การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ

นางสาวดุสิดา สหวัฒร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREPARATION OF CHITOSAN/HYDROXYAPATITE COMPOSITES VIA MEMBRANE DIFFUSION PROCESS

Miss Dusida Sahawat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Applied Polymer Science and Textile Technology
Department of Materials Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2007
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ
โดย	นางสาวดุสิดา สหาวัตร
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์เสาวรจน์ ช่วยจุลจิตร์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร.วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ)

.... กรรมการ
(รองศาตราจารย์ ดร.เข็มชัย เหมะจันทร)

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.สิริวรรณ กิตติเนาวรัตน์)

ดุสิดา สหาวัตร : การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ. (PREPARATION OF CHITOSAN/HYDROXYAPATITE COMPOSITES VIA MEMBRANE DIFFUSION PROCESS)
อ.ที่ปรึกษา: อ.ดร.วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ, 81 หน้า.

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ ในกระบวนการนี้ใช้แผ่นเยื่อชะลออัตราการแพร่ผ่านของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนไปยังสารละลายไคโตซานทำให้เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคโตซานแล้วนำสารละลายผสมที่ได้ไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม จากการทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ พบว่าเวลาในการแพร่ผ่าน 72 ชั่วโมงและความเข้มข้นสารละลายไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ ลักษณะสัณฐานวิทยาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบไฮดรอกซีอะพาไทต์มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนรูปเข็ม เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.2 โมลต่อลิตร และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.12 โมลต่อลิตร แต่จะพบการรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายทั้งสองสูงขึ้น จากเทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดพบพีกลักษณะเฉพาะของหมู่ฟอสเฟตและเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชันแสดง 2θ พีกของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ จากผลการทดลองนี้ ชี้ให้เห็นว่าสามารถสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคโตซานที่มีการกระจายตัวที่ดีได้ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออน ยังคงมีแคลเซียมไอออนหลงเหลืออยู่ภายในโมเลกุลไคโตซานหลังจากการก่อเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ และส่งผลให้เกิดคีเลชันระหว่างไคโตซานและแคลเซียมไอออนที่หลงเหลือได้

ภาควิชา วัสดุศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต ดุสิดา สหาวัตร

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ

ปีการศึกษา 2550

4872585523 : MAJOR APPLIED POLYMER SCIENCE AND TEXTILE TECHNOLOGY

KEY WORD: CHITOSAN / HYDROXYAPATITE / TISSUE ENGINEERING

DUSIDA SAHAWAT: PREPARATION OF CHITOSAN/HYDROXYAPATITE COMPOSITES VIA MEMBRANE DIFFUSION PROCESS.

THESIS ADVISOR: WANPEN TECHABOONYAKAIT, Ph.D., 81 pp.

This research studied the preparation of chitosan/hydroxyapatite composite via membrane diffusion process. In this process, membrane was used to slow down the diffusion rate of Ca^{2+}ions and PO_4^{3-}ions to chitosan solution, resulting in hydroxyapatite formation into chitosan solution. The obtained mixture solution was then cast to be film. To study the appropriate condition to prepare the chitosan/hydroxyapatite composites, diffusion time 72 hour and chitosan concentration 1.75 wt% were found to be the appropriate condition for membrane diffusion process. SEM observation showed cluster of needle-shaped of hydroxyapatite when using 0.2 M calcium chloride solution and 0.12 M disodium hydrogen phosphate solution, but showed the aggregation of hydroxyapatite when using higher concentration of both solutions. From ATR-FTIR showed specific peak of phosphate group. XRD showed 2θ peak of hydroxyapatite crystal. From these results indicated that hydroxyapatite can be synthesized into chitosan solution with good dispersion by membrane diffusion process. Due to some Ca^{2+}ions remaining inside chitosan molecule after hydroxyapatite formation when increasing Ca^{2+}ions and PO_4^{3-}ions concentration, resulting in the chelate formation between chitosan and the remaining Ca^{2+}ions.

Department Materials Science Student's signature...Dusida Sahawat...

Field of study Applied Polymer Science and Textile Technology Advisor's signature...Wanpen Techaboonyakiat...

Academic year 2007

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ได้อย่างสมบูรณ์นั้น เป็นเพราะได้รับคำแนะนำทางด้านวิชาการ ความเอื้อเฟื้อทางด้านเครื่องมือ วัตถุดิบ และสถานที่สำหรับการทำวิทยานิพนธ์ อีกทั้งได้รับความช่วยเหลือ และการแนะแนวในการทำวิทยานิพนธ์จากผู้ทรงคุณวุฒิในด้านต่างๆเป็นอย่างดี ข้าพเจ้าจึงใคร่ขอขอบพระคุณบุคคลและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีรายนามดังนี้

1. ดร.วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาในการแก้ไขปัญหา และแนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึงการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

2. รองศาสตราจารย์ เสาวรจน์ ช่วยจุลจิตร์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ต่อการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

3. รองศาสตราจารย์ ดร. เข็มชัย เหมะจันทร กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำและช่วยตรวจสอบการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

4. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิริวรรณ กิตติเนาวรัตน์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำ และช่วยตรวจสอบการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์

5. ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกระหว่างการทำงานวิจัย

6. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์สารต่างๆ

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี อีกทั้งอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า จนสามารถสร้างสรรค์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้เป็นผลสำเร็จตามที่มุ่งหวังไว้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ(ภาษาไทย).. ง

บทคัดย่อ(ภาษาอังกฤษ).. จ

กิตติกรรมประกาศ.. ฉ

สารบัญ.. ซ

สารบัญตาราง.. ฎ

สารบัญภาพ.. ฏ

บทที่

1. บทนำ.. 1

2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 4

2.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับไคตินและไคโตซาน.. 4

2.1.1 กระบวนการผลิตไคตินและไคโตซาน.. 5

2.1.2 ตัวอย่างการนำไคติน-ไคโตซานไปใช้งานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม.. 7

2.1.3 ข้อจำกัดในการนำไคโตซานไปใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก......... 10

2.2 ไฮดรอกซีอะพาไทต์.. 10

2.2.1 ความสามารถในการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์.. 11

2.2.2 การเตรียมไฮดรอกซีอะพาไทต์.. 12

2.2.3 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์.. 12

2.2.4 สารประกอบจำพวกแคลเซียมฟอสเฟตอื่นๆ.. 14

2.2.5 การประยุกต์ใช้งานของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในทางการแพทย์................. 15

2.3 วิศวกรรมเนื้อเยื่อ.. 16

2.4 วัสดุเชิงประกอบ.. 18

2.4.1 ความหมายของวัสดุเชิงประกอบ.. 18

2.4.2 ชนิดของวัสดุเชิงประกอบ.. 18

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการเตรียมวัสดุเชิงประกอบพอลิเมอร์และไฮดรอกซีอะพาไทต์.... 19

บทที่ หน้า

3. วิธีการทดลอง.. 24

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.. 24

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.. 25

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์.. 25

3.4 ขอบเขตของการทดลอง.. 26

3.5 วิธีการทดลอง... 27

3.5.1 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ.. 27

3.5.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์.. 28

3.6 การวิเคราะห์และทดสอบ.. 32

3.6.1 การวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์............... 32

3.6.1.1 การวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาลิซิส (Thermogravimetic Analysis, TGA)............................ 32

3.6.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ.. 32

3.6.2.1 วิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (Attenuated Total Reflection Fourier transform Infrared , ATR-FTIR)..... 33

3.6.2.2 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD).................. 34

3.6.2.3 วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM).......................... 35

3.6.2.4 วิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) พร้อมเครื่องวิเคราะห์ธาตุในโครงสร้างจุลภาคชนิดแจกแจงพลังงานรังสีเอกซ์ (Energy X-ray Dispersive Spectroscope, EDS)........ 35

บทที่ หน้า

3.6.2.5 การทดสอบอัตราการบวมตัวของวัสดุเชิงประกอบไคโตซาน และไฮดรอกซีอะพาไทต์ 36

4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง…………………………………………………….. 37

4.1 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ………………………………………………………………….…….. 38

4.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์………………………………………………………………………..…. 41

4.2.1 การศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์…………………………………………………. 41

4.2.2 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ……….. 44

4.2.3 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ………………………………………………………… 46

4.3 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (Attenuated Total Reflection Fourier transform Infrared, ATR-FTIR)………………………………………….……….. 53

4.4 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD)…………………………………………..……… 54

4.5 การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานภายนอกของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)…………..…. 55

4.6 การวิเคราะห์อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสเฟตของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) พร้อมเครื่องวิเคราะห์ธาตุในโครงสร้างจุลภาคชนิดแจกแจงพลังงานรังสีเอกซ์ (Energy X-ray Dispersive Spectroscope, EDS)……………………………….. 56

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ……………………………………………………….. 61

บทที่	หน้า
เอกสารอ้างอิง..	64
ภาคผนวก...	68
ภาคผนวก ก...	69
ภาคผนวก ข...	74
ภาคผนวก ค...	76
ภาคผนวก ง...	78
ภาคผนวก จ...	80
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์...	81

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 2.1	ลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยในไคติน ………....................................	4
ตารางที่ 2.2	แคลเซียมฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่มีอัตราส่วน Ca:P แตกต่างกัน……………	15
ตารางที่ 3.1	แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..	24
ตารางที่ 3.2	แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์..	25
ตารางที่ 3.3	แสดงอัตราส่วนโดยโมลระหว่างแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต...	31
ตารางที่ 3.4	พีก FTIR ของไคโตซาน…………………………………………….....	34
ตารางที่ 4.1	ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในบริเวณที่แตกต่างกัน ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน……………..	40
ตารางที่ 4.2	ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน.....................	43
ตารางที่ 4.3	ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลา 3 วัน..	45
ตารางที่ 4.4	อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 ที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแต่ละสูตร………………………………	47
ตารางที่ 4.5	ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 3 วัน……………	50
ตารางที่ 4.6	ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1 และ 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 3 วัน…………..	52
ตารางที่ 4.7	พีก FTIR ของไคโตซาน……………………………………………………	53
ตารางที่ 4.8	อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส……………………………………..	57
ตารางที่ 4.9	แคลเซียมที่หลงเหลือในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์………………………………………………………………….....	58

สารบัญรูป

รูปประกอบ		หน้า
รูปที่ 2.1	โครงสร้างทางเคมีของไคติน...	5
รูปที่ 2.2	โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	5
รูปที่ 2.3	การเตรียมไคตินและไคโตซาน..	6
รูปที่ 2.4	วัสดุปิดแผลจากไคโตซาน	8
รูปที่ 2.5	โครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์..	11
รูปที่ 2.6	แผนภาพการร่วมมือของนักวิจัยสาขาต่างๆ..	17
รูปที่ 2.7	การสังเคราะห์อะพาไทต์บนไฮโดรเจลด้วย Biomimetic Method................	19
รูปที่ 2.8	การสังเคราะห์ไฮดอรกซีอะพาไทต์ภายในไคโตซานไฮโดรเจลด้วยกระบวนการจุ่มสลับ	20
รูปที่ 2.9	การสังเคราะห์ไฮดอรกซีอะพาไทต์ภายในแผ่นเยื่อไคโตซานด้วยระบบ dual membrane diffusion	21
รูปที่ 2.10	กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบของไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธี *in situ* hybridization	23
รูปที่ 3.1	แผนผังขอบเขตการทดลอง	26
รูปที่ 3.2	สารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์แช่ในสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต...	28
รูปที่ 3.3	เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลเซอร์ ของ METTLER TOLEDO รุ่น TGA/SDTA 851	32
รูปที่ 3.4	เครื่องแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (ATR-FTIR) รุ่น Nicolet 6700	34
รูปที่ 3.5	เครื่องเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกโตรมิเตอร์..	35
รูปที่ 3.6	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น JEOL JSM-5800LV..............	36
รูปที่ 4.1	การผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคโตซาน............................	38
รูปที่ 4.2	การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยระบบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ...	39

รูปประกอบ หน้า

รูปที่ 4.3 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่กระจายตัวอยู่ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์จาก 3 บริเวณของชิ้นตัวอย่าง ซึ่งแต่ละชิ้นตัวอย่างได้จากการใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออนที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน 40

รูปที่ 4.4 วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ณ เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน.. 42

รูปที่ 4.5 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลาต่างๆ.. 43

รูปที่ 4.6 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการให้อิออนแพร่ผ่านแผ่นเยื่อเป็นเวลา 3 วัน 45

รูปที่ 4.7 กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ.. 46

รูปที่ 4.8 กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตสูง.. 48

รูปที่ 4.9 วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์ม ความเข้มข้นไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 3 วัน.. 49

รูปที่ 4.10 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 3 วัน.. 51

รูปที่ 4.11 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1 และ 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 72 ชั่วโมง.. 52

รูปที่ 4.12 FTIR ของไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 แตกต่างกัน.. 54

รูปที่ 4.13 XRD ดิฟแฟรกโทแกรมของไคโตซานเปรียบเทียบกับของวัสดุเชิงประกอบที่มีความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4.. 55

รูปประกอบ		หน้า
รูปที่ 4.14	SEM ของไคโตซาน และวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 แตกต่างกัน ……………………….....	56
รูปที่ 4.14	การเกิดคีเลชันระหว่างไคโตซานและแคลเซียมไอออน................................. .	59

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ปัญหาและที่มาของงานวิจัย

กระดูกของมนุษย์หรือสัตว์เมื่อแตกหักแล้วจะใช้เวลานานในการรักษาให้กระดูกใหม่เจริญเติบโตขึ้นมาแทนกระดูกที่แตกหักไป การซ่อมแซมกระดูกและการสร้างกระดูกใหม่เป็นปัญหาที่ค่อนข้างซับซ้อนในการทำศัลยกรรมกระดูก ในทุกๆปีประชากรหลายล้านคนเป็นโรคเกี่ยวกับกระดูกมากขึ้น และเป็นเหตุให้เกิดการเสียชีวิตเนื่องจากวัสดุที่ใช้ทดแทนกระดูกมีไม่เพียงพอ ในต่างประเทศวัสดุทดแทนกระดูกได้ถูกจัดว่าเป็นวัสดุปลูกถ่ายที่สำคัญรองจากการให้เลือดและผลิตภัณฑ์จากเลือด การรักษาโดยใช้วัสดุทดแทนกระดูกประกอบด้วยวัสดุปลูกถ่ายจากตัวผู้ป่วยเอง (autograft) วัสดุปลูกถ่ายจากผู้อื่น (allograft) และวัสดุเลียนแบบชีวภาพ (biomimetic materials) [1] ความรู้ความก้าวหน้าทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) มีส่วนเข้ามาพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูก ดังนั้น จึงมีการนำเทคโนโลยีทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อโดยการปลูกถ่ายวัสดุทดแทนกระดูกไปยังบริเวณกระดูกที่เสียหายเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกภายในร่างกาย วัสดุทดแทนกระดูกที่ดีควรมีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ยึดเกาะและกระตุ้นการเจริญเติบโตของกระดูกได้ดี มีงานวิจัยที่เน้นถึงการนำโลหะไทเทเนียมมาช่วยยึดเกาะกระดูกบริเวณที่หัก [2] เนื่องจากโลหะไทเทเนียมมีความแข็งแรงสูง แต่มีข้อเสียหลายประการ คือ โลหะไทเทเนียมมีน้ำหนักมาก อาจเกิดการระคายเคืองบริเวณที่สัมผัสระหว่างเนื้อเยื่อกระดูกของคนไข้กับโลหะทำให้เกิดแผลเรื้อรังหรือติดเชื้อ นอกจากนี้ เมื่อกระดูกเชื่อมต่อกันเป็นปกติแล้ว จำเป็นต้องผ่าตัดเป็นครั้งที่สองเพื่อที่จะนำโลหะออกนอกร่างกายซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้ออีกเช่นกัน

กระดูกในธรรมชาติประกอบด้วยคอลลาเจน โปรตีนชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่คอลลาเจน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมคาร์บอเนต โดยมีอัตราส่วนระหว่างสารอินทรีย์และอนินทรีย์คือ 30:70 [3] มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเป็นผลึก ดังนั้นในวัสดุทดแทนกระดูกจึงควรมีส่วนประกอบของสารอินทรีย์ที่คล้ายคลึงกับส่วนประกอบในเนื้อเยื่อและสารอนินทรีย์ที่คล้ายคลึงกับส่วนแร่ธาตุที่มีอยู่ในกระดูกจริง และสามารถเตรียมให้มีอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ได้ โดยมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เซลล์มายึดเกาะได้ดี และสามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกได้ นอกจากนี้ต้องมีความสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพและไม่เป็นพิษ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการนำไคโตซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สามารถเข้ากันได้ดีกับระบบทางชีวภาพมาเป็นโครงสร้างพื้นฐานในการพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูก ซึ่งไคโตซานนอกจากจะไม่เป็นพิษต่อร่างกายแล้ว ยังมีความสามารถในการย่อยสลายได้ พอลิเมอร์ย่อยสลายได้มีข้อดีเหนือกว่าโลหะ คือ จะช่วยผ่อนแรงที่กดทับวัสดุไปยังบริเวณเนื้อเยื่อรอบข้างขณะที่พอลิเมอร์ค่อย ๆ ย่อยสลายไป ทำให้เนื้อเยื่อฟื้นสภาพเร็วและมีความแข็งแรงดีขึ้น นอกจากนี้ไคโตซานแสดงความเป็นประจุบวกอ่อน ๆ จึงสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ยึดเกาะได้ดี เนื่องจากผนังเซลล์ทั่วไปมีประจุลบอ่อน ๆ แต่การนำไคโตซานมาใช้เพียงอย่างเดียวยังมีสมบัติไม่เพียงพอในการผลิตวัสดุทดแทนกระดูก เนื่องจากไคโตซานมีความสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกจากเซลล์กระดูกรอบข้างค่อนข้างต่ำ จึงได้มีการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ เพื่อปรับปรุงความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกในวัสดุทดแทนกระดูกให้สูงขึ้นเหมาะสมต่อการใช้งาน ซึ่งไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นสารประกอบทางเคมีที่พบมากในกระดูกและฟัน มีความสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี และสามารถที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกได้ดี ทำให้ระยะเวลาในการรักษาลดลง งานวิจัยนี้จึงเสนอการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ (membrane diffusion process) โดยใช้แผ่นเยื่อเป็นตัวชะลอการแพร่ของไอออนที่ใช้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งได้แก่ แคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนผ่านไปยังสารละลายไคโตซาน ทำให้สามารถสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในสารละลายไคโตซานได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อได้

2. หาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ให้มีอัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ใกล้เคียงกับอัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ของกระดูกธรรมชาติ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีสัดส่วนระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ใกล้เคียงกับกระดูกจริง

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ และหาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ให้ได้ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่มีอยู่ในกระดูกทั่วไป เพื่อสามารถประยุกต์เป็นวัสดุทดแทนกระดูก

2. วิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

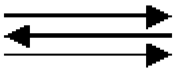
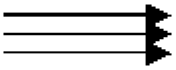
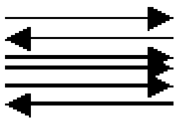
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

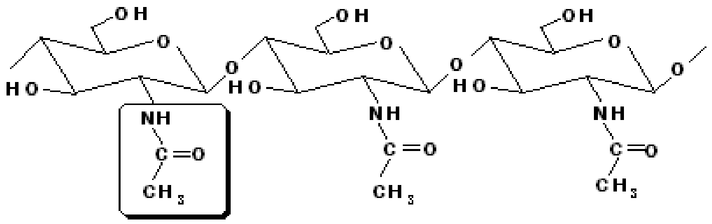
2.1 **ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับไคตินและไคโตซาน** [4]

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มีมากเป็นอันดับสองรองมาจากเซลลูโลส สามารถพบได้ในเปลือกแข็งของสัตว์ทะเลจำพวกกุ้ง ปู แกนหมึก แมลง ตัวไหมและหอยมุก นอกจากนี้ยังพบในผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางพันธุ์ ไคตินเป็นพอลิเมอร์เส้นตรงที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายเซลลูโลส ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose ดังรูปที่ 2.1 ในธรรมชาติจะพบไคตินในรูปของเส้นใยแทรกตัวอยู่ในเมทริกซ์ของโปรตีน และปะปนร่วมกับแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่ง มีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกันโดยแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยได้ 3 กลุ่ม ดังตารางที่ 2.1

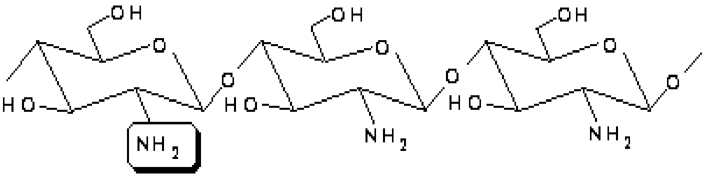
ตารางที่ 2.1 ลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยในไคติน [5]

แบบอัลฟา 	มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู
แบบเบตา 	มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน จึงจับกันได้ไม่ค่อยแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนปลาหมึก
แบบแกมมา 	มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (สวนทางกันสลับทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ

ไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการทำปฏิกิริยาอัลคาไลน์ไฮโดรไลซิสกำจัดหมู่อะซิติลของไคตินบางส่วน หรือที่เรียกว่าปฏิกิริยา deacetylation โดยแช่สารละลายไคตินในสารละลายด่างเข้มข้นทำให้เปลี่ยนหมู่อะซิทามิโด (-$NHCONH_3$) ของไคตินไปเป็นหมู่อะมิโน (-NH_2) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังนั้นไคโตซานประกอบด้วย glucosamine และ *N*-acetylglucosamine เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic หน่วยย่อยของไคโตซาน คือ 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคติน [5]



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน [5]

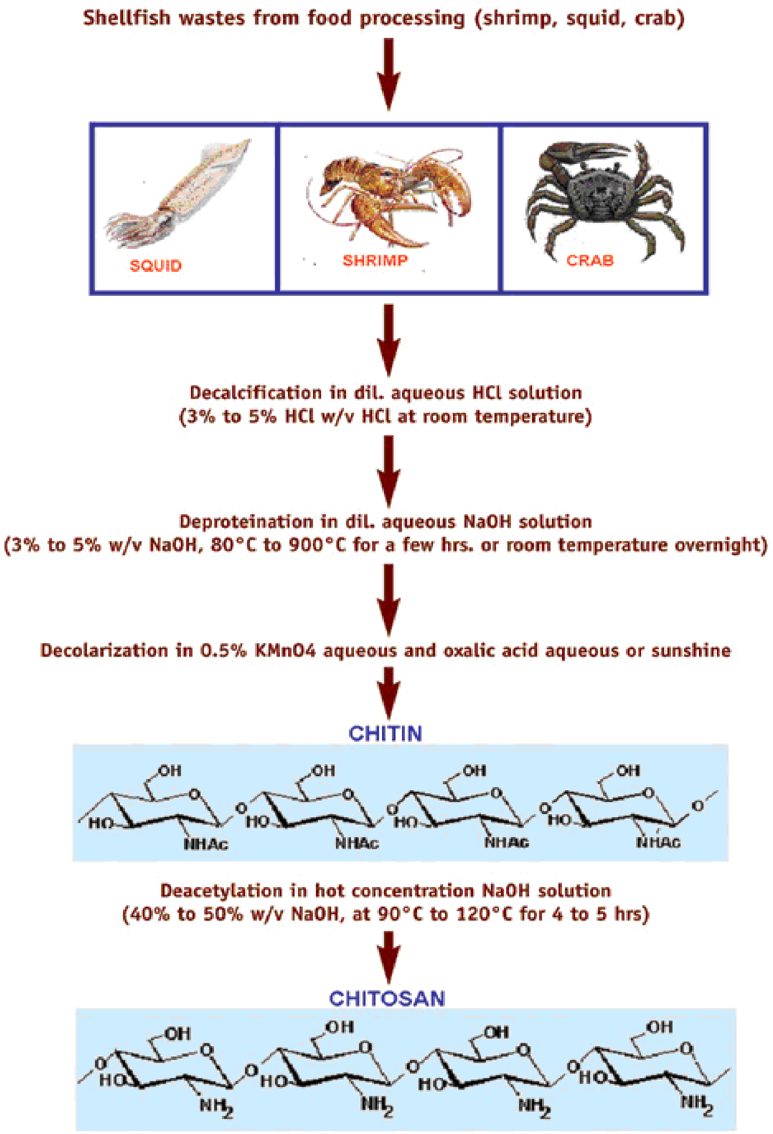
2.1.1 **กระบวนการผลิตไคตินและไคโตซาน** [4]

เนื่องจากในธรรมชาติจะพบไคตินอยู่ในรูปของเส้นใยแทรกตัวอยู่ในเมทริกซ์ของโปรตีนและปะปนอยู่ร่วมกับแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต ดังนั้นการสกัดไคตินออกจากเปลือกกุ้งหรือปูต้องผ่าน 2 กระบวนการ คือ การกำจัดแร่ธาตุที่ปนอยู่ออกก่อน (demineralization) ด้วยกรดเกลือเจือจาง (dilute mineral acid) และการละลายโปรตีนออก (deproteinization) ออก ด้วยเบสเจือจาง (dilute alkali) พร้อมกับให้ความร้อน ส่วนการผลิต ไคโตซานจะเพิ่มอีก 1 กระบวนการหลังจากที่สกัดไคตินออกมาแล้ว คือ alkali hydrolysis ของ ไคตินด้วยเบสเข้มข้น (concentrated alkali) พร้อมกับให้ความร้อน หรือที่เรียกว่า กระบวนการกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation)

การผลิตไคตินและไคโตซานประกอบด้วยหลักการที่สำคัญ 3 ขั้นตอน คือ

1. การกำจัดเกลือแร่ (demineralization)
2. การกำจัดโปรตีน (deproteination)
3. การกำจัดหรือลดหมู่อะซิติล (deacetylation)

โดยทั้ง 3 ขั้นตอนนี้สามารถทำได้โดยกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การเตรียมไคตินและไคโตซาน [6]

ไคติน-ไคโตซาน ในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของโคโพลิเมอร์ที่อยู่ร่วมกัน มีการกระจายตัวแบบสุ่ม (random copolymer) กระบวนการเปลี่ยนไคตินไปเป็นไคโตซานถ้าทำในสภาวะที่รุนแรงเกินไปสามารถทำลาย β-1,4-linkage ได้ ทำให้น้ำหนักโมเลกุลเล็กลง ดังนั้นจึงไม่สามารถที่จะเตรียมