตรียม CS ต่อปริมาณการสลายตัวไปของ CS โดยวัดจากร้อยละของน้ำหนักที่หายไป และเวลาที่ใช้เพื่อการคงรูป (Setting time) พบว่าที่ 100˚C CS จะสลายตัวมากที่สุด เพราะ CS ที่เตรียมได้มีความเป็นผลึกน้อย (low crystallinity) เมื่อเปรียบเทียบกับการเตรียมที่อุณหภูมิสูงกว่าแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลจึงถูกทำลายได้ง่าย จากนั้นศึกษาส่วนประกอบของวัสดุผสม CS-CP โดยเทคนิค XRD และ FTIR พบว่า CS ไม่มีผลต่อโครงสร้างของเนื้อวัสดุหลัก เมื่อศึกษาความสามารถ

ในการเชื่อมต่อกับเนื้อเยื่อของร่างกาย โดยแช่โครงเลี้ยงเซลล์ตัวอย่างในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (simulated body fluid, SBF) และสังเกตความเปลี่ยนแปลงในระยะเวลา 7 วัน และทำการทดลองโดยฝังโครงเลี้ยงเซลล์ในกล้ามเนื้อของหนู พบว่าในทั้งสองการทดลองมีชั้นของแอปาไทต์เกิดขึ้นบนผิวของวัสดุผสมแต่มีรูปร่างแตกต่างกัน เนื่องจากในสารละลาย SBF มีเพียงอนินทรีย์ไอออน (inorganic ions) แต่ของเหลวในร่างกายมีโปรตีนและสารอินทรีย์อื่นๆ ด้วย และเมื่อศึกษาผลของปริมาณ CS ต่อปริมาณการเกิดแอปาไทต์โดยเทคนิค *in vivo* พบว่า ปริมาณแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นใหม่แปรผันตรงกับปริมาณ CS ดังนั้นการเติม CS ลงใน CP สามารถปรับปรุงสมบัติด้านการเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อกระดูกของวัสดุผสมได้

I.M. Martinez และคณะ [35] ได้ทำการเตรียมวัสดุผสม ระหว่าง HA และโวลลาสโทไนต์ (A/W) ขึ้นรูปโดยวิธีการอัด แล้วนำไปซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,200˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจหาเอกลักษณ์เฉพาะและโครงสร้างโดยเทคนิค XRD, TEM และ EDX พบว่า ผลึกที่ได้หลังจากผ่านการซินเทอริ่งมี 2 ชนิดคือ ผลึกของโวลลาสโทไนต์ ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม (hexagonal) และไวท์ล็อกไคต์ (whitlockite) มีลักษณะเรียงเป็นคอลัมน์ (column shape) โดยผลึกทั้งสองชนิดไม่ได้เป็นปริมาณสารสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี พบว่ามีซิลิกาไอออนในผลึกโวลลาสโทไนต์ ส่งผลให้แลตทิซพารามิเตอร์ (lattice volume) มีค่าเพิ่มขึ้น แต่การมีอยู่ของแมกนีเซียมไอออนในผลึกไวท์ลอกไคต์นั้นจะไม่ทำให้ค่าแลตทิซพารามิเตอร์เปลี่ยนแปลงไป

L. Kaewsichan และคณะ [36] ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการซินเทอริ่งต่อโครงสร้างในระดับไมโคร สมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของ CS เตรียมวัสดุผสมโดยผสมผง HA และ TCP ในอัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก แล้วนำมาผสมกับ CS ความเข้มข้นในช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำไปขึ้นรูปโดยวิธีการอัด แล้วนำไปซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,050, 1,150 และ 1,250˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หาความพรุนตามหลักการของอาคีมีดิส (Archimedes method) พบว่าความพรุนขึ้นอยู่กับปริมาณของ CS ที่เติม และอุณหภูมิของการซินเทอริ่ง โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของ CS และอุณหภูมิในการซินเทอริ่ง จะส่งผลให้ค่าความพรุนลดลงจาก 64 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 47 เปอร์เซ็นต์ แต่ในทางกลับกันจะทำให้ความแข็งแรงของวัสดุเพิ่มขึ้น เนื่องจากผลการลดลงของความพรุนนั่นเอง จากการตรวจสอบสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของวัสดุโดย SEM พบว่ามีการกระจายของรูพรุนอย่างสม่ำเสมอและมีลักษณะรูพรุนแบบเปิด นอกจากนั้นยังพบอนุภาคของ CS กระจายตัวบริเวณขอบของเกรนของเนื้อวัสดุหลักโดยไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันแม้จะซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C เนื่องจากอนุภาค CS มี

ความต้านทานต่อความร้อนที่สูงกว่า HA และ TCP ซึ่งมีอนุภาคขนาดใหญ่กว่า การวิเคราะห์สมบัติการเข้ากันได้ของโครงเลี้ยงเซลล์กับเนื้อเยื่อในร่างกาย โดยวิธี *in vitro* โดยแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline, PBS) และวิเคราะห์ผลที่เมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ พบว่าไม่มีผลึกแอปาไทต์เกิดขึ้นบนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,050 และ 1,150˚C แต่จะพบผลึกแอปาไทต์ที่มีรูปร่างคล้ายเข็มในตัวอย่างที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ดังนั้นจะสามารถปรับปรุงคุณสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ให้มีความเหมาะสมกับการใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้ โดยการเติม CS ลงในส่วนประกอบหลัก และเลือกใช้อุณหภูมิในการซินเทอริ่งที่เหมาะสม

K.A. Hing และคณะ [37] ได้ทำการศึกษาผลของปริมาณซิลิกอนไอออนในเซรามิกส์ซิลิเกตไฮดรอกซีแอปาไทต์ (SA) ต่อคุณภาพ และอัตราการเกิดชั้นแอปาไทต์ และความหนาแน่นของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมโดยวิธีการตกตะกอนเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจาก HA บริสุทธิ์ โดยเติมซิลิกอนที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักลงใน HA ขณะเดียวกันก็ควบคุมอัตราส่วนของ Ca/(Si+P) ในวัสดุผสมให้คงที่เท่ากับ 1.67 จากนั้นนำไปขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์และนำไปฝังตรงปลายกระดูกส่วนต้นขา (Distal femoral condyle) ของกระต่ายขาวนิวซีแลนด์ พบว่ามีการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกในช่วงเวลาน้อยกว่า 1 สัปดาห์ อัตราเร็วและความเสถียรของการซ่อมแซมกระดูกขึ้นอยู่กับประมาณของซิลิกอน ที่ปริมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของซิลิกอนให้ผลทดสอบทางชีวภาพที่ดีระหว่าง SA กับเนื้อเยื่อเดิม

L.M. Alonso และคณะ [38] ได้ทำการศึกษาผลของปริมาณไตรแคลเซียมซิลิเกต (C_3S) ที่มีต่อสมบัติทางชีวภาพและทางกายภาพของแอลฟา-ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (α-TCP) เตรียมวัสดุผสมโดยการนำผง C_3S ที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธี Sol-gel ผสมกับ α-TCP ในสัดส่วนของ C_3S เท่ากับ 0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำผงวัสดุผสมไปกระจายในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์แล้วนำไปขึ้นรูปโดยวิธีการอัด พบว่าชิ้นตัวอย่างมีค่าเวลาเพื่อการคงตัวมากขึ้นเมื่อมีการเติม C_3S แต่ไม่มีนัยสำคัญของปริมาณ C_3S มาเกี่ยวข้อง จากนั้นทดสอบสมบัติทางชีวภาพโดยวิธี *in vitro* โดยแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลาย SBF แล้วตรวจเอกลักษณ์และโครงสร้างของตัวอย่างโดยเทคนิค XRD และ SEM พบว่า C_3S มีผลต่อสมบัติทางชีวภาพและความแข็งแรงอย่างชัดเจน โดยสังเกตการเกิดของผลึกแอพาไทต์บนผิวของชิ้นตัวอย่างที่มี C_3S 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักอย่างหนาแน่นและสม่ำเสมอภายในเวลา 7 วัน อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของชิ้นตัวอย่างจะลดลง เนื่องจากเกิดการไฮโดรไลสิสของ α-TCP ด้วยเหตุนี้ชิ้นตัวอย่างที่เติม C_3S ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจึงมีความแข็งแรงต่ำมาก นอกจากนั้นยังพบว่าวัสดุผสมชนิดนี้ไม่เป็นพิษต่อ

เซลล์ปกติ จึงสรุปได้ว่าการเติม C_3S ในปริมาณที่ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่งผลให้โครงเลี้ยงเซลล์มีสมบัติทางชีวภาพของวัสดุที่ดี โดยค่าความแข็งแรงลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

M. Palard และคณะ [39] ศึกษาผลของปริมาณซิลิกอนที่มีต่อกระบวนการซินเทอริ่งและพฤติกรรมทางชีวภาพของเซรามิกส์ซิลิเกตไฮดรอกซีแอปาไทต์ (SA) ที่มีสูตรโมเลกุลคือ $Ca_{10}(PO_4)_{6-x}(SiO_4)_x(OH)_{2-x}$ และศึกษาค่า x ในช่วง $0 \leq x \leq 1$ เตรียม SA โดยวิธีการตกตะกอน (precipitation) จากการค่อยๆ หยดสารละลายไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) และซิลิกอนอะซิเตต ($Si(OCOCH_3)_4$) ลงในสารละลายแคลเซียมไนเตรต ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$) ให้ความร้อนและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 90˚C กวนปฏิกิริยาในอัตราเร็วคงที่จนสารผสมมี pH เท่ากับ 9 นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 90˚C จนแห้ง ก่อนผ่านกระบวนการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิระหว่าง 1,000-1,300˚C เป็นเวลา 30 นาที อัตราการขึ้น-ลงของอุณหภูมิเท่ากับ 20˚C/min เมื่อศึกษากระบวนการแน่นตัว (Densification) ของ SA ระหว่างการซินเทอริ่ง พบว่าที่ปริมาณของ Si ในช่วง 0-0.5 โมล มีผลต่อการเติบโตของเกรน ขนาดของเกรนจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการซินเทอริ่ง ส่วนที่ปริมาณของซิลิกอนมากกว่า 0.5 โมล ไม่มีผลต่อการเติบโตของเกรน เมื่อทำการประเมินการเข้ากันได้กับเซลล์ร่างกายโดยวิธี *in vitro* เทียบกับไฮดรอกซีแอปาไทต์ (HA) พบว่า Si ใน SA มีผลทำให้การยึดเกาะของเซลล์บนผิววัสดุดีขึ้น แต่ไม่มีผลต่อขนาดของแรงยึดเกาะดังกล่าว

M.S. Sadjadi และคณะ [40] ได้ทำการศึกษาผลของซิลิกาไอออนต่อกลไกการเกิดผลึก HA ขนาดนาโนเมื่อแช่ตัวอย่าง TCP ที่มีโซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3) เป็นส่วนประกอบ ในสารละลาย SBF ที่อุณหภูมิ 37˚C จากการศึกษาพบว่ามีผลึก HA รูปร่างแบบหกเหลี่ยม (hexagonal) ขนาดนาโนเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของตัวอย่างอย่างรวดเร็ว จากการยืนยันผลการทดสอบด้วยเทคนิค FTIR พบว่ามีพีคใหม่เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 471, 798 และ 1200 เซนติเมตร$^{-1}$ และเมื่อเวลาผ่านไป การสลายตัวของ TCP จะเพิ่มมากขึ้นด้วย ทำให้ชั้นของ HA หนาขึ้น พบว่ามีปริมาณ HA ที่เกิดใหม่ภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการแช่สูงถึง 89.7 เปอร์เซ็นต์ โดยยืนยันจากภาพถ่าย TEM เมื่อคำนวณขนาดอนุภาคก่อนและหลังจากการแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีค่าลดลงจาก 22.75 นาโนเมตร เป็น 18.2 นาโนเมตร ซึ่งน่าจะเกิดจากการสลายตัวอย่างรวดเร็วของ TCP นั่นเอง การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าสมบัติต่างๆ ได้แก่ การสลายตัว การเชื่อมต่อกับเนื้อเยื่อกระดูก รวมทั้งการเกิดและเพิ่มขึ้นของ HA ขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของซิลิกาไอออน

N. Patel และคณะ [41] ได้ทำการศึกษาผลของซิลิกอนที่มีต่อพฤติกรรมการตอบสนองของเนื้อเยื่อโดยวิธี *in vivo* ของ HA โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวัสดุ 2 ชนิด คือ HA บริสุทธิ์ กับ HA ที่มีส่วนผสมของซิลิกอนปริมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (SiHA) ซึ่งเตรียมโดยวิธีการ

ตกตะกอนร่วม แล้วทำเป็นแกรนูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 0.5-1.0 มิลลิเมตร จากนั้นซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,200˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าแกรนูลทั้งสองชนิดมีความหนาแน่นในช่วง 97-99 เปอร์เซ็นต์ ของค่าทางทฤษฎี (3.156 กรัม/เซนติเมตร) และมีโครงสร้าง ลักษณะการจัดเรียงตัว และพื้นที่ผิวที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นนำวัสดุที่ผ่านการตรวจเอกลักษณ์เบื้องต้นแล้วไปปลูกถ่ายที่ปุ่มกระดูกต้นขา (femoral condyle) ของกระต่ายขาวนิวซีแลนด์ เมื่อเวลาผ่านไป 23 วัน พบเนื้อเยื่อให้การตอบสนองที่ดีกับ HA และ SiHA ซึ่งเนื้อเยื่อใหม่จะเจริญเข้ามาบนผิวของแกรนูลและบริเวณที่ว่างระหว่างแกรนูล และไม่พบการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาปริมาณการงอกของกระดูกใหม่ พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของกระดูกในแกรนูล SiHA มีค่าเท่ากับ 37.5 ± 5.9 ซึ่งมากกว่าของในแกรนูล HA (22.0% ± 6.5) อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การเชื่อมติดกันระหว่างแกรนูลกับเนื้อเยื่อกระดูกของ SiHA (59.8% ± 7.3) มีมากกว่าเมื่อเทียบกับของ HA (47.1 ± 3.6) ดังนั้นจึงสามารถปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพของ HA ได้ โดยการเติมซิลิกอนไอออน ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำวัสดุมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

N.Y. Mostafa และคณะ [42] ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมของกระบวนการซินเทอริ่งและความเสถียรต่อความร้อนของ HA ที่ผ่านการเติมหมู่โซเดียม (Na^{+}) ซิลิเกต (SiO_4^{4-}) และคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) โดยพบว่าเมื่อเติมซิลิกอนน้อยกว่า 0.75 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ HA ที่เติมหมู่ไอออนิกต่างๆ ลงไปมีความเสถียรต่อความร้อนสูงขึ้น ในทางกลับกันหากเติมซิลิกอนมากกว่า 0.75 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ความเสถียรดังกล่าวลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่ซิลิกอนจะไปขัดขวางการเจริญเติบโตของเกรนที่อุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่ง (1,100-1,300˚C) เนื่องจากเกิดการฟอร์มตัวของซิลิโคคาร์โนไทต์ (Silicocarnotite, $Ca_5(PO_4)_2SiO_4$) ซึ่งช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลและสมบัติทางกายภาพของเซรามิกส์ให้ดีขึ้น

S. Cai และคณะ [43] ได้ทำการศึกษากระบวนการเคลือบ (Fabrication process) และสมบัติทางชีวภาพของวัสดุผสม (β-TCP/BG) ที่เตรียมจาก β-TCP โดยการเติมแคลเซียมฟอสเฟตกลาส (BG) ให้เป็นเฟสรองเพื่อจุดประสงค์หลักในการเสริมแรง ในอัตราส่วน 80:20 ใน 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารละลาย PVA คนให้ได้สเลอรีที่มีเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นใช้แม่แบบพอลิยูรีเทนจุ่มในสเลอรีที่ได้ ก่อนผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,100˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โครงเลี้ยงเซลล์ β-TCP/BG ที่ได้มีขนาดรูพรุนในช่วง 200-500 ไมโครเมตร เมื่อทดสอบสมบัติทางกายภาพ พบว่ามีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจาก β-TCP บริสุทธิ์ หลังจากนั้นศึกษาสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของเนื้อเยื่อใหม่โดยวิธี *in vitro* ทำโดยแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้

แช่ในสารละลายดังกล่าว พบว่ามีการฟอร์มตัวของแอปาไทต์บริเวณผิวหน้าของโครงเลี้ยงเซลล์ชนิด β-TCP/BG เกิดขึ้น อัตราส่วนระหว่าง Ca/P มีค่าประมาณ 1.42 นอกจากนี้ยังพบว่าการควบคุมค่าความเป็นผลึกของ β-TCP/BG ในขั้นตอนการซินเทอริ่งมีอิทธิพลต่อความเร็วในการปล่อยอนินทรีย์ไอออน ซึ่งเป็นตัวปรับให้เกิดสมดุลระหว่างสภาวะแวดล้อมของโครงเลี้ยงเซลล์

S. Sprio และคณะ [44] ได้ทำการพัฒนาวัสดุผสมระหว่าง HA และไดแคลเซียมซิลิเกต (Ca_2SiO_4, C_2S) เพื่อการใช้งานแทนที่กระดูกในส่วนรองรับแรง (Load-bearing bone) โดยมี HA เป็นเฟสหลัก และ C_2S เป็นเฟสรองเพื่อจุดประสงค์ในการเสริมแรง วัสดุผสมสามารถเตรียมได้จากเทคนิค Fast Hot Pressing (FHP) ซึ่งเป็นการให้ความร้อนและความดันสูงอย่างรวดเร็ว อุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่งคือ 1,300, 1,400 และ 1,500°C พบว่าที่อุณหภูมิ 1,500°C มีความเหมาะสมที่สุด เพราะทำให้เกรนของทั้ง HA และ C_2S เกิดการรวมตัวเป็นเนื้อเดียว ส่งผลให้สมบัติทางกายภาพด้านความแข็งแรง เช่น ความแข็งแรงดัด (Flexural strength) ค่ายังส์มอดูลัส (Young's modulus) และค่าความเหนียว (Fracture toughness) เพิ่มขึ้นด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับ HA แสดงว่า C_2S มีความสามารถในการเสริมแรง ทำให้วัสดุผสมมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้แทนที่กระดูกในส่วนที่ต้องรองรับแรงนั่นเอง

S. Xu และคณะ [45] ได้ทำการศึกษาความสามารถในการสร้างกระดูกใหม่ (bone-regenerative capacity) และอัตราการดูดซึม (resorption rate) ของวัสดุเซรามิกส์ชีวภาพประเภท β-CS แบบพรุน เปรียบเทียบกับประเภท β-TCP แบบพรุน โดยวิธี *in vivo* เพื่อรักษาความเสียหายของกะโหลกศีรษะในกระต่าย ทำการเก็บตัวอย่างที่ 4, 8 และ 16 สัปดาห์หลังการปลูกฝังวัสดุชีวภาพลงไป จากการวิเคราะห์ด้วย Micro CT เพื่อศึกษาอัตราการดูดซึม พบว่าบริเวณที่ปลูกฝัง β-CS มีอัตราการดูดซึมที่เร็วกว่า และมีความสามารถในการสร้างกระดูกใหม่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณที่ปลูกฝัง β-TCP และจากการวิเคราะห์เนื้อเยื่อสัณฐาน พบว่ามี TRAP-positive multinucleated cells เกาะบนพื้นผิวของ β-CS ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการสลายตัวของ β-CS ขึ้น พร้อมกับการเจริญของเนื้อเยื่อกระดูกเข้าไปในโครงสร้างที่มีความพรุนของ β-CS นอกจากนี้ยังพบชั้นของแอปาไทต์บนพื้นผิวของ β-CS ด้วย จากการทดสอบด้วย SEM และ EDX พบว่าเนื้อเยื่อกระดูกไม่ได้เชื่อมต่อโดยตรงกับ β-CS แต่จะเชื่อมต่อกันผ่านชั้นของแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นใหม่ ซึ่งชั้นของแอปาไทต์ดังกล่าวเป็นกุญแจสำคัญของการเชื่อมต่อของเนื้อเยื่อกระดูกกับ β-CS ดังนั้น β-CS จึงมีความว่องไวในการตอบสนองต่อการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และสามารถย่อยสลายได้ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และน่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้

X. Huang และคณะ [46] ศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเกิดชั้นแอปาไทต์บนพื้นผิวของวัสดุผสมระหว่างโวลลาสโทไนต์ และ β-TCP (WT) ซึ่งเตรียมโดยใช้สารตั้งต้นคือ β-TCP โซเดียมซิลิเกต ($Na_2SiO_3.9H_2O$) และแคลเซียมไนเตรต ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$) นำไปขึ้นรูปโดยการอัด แล้วซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1310°C จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในสารละลาย SBF ที่เวลาต่างๆ กัน ตรวจเอกลักษณ์และศึกษาโครงสร้างก่อนและหลังการแช่โดยเทคนิค EDX และ SEM ตามลำดับ พบว่าปริมาณไอออนของแคลเซียม ซิลิกอน และฟอสฟอรัส และ pH ของสารละลายมีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการสลายตัวของ CS ในขณะเดียวกัน β-TCP ก็จับไอออนของแคลเซียมในสารละลายแล้วตกตะกอนกลับมากลายเป็นผลึกแอปาไทต์ที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมในขั้นแรก เมื่อเวลาผ่านไปจะเกิดการตกตะกอนของแอปาไทต์ในรูปแบบอื่น ผลึกแอปาไทต์ที่ต่างกันยืนยันด้วยการทดสอบโดยเทคนิค XRD และ FTIR นอกจากนี้การสลายตัวของ CS ยังส่งผลให้ชิ้นตัวอย่างมีความพรุนเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นวัสดุผสมชนิดนี้จึงมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำไปใช้ทดแทนกระดูก เนื่องจากมีสมบัติชีวภาพที่เหมาะสม โดยส่งผลให้เกิดการงอกของกระดูกใหม่อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี

1) ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium phosphate, $Ca_3(PO_4)_2$) ยี่ห้อ SIGMA-ALDRICH เกรดวิเคราะห์

2) แคลเซียมซิลิเกต (Calcium silicate, $CaSiO_3$) ยี่ห้อ Riedel-de Haën เกรดวิเคราะห์

3) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium Hydroxide, NH_4OH) ยี่ห้อ J.T. Baker เกรดวิเคราะห์

4) กรดไนตริก (Nitric acid, HNO_3) ยี่ห้อ MERCK เกรดวิเคราะห์

5) โพลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly(vinyl alcohol), $(C_2H_4O)_x$) ยี่ห้อ SIGMA-ALDRICH เกรดวิเคราะห์

6) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) ยี่ห้อ Lab-scan เกรดวิเคราะห์

7) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4) ยี่ห้อ Univar เกรดวิเคราะห์

8) โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride, KCl) ยี่ห้อ Seelze-Hannover เกรดวิเคราะห์

9) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4) ยี่ห้อ J.T. Baker เกรดวิเคราะห์

10) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) ยี่ห้อ Lab-scan เกรดวิเคราะห์

11) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) ยี่ห้อ Fluka เกรดวิเคราะห์

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffractometer, XRD) ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD

2) เครื่องวัดการคายรังสีเอ็กซ์ (X-ray fluorescence spectrometer, XRF) ยี่ห้อ Philips รุ่น PW2400

3) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5800 LV

4) เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourrier Infrared spectrophotometer, FTIR) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Spectrum one

5) เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น AE200

6) เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hot plate stirrer) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น MR Hei-Standard

7) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH meter

8) เตาเผาสาร บริษัทมีเจริญ เอ็นจิเนียร์ริ่ง จำกัด

9) ตู้อบ ยี่ห้อ NAPCO รุ่น 5831

10) แท่งแม่เหล็กกวนสาร

11) เทอร์โมมิเตอร์

12) ปั๊มระบบสุญญากาศ ยี่ห้อ EYELA รุ่น ASPIRATOR A-3S

13) โกร่งบดสาร

14) ครูซิเบิล (Crusible)

15) บิวเรต

16) กระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman

17) หลอดหยด

18) ขวดเก็บสาร

19) ขาตั้ง

20) กรรไกร

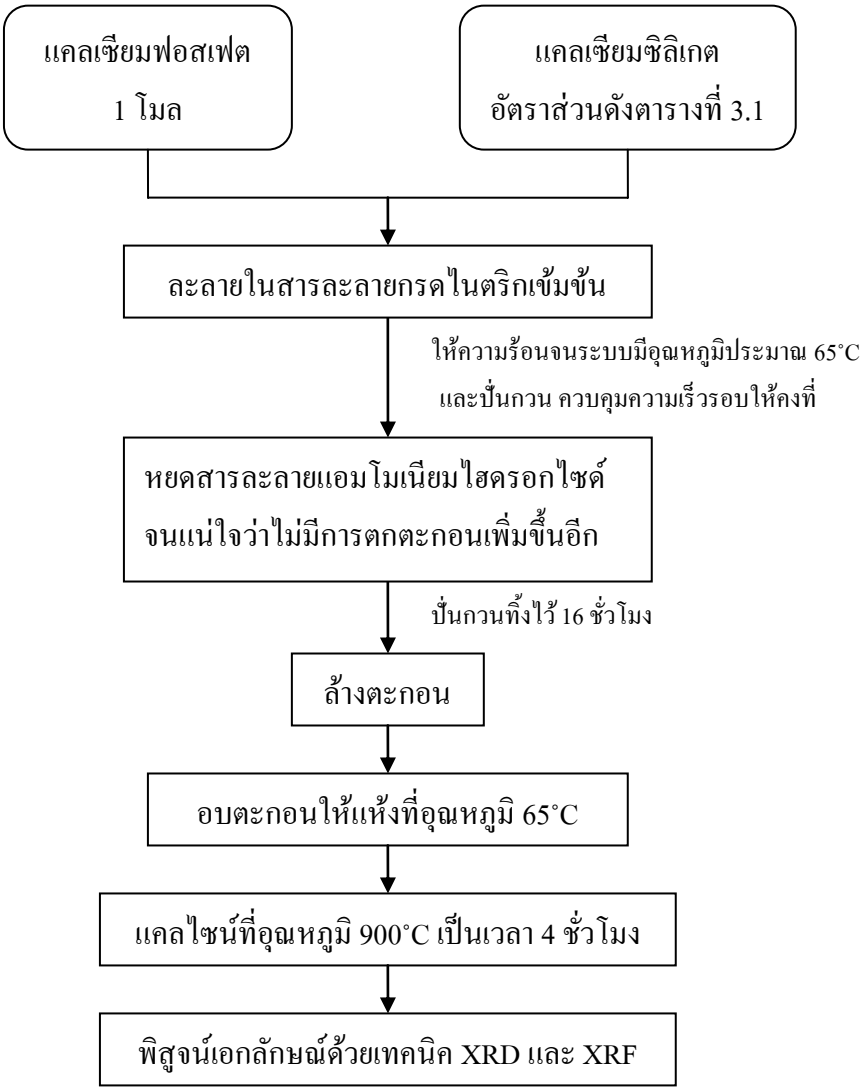
21) บริภัณฑ์เครื่องแก้ว

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

วิทยานิพนธ์นี้ แบ่งขั้นตอนการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอนหลักๆ คือ 1. การสังเคราะห์วัสดุผสมจากไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต 2. การขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ และ 3. การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ในระบบจำลองของร่ายกาย ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

3.3.1 การสังเคราะห์วัสดุผสม

ทำการสังเคราะห์วัสดุผสมด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วม (co-precipitation) (รูปที่ 3.1) โดยการนำผงไตรแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกตในอัตราส่วนต่างๆ กัน (ตารางที่ 3.1) ละลายในสารละลายกรดไนตริกเข้มข้นจนได้สารละลายใส จากนั้นตกตะกอนกลับด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 65˚C และควบคุมความเร็วรอบในการปั่นกวน จนแน่ใจว่าไม่มีการตกตะกอนอีก ทดสอบโดยการวางทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น แล้วเอาน้ำส่วนใสมาหยดด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หากไม่มีตะกอนเกิดขึ้น แสดงว่ามีการตกตะกอนที่สมบูรณ์แล้ว และปั่นกวนทิ้งไว้ 16 ชั่วโมง ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนโดยใช้ปั๊มระบบสุญญากาศเป็นตัวช่วยจน pH ของน้ำส่วนใสเป็นกลาง อบตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 65˚C แล้วนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900˚C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและหาเปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ จากนั้นตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยเทคนิค XRD และ XRF



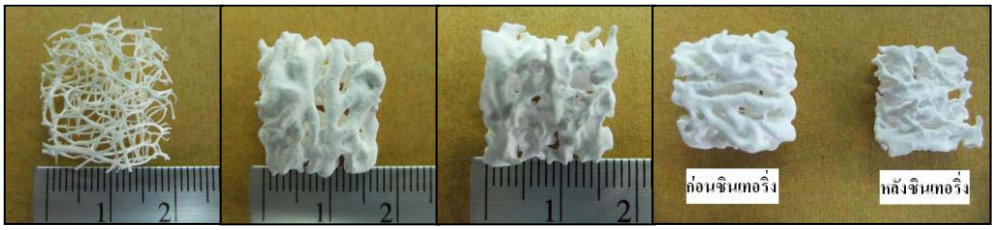
รูปที่ 3.1 แผนงานการสังเคราะห์วัสดุผสม

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วัสดุผสมต่อน้ำ 1 ลิตร

สูตรที่	ปริมาณไตรแคลเซียมฟอสเฟต (mol)	ปริมาณแคลเซียมซิลิเกต (mol)
F1	1	0.005
F2	1	0.01
F3	1	0.02
F4	1	0.04

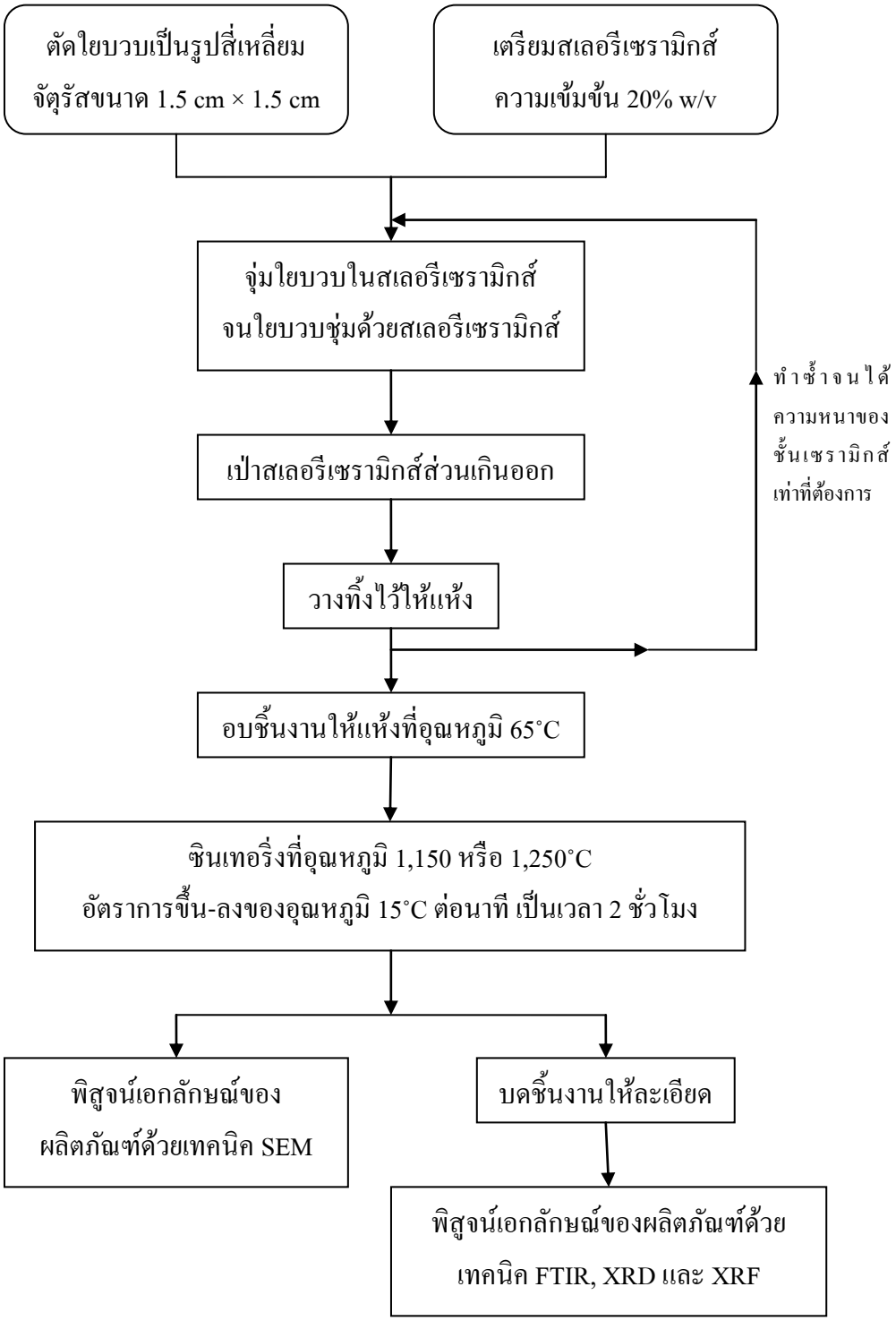
3.3.2 การขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์

ขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ (Dipping) (รูปที่ 3.3) ใช้ใยบวบที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1.5 เซนติเมตร × 1.5 เซนติเมตร เป็นแม่แบบ เตรียมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol, PVA) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในน้ำ เพื่อนำไปใช้เป็นตัวประสานในการเตรียมสเลอรีเซรามิกส์ให้ได้ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารละลาย PVA นำแม่แบบจุ่มในสเลอรีเซรามิกส์ เป่าสเลอรีส่วนเกินออก แล้ววางทิ้งไว้ให้แห้ง ทำซ้ำจนได้ความหนาของชั้นเซรามิกส์เท่าที่ต้องการ ซึ่งในการทดลองนี้ทำการจุ่มเคลือบซ้ำประมาณ 40 ครั้ง อบชิ้นงานให้แห้งที่อุณหภูมิ 65°C จากนั้นนำไปซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีอัตราการขึ้น-ลงของอุณหภูมิเท่ากับ 15°C ต่อนาที แล้วตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยเทคนิค SEM และ FTIR



ก) ข) ค) ง)

รูปที่ 3.2 ใยบวบสำหรับใช้เป็นแม่แบบ (ก) ใยบวบที่ผ่านการจุ่มเคลือบจนได้ความหนาเท่าที่ต้องการก่อนการซินเทอริ่ง (ข) ชิ้นงานที่ผ่านการซินเทอริ่งแล้ว (ค) เปรียบเทียบชิ้นงานก่อนและหลังการซินเทอริ่ง (ง)



รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์

3.3.3 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุผสมในระบบจำลองของร่ายกาย

3.3.3.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline, PBS) pH 7.4

ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลาย PBS

สารเคมี	ปริมาณ (g)
1. NaCl	80.0
2. Na_2HPO_4	14.4
3. KCl	2.0
4. KH_2PO_4	2.4
5. 6 M HCL	
6. 6.5 M NaOH	

เตรียมสารละลาย PBS โดยการละลายสารตัวที่ 1 ถึง 4 ในตาราง 3.2 ในน้ำกลั่นปริมาตรประมาณ 800 มิลลิลิตร ปั่นกวนจนสารละลายหมด จากนั้นปรับ pH ของสารละลายให้เท่ากับ 7.4 โดยใช้สารละลายตัวที่ 5 หรือ 6 จากนั้นปรับปริมาตรสุทธิให้ครบ 1 ลิตร

3.3.3.2 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุผสม

นำชิ้นงานแช่ในสารละลาย PBS ที่เตรียมไว้ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีการรบกวนระบบ เปลี่ยนแปลงระยะเวลาแช่เป็น 7, 14, 21 และ 28 วัน เมื่อครบกำหนดแต่ละช่วงเวลา นำชิ้นงานที่แช่ออกจากสารละลาย ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วอบให้แห้ง จากนั้นนำชิ้นงานไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค SEM, FTIR, XRD และ XRF

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

บทนี้มีขอบเขต คือ นำเสนอผลการทดลอง ซึ่งได้แก่ ผลการตรวจเอกลักษณ์เบื้องต้นของวัสดุผสมที่เตรียมได้ โครงสร้างทางจุลภาค และความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ รวมถึงการวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1 ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์เบื้องต้นของวัสดุผสม

4.1.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิค XRF

ผงวัสดุผสมที่ได้จากการเตรียมโดยวิธีการตกตะกอนร่วมของสารตั้งต้นที่มีอัตราส่วนต่างกัน แล้วนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ถูกนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิค XRF ซึ่งมีหลักการคือธาตุแต่ละชนิดจะปลดปล่อยโฟตอนที่มีค่าพลังงานเฉพาะ จึงทำให้สามารถบ่งชี้ธาตุที่มีในตัวอย่างได้ โดยแสดงองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสมในหน่วยโมล ดังตารางที่ 4.1 (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ข)

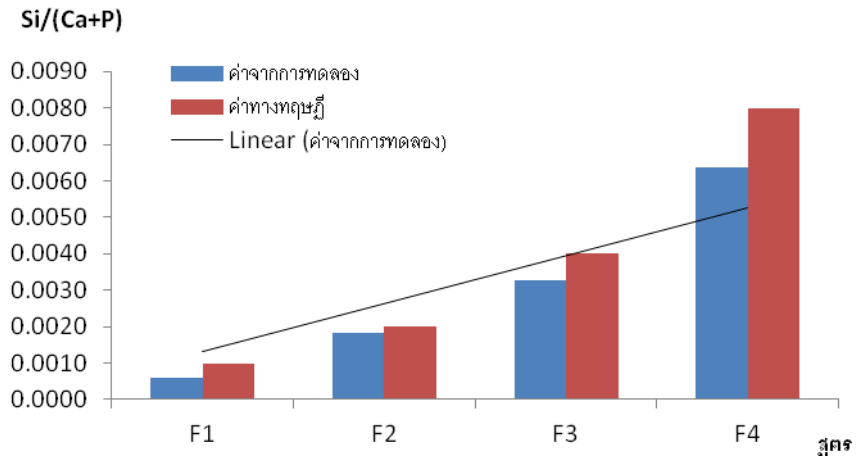
ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม

สูตรที่	ปริมาณ (โมล)						
	Ca	P	Si	Al	Sr	Mg	Fe
F1	1.088	0.546	0.001	tr	tr	tr	tr
F2	1.103	0.536	0.003	tr	tr	tr	tr
F3	1.078	0.552	0.005	tr	tr	tr	tr
F4	1.073	0.552	0.010	tr	tr	tr	tr

ตารางที่ 4.2 อัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสเฟอรัส (Ca/P) และแคลเซียมต่อผลรวมของซิลิกอนและฟอสฟอรัส (Ca/(Si+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ

สูตรที่	Ca/P	Ca/(Si+P)
F1	1.993	1.988
F2	2.057	2.047
F3	1.952	1.933
F4	1.943	1.907

จากตารางที่ 4.1 พบว่าส่วนประกอบหลักของวัสดุผสม คือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และออกซิเจน มีซิลิกอนในปริมาณที่เครื่องมือสามารถตรวจจับได้ ซึ่งเกิดจากการเติมแคลเซียมซิลิเกตลงไปเพื่อจุดประสงค์ในการปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบธาตุอื่นๆ ได้แก่ อลูมิเนียม สตรอนเชียม แมกนีเซียม และเหล็ก เจือปนอยู่ในปริมาณน้อยมาก เมื่อนำไปคำนวณอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/(Si+P) พบว่า วัสดุผสมทั้ง 4 สูตร มีอัตราส่วน Ca/P อยู่ในช่วง 1.943-2.057 และอัตราส่วน Ca/(Si+P) อยู่ในช่วง 1.907-2.047 (ตารางที่ 4.2) แนวโน้มโดยรวมของทั้งสองค่าลดลง เนื่องจากซิลิกอนหรือธาตุอื่นๆ เข้าไปแทนที่ในตำแหน่งของฟอสฟอรัสนั่นเอง



รูปที่ 4.1 อัตราส่วนโดยโมลของซิลิกอนต่อผลรวมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (Si/(Ca+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ

รูป 4.1 แสดงกราฟแท่งแสดงอัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ซึ่งเป็นค่าที่บอกปริมาณของซิลิกอนที่เข้าไปผสมอยู่ในเนื้อวัสดุหลัก พบว่าวัสดุผสมทั้ง 4 สูตรมีแนวโน้มของค่าอัตราส่วนเพิ่มขึ้น โดยสูตรที่ F1, F2 และ F3 มีความสัมพันธ์กันแบบเชิงเส้น แต่ปรากฏชัดเจนว่าสูตร F4 จะมีความเบี่ยงเบนออกจากความสัมพันธ์เชิงเส้น ซึ่งคาดว่าเกิดจากปริมาณ CS ที่มากเกินพอในขั้นตอนการเตรียมวัสดุผสม ในขั้นตอนการละลายสารตั้งต้นทั้งหมดในสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น แล้วทำการควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เกิดการตกตะกอนร่วม ซึ่ง TCP จะทำปฏิกิริยากับ CS ทำให้เหลือ CS ที่ไม่ทำปฏิกิริยา และจะเข้าไปผสมในวัสดุผสมส่วนหนึ่ง ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการ ดังนั้นในการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคและสมบัติทางชีวภาพจึงใช้โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1, F2 และ F3 เท่านั้น

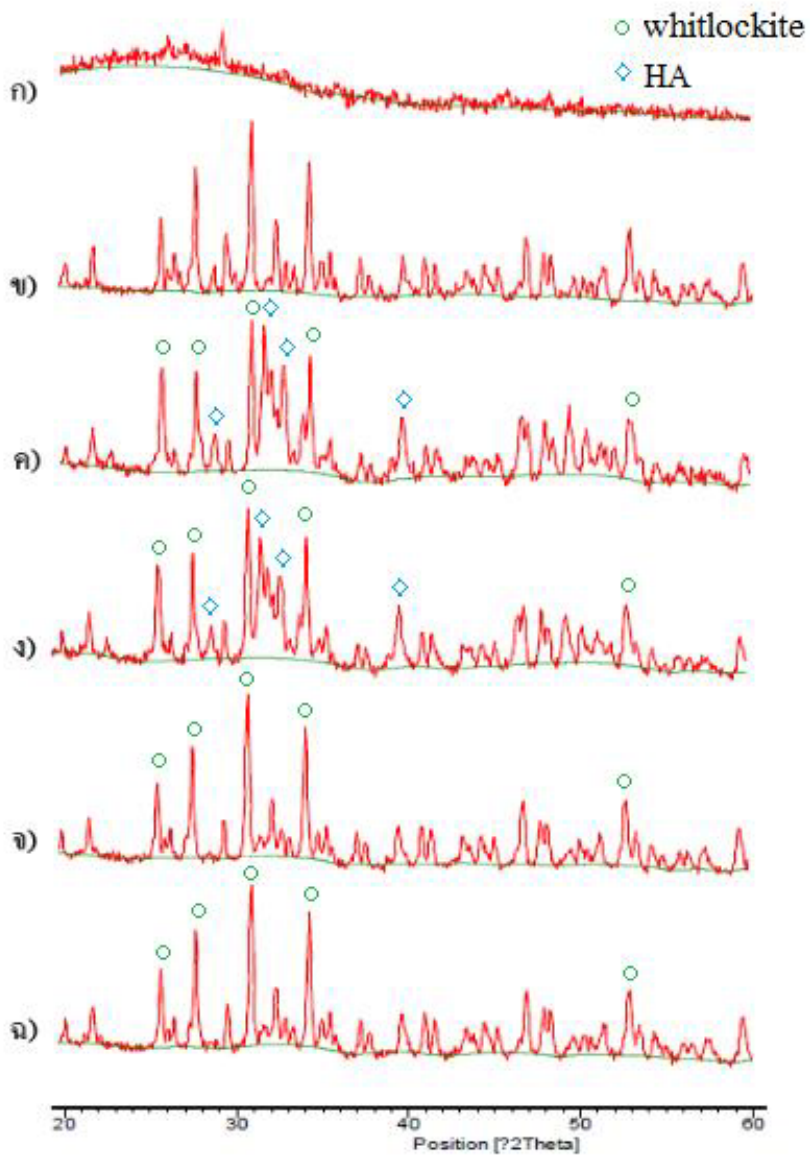
4.1.2 ผลการวิเคราะห์หาโครงสร้างผลึกโดยเทคนิค XRD

วิเคราะห์หาโครงสร้างผลึกของวัสดุผสมสูตรต่างๆ โดยเทคนิค XRD อาศัยหลักการคือผลึกแต่ละชนิดจะแสดงแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งได้ผลการทดสอบดังตาราง 4.3 และรูป 4.2

ตารางที่ 4.3 ชนิดของผลึกที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ชื่อตัวอย่าง	ชื่อทางเคมี	สูตรทางเคมี	JCPDF No.
แคลเซียมซิลิเกต*	Calcium Silicate	$CaSiO_3$	-
แคลเซียมฟอสเฟต	Calcium Phosphate	$Ca_3(PO_4)_2$ และ	01-070-2065 และ
		$Ca_2(P_2O_7)$	01-081-2257
วัสดุผสมสูตรที่ F1	Hydroxyapatite และ	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$ และ	01-084-1198 และ
	Whitlockite	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
วัสดุผสมสูตรที่ F2	Hydroxyapatite และ	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$ และ	01-084-1198 และ
	Whitlockite	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
วัสดุผสมสูตรที่ F3	Whitlockite	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
วัสดุผสมสูตรที่ F4	Whitlockite	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169

หมายเหตุ * แคลเซียมซิลิเกตอยู่ในรูปอสัณฐาน



รูปที่ 4.2 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จากเทคนิค XRD ของตัวอย่างดังนี้ แคลเซียมซิลิเกต (ก) แคลเซียมฟอสเฟต (ข) วัสดุผสมสูตร F1 (ค) วัสดุผสมสูตร F2 (ง) วัสดุผสมสูตร F3 (จ) และวัสดุผสมสูตร F4 (ฉ)

รูป 4.2 ซึ่งแสดงแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนแสงที่ได้จากเทคนิค XRD ของวัสดุผสมที่ผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทั้ง 4 สูตร เปรียบเทียบกับแพทเทิร์นของ TCP และ CS พบว่าแพทเทิร์นของ CS (รูป 4.2 ก) ไม่ปรากฏพีคที่เด่นชัด เนื่องจากโครงสร้างอยู่ในรูปอสัณฐาน (amorphous form) ไม่มีความคงตัวและสามารถสลายตัวได้ ดังสมการ (4.1)

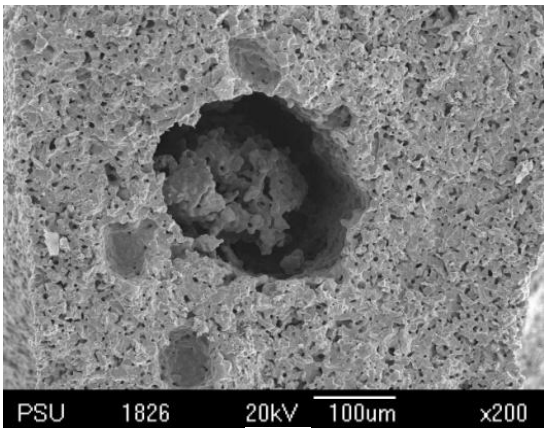
$$CaSiO_3 \longrightarrow CaO + SiO_2 \qquad (4.1)$$

จากภาพ 4.2 ข ซึ่งเป็นแพทเทิร์นของ TCP ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเตรียมวัสดุผสม พบว่าไม่ได้มีแค่ TCP เป็นส่วนประกอบเท่านั้น แต่ยังมีแคลเซียมไพโรฟอสเฟต (calcium pyrophosphate) เจือปนอยู่ด้วย แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมที่เตรียมจาก TCP และCS สูตร F1 และสูตร F2 ซึ่งมีอัตราส่วนของ CS เท่ากับ 0.005 โมล และ 0.01 โมล ตามลำดับ (ภาพ 4.2 ค และ ง) พบพีคที่สำคัญในตำแหน่ง 29.0, 31.8, 33.0 และ 39.9 องศา ซึ่งตรงกับแพทเทิร์นของ HA และเมื่อเปรียบเทียบแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F1 และสูตร F2 พบว่าสูตร F1 มีความเข้มของพีคของ HA ชัดเจนกว่า แสดงให้เห็นว่าเมื่อผ่านการเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัสดุผสมสูตร F1 จะเกิดเป็น HA ในสถานะของแข็งได้สมบูรณ์กว่าวัสดุผสมสูตร F2 นอกจากนี้ ยังพบพีคสำคัญในวัสดุผสมทั้ง 4 สูตรที่ตำแหน่ง 25.8, 27.8, 31.1, 34.4, 47.0 และ 53.0 องศา ซึ่งเป็นแพทเทิร์นของแคลเซียมฟอสเฟตที่มีวัฏภาคองค์ประกอบเป็น ไวต์ล็อกไคต์ (whitlockite)

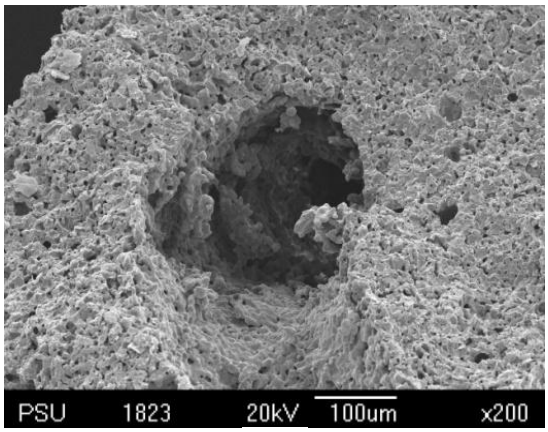
จากแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของวัสดุผสมทั้ง 4 สูตร พบพีคของซิลิกอนที่ตำแหน่ง 28.4, 47.9 และ 56.9 [47] แต่มีความเข้มของพีคที่ไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากถูกบดบังโดยพีค HA และไวต์ล็อกไคต์ซึ่งมีความเข้มที่ชัดกว่ามาก ดังนั้นการบ่งชี้ว่ามีซิลิกอนกระจายตัวในเนื้อวัสดุสามารถยืนยันได้อย่างชัดเจนด้วยผลการวิเคราะห์โดยเทคนิค XRF

4.2 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์

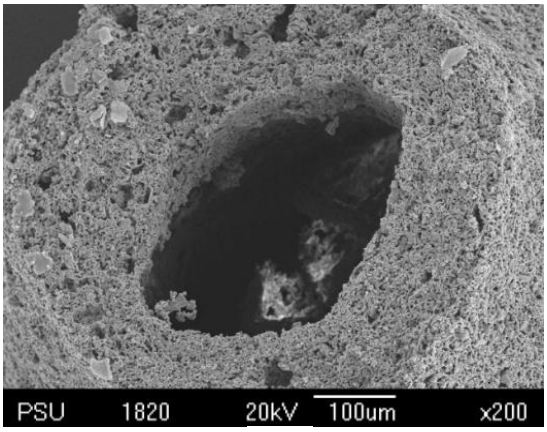
การศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ขึ้นรูปจากวัสดุผสมในอัตราส่วนต่างกัน โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้เทคนิค SEM เพื่อวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิว และการกระจายตัวของรูพรุน ให้ผลดังนี้



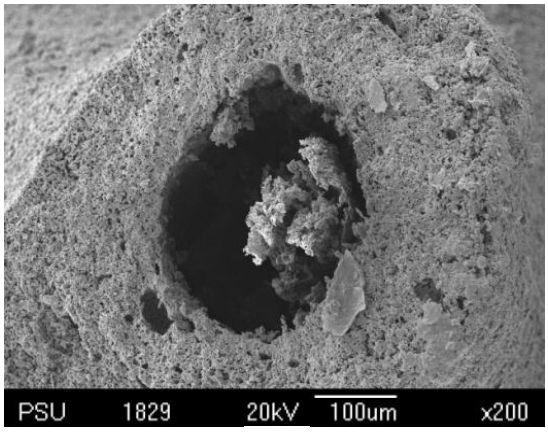
ก)



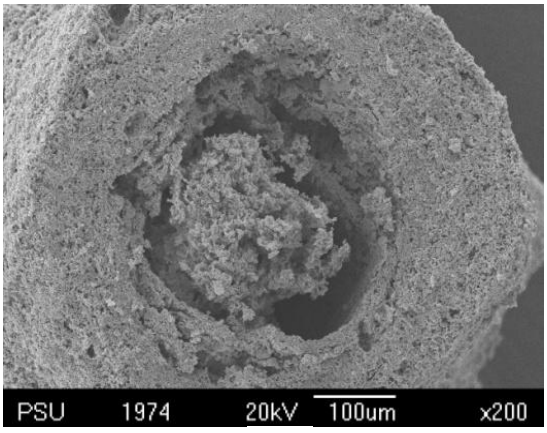
ง)



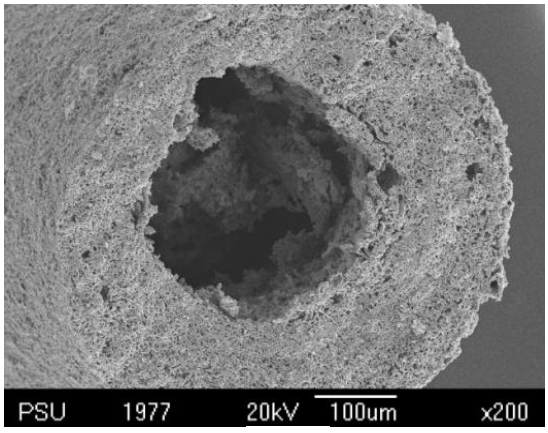
ข)



จ)



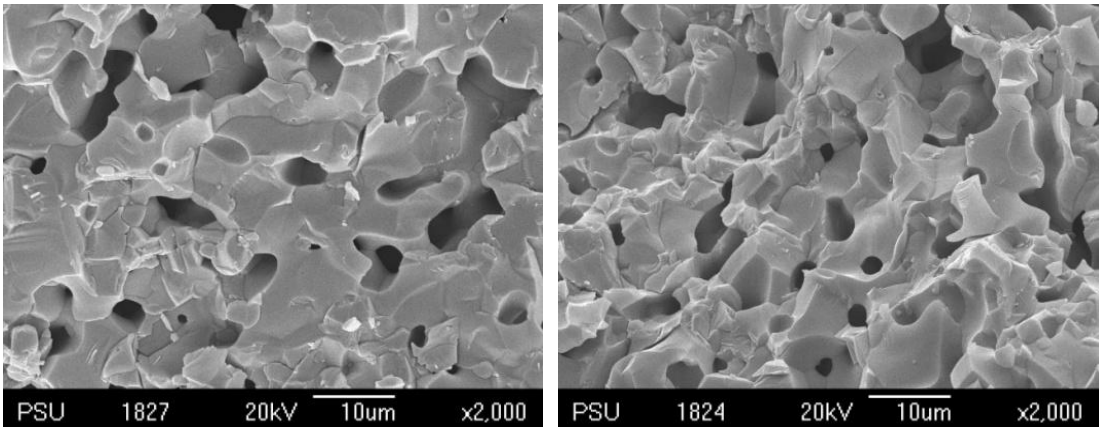
ค)



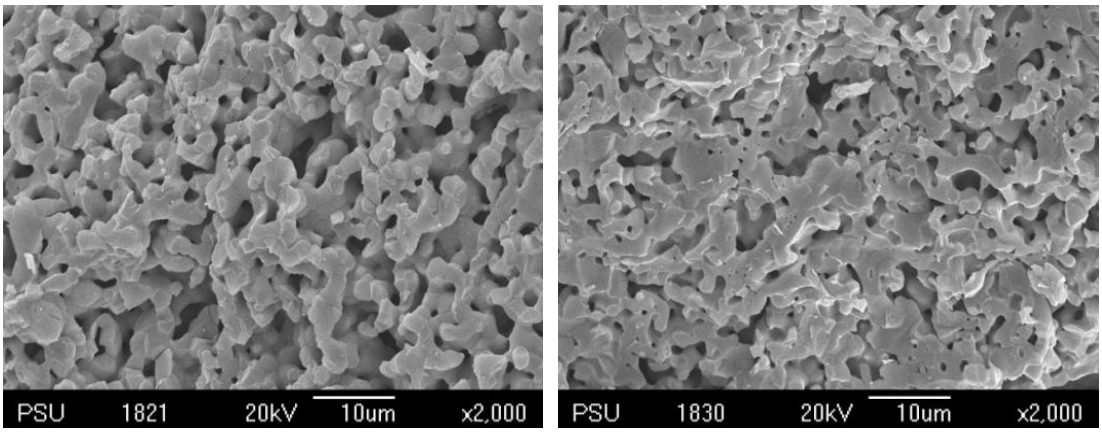
ฉ)

รูปที่ 4.3 ภาพ SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250°C (ง จ และ ฉ) ที่กำลังขยาย 200 เท่า

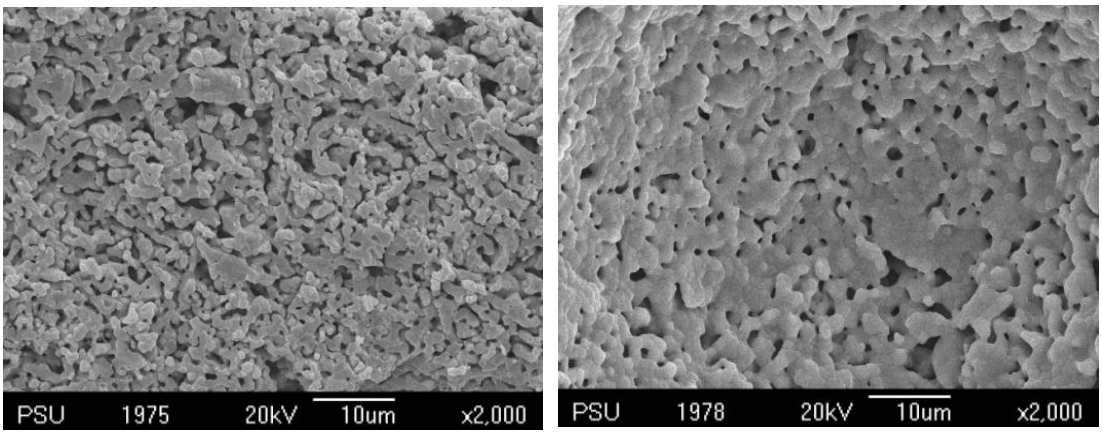
จากรูป 4.3 ซึ่งแสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่กำลังขยาย 200 เท่า พบว่ามีรูพรุนเกิดขึ้น 2 ลักษณะ คือ รูพรุนขนาดใหญ่ และรูพรุนขนาดเล็ก โดยรูพรุนขนาดใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 230-300 μm เกิดจากการสลายตัวของเส้นใยบวบในขั้นตอนการซินเทอริ่ง รูพรุนลักษณะนี้จะเชื่อมต่อกันตามแนวของเส้นใย และเป็นโครงสร้างแบบสุ่ม อย่างไรก็ตามแล้วยังมีเส้นใยบางส่วนสลายตัวไม่สมบูรณ์อยู่ภายในรูพรุนขนาดใหญ่ดังกล่าว ส่วนรูพรุนขนาดเล็ก พบว่าแทรกอยู่ในเนื้อวัสดุหลัก มีลักษณะเป็นรูพรุนแบบเปิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 0.25-8.00 μm



ก) ง)



ข) จ)

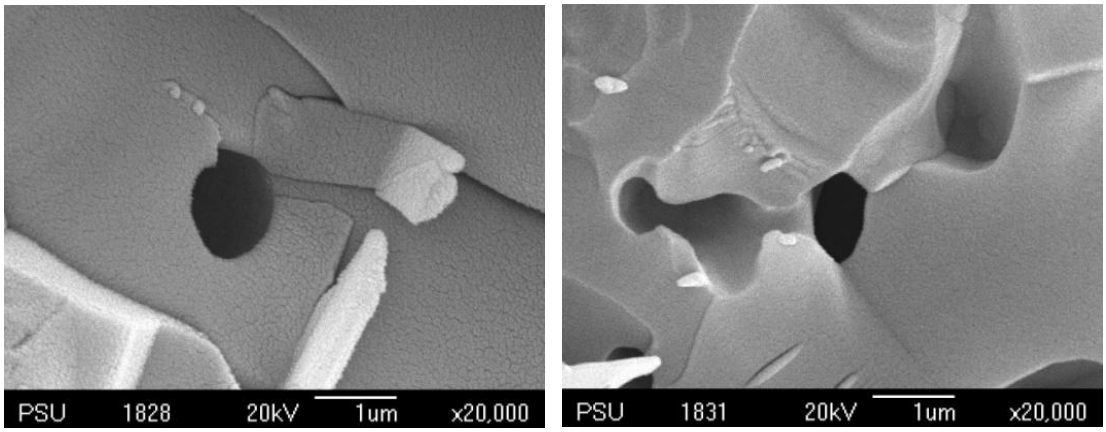


ค) ฉ)

รูปที่ 4.4 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า

จากรูป 4.4 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งทั้งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง มีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมากกระจายตัวในเนื้อวัสดุ บริเวณที่อนุภาคกระจายตัวไม่ดี มีลักษณะที่เกาะกลุ่มกัน จะทำให้ส่วนนั้นมีความหนาแน่นสูงกว่าบริเวณใกล้เคียง (รูป 4.4 ก และ ข) ความพรุนของวัสดุเป็นผลจากปริมาณ CS ที่เติมในขั้นตอนการเตรียมวัสดุผสม กล่าวคือ เมื่อเติม CS มากขึ้น (สูตร F1 < F2 < F3) มีผลทำให้ขนาดเกรนลดลง แต่มีปริมาณรูพรุนมากขึ้น เห็นได้ชัดเจนในชิ้นงานที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C เมื่อเติม CS เท่ากับ 0.005 โมล (รูป 4.4 ก) เกรนที่ได้มีขนาดใหญ่ เมื่อเทียบกับชิ้นงานที่เติม CS ปริมาณ 0.02 โมล (รูป 4.4 ค) ขนาดของเกรนจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อวิเคราะห์การกระจายตัวของอนุภาคซิลิเกต คาดว่าซิลิเกตบางส่วนจะเข้าไปแทนที่ในแลตทิซของเนื้อวัสดุหลักระหว่างกระบวนการตกตะกอน ในขณะที่ส่วนที่มากเกินพอจะหลอมรวมกับวัสดุหลัก เมื่อผ่านการซินเทอริ่ง เนื้อวัสดุหลัก ซึ่งได้แก่ HA ไวท์ล็อกไคต์ และ TCP จะเกิดการหลอมรวมกัน เนื่องจากมีจุดหลอมเหลวต่ำ (~1,000°C) ในขณะที่ซิลิเกตซึ่งจุดหลอมเหลวสูงกว่า ยังคงกระจายตัวและส่งผลทำให้เนื้อวัสดุไม่สามารถรวมตัวกันได้ในระหว่างกระบวนการซินเทอริ่ง

นอกจากนี้อุณหภูมิในการซินเทอริ่งก็ยังมีผลต่อความพรุน ขนาดรูพรุน และความหนาแน่นของเนื้อวัสดุหลักในโครงเลี้ยงเซลล์เช่นกัน จากรูปที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบเนื้อวัสดุของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตรเดียวกัน แต่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่งสูงขึ้นจะทำให้มีการเชื่อมต่อของเกรนมากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากเนื้อวัสดุจะหลอมรวมกันได้ดี ส่งผลให้เนื้อวัสดุมีความพรุนและขนาดรูพรุนเฉลี่ยลดลง แต่ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น



ก) ข)

รูปที่ 4.5 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C (ก) และ 1,250°C (ข) ที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

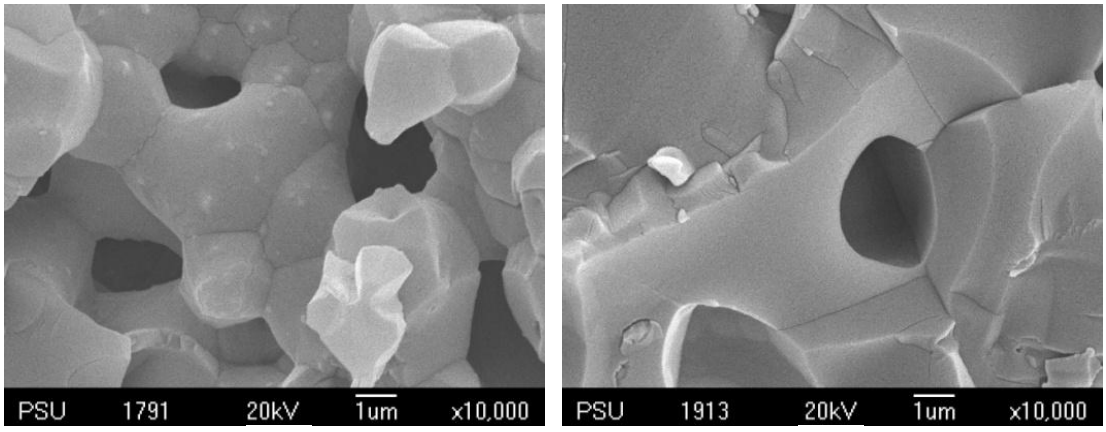
จากรูป 4.5 พบว่าการรวมตัวกันของเกรนดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่งสูงขึ้น โดยเมื่อทำการซินเทอริ่งที่ 1,250°C จะไม่ปรากฏขอบเกรนที่ชัดเจน เนื่องจากเกรนของวัสดุเกิดการหลอมรวมกันนั่นเอง

4.3 สมบัติทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์เบื้องต้น

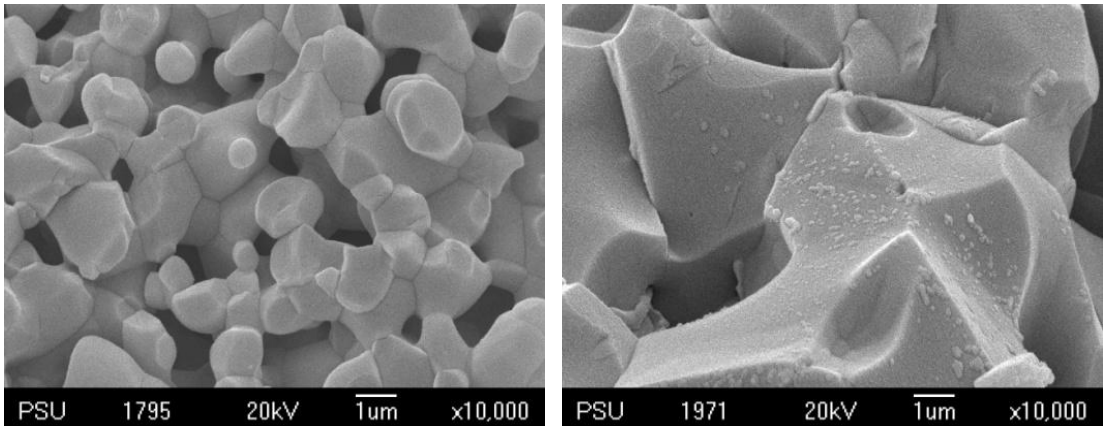
สมบัติทางชีวภาพที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ ความว่องไวทางชีวภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ทดลองโดยนำชิ้นงานที่ผ่านการซินเทอริ่งไปแช่ในสารละลาย PBS ที่เวลาต่างกัน เพื่อดูการเกิดของชั้นแอปาไทต์บนพื้นผิว ซึ่งตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบและตรวจเอกลักษณ์ของแอปาไทต์ที่เกิดใหม่ด้วยเทคนิค XRD, XRF และ FTIR

4.3.1 ผลการทดสอบการเกิดชั้นของแอปาไทต์

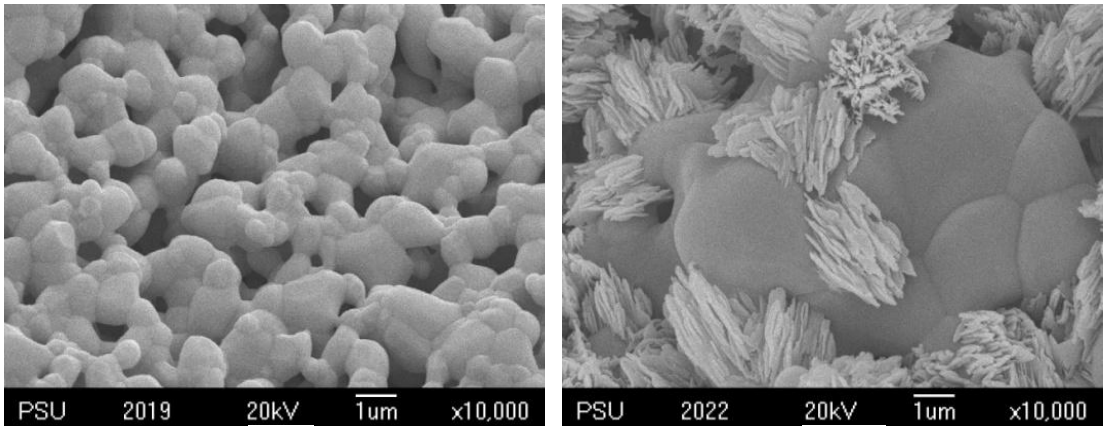
ตรวจวิเคราะห์ชั้นของแอปาไทต์โดยนำโครงเลี้ยงเซลล์แช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน แล้วนำไปดูโครงสร้าง ด้วยเทคนิค SEM



ก) ง)

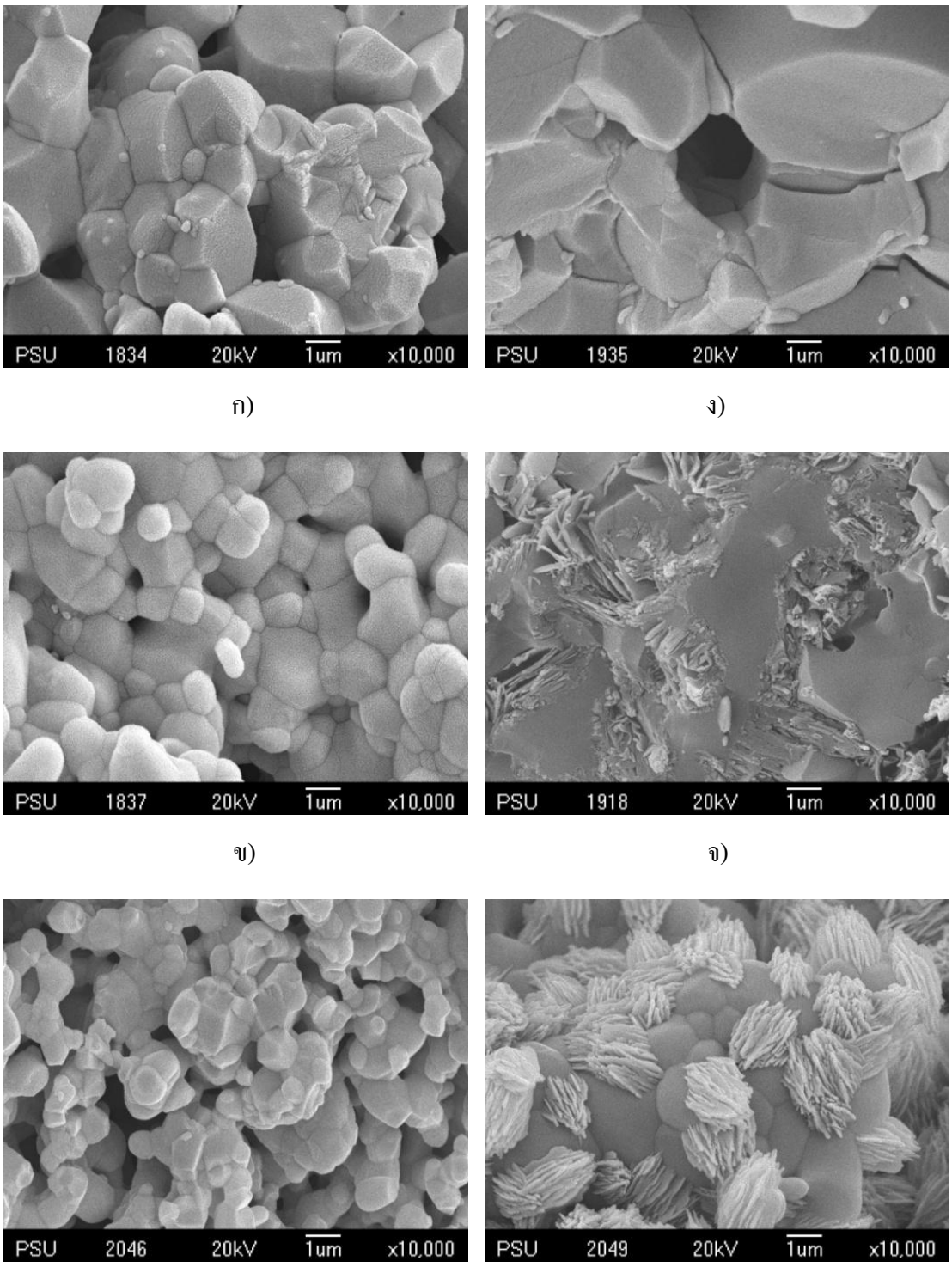


ข) จ)

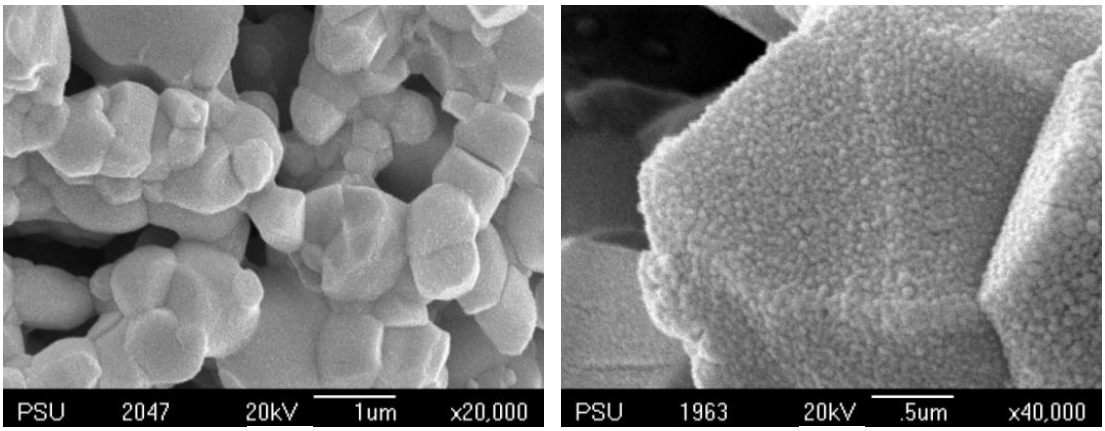


ค) ฉ)

รูป 4.6 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า



รูป 4.7 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ) และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า



ก) ข)

รูป 4.8 ภาพ SEM แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยาย 20,000 (ก) และ 40,000 เท่า (ข)

รูป 4.6 และ 4.7 แสดงโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการแช่ PBS เป็นเวลา 7 และ 14 วัน พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ที่ผ่านการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน (รูป 4.6 ก,ข และ ค) ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ บนพื้นผิวของวัสดุ เมื่อผ่านไป 14 วัน (รูป 4.7 ก,ข และ ค) พบว่าเนื้อวัสดุเกิดการบวมตัว มีลักษณะผิวขรุขระ และไม่มันวาว ซึ่งสังเกตได้ชัดเจนจากภาพที่กำลังขยายสูง (ภาพ 4.8) แต่ชิ้นงานที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นภายในเวลา 7 วัน โดยชิ้นงานที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 พบการก่อตัวของอนุภาคแอปาไทต์ รูปร่างเม็ดกลมขนาดเล็กขึ้นที่ผิวของวัสดุ (รูป 4.6 จ) เมื่อเวลาผ่านไปพบการตกผลึกของแอปาไทต์เกิดขึ้น มีลักษณะเป็นแผ่นขนาดเล็ก โดยจะเริ่มก่อตัวขึ้นบริเวณขอบเกรน ส่วนชิ้นงานที่เติม CS มากกว่า (สูตร F3) มีการก่อตัวของแอปาไทต์ลักษณะแผ่นเช่นกัน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของผลึก HA และกระจุกตัวรวมกันอย่างชัดเจนภายในระยะเวลา 7 วัน (รูป 4.6 ฉ) เมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน พบว่าแอปาไทต์ตกผลึกเพิ่มขึ้น และปกคลุมพื้นผิวชิ้นงานเป็นบริเวณกว้าง (รูป 4.7 ฉ)

จากที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าปริมาณซิลิกอนที่อยู่ในวัสดุผสม อุณหภูมิในการซินเทอริ่ง และระยะเวลาในการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS มีผลต่อปริมาณและความเร็วในการเกิดแอปาไทต์ โดยมีแนวโน้มว่าปริมาณซิลิกอนที่มาก และอุณหภูมิซินเทอริ่งที่สูงกว่า จะทำให้เกิดแอปาไทต์จำนวนมากขึ้น และจะเกิดได้เร็ว

4.3.2 ผลการทดสอบเอกลักษณ์ของชั้นแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นหลังแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS

โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมโดยการขึ้นรูปวัสดุผสมสูตรต่างๆ โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ถูกนำมาแช่ในสารละลาย PBS แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ กัน ได้แก่ 7, 14 และ 21 วัน เพื่อตรวจเอกลักษณ์ของชั้นแอปาไทต์ที่เกิดขึ้น โดยเทคนิค XRD และ FTIR โดยให้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย PBS เป็นตัวอย่างควบคุม แสดงผลที่ได้ดังต่อไปนี้

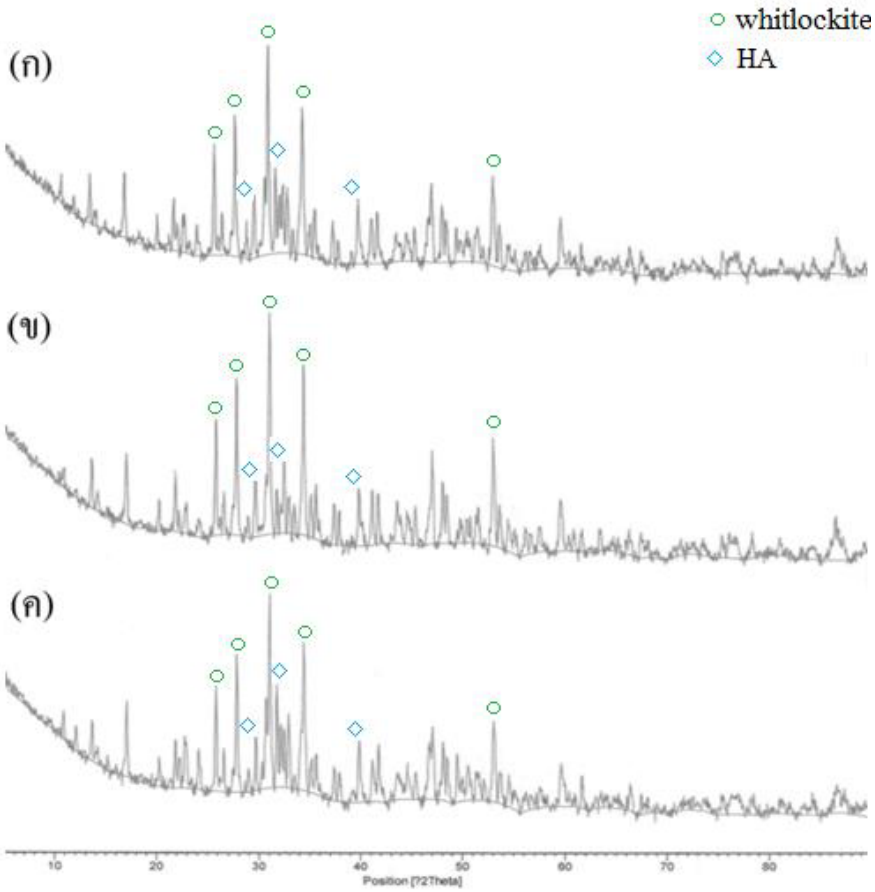
4.3.2.1 ผลการวิเคราะห์หาโครงสร้างผลึกของแอปาไทต์ที่เกิดขึ้น หลังแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS โดยเทคนิค XRD

วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยเทคนิค XRD ทำการเปรียบเทียบระหว่างโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่และหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน แสดงผลดังตารางที่ 4.4 โดยพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 3 สูตรก่อนแช่ในสารละลาย PBS ประกอบด้วยวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์ ไฮดรอกซีแอปาไทต์ และไตรแคลเซียมฟอสเฟต หลังผ่านการแช่เป็นเวลา 14 วัน วัฏภาคผลึกของไตรแคลเซียมฟอสเฟตหายไป เหลือเพียงวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์และแคลเซียมไพโรฟอสเฟตในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 และวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์และไฮดรอกซีแอปาไทต์ในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 และ F3 เท่านั้น

ตารางที่ 4.4 ชนิดของผลึกที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS

ชื่อตัวอย่าง	ชื่อทางเคมี	สูตรทางเคมี	JCPDF No.
F1@1250 control	whitlockite,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	hydroxyapatite,	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$	00-009-0432
	tricalcium phosphate	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0348
F2@1250 control	whitlockite,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	hydroxyapatite,	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$	00-009-0432
	tricalcium phosphate	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0348
F3@1250 control	whitlockit,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	hydroxyapatite,	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$	00-009-0432
	tricalcium phosphate	$Ca_3(PO_4)_2$	00-029-0359
F1@1250 14d	whitlockite,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	calcium pyrophosphate	$Ca_2(P_2O_7)$	01-0811-2257
F2@1250 14d	whitlockite,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	hydroxyapatite	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$	00-009-0432
F3@1250 14d	whitlockite,	$Ca_3(PO_4)_2$	00-009-0169
	hydroxyapatite	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$	00-009-0432

หมายเหตุ ตัวอย่าง F1@1250 control คือ โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS และตัวอย่าง F1@1250 14d คือ โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ส่วน F2 และ F3 คือโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตรที่ F2 และ F3 ตามลำดับ



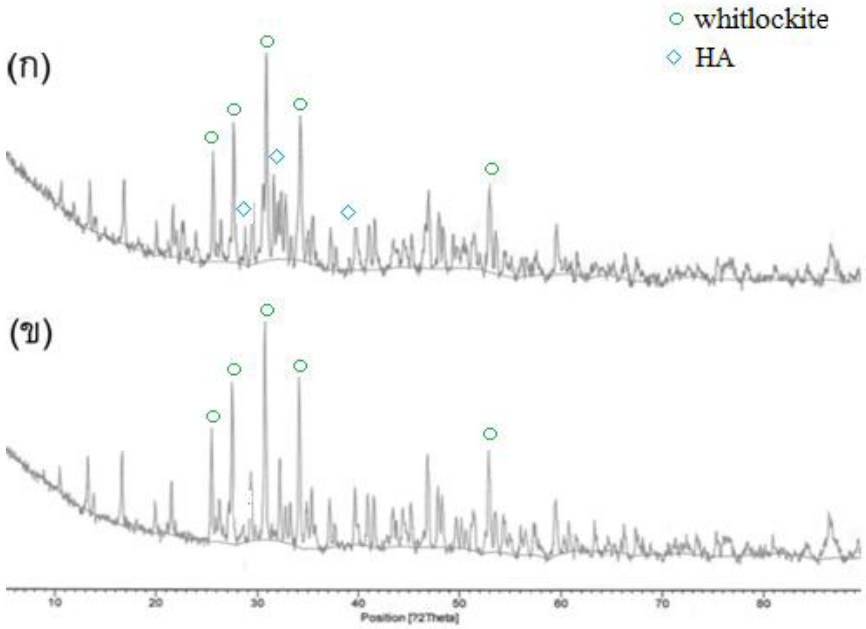
รูป 4.9 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก) F2 (ข) และ F3 (ค) ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS

แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของตัวอย่างที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนการแช่ในสารละลาย PBS แสดงดังรูปที่ 4.9 ซึ่งพบวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์ที่ตำแหน่ง 27.8, 31.3, 34.4, 47.0 และ 53.0 องศา วัฏภาคผลึกของ HA ที่ตำแหน่ง 29.0, 31.8, 33.0 และ 39.9 องศา และยังมีวัฏภาคผลึกของ TCP ที่ไม่ปรากฏพีคชัดเจน เนื่องจากถูกบดบังโดยพีคของไวต์ล็อกไคต์และ HA อีกด้วย เมื่อพิจารณาอินเทนซิตี้ของพีคของไวต์ล็อกไคต์และ HA สามารถเรียงจากลำดับอินเทนซิตี้มากไปยังอินเทนซิตี้น้อย ได้ดังนี้

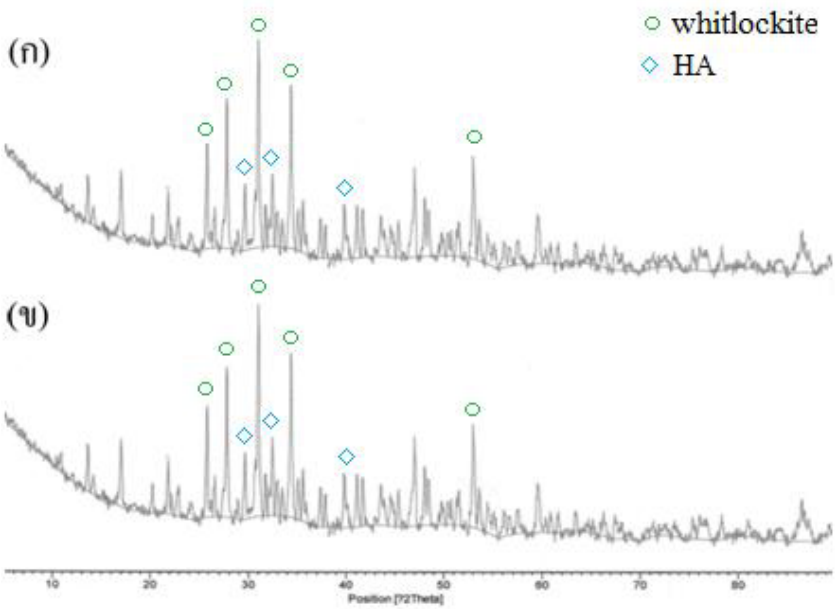
อินเทนซิตี้พีคของวัฏภาคผลึกไวต์ล็อกไคต์ : โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2>F1>F3

อินเทนซิตี้พีคของวัฏภาคผลึก HA : โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3>F1>F2

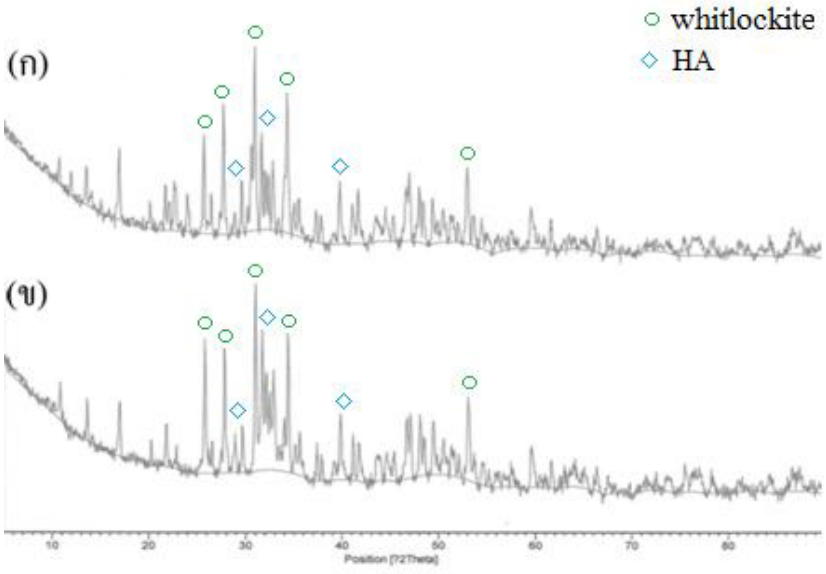
จากลำดับอินเทนซิตี้ดังกล่าว แสดงว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 มีความเป็นผลึกไวต์ล็อกไคต์สูงที่สุด และโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3 มีความเป็นผลึก HA สูงที่สุดนั่นเอง



รูป 4.10 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และ หลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)

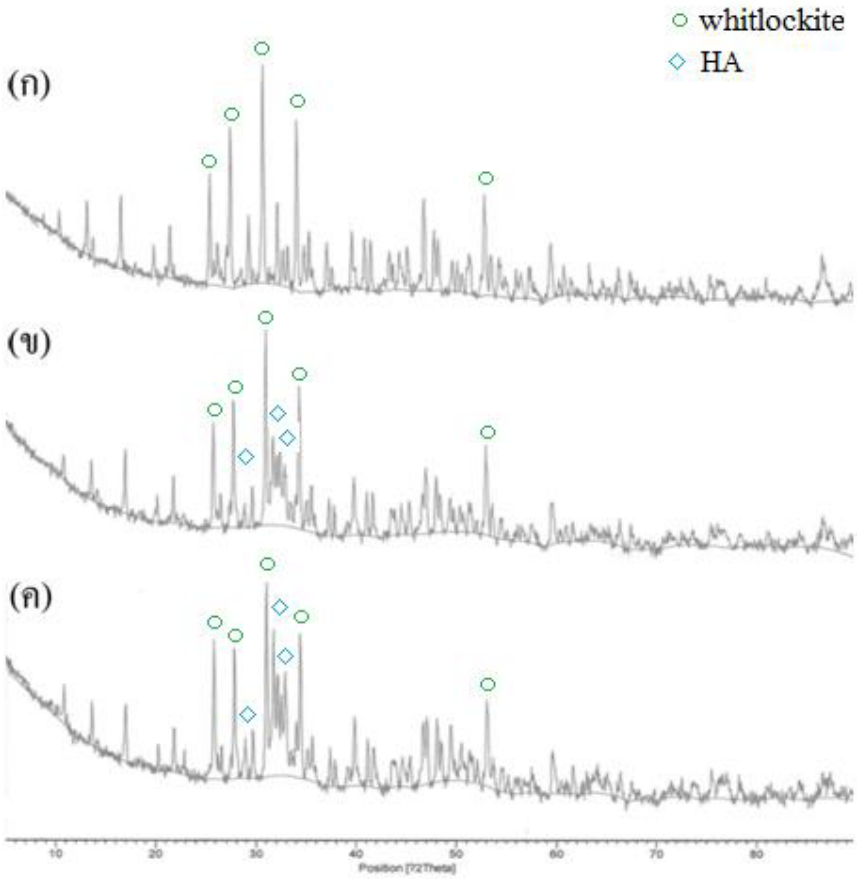


รูป 4.11 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และ หลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)



รูป 4.12 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ (ก) และหลังแช่ในสารละลาย PBS (ข)

เมื่อพิจารณาโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C (รูป 4.10) และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน พบว่า HA และ TCP สลายตัวไป แต่มีวัฏภาคของแคลเซียมไพโรฟอสเฟตปรากฏขึ้น และยังพบว่าอินเทนซิตี้ของพีคของไวท์ล็อกไคต์เพิ่มขึ้นด้วย ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 และ F3 (รูป 4.11 และ 4.12) หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน พบว่า TCP ได้สลายตัวไป เหลือเพียงวัฏภาคของไวท์ล็อกไคต์ และ HA เท่านั้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาอินเทนซิตี้ของพีค HA ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 และ F3 ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปอินเทนซิตี้ของพีคจะเพิ่มขึ้นและอินเทนซิตี้ของพีคไวต์ล็อกไคต์ลดลง โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของทุกตัวอย่างเกิดจากกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนใน HA และ TCP ด้วยไอออนอื่นๆ ในสารละลาย PBS นั่นเอง



รูปที่ 4.13 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ โดยเทคนิค XRD ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก) F2 (ข) และ F3 (ค) ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C และแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน

จากรูป 4.13 ซึ่งเปรียบเทียบแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1, F2 และ F3 หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน พบว่า พีคของไวท์ล็อกไคต์มีอินเทนซิตี้ของพีคลดลง ในขณะที่พีคของ HA ในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 และ F3 มีอินเทนซิตี้เพิ่มขึ้น โดยสามารถเรียงลำดับอินเทนซิตี้จากอินเทนซิตี้มากไปยังอินเทนซิตี้น้อยได้ดังนี้

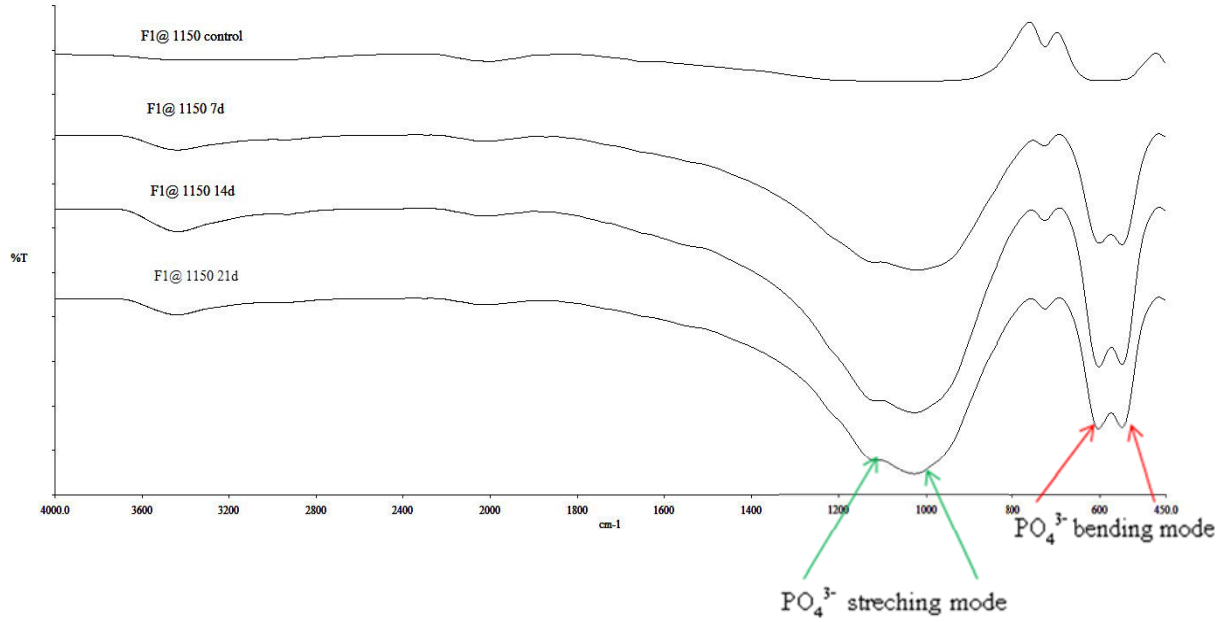
อินเทนซิตี้ของพีคของวัฏภาคผลึกไวต์ล็อกไคต์ : โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1>F2>F3

อินเทนซิตี้ของพีคของวัฏภาคผลึก HA : โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3>F2

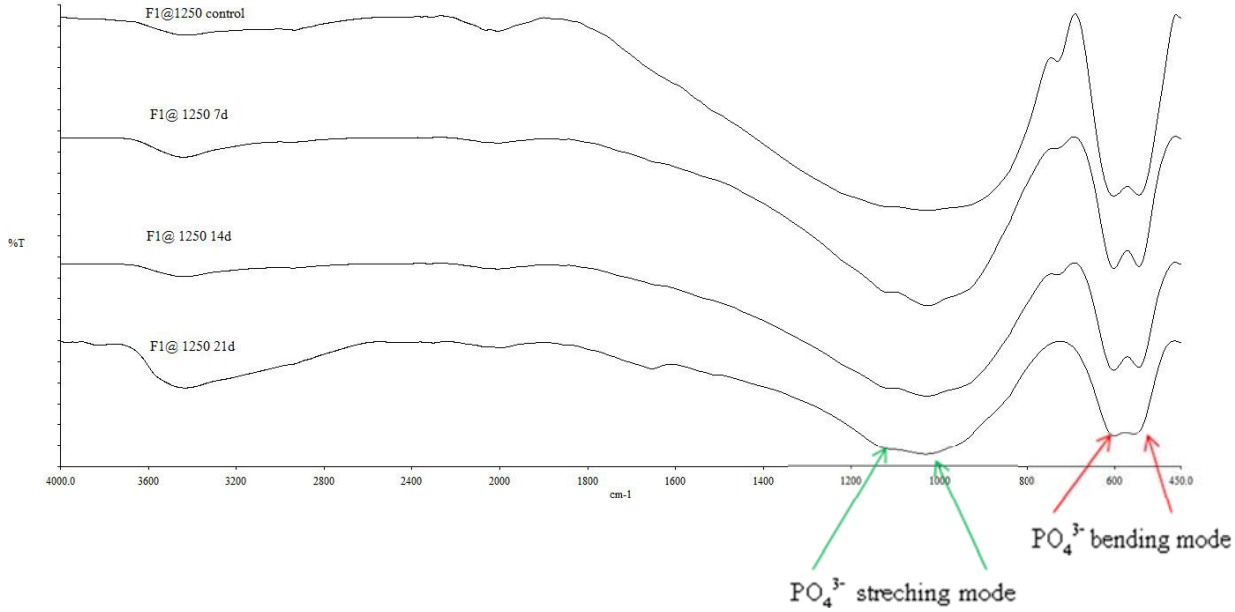
จากการเปรียบเทียบอินเทนซิตี้ของพีค HA พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตรที่ F3 (CS = 0.02 โมล) มีอินเทนซิตี้ของพีคไฮดรอกซีแอปาไทต์สูงสุด แสดงว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตรนี้มีการเกิดชั้นของ HA ที่มีความเป็นผลึกสมบูรณ์ที่สุด จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าการมีอยู่ของซิลิกอนในวัสดุผสมส่งผลต่อคุณภาพผลึกของ HA ที่ได้

4.3.2.2 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นด้วยเทคนิค FTIR ของโครงเลี้ยงเซลล์หลังการแช่ในสารละลาย PBS

การตรวจวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่น โดยเทคนิค FTIR เพื่อบ่งชี้เอกลักษณ์ของแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ หลังจากแช่ตัวอย่างในสารละลาย PBS จะทำให้ทราบถึงข้อมูลของหมู่ฟังก์ชั่นที่เป็นส่วนประกอบในเนื้อวัสดุ สเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 450-4,000 เซนติเมตร$^{-1}$ แสดงดังรูป 4.14-4.19



รูปที่ 4.14 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน



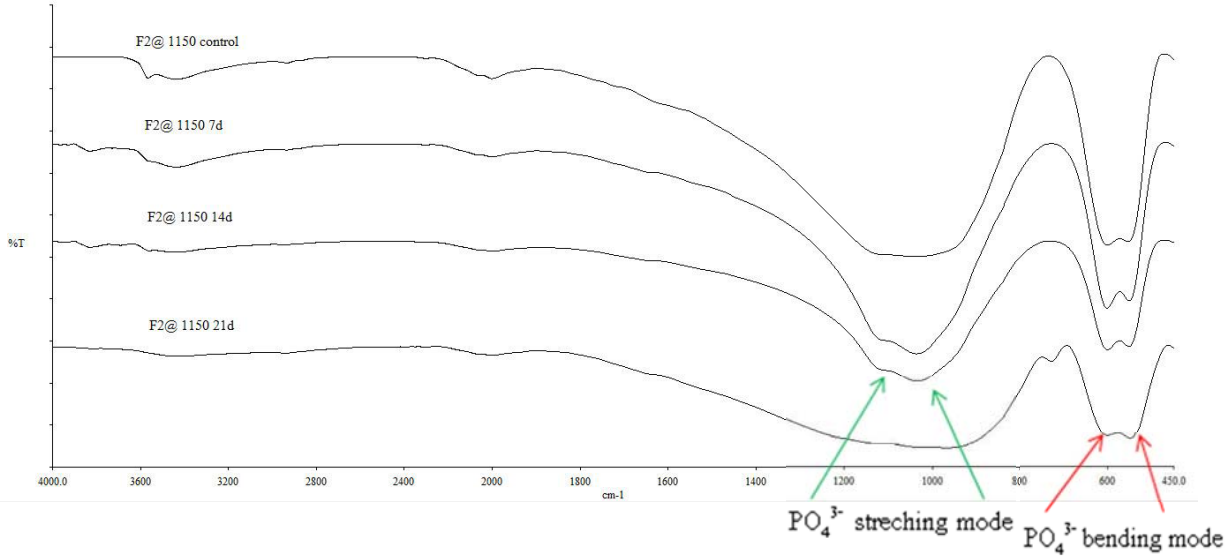
รูปที่ 4.15 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

จากรูป 4.14 แสดง FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C เปรียบเทียบที่เวลาการแช่ต่างกัน คือ 7, 14 และ 21 วัน โดยให้โครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ในสารละลาย PBS เป็นตัวควบคุม ผลที่ได้พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่ไม่เด่นชัด ซึ่งแถบการดูดกลืนแสงปรากฏชัดขึ้นหลังผ่านการแช่เป็นเวลา 7 วัน โดยพบแถบการดูดกลืนที่บ่งชี้ถึงการมีอยู่ของหมู่ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ได้แก่ พันธะ O-P-O สั่นแบบ bending ที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 567 และ 602 cm^{-1} และ P-O สั่นแบบ stretching ที่ความยาวคลื่น 1,030 และ 1,100 cm^{-1} [48] ซึ่งแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ฟอสเฟตที่มีการสั่นทั้งสองมีความลึกเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการแช่ และชัดเจนที่สุดเมื่อแช่เป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้แล้วยังปรากฏแถบการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 3,500-3,600 cm^{-1} [49] ซึ่งเป็นช่วงที่บ่งบอกว่ามีการเกิดพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างด้วย

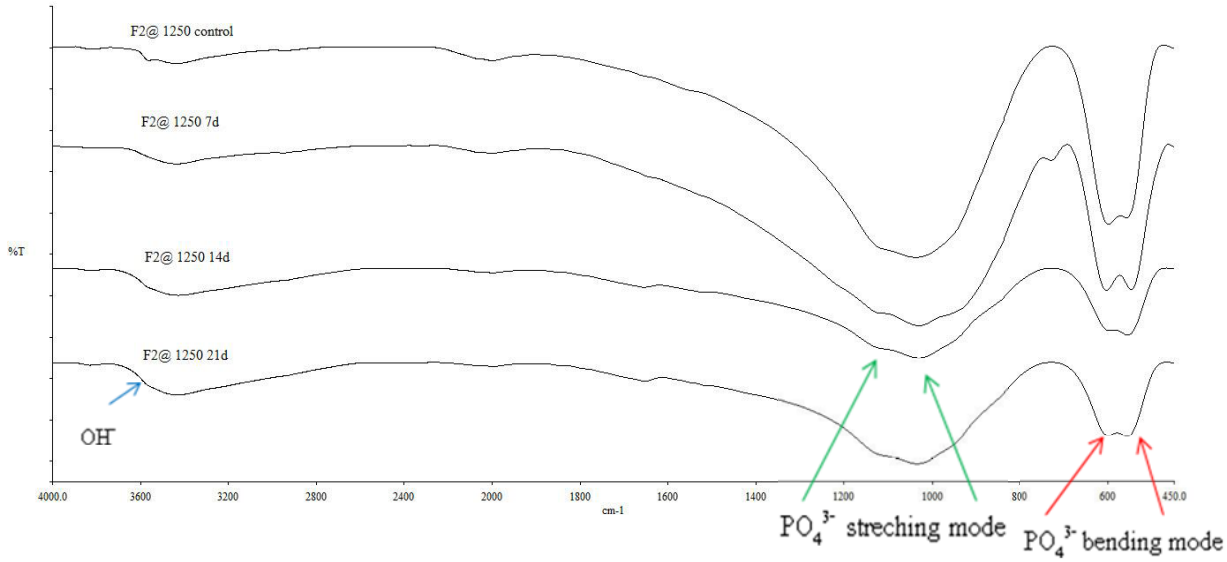
FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS ที่ระยะเวลาต่างๆ แสดงดังรูป 4.15 โครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ O-P-O สั่นแบบ bending ที่ความยาวคลื่น 567 และ 602 cm^{-1} และแถบการดูดกลืนช่วงกว้างที่ช่วงความยาวคลื่น 900-1,200 cm^{-1} ซึ่งเป็นของพันธะ P-O สั่นแบบ stretching ในหมู่ฟอสเฟต และช่วง 2,000-2,200 cm^{-1} บ่งชี้ถึงหมู่ไฮโดรเจนฟอสเฟต (HPO_4^{2-}) [37] ผลที่ได้จากการทดสอบโดยเทคนิค XRD พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่มี วัฏภาคของไฮดรอกซีแอปาไทต์ในเนื้อวัสดุ ซึ่งยืนยันได้ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล แสดงแถบการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 3,570 cm^{-1} แต่เห็นได้ไม่ชัดเจนเนื่องจากมีแถบการดูดกลืนของพันธะไฮโดรเจนบดบังอยู่ คาดว่า HA ในโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 มีความเป็นผลึกค่อนข้างต่ำ หลังจากนำโครงเลี้ยงเซลล์แช่ในสารละลาย PBS พบว่า แถบการดูดกลืนของฟอสเฟต และหมู่ไฮโดรเจนฟอสเฟต มีความลึกลดลง และกว้างขึ้น คาดว่าน่าจะเกิดจากการสลายตัวของวัฏภาคผลึกไตรแคลเซียมฟอสเฟต แต่ในขณะเดียวกันก็ยังไม่เกิดการตกผลึกเป็น HA บริเวณพื้นผิว และเมื่อพิจารณาแถบการดูดกลืนของหมู่ฟอสเฟตที่ตำแหน่งของพันธะ P-O สั่นแบบ stretching ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1,030 และ 1,100 cm^{-1} ชัดขึ้น นอกจากนี้เมื่อแช่โครงเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 21 วัน พบแถบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1,630 cm^{-1} ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของหมู่คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) ในเนื้อวัสดุด้วย [48]

เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการซินเทอริ่งต่อการเปลี่ยนแปลงของวัฏภาคผลึกต่างๆ ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 พบว่า อุณหภูมิส่งผลต่อวัฏภาคผลึกของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ในสารละลาย PBS โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า ไม่ปรากฏวัฏภาคผลึกที่ชัดเจน ในขณะที่โครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่าปรากฏวัฏภาค

ผลึกชัดเจน โดยยืนยันผลจากการทดสอบด้วยเทคนิค XRD และเมื่อแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 นี้ไม่ทำให้เกิดการตกผลึกของวัฏภาค HA บริเวณพื้นผิวของโครงเลี้ยงเซลล์



รูปที่ 4.16 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

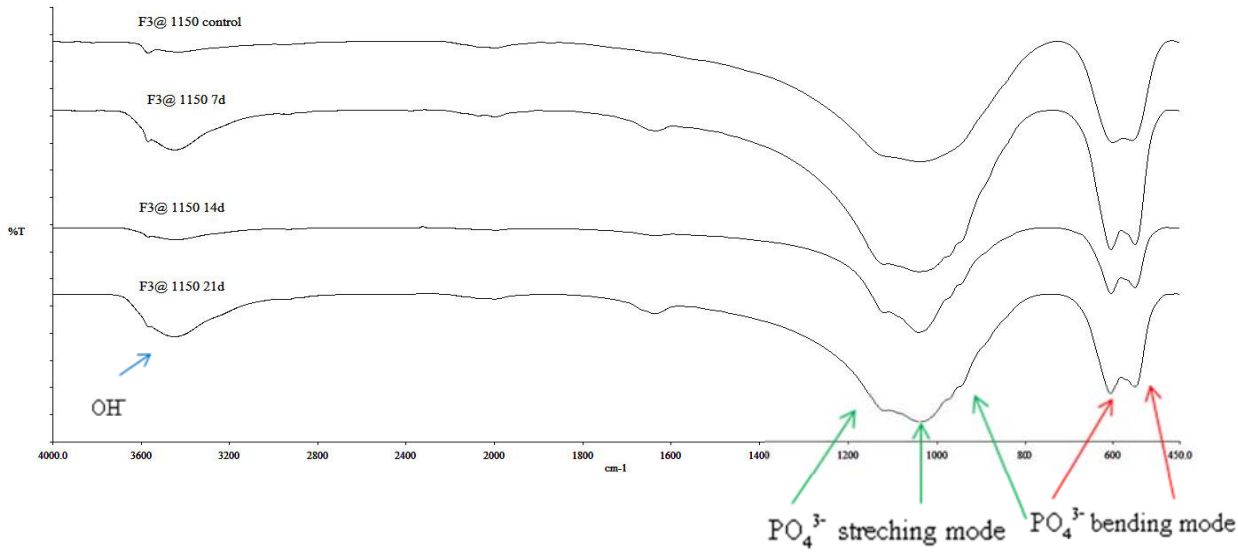


รูปที่ 4.17 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

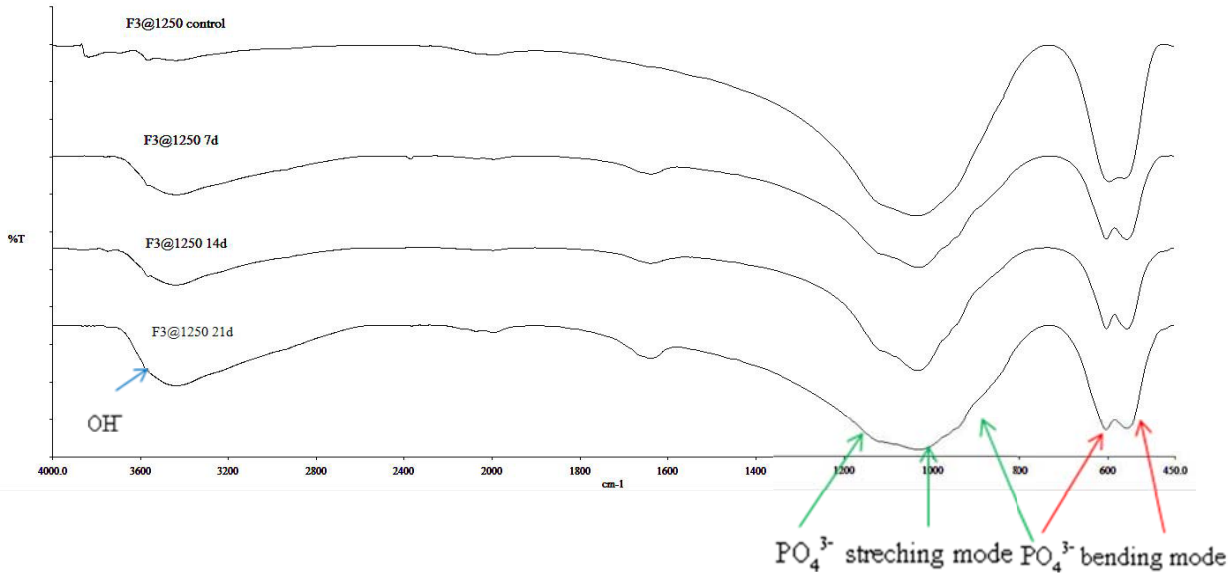
รูป 4.16 และ 4.17 แสดง FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และ 1,250°C ตามลำดับ โดยทำการเปรียบเทียบแถบการดูดกลืนแสงของตัวอย่างก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS สำหรับโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C (รูป 4.16) ก่อนแช่ในสารละลาย PBS พบแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ฟอสเฟตทั้งการสั่นแบบ bending และ stretching ที่ตำแหน่งการดูดกลืนแสง 567 และ 602 cm^{-1} และ ช่วง 900-1,200 cm^{-1} ตามลำดับ หมู่ไฮโดรเจนฟอสเฟตในช่วง 2,000-2,200 cm^{-1} และยังปรากฏแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3,570 cm^{-1} อย่างชัดเจน หลังผ่านการแช่ในสารละลาย PBS พบว่า หมู่ฟอสเฟตที่มีการสั่นแบบ bending หมู่ไฮโดรเจนฟอสเฟต และหมู่ไฮดรอกซิลมีความลึกลดลง แต่กว้างขึ้น ในขณะที่หมู่ฟอสเฟตที่มีการสั่นแบบ stretching นั้นมีความลึกเพิ่มขึ้นเมื่อแช่เป็นเวลา 7 และ 14 วัน และหายไปเมื่อแช่เป็นเวลา 21 วัน คาดว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตรนี้ประกอบด้วยวัฏภาคของผลึก HA ที่มีค่าความเป็นผลึกต่ำ และอนุพันธ์แคลเซียมฟอสเฟตอื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเมื่อผ่านการแช่ในสารละลาย PBS แล้วจะทำให้ HA และอนุพันธ์แคลเซียมฟอสเฟตเหล่านั้นเกิดการสลายตัว และอยู่ในกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนเพื่อการตกผลึกเป็น HA ขึ้นใหม่นั่นเอง

FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่า (1,250°C) แสดงดังรูป 4.17 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่มีแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ฟอสเฟตที่สั่นแบบ bending (ตำแหน่งความยาวคลื่น 567 และ 602 cm^{-1}) และสั่นแบบ stretching (ตำแหน่งความยาวคลื่น 964, 1,030 และ 1,100 cm^{-1}) หมู่ไฮดรอกซิล (ตำแหน่งความยาวคลื่น 3,570 cm^{-1}) และน้ำ (ตำแหน่งความยาวคลื่น 3,500-3,600 cm^{-1}) อย่างชัดเจน เมื่อผ่านการแช่ในสารละลาย PBS พบว่าหมู่ฟอสเฟตที่สั่นแบบ bending มีความลึกลดลง ในขณะที่หมู่ฟอสเฟตที่สั่นแบบ stretching ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่กว้าง แต่แสดงพีคที่ตำแหน่ง 964, 1,030 และ 1,100 cm^{-1} ชัดเจนขึ้น ซึ่งหมู่ฟอสเฟตที่มีความลึกลดลง น่าจะเกิดจากการสลายตัวของอนุพันธ์แคลเซียมฟอสเฟต ชนิด TCP และไวต์ล็อกไคต์ ส่งผลให้เกิดการตกผลึกกลายเป็น HA มากขึ้น ซึ่งสามารถยืนยันผลได้จากการทดสอบโดยเทคนิค XRD ที่ได้กล่าวในหัวข้อก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ยังพบแถบการดูดกลืนแสงของหมู่คาร์บอเนตเมื่อแช่โครงเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 14 และ 21 วัน

จากการเปรียบเทียบการเกิดผลึก HA หลังจากการแช่ในสารละลาย PBS ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 นี้ พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่า (1,250°C) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัม ที่บ่งชี้ถึงการเกิดแอปาไทต์ที่ชัดเจนกว่า ซึ่งสามารถสังเกตได้ชัดเจนจากแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่ฟอสเฟตที่สั่นแบบ stretching นั่นเอง



รูปที่ 4.18 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน



รูปที่ 4.19 FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

FTIR สเปกตรัมของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และ 1,250˚C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS ระยะเวลาต่างๆ แสดงดังรูป 4.18 และ 4.19 ตามลำดับ พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ทั้ง 2 สูตรนี้ ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่คล้ายกัน คือ

ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่บ่งชี้ถึงหมู่ฟอสเฟต และไฮดรอกซิล เมื่อแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 และ 14 วัน พบว่าแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ O-P-O สั่นแบบ bending มีความลึกค่อยๆ ลดลง และเพิ่มขึ้นเมื่อแช่เป็นเวลา 21 วัน ขณะที่หมู่ P-O สั่นแบบ stretching (ตำแหน่งความยาวคลื่น 964, 1,030 และ 1,100 cm^{-1}) และหมู่ไฮดรอกซิล (ตำแหน่งความยาวคลื่น 3,570 cm^{-1}) ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงอย่างชัดเจน และมีความลึกเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการแช่ และนอกจากนี้ยังพบการรวมตัวของหมู่คาร์บอเนตในเนื้อวัสดุตั้งแต่ผ่านการแช่ในสารละลายเป็นเวลา 7 วัน

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอุณหภูมิในการซินเทอริ่งของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 นี้ พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่ 2 อุณหภูมินี้มีความว่องไวในการเหนี่ยวนำให้เกิดชั้นของแอปาไทต์บนพื้นผิวของวัสดุได้ดีกว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตรอื่นๆ และพบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่า ทำให้เกิดชั้นของ HA มากกว่า สังเกตได้จากแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่ฟอสเฟต ซึ่งมีความลึกมากกว่านั่นเอง

4.3.2.3 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของแอปาไทต์ที่เกิดขึ้น หลังแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS โดยเทคนิค XRF

โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ถูกนำมาบดเป็นผงละเอียด แล้วนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทคนิค XRF ให้โครงเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่เป็นตัวควบคุม แสดงผลการทดสอบดังตาราง 4.5 (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ข)

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน

สูตร	ปริมาณ (โมล)							
	Ca	P	Si	Na	Mg	Cl	Sr	Zr
F1@1250 control	1.059	0.570	0.0032	-	tr	-	tr	tr
F2@1250 control	1.064	0.566	0.0028	-	tr	-	tr	tr
F3@1250 control	1.045	0.579	0.0050	-	tr	-	tr	tr
F1@1250 14d	1.059	0.571	0.0025	tr	tr	tr	tr	tr
F2@1250 14d	1.029	0.564	0.0028	tr	tr	tr	tr	tr
F3@1250 14d	1.021	0.578	0.0036	tr	tr	tr	tr	tr

หมายเหตุ tr คือ มีในปริมาณที่น้อยมาก

จากผลการวิเคราะห์พบว่าธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักในโครงเลี้ยงเซลล์ คือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ออกซิเจน และซิลิกอน นอกจากนี้แล้วยังพบแมกนีเซียม สตรอนเซียม และเซอร์โคเนียมในปริมาณที่น้อยมาก เนื่องจากความไม่บริสุทธิ์ของสารที่ใช้เตรียมวัสดุผสม โครงเลี้ยงเซลล์หลังแช่ในสารละลาย PBS พบธาตุโซเดียม และคลอไรด์ ซึ่งคาดว่าเกิดจากการปนเปื้อนจากไอออนในสารละลาย PBS นั่นเอง

ตารางที่ 4.6 ค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน

สูตร	ค่า Ca/P
F1@1250 control	1.859047
F2@1250 control	1.879528
F3@1250 control	1.805276
F1@1250 14d	1.85589
F2@1250 14d	1.825548
F3@1250 14d	1.767416

ค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS แสดงดังตารางที่ 4.6 ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการแทนที่ตำแหน่งแคลเซียมด้วยประจุบวกตัวอื่นๆ ในโครงสร้างของ HA โดยจากตารางพบว่า อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการแช่ในสารละลาย PBS มีค่าลดลงทุกสูตรเมื่อเปรียบเทียบกับโครงเลี้ยงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ เนื่องจากมีการแทนที่ตำแหน่งของแคลเซียมด้วยประจุบวกตัวอื่นๆ เช่น โซเดียม สตรอนเซียม ซึ่งเป็นไอออนที่อยู่ในสารละลาย PBS เป็นต้น การแทนที่ดังกล่าวทำให้ HA ที่ได้มีความไม่บริสุทธิ์มากขึ้น และทำให้ HA มีความใกล้เคียงกับ HA ที่มีอยู่ในร่างกายมนุษย์มากขึ้นนั่นเอง และนอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการสลายตัวของอนุพันธ์แคลเซียมฟอสเฟต ได้แก่ ไวต์ล็อกไคต์ และไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีความสามารถในการละลายที่ดี เกิดการฟอร์มตัวขึ้นของผลึกแอปาไทต์ที่มีค่า Ca/P ใกล้เคียง 1.67 มากขึ้น

4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสังเคราะห์วัสดุผสมจาก TCP และ CS โดยวิธีการตกตะกอนร่วม แล้วผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C เพื่อไล่ความชื้น และกำจัดสิ่งปนเปื้อน ทำให้ได้วัสดุผสมที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นผงละเอียดสีขาว เมื่อนำไปตรวจเอกลักษณ์เบื้องต้นโดยเทคนิค XRF พบว่าวัสดุผสมที่เตรียมได้มีองค์ประกอบหลัก คือ แคลเซียม ออกซิเจน ฟอสฟอรัส และมีซิลิกอนกระจายในเนื้อวัสดุ จากรูป 4.1 แสดงค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ซึ่งเป็นค่าที่บอกปริมาณของซิลิกอนที่เข้าไปผสมอยู่ในเนื้อวัสดุหลัก พบว่าค่า Si/(Ca+P) ของวัสดุผสมสูตร F1, F2 และ F3 มีความสัมพันธ์ที่เพิ่มขึ้นแบบเชิงเส้น แต่วัสดุผสมสูตร F4 มีค่าเบี่ยงเบนจากความสัมพันธ์เชิงเส้น จากผลการทดสอบเบื้องต้นโดยเทคนิค XRF นี้ทำให้สามารถเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุผสมได้ นั่นคือ เลือกสูตร F1, F2 และ F3 จากนั้นนำวัสดุผสมที่เตรียมได้ไปตรวจเอกลักษณ์เบื้องต้นด้วยเทคนิค XRD แล้วเปรียบเทียบกับแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนแสงของสารตั้งต้น พบว่าหลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C ทำให้วัสดุเกิดการเปลี่ยนวัฏภาค โดยวัสดุผสมทั้ง 4 สูตรประกอบด้วยวัฏภาคของไวต์ล็อกไคต์ และมีแค่วัสดุสูตร F1 และ F2 เท่านั้นที่มีวัฏภาค HA ด้วย ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าวัสดุเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะเกิดการเปลี่ยนเฟส และเป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนมาก คาดเดาได้ยาก เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น เวลาในการให้ความร้อน ความชื้นสัมพันธ์ในอากาศ และอัตราการขึ้น-ลงของการให้ความร้อน เป็นต้น [27]

เมื่อได้อัตราส่วนของการเตรียมวัสดุผสมที่เหมาะสมแล้ว นำวัสดุผสมที่ได้มาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ ใช้ใยบวบเป็นแม่แบบ เนื่องจากมีข้อดี คือ ราคาถูก มีความหนาแน่นต่ำ ที่สำคัญคือสามารถย่อยสลายได้ เป็นเส้นใยที่ประกอบไปด้วยเซลลูโลส

(cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในผนังเซลล์ในร่างกายมนุษย์ ดังนั้นหากสลายตัวไม่หมด ก็ไม่เกิดอันตรายต่อร่างกาย [50] จากนั้นนำโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการจุ่มเคลือบ ไปทำการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 หรือ 1,250°C เพื่อจุดประสงค์ในการปรับปรุงโครงสร้างทางจุลภาคของวัสดุ ผลที่ได้พบว่า โครงสร้างประกอบด้วยรูพรุน 2 ลักษณะ ได้แก่ รูพรุนขนาดใหญ่ ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของใยบวบมีเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 230-300 μm รูพรุนที่ได้มีขนาดใหญ่เพียงพอสำหรับการดำเนินกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ และยังประกอบด้วยรูพรุนขนาดเล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 0.25-8.00 μm (รูป 4.3 และ 4.4)

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความพรุน ขนาดรูพรุน และความหนาแน่นของเนื้อวัสดุ ได้แก่ อุณหภูมิในการซินเทอริ่ง ซึ่งจากการทดลองพบว่าการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงทำให้วัสดุมีความพรุนและขนาดรูพรุนลดลง แต่ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่อุณหภูมิสูง จะทำให้วัสดุหลอมรวมกันได้ดีและมีการเชื่อมต่อของเกรนที่ดีกว่า นอกจากนี้การเติม CS ซึ่งเป็นเฟสรองลงไป ก็ยังมีผลต่อขนาดเกรนของวัสดุอีกด้วย จากสมการการสลายตัวของ CS (สมการ 4.1) และการยืนยันจากเทคนิค XRD (รูป 4.2) ทำให้ทราบว่า CS ที่ผสมในเนื้อวัสดุกระจายตัวในรูปของซิลิเกต หรือซิลิกอนไฮดรอกไซด์ (SiO_2) ในเนื้อวัสดุหลัก ซึ่งซิลิเกตมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าวัสดุเนื้อหลัก (จุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 1600-1725°C) [51] ดังนั้นในระหว่างกระบวนการซินเทอริ่ง ซิลิเกตจึงเข้าไปขัดขวางการหลอมรวมกันของวัสดุเนื้อหลัก ดังนั้นเมื่อเติม CS ในปริมาณมาก ขนาดเกรนจึงเล็กลง (รูป 4.4)

สมบัติความว่องไวทางกายภาพของโครงเลี้ยงเซลล์ ทำการวิเคราะห์เบื้องต้นโดยการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลายจำลอง เช่น สารละลายจำลองของเหลวในร่างกาย (simulated body fluid, SBF) และสารละลาย PBS ซึ่งงานวิจัยนี้เลือกใช้สารละลาย PBS เนื่องจากมีวิธีการเตรียมที่ไม่ซับซ้อน สารละลายทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณไอออนต่างจากน้ำเลือด (blood plasma) ในร่างกายมนุษย์ แสดงความแตกต่างดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณไอออนชนิดต่างๆ ในน้ำเลือด สารละลาย SBF และสารละลาย PBS [36]

ชนิด	ความเข้มข้นของไอออนต่างๆ (mM)						
	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{2-}
น้ำเลือด	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0
สารละลาย SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8	4.2	1.0
สารละลาย PBS	157.0	4.5	-	-	140.0	-	10.0

นอกจากความแตกต่างของปริมาณไอออนดังแสดงแล้ว ยังพบความแตกต่างอื่นๆ เช่น ในน้ำเลือดมีโปรตีน และปริมาณคาร์บอเนตที่ไม่คงที่ เป็นต้น ทำให้การทดสอบสมบัติความว่องไวทางกายภาพด้วยวิธีการแช่ในสารละลายนี้เป็นเพียงการทดสอบขั้นต้นเท่านั้น [52]

งานวิจัยนี้ทำการทดลองโดยแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS แล้วเก็บชิ้นงานมาวิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาค และตรวจเอกลักษณ์ของชั้นแอปาไทต์ที่เกิด ณ เวลาต่างๆ กัน คือ 7, 14 และ 21 วัน โดยเทคนิค SEM, XRD, XRF และ FTIR

จากการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ และเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน เนื้อวัสดุเริ่มเกิดการบวมตัว แต่สำหรับชิ้นงานที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C พบการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่แช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน โดยพบการก่อตัวของผลึกแอปาไทต์บริเวณพื้นผิวของวัสดุ และเมื่อแช่เป็นเวลา 14 วัน ชั้นของแอปาไทต์ปกคลุมเป็นบริเวณกว้างขึ้น และในโครงเลี้ยงเซลล์ที่มี CS มากกว่า จะมีชั้นของแอปาไทต์ครอบคลุมบริเวณกว้างกว่า (รูป 4.6 และ 4.7) ซึ่งกลไกการเกิดชั้นแอปาไทต์บนพื้นผิวของวัสดุนั้นเกิดจากกระบวนการแพร่ (diffusion) และการทำปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างส่วนประกอบในสารละลาย PBS กับส่วนประกอบของเนื้อวัสดุ ซึ่งกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนนี้จะเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวก่อนบริเวณอื่น และถ้าหากแช่เป็นเวลานานขึ้น จะเกิดการแพร่ของสารละลายเข้าไปในบริเวณรูพรุนเปิดในเนื้อวัสดุ ซึ่งทำให้สังเกตเห็นแอปาไทต์เกิดขึ้นบริเวณรูพรุน หรือบริเวณขอบเกรนก่อน [53]

การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยเทคนิค XRD (ตารางที่ 4.4) พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ทุกสูตร ประกอบด้วยวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์ HA และ TCP โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 มีความเป็นผลึก HA สมบูรณ์ที่สุด เมื่อผ่านการแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน พบว่าวัฏภาคผลึกของ TCP หายไป เหลือเพียงวัฏภาคผลึกไวต์ล็อกไคต์ และแคลเซียมไพโรฟอสเฟตในโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 และวัฏภาคผลึกของไวต์ล็อกไคต์ และ HA ในโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 และ F3 เมื่อศึกษาความสามารถในการละลาย (solubility) ของ TCP เทียบกับ HA พบว่าค่า Ksp ของ TCP เท่ากับ 2.83×10^{-30} ในขณะที่ค่า Ksp ของ HA มีค่าเท่ากับ 3.37×10^{-58} นั่นแสดงว่า TCP สามารถมีความสามารถในการละลายสูงกว่า ดังนั้นเมื่อแช่โครงเลี้ยงเซลล์เป็นเวลานานวัฏภาคผลึกของ TCP จึงหายไป [49] สามารถเขียนสมการการสลายตัวได้ดังสมการที่ (2)

$$Ca_3(PO_4)_2 \longrightarrow Ca^{2+} + PO_4^{3-} \qquad (4.2)$$

เมื่อเปรียบเทียบแพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 และ F3 พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3 มีอินเทนซิตี้ของพีคของ HA มากกว่าโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 (รูป 4.13) ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR กล่าวคือ โครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองสูตร ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ทั้งก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS ปรากฏแถบการดูดกลืนแสงที่บ่งชี้ถึงการมีอยู่ของหมู่ฟอสเฟต และหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นหมู่ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในวัสดุประเภทแคลเซียมฟอสเฟต ชนิด HA และแถบการดูดกลืนแสงของทั้งสองหมู่มีความชัดเจนขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการซินเทอริ่ง และปริมาณ CS สูงขึ้น นอกจากนี้แล้วระยะเวลาในการแช่ก็ยังทำให้เกิดชั้นของแอปาไทต์มากขึ้นด้วย โดยอุณหภูมิในการซินเทอริ่งจะส่งผลต่อค่าความเป็นผลึกของ HA กล่าวคือ HA จะมีความเป็นผลึกมากกว่าเมื่อซินเทอริ่งที่อุณหภูมิสูงกว่า มีการยึดเกาะกันด้วยพันธะที่แข็งแรงกว่า ส่งผลให้มีโครงสร้างที่แข็งแรง และสลายตัวได้น้อย [54] แสดงสมการการเกิดของชั้นไฮดรอกซีแอปาไทต์ดังสมการ (3) และ (4) [55, 56]

$$3[Ca(PO_4)_2 + Ca^{2+} + 2(OH^-) \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \qquad (4.3)$$

$$6[HPO_4^{2-}] + 10Ca^{2+} + 8[OH^-] \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + H_2O \qquad (4.4)$$

ส่วน CS ที่เติมลงไป มีการกระจายตัวในเนื้อวัสดุในรูปของซิลิกานั้น จะส่งช่วยเพิ่มความเป็นประจุลบบนพื้นผิวของวัสดุ โดยซิลิกาจะฟอร์มตัวอยู่ในรูปของหมู่ silanol (silanol group, SiO_2) เมื่อแช่ในสารละลาย PBS จะอยู่ในรูป SiO^- ดังสมการ (3) [57, 58] ซึ่งจะทำให้เกิดเป็นไฮดรอกซีแอปาไทต์ที่มีหมู่ Si แทนที่ในตำแหน่งฟอสเฟตนั่นเอง (silicon-substituted hydroxyapatite)

$$SiOH + OH^- \longrightarrow SiO^- + H_2O \qquad (4.5)$$

นอกจากจะมีการเกิดของชั้น HA และ ซิลิกอน-ไฮดรอกซีแอปาไทต์แล้ว ยังมีการเกิดผลึกของคาร์บอเนตแอปาไทต์ (carbonated apatite) อีกด้วย ยืนยันได้จากผลจาก FTIR สเปกตรัม โดยจะมีกลไกการเกิดคล้ายกับการเกิดผลึก HA การเกิดของหมู่นี้จะส่งผลทำให้ค่า Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่วิเคราะห์โดยเทคนิค XRF ลดลง (ตารางที่ 4.6) เนื่องจากเกิดการแทนที่ตำแหน่ง PO_4^{3-} ในโครงสร้าง HA ด้วยหมู่ CO_3^{2-} [58]

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการสังเคราะห์วัสดุผสมจากแคลเซียมฟอสเฟตและแคลเซียมซิลิเกต โดยให้แคลเซียมซิลิเกตเป็นเฟสรองเพื่อการปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพของวัสดุ ในอัตราส่วน 0.005, 0.01, 0.02 และ 0.04 โมล ต่อแคลเซียมฟอสเฟต 1 โมล โดยเทคนิคการตกตะกอนร่วม แล้วนำไปผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C ตรวจเอกลักษณ์เบื้องต้นด้วยเทคนิค XRF และ XRD พบว่าวัสดุผสมที่สังเคราะห์ได้เป็นชนิดไฮดรอกซีแอปาไทต์ และไวต์ล็อกไคต์ จากนั้นนำวัสดุผสมที่ได้มาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์โดยเทคนิคการจุ่มเคลือบ ทำการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และ 1,250°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวภาพเบื้องต้นด้วยเทคนิค SEM, XRF, XRD และ FTIR ได้ข้อสรุปและข้อเสนอแนะดังนี้

การเตรียมวัสดุผสม มีจุดประสงค์เพื่อรวมเอาข้อดีของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน นั่นคือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งมีสมบัติ biocompatibility และ bioactive และ แคลเซียมซิลิเกต ซึ่งมีสมบัติเด่นในด้านการเหนี่ยวให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกได้ จากนั้นนำมาขึ้นรูปเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ เพื่อเลียนแบบกระดูกเนื้อโปร่ง โดยเน้นการสร้างรูพรุนเปิดขนาดใหญ่ เพื่อให้เนื้อเยื่อกระดูกและเส้นเลือดสามารถเจริญเข้าไป และเพื่อเป็นพื้นที่ว่างที่ใช้ในกระบวนต่างๆ ของเซลล์ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยมีปัจจัยที่ต้องการศึกษา คืออัตราส่วนของการเตรียมวัสดุผสม และอุณหภูมิที่ใช้ในการซินเทอริ่งที่เหมาะสม และทำให้เกิดสมบัติทางชีวภาพที่ดีที่สุด ซึ่งจากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า

1. ในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ โดยใช้ใยบวบเป็นแม่แบบนี้ ทำให้ได้รูพรุนเปิดขนาดใหญ่ ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของเส้นใย และรูพรุนเปิดขนาดเล็ก และมีโครงสร้างที่เชื่อมต่อกันเป็นโครงร่างสามมิติ แต่มีความแข็งแรงค่อนข้างต่ำ ดังนั้นโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้จึงเหมาะแก่การนำไปใช้กับกระดูกในส่วนที่ไม่ต้องรองรับแรง (non-loaded bearing)

2. แคลเซียมซิลิเกตที่เติมลงในเนื้อวัสดุหลักมีผลต่อโครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ ได้แก่ ขนาดของเกรน และจำนวนรูพรุนในโครงสร้าง โดยเมื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมซิลิเกตจะทำให้เกรนมีขนาดเล็กลง และจำนวนรูพรุนมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน นอกจากนี้แล้วอุณหภูมิในการซินเทอริ่งที่สูงกว่า จะทำให้มีการเชื่อมต่อของเกรนมากกว่า เนื่องจากจะทำให้วัสดุหลอมรวมกันได้ดี จึงทำให้มีขนาดรูพรุนเฉลี่ยลดลง แต่ขนาดเกรนใหญ่ขึ้น

3. จากการทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพเบื้องต้น โดยการแช่โครงเลี้ยงเซลล์ในสารละลาย PBS เพื่อดูการเกิดชั้นของแอปาไทต์ พบว่า ทั้งปริมาณแคลเซียมซิลิเกต อุณหภูมิในการซินเทอริ่ง และระยะเวลาในการแช่ตัวอย่างในสารละลาย มีผลต่อปริมาณ และความเร็วในการเกิดแอปาไทต์ โดยมีแนวโน้มว่าปริมาณแคลเซียมซิลิเกตที่มากกว่า และอุณหภูมิในการซินเทอริ่งที่สูงกว่า จะทำให้แอปาไทต์เกิดขึ้นจำนวนมากและเร็วกว่า

4. จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD และ FTIR ทำให้สามารถยืนยันได้ว่า แอปาไทต์ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นชนิดไฮดรอกซีแอปาไทต์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของกระดูก และไฮดรอกซีแอปาไทต์ที่เกิดขึ้นใหม่นี้มีอนุภาคขนาดเล็กระดับนาโนเมตร จะทำให้โครงเลี้ยงเซลล์มีพื้นที่ผิวมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการยึดเกาะระหว่างเนื้อเยื่อกับวัสดุได้ดี เมื่อทำการปลูกโครงเลี้ยงเซลล์ด้วยเทคนิค *in vivo*

5. จากการวิเคราะห์เบื้องต้น พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้มีสมบัติทางกายภาพและชีวภาพที่เหมาะสม โดยเฉพาะโครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3 จะทำให้ได้สมบัติทางชีวภาพในด้านความว่องไวในการทำปฏิกิริยาดีที่สุด

จากการทำงานวิจัยนี้ ผู้เขียนได้มีข้อเสนอแนะที่น่าสนใจในการทำวิจัยเพิ่มเติม ดังนี้

1. เนื่องจากโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ มีความพรุนค่อนข้างสูง ส่งผลให้ความแข็งแรงต่ำมาก ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้จริง แม้แต่ในกระดูกส่วนที่ไม่รองรับแรง ดังนั้นจึงอาจมีเฟสเสริมแรงมาเคลือบเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้จริงงานได้

2. ในขั้นตอนการซินเทอริ่ง อุณหภูมิที่ผู้วิจัยเลือกใช้คือ 1,150 และ 1,250°C หากมีการศึกษาเพิ่มเติม อาจจะใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า เพื่อเพิ่มการเชื่อมต่อกันของเกรน ซึ่งอาจจะทำให้ความแข็งแรงของวัสดุเพิ่มขึ้น

บรรณานุกรม

[1] S. Oh, N. Oh, M. Appleford, J. L. Ong. 2006. Bioceramics for tissue engineering application - A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2: 49-56.

[2] K. S. Chong, J. Chang. 2006. Tissue engineering for the hand surgeon: A clinical perspective. The Journal of Hand Surgery 21A: 349-358.

[3] สุกิจ แสงนิพันธ์กูล. 2534. *กระดูก และกระดูกอ่อน*. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: ศิริภัณฑ์ออฟเซ็ต.

[4] อนิรุทธิ์ คำใจ. 2548. การหาลักษณะเฉพาะและการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของเซรามิกไฮดรอกซีอะพาไทต์เพื่อใช้ทดแทนกระดูกมนุษย์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, วัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[5] S. V. Dorozhkin. 2009. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials* 31: 1465-1485.

[6] สุพัตรา วรรณโชติ. การเตรียมวัสดุชีวภาพจากแคลเซียมซิลิเกตและพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นสูงโดยใช้ไซเลนเป็นสารคู่ควบ. สาขาเทคโนโลยีพอลิเมอร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2550.

[7] J. R. Jones. 2009. New trends in bioactive scaffolds: The importance of nanostructure. *Journal of the European Ceramic Society* 29: 1275-1281.

[8] A. M. Pietak, J. W. Reid, M. J. Stott, M. Sayer. 2007. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics. *Biomaterials* 28: 4023-4032.

[9] พิบูลย์ อิทธิระวิวงศ์. 2547. *กระดูก วัสดุชีวภาพ กลศาสตร์ชีวภาพ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด.

[10] A. Uzwiak. 2012. Skeletal tissue. Rutgers university. http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/APFallLect8.html (สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2555).

[11] A. Weil. 2011. Examination of bone tissue. University of Arizona. http:// www.physioweb. Org /skeletal/bone_tissue.html (สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2555).

[12] Wikimedia Foundation, Inc. 2012. File: Stress strain ductile material. http://en.wikipedia. org/wiki/File:Stress_Strain_Ductile_Material.png (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[13] North American Spine Society. 2006. Bone graft alternatives. www.spine.org/Documents/bone_ grafts_2006.pdf (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555)

[14] A. Bollo, J. Lewis. 1996. Different forms of bone grafts. *The Journal of Foot and Ankle Surgery* 35(5): 400-405.

[15] สุภาณี ชนะวงศ์. 2547. การเตรียมวัสดุประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปาไทต์กับพอลิเมอร์ร่วมพอลิเอทิลีนอะดิเปตกับพอลิเอทิลีนเทอเรพทาเลต. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. เทคโนโลยีพอลิเมอร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[16] G. Stylios, T. Wan, P. Giannoudis. 2007. Present status and future potential of enhancing bone healing using nanotechnology. *Injury: International Journal of the Care of the injured* 38S1: S63-S74.

[17] S. M. Best, A. E. Porter, E. S. Thian, J. Huang. 2008. Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic socie*ty 28: 1319-1327.

[18] นราวุธ ทองมะโรงสี. 2547. การผลิตโครงเลี้ยงเซลล์จากวัสดุที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพเพื่องานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[19] C. S. S. R. Kumar. 2006. Tissue, cell and organ engineering. United States of America. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

[20] J. D. Bronzino. 2006. Biomedical engineering fundamentals. 3nd edition. United States of America. Taylor & Francis Group.

[21] A. Atala, R. P. Lanza. 2002. Methods of tissue engineering. 1st edition. United States of America. Academic Press.

[22] J. D. Bronzino. 2006. Tissue engineering and artificial organs. 3nd edition. United States of America. Taylor & Francis Group.

[23] S. A. Silva, D. D. Brunelli, F. C. L. Melo, G. P. Thim. 2009. Preparation of a reticulated ceramic using vegetal sponge as templating. *Cermaics International* 35: 1575-1579.

[24] X. Li, C. A. van Blitterswijk, Q. Feng, F. Cui, F. Watari. 2008. The effect of calcium phosphate microstructure on bone-related cells in vitro. *Biomaterials* 29: 3306-3316.

[25] M. Bohner. 2000. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury: International Journal of the Care of the Injured* 31: D-D37-47.

[26] B. Hanson. 2001. Hydroxyapatite. St. Olaf College. http://www.stolaf.edu/people/hansonr /mo/apatite/mo.htm (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555)

[27] G. Muralithran, S. Ramesh. 2000. The effects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite. *Ceramics international* 26: 221-230.

[28] Wikimedia Foundation, Inc. 2012. Tricalcium phosphate. http://en.wikipedia.org/wiki/ Tricalcium_ phosphate (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[29] L. L. Hence. 1998. Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society* 81: 1705-1728.

[30] Wikimedia Foundation, Inc. 2012. Wollastonite. http://en.wikipedia.org/wiki/Wollastonite (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[31] R. T. Vanderbilt Company Inc. 2002. Wollastonite A Versatile Functional Filler. http://www.rtvanderbilt.com/awards_6.htm (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[32] X. Shi. 2012. Acicular wollastonite. Dailian Chem Imp. & Exp. Group Co., Ltd. http://www.alibaba.com/product-gs/244472555/Acicular_wollastonite.html (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[33] C. Wang, Y. Xue, K. Lin, J. Lu, J. Chang, J. Sun. 2011. The enhancement of bone regeneration by a combination of osteoconductivity and osteostimulation using β-$CaSiO_3$/β-$Ca_3(PO_4)_2$ composite bioceramics. *Acta Biomaterialia*.

[34] H. Guo, J. Wei, Y. Yuan, C. Liu. 2007. Development of calcium silicate/calcium phosphate cement for bone regeneration. *Biomedical Materials* 2: S153-S159.

[35] I. M. Martínez, P. Velásquez, L. M. Olmo, P. N. De Aza. 2011. Production and study of in vitro behavior of monolithic α-tricalcium phosphate based ceramics in the system $Ca_3(PO_4)_2$-Ca_2SiO_4. *Ceramics International* 37: 2527-2535.

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

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

[38] L. M. Alonso, O. J. B. Ferreira, R. G. Carrodeguas, L. A. dos Santos. 2011. Bioactive composite bone cement based on α-tricalcium phosphate/tricalcium silicate. *Society For Biomaterials*.

[39] M. Palard, J. Combes, E. Champion, S. Foucaud, A. Rattner, C. B. Assollant. 2009. Effect of silicon content on the sintering and biological behavior of $Ca_{10}(PO_4)_{6-x}(SiO_4)_x(OH)_{2-x}$ ceramics. *Acta Biomaterialia* 5: 1223-1232.

[40] M. S. Sadjadi, H. R. Ebrahimi, M. Meskinfam, K. Zare. 2011. Silica enhanced formation of hydroxyapatite nanocrysals in simulated body fluid (SBF) at 37˚C. *Materials Chemistry and Physics* 130: 67-71.

[41] N. Patel, S. M. Best, W. Bonfield, I. R. Gibson, K. A. Hing, E. Damien, P. A. Revell. 2002. A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 13: 1199-1206.

[42] N. Y. Mostafa, H. M. Hassan, F. H. Mohamed. 2009. Sintering behavior and thermal stability of Na^{+}, SiO_4^{4-} and CO_3^{2-} co-substituted hydroxyapatites. *Journal of Alloys and Compounds* 479: 692-698.

[43] S. Cai, G. H. Xu, X. Z. Yu, W. J. Zhang, Z. Y. Xiao, K. D. Yao. 2008. Fabrication and biological characteristics of β-tricalcium phosphate porous ceramic scaffolds reinforced with calcium phosphate glass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 20: 351-358.

[44] S. Sprio, A. Tampieri, G. Celotti, E. Landi. 2009. Development of hydroxyapatite/calcium silicate composites addressed to the design of load-bearing bone scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2: I27-I55.

[45] S. Xu, K. Lin, Z. Wang, J. Chang, L. Wang, J. Lu, C. Ning. 2008. Reconstruction of calvarial defect of rabbits using porous calcium silicate bioactive ceramics. *Biomaterials* 29: 2588-2596.

[46] X. Huang, D. Jiang, S. Tan. 2002. Apatite formation on the surface of wollastonite/tricalcium phosphate composite immersed in simulated body fluid. Institue of Materials Sciences and Engineering Ocean University of China.

[47] G. Amirthan, A. Udayakumar, V. V. Bhanu Prasad, M. Balasubramanian. 2009. Synthesis and characterization of Si/SiC ceramics prepared using cotton fabric. *Ceramics International* 35: 967-973.

[48] T. Tian, D. Jiang, J. Zhang, Q. Lin. 2008. Synthesis of Si-substituted hydroxyapatite by a wet mechanochemical method. *Materials Science and Engineering* C28: 57-63.

[49] C. Ribeiro, E. C. S. Rigo, P. Sepulveda, J. C. Bressiani, A. H. A. Bressiani. 2004. Formation of calcium phosphate layer on ceramics with different reactivities. *Materials Science and Engineering* C24: 631-636.

[50] M. Z. Rong, M. Q. Zhang, Y. Liu, G. C. Yang, H. M. Zeng. 2001. The effect of fiber treatment on the mechanical properties of unidirectional sisal-reinforced epoxy composites. *Composites Science and Technology* 61: 1437-1447.

[51] Wikimedia Foundation, Inc. 2012. Silicon dioxide. http://en.wikipedia.org/wiki/Silicon_dioxide (สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2555).

[52] M. Bohner, J. Lemaitre. 2009. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?. *Biomaterials* 30: 2175-2179.

[53] M. Magallanes-Perdomo, Z. B. Luklinska, A. H. De Aza, R. G. Carrodeguas, S. De Aza, P. Pena. 2011. Bone-like forming ability of apatite-wollastonite glass ceramic. *Journal of the European Ceramic Society* 31: 1549-1561.

[54] R. Sun, M. Li, Y. Lu, A. Wang. 2006. Immersion behavior of hydroxyapatite (HA) powders before and after sintering. *Materials Characterizaton* 56: 250-254.

[55] P. N. De Aza, Z. B. Luklinska, M. R. Anseau, M. Hector, F. Guitian, S. De Aza. 2000, Reactivity of a wollastonite-tricalcium phosphate Bioeutectic® ceramic in human parotid saliva. *Biomaterails* 21: 1735-1741.

[56] P. N. De Aza, F. Guitian, S. De Aza. 1997. Bioeutectic: a new ceramic material for human bone replacement. *Biomaterials* 18: 1285-1291.

[57] X. Liu, C. Ding, P. K. Chu. 2004. Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids. *Biomaterials* 25: 1755-1761.

[58] S. Yan, J. Yin, L. Cui, Y. Yang, X. Chen. 2011. Apatite-forming ability of bioactive poly(L-lactic acid)/grafted silica nanocomposites in simulated body fluid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 86: 218-224.

ภาคผนวก

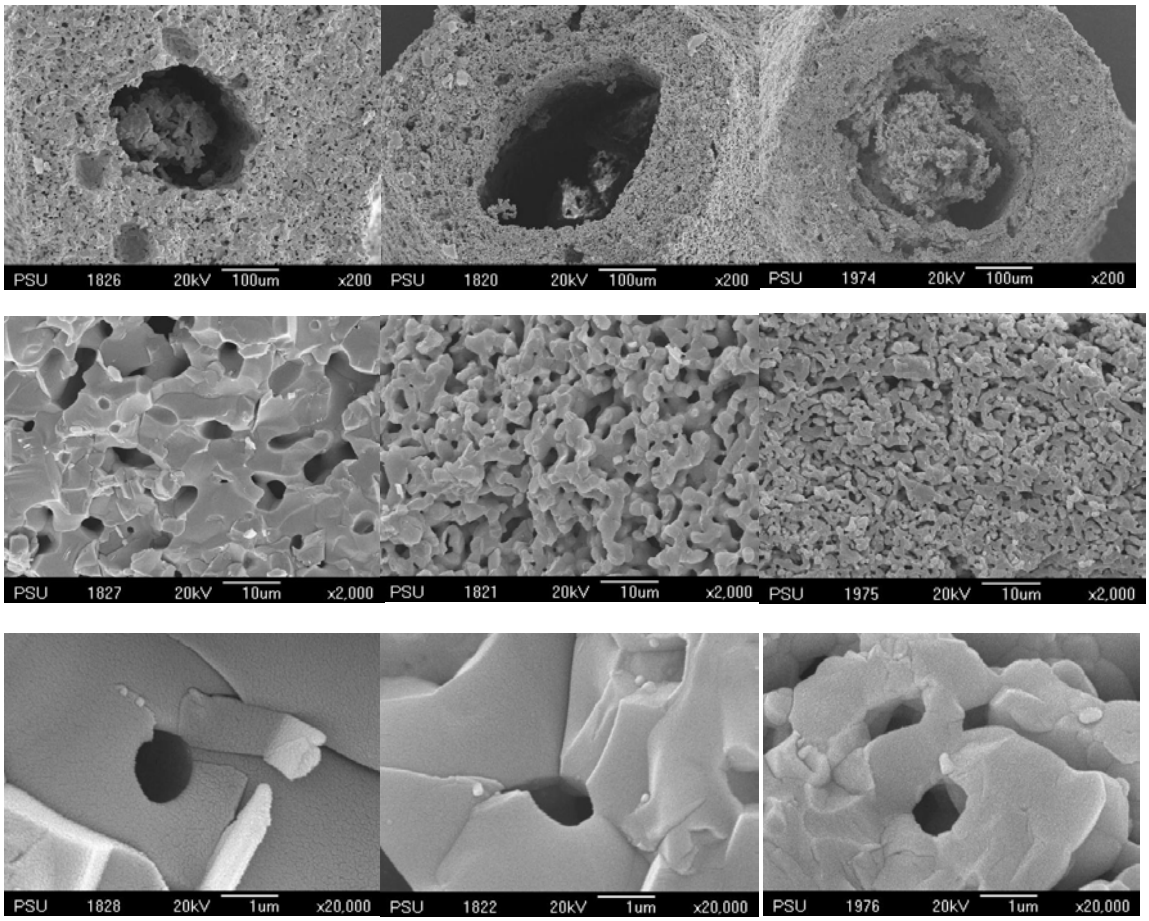
ภาคผนวก ก

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

1. ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ SEM

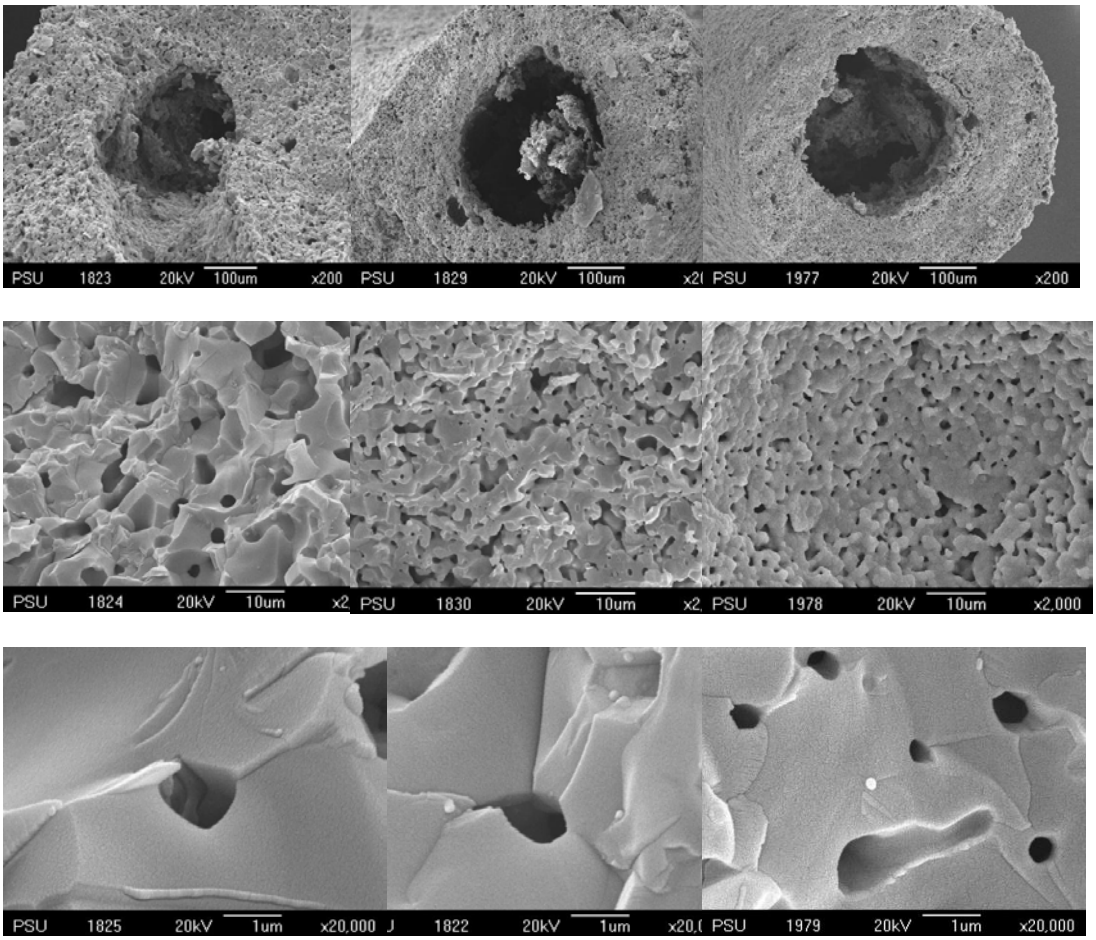
1.1 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนแช่ในสารละลาย PBS

โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



รูปที่ ก.1 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

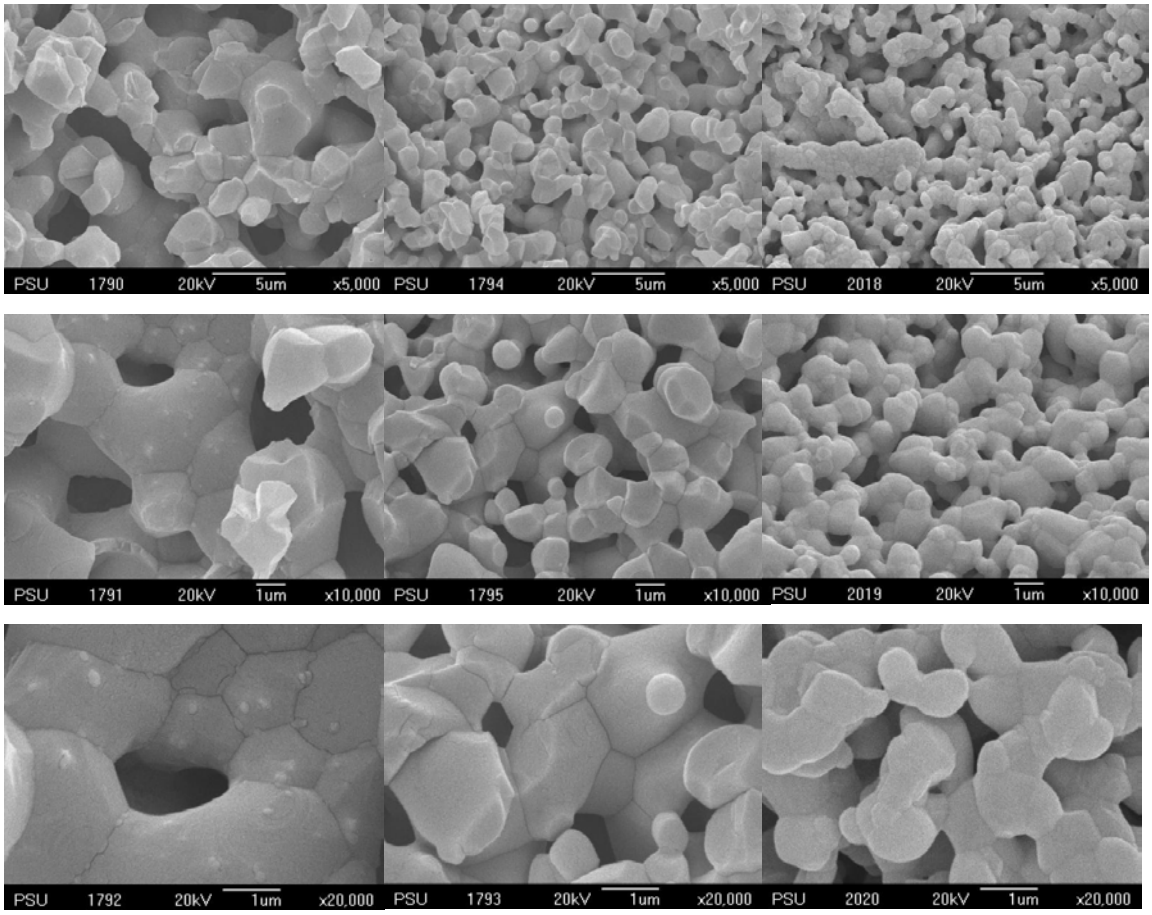
โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



รูปที่ ก.2 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250˚C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

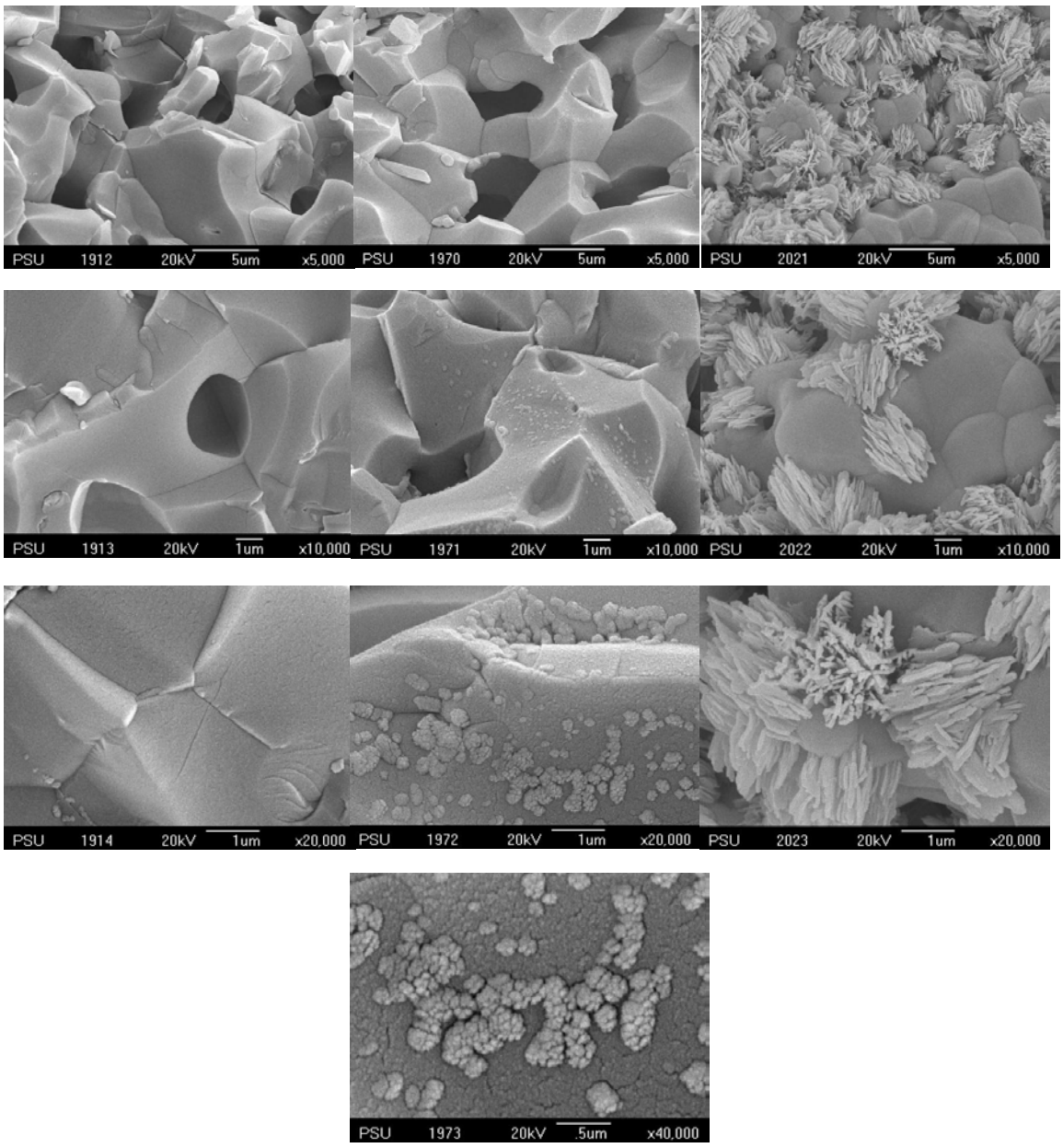
1.2 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน

โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



รูปที่ ก.3 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

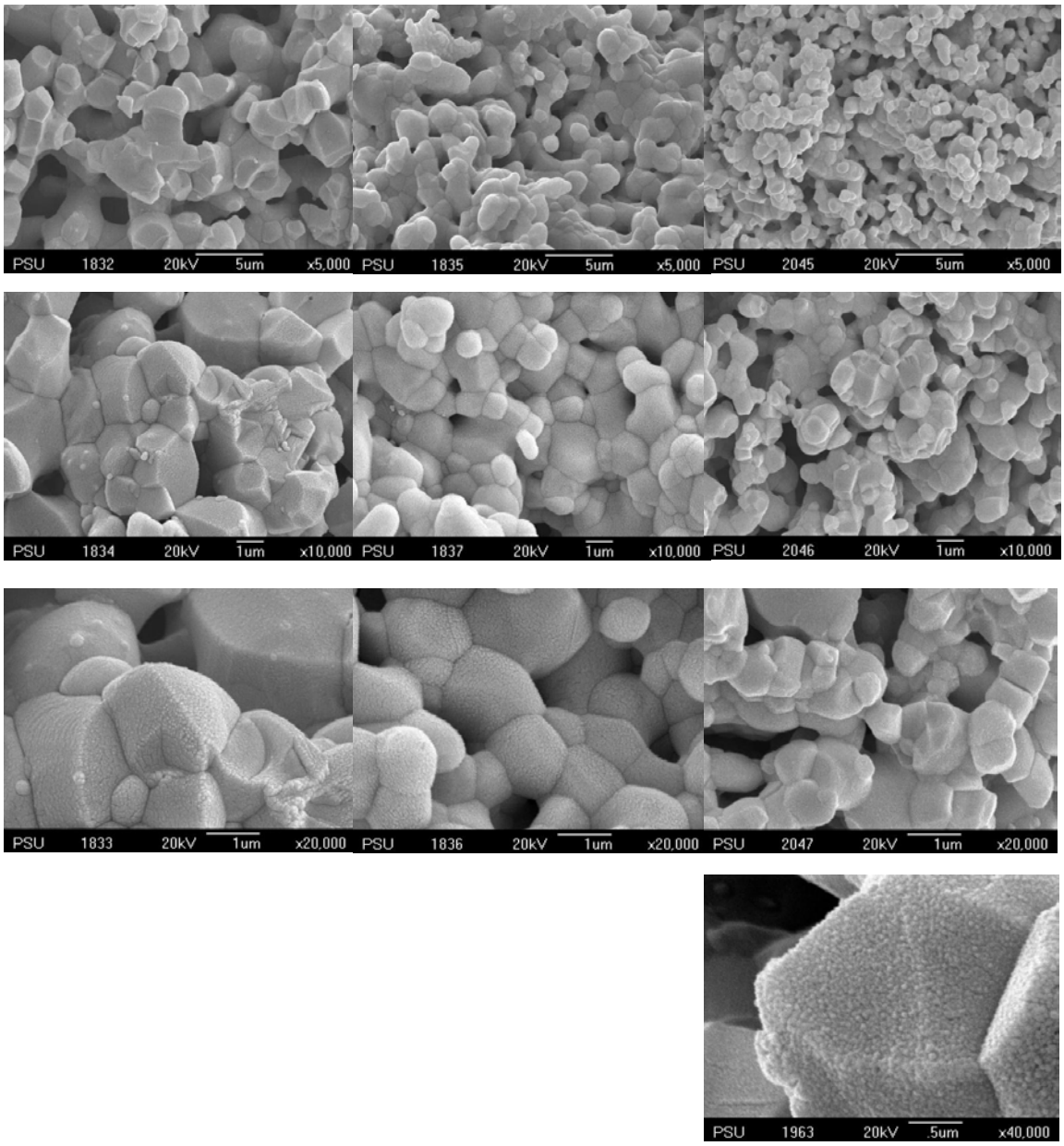
โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



รูปที่ ก.4 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 7 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

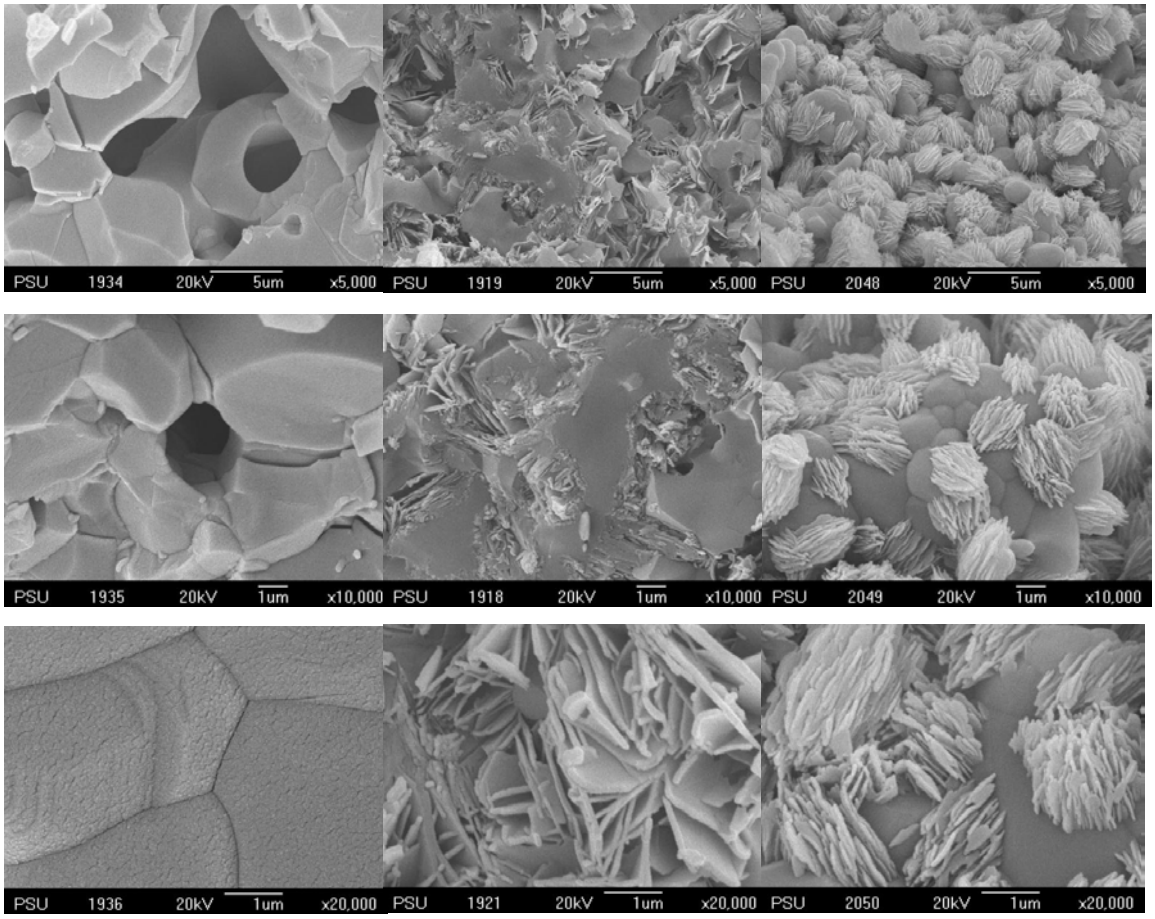
1.3 โครงสร้างทางจุลภาคของโครงเลี้ยงเซลล์หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน

โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



รูปที่ ก.5 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

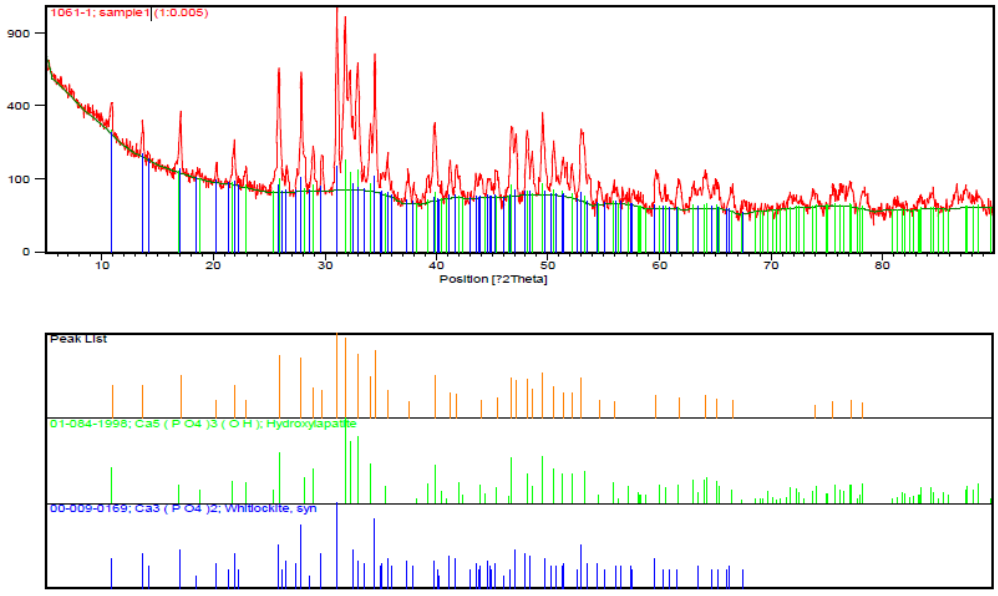
โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F1 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F2 โครงเลี้ยงเซลล์สูตร F3



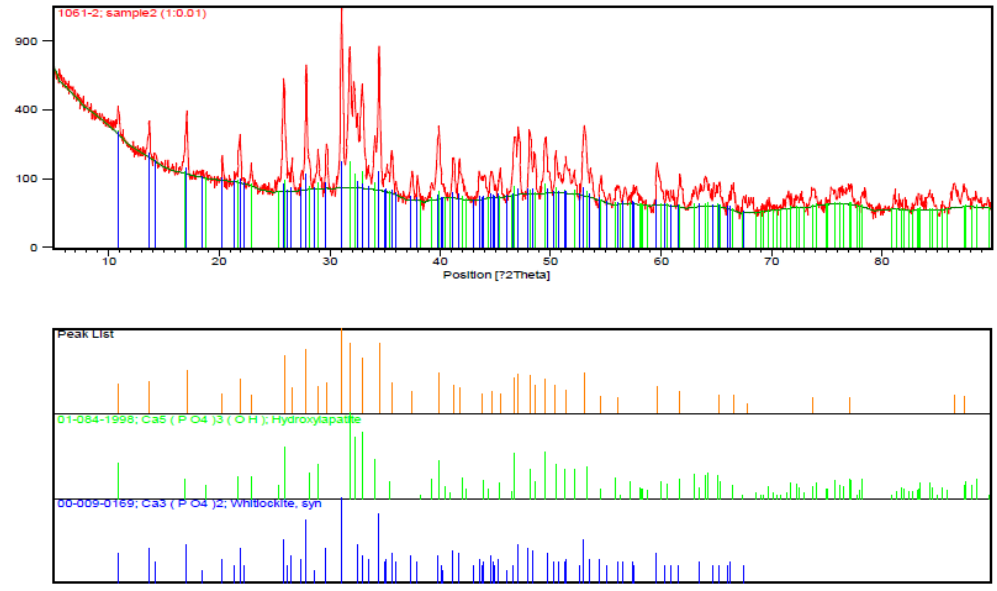
รูปที่ ก.6 ภาพถ่าย SEM ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน ที่กำลังขยายต่างๆ กัน

2. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค XRD

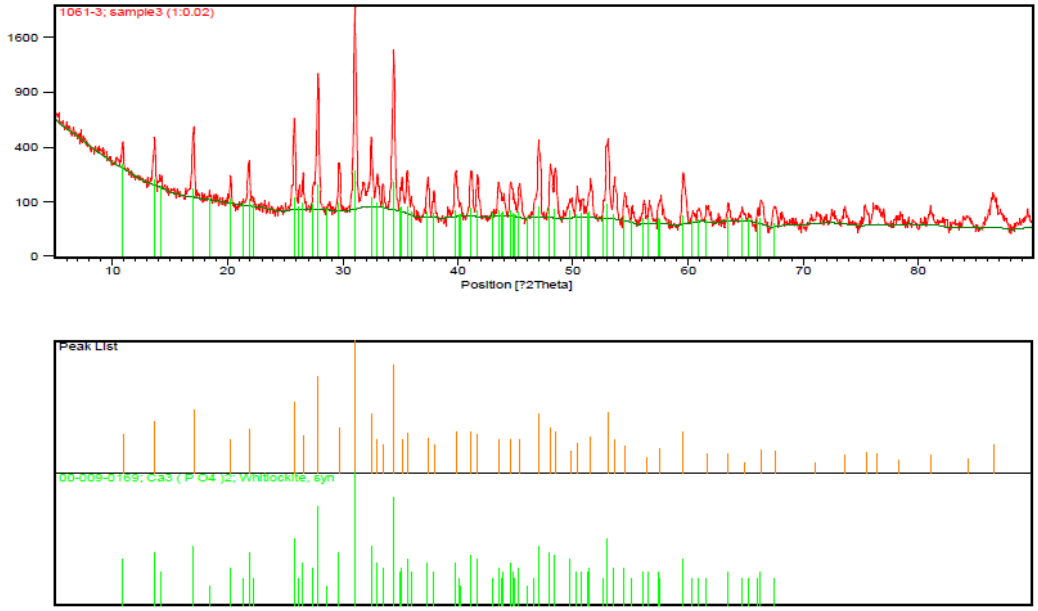
2.1 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของวัสดุผสมหลังผ่านการแคลไซน์ ที่อุณหภูมิ 900°C



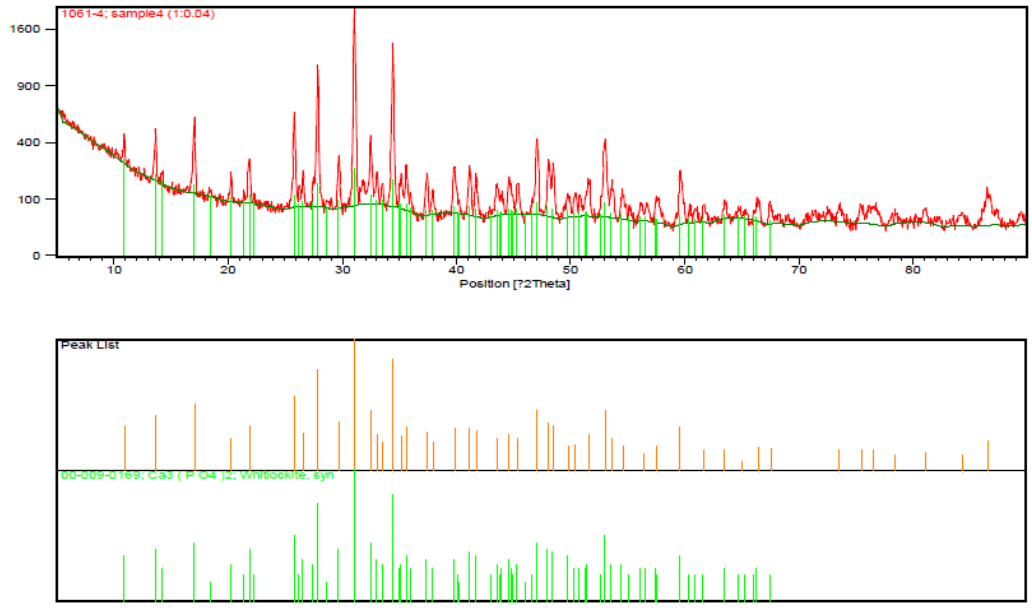
รูปที่ ก.7 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C



รูปที่ ก.8 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C

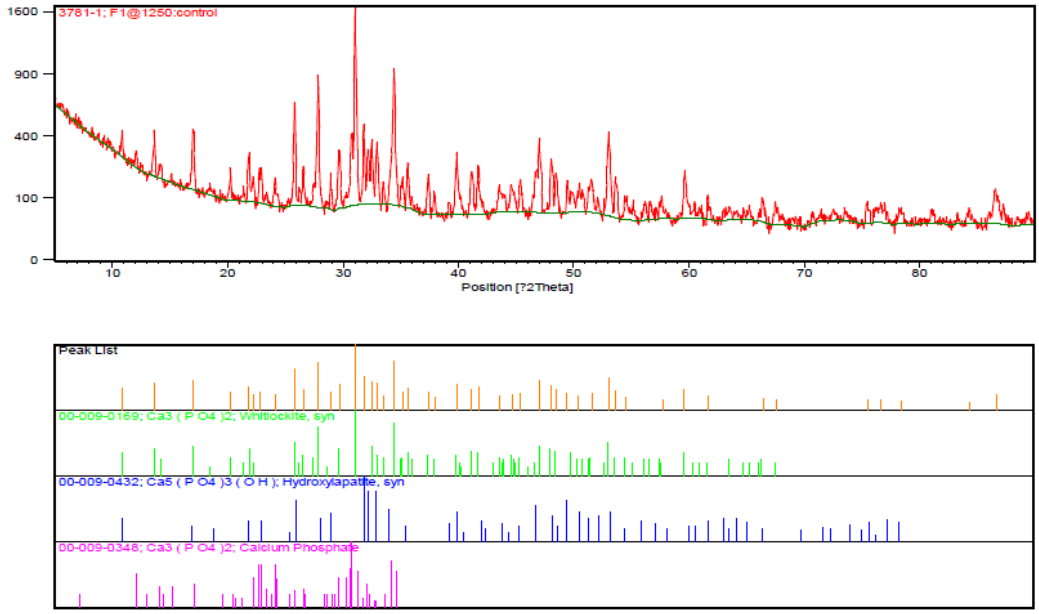


รูปที่ ก.9 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C

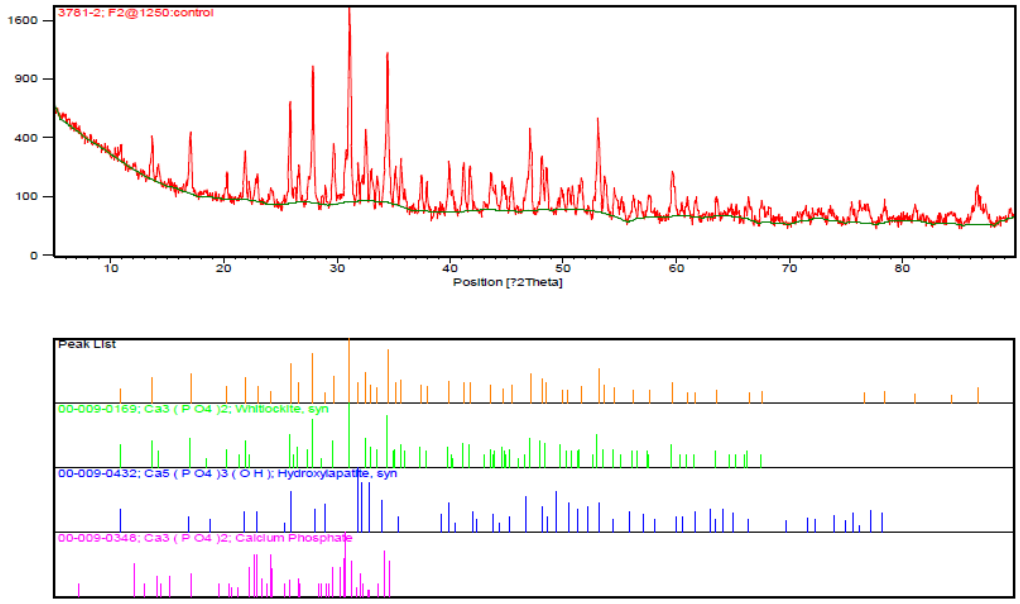


รูปที่ ก.10 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของวัสดุผสมสูตร F4 หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900°C

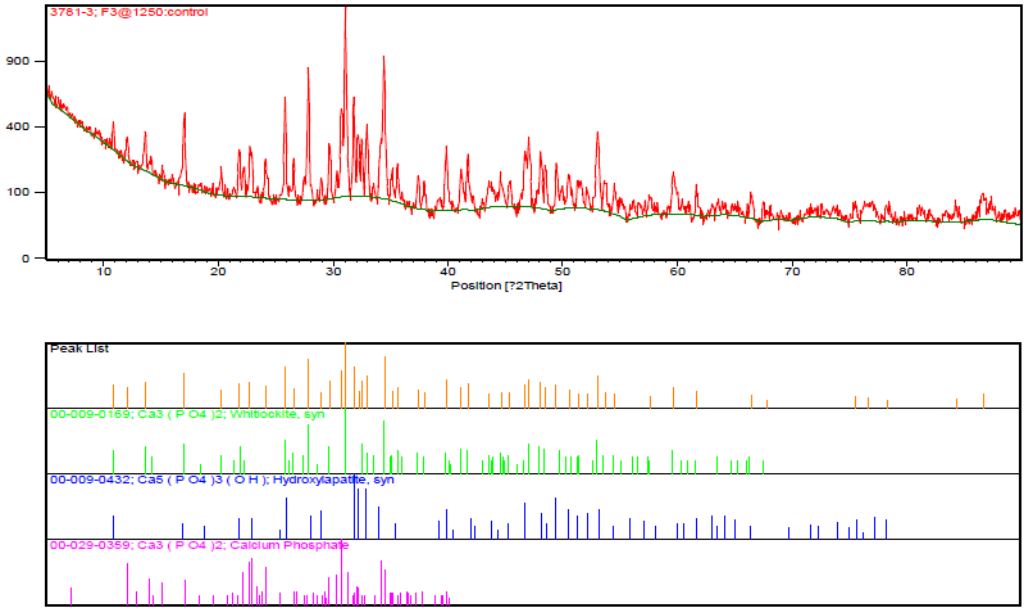
2.2 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของโครงเลี้ยงเซลล์ หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250 °C ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS



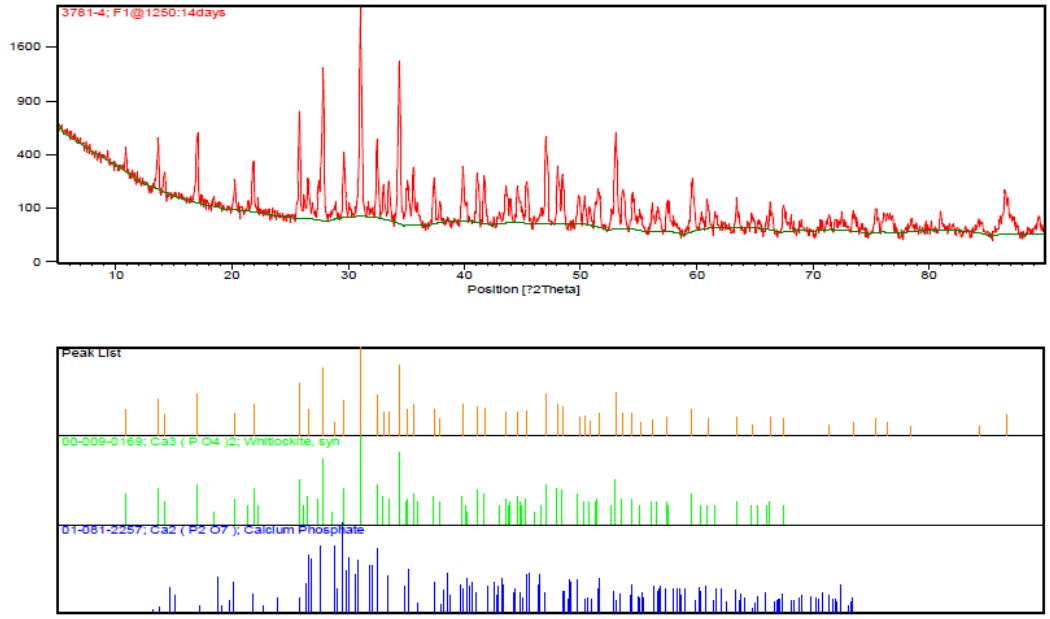
รูปที่ ก.11 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS



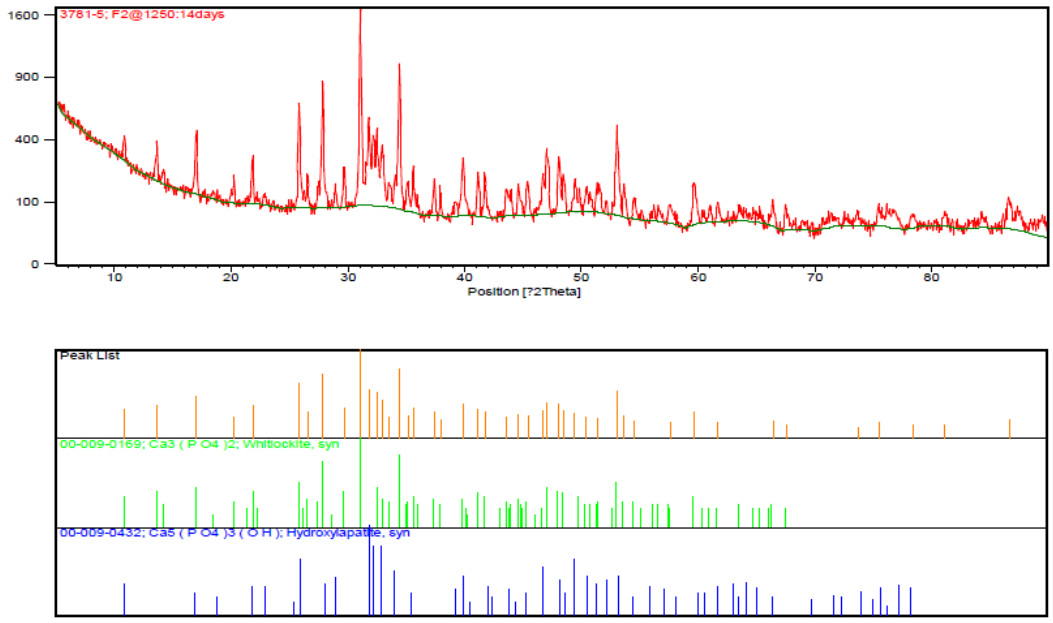
รูปที่ ก.12 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS



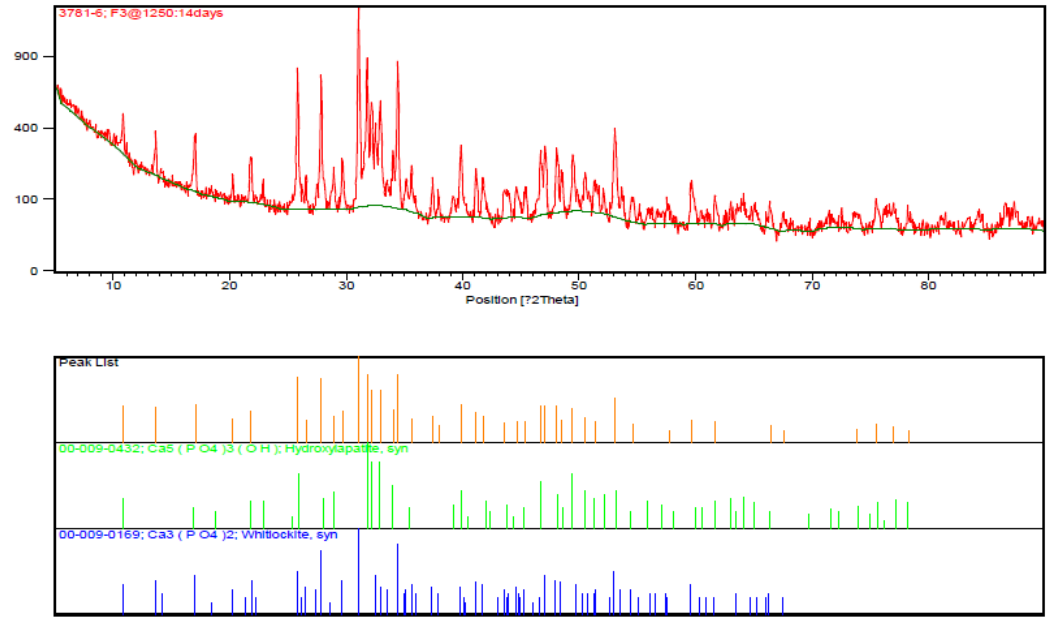
รูปที่ ก.13 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C ก่อนแช่ในสารละลาย PBS



รูปที่ ก.14 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน



รูปที่ ก.15 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F2 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน



รูปที่ ก.16 แพทเทิร์นการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C หลังแช่ในสารละลาย PBS เป็นเวลา 14 วัน

ภาคผนวก ข

ข้อมูลที่ได้จากการคำนวณ

1. การคำนวณปริมาณธาตุจากข้อมูลที่ได้จากการทดสอบ XRF

1.1 การคำนวณองค์ประกอบทางเคมีในวัสดุผสม

ตารางที่ ข.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม หลังผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 900˚C จากเทคนิค XRF

สูตรที่	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)						
	Ca	P	Si	Al	Sr	Mg	Fe
F1	43.6	16.9	0.0421	0.05	tr	tr	tr
F2	44.2	16.6	0.0787	tr	0.03	tr	tr
F3	43.2	17.1	0.15	tr	tr	tr	tr
F4	43.0	17.1	0.29	tr	tr	tr	tr

ตัวอย่างการคำนวณหาองค์ประกอบทางเคมี หน่วยเป็นโมล ของวัสดุผสมสูตร F1 โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ ข.1 แสดงดังนี้

จากสูตร จำนวนโมล = $\frac{\text{มวล}}{\text{มวลอะตอม}}$: มวลอะตอมของ Ca = 40.08 P = 30.97 และ Si = 28.09

จะได้

จำนวนโมลของ Ca = $\frac{43.6}{40.08}$ = 1.088 โมล

จำนวนโมลของ P = $\frac{16.9}{30.97}$ = 0.546 โมล

$$\text{จำนวนโมลของ Si} = \frac{0.04}{28.09} = 0.001 \text{ โมล}$$

องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสมสูตรอื่นๆ คำนวณเช่นเดียวกัน แสดงค่าดังตารางที่ 4.1

1.2 การคำนวณอัตราส่วนโดยโมลของแคลเซียมต่อฟอสเฟอรัส (Ca/P) และแคลเซียมต่อผลรวมของซิลิกอนและฟอสฟอรัส (Ca/(Si+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ

คำนวณอัตราส่วนของ Ca/P และ Ca/(Si+P) โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างการคำนวณของวัสดุผสมสูตร F1 ดังนี้

$$\text{อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P} = \frac{\text{จำนวนโมลของ Ca}}{\text{จำนวนโมลของ P}} = \frac{1.088}{0.546} = 1.993$$

$$\text{อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/(Si+P)} = \frac{\text{จำนวนโมลของ Ca}}{\text{จำนวนโมลของ P + จำนวนโมลของ Si}}$$

$$= \frac{1.088}{0.546 + 0.001}$$

$$= 1.988$$

อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P และ Ca/(Si+P) ของวัสดุผสมสูตรอื่นๆ คำนวณเช่นเดียวกัน แสดงค่าดังตารางที่ 4.2

1.3 การคำนวณอัตราส่วนโดยโมลซิลิกอนต่อผลรวมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (Si/(Ca+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ ทางทฤษฎีและจากการทดลอง

➢ **การคำนวณค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ทางทฤษฎี**

จากตารางที่ 3.1 ซึ่งแสดงอัตราส่วนของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วัสดุผสม ทำให้ได้ปริมาณของธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และซิลิกอน ดังตารางที่ ข.2

ตารางที่ ข.2 ปริมาณธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และซิลิกอน ในสารตั้งต้น

สูตร	ปริมาณ (โมล)		
	Ca	P	Si
F1 (CP:CS = 1:0.005 โมล)	3	2	0.005
F2 (CP:CS = 1:0.01 โมล)	3	2	0.01
F3 (CP:CS = 1:0.02 โมล)	3	2	0.02
F4 (CP:CS = 1:0.04 โมล)	3	2	0.04

คำนวณอัตราโดยโมลส่วนของ Si/(Ca+P) โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ ข.2 แสดงตัวอย่างการคำนวณของวัสดุผสมสูตร F1 ดังนี้

$$\text{อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/(Si+P)} = \frac{\text{จำนวนโมลของ Si}}{\text{จำนวนโมลของ Ca + จำนวนโมลของ P}}$$

$$= \frac{0.005}{3 + 2} = 0.0010$$

อัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ทางทฤษฎีของวัสดุผสมสูตรอื่นๆ คำนวณเช่นเดียวกัน แสดงค่าดังตารางที่ ข.3

➢ **การคำนวณค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ที่ได้จากการทดลอง โดยเทคนิค XRF**

คำนวณอัตราโดยโมลส่วนของ Si/(Ca+P) โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างการคำนวณของวัสดุผสมสูตร F1 ดังนี้

$$\text{อัตราส่วนโดยโมลของ Ca/(Si+P)} = \frac{\text{จำนวนโมลของ Si}}{\text{จำนวนโมลของ Ca + จำนวนโมลของ P}}$$

$$= \frac{0.001}{1.088 + 0.546} = 0.0009$$

อัตราส่วนโดยโมลของ Si/(Ca+P) ที่ได้จากการทดลองของวัสดุผสมสูตรอื่นๆ คำนวณเช่นเดียวกัน แสดงค่าดังตารางที่ ข.3

ตารางที่ ข.3 อัตราส่วนโดยโมลของซิลิกอนต่อผลรวมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (Si/(Ca+P)) ของวัสดุผสมสูตรต่างๆ ของค่าทางทฤษฎีและค่าที่ได้จากการทดลอง

Si/(Ca+P)	ค่าที่ได้จากการทดลอง	ค่าทางทฤษฎี
F1	0.0009	0.0010
F2	0.0017	0.0020
F3	0.0033	0.0040
F4	0.0064	0.0080

นำค่าในตารางที่ ข.3 ไปพล็อตกราฟ แสดงดังรูปที่ 4.1

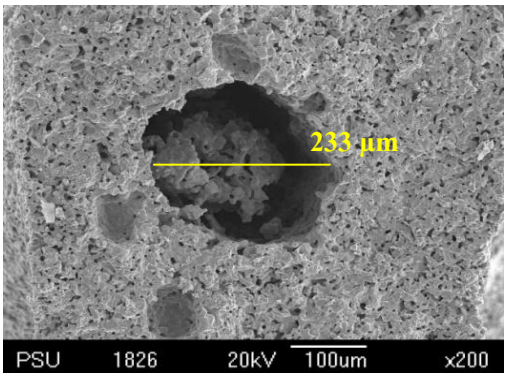
1.4 การคำนวณองค์ประกอบทางเคมีในโครงเลี้ยงเซลล์ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย PBS

ตารางที่ ข.4 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุผสม หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,250°C วิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRF

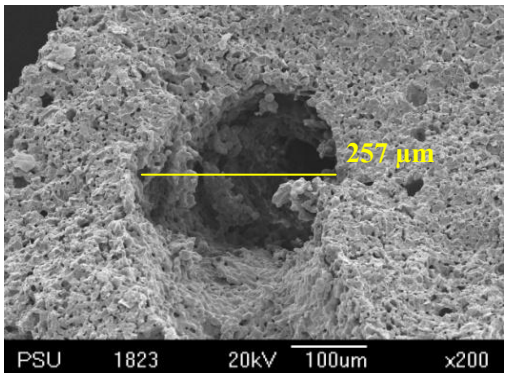
สูตร	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)							
	Ca	P	Si	Na	Mg	Cl	Sr	Zr
F1@1250 control	42.44	17.64	0.09	-	tr	-	tr	tr
F2@1250 control	42.64	17.53	0.08	-	tr	-	tr	tr
F3@1250 control	41.89	17.93	0.14	-	tr	-	tr	tr
F1@1250 14d	42.44	17.67	0.07	tr	tr	tr	tr	tr
F2@1250 14d	41.25	17.46	0.08	tr	tr	tr	tr	tr
F3@1250 14d	40.92	17.89	0.10	tr	tr	tr	tr	tr

ทำการหาจำนวนโมล และอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P ของโครงเลี้ยงเซลล์สูตรต่างๆ ดังหัวข้อ 1.1 และ 1.2 ในภาคผนวก ข ซึ่งแสดงค่าดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ

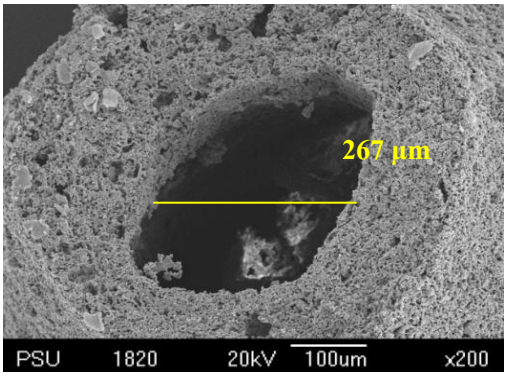
2. การหาขนาดรูพรุนขนาดใหญ่



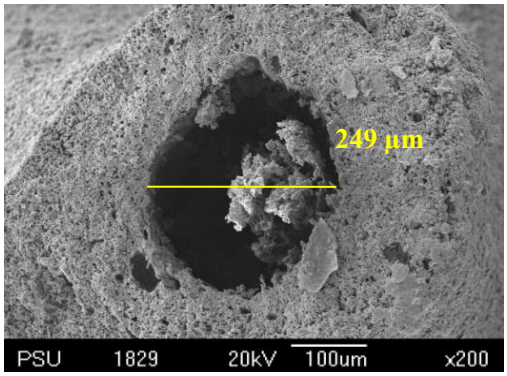
ก)



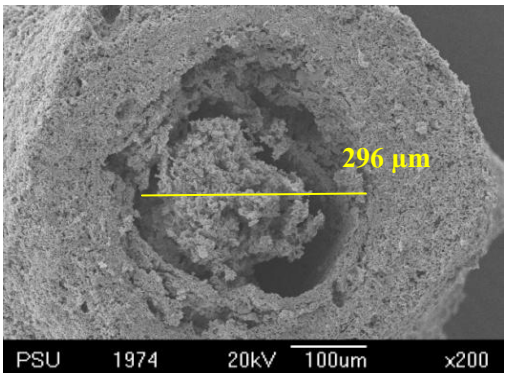
ง)



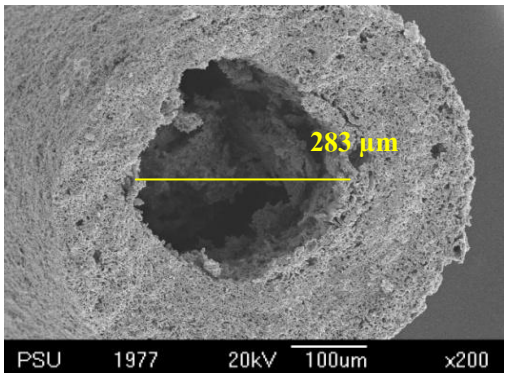
ข)



จ)



ค)



ฉ)

รูปที่ ข.1 ขนาดของรูพรุนขนาดใหญ่ของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1 (ก และ ง) F2 (ข และ จ) และ F3 (ค และ ฉ) หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 (ก ข และ ค) และ 1,250˚C (ง จ และ ฉ)

ตารางที่ ข.5 ขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมจากวัสดุผสมสูตร F1, F2 และ F3 หลังผ่านการซินเทอริ่งที่อุณหภูมิ 1,150 และ 1,250˚C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สูตร	อุณหภูมิในการซินเทอริ่ง (˚C)	ขนาดรูพรุน (μm)
F1	1,150	233
	1,250	259
F2	1,150	267
	1,250	249
F3	1,150	296
	1,250	283

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนิชา เทพศรี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5310120012

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีทางกระบวนการเคมีและฟิสิกส์)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2550

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา) -

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน -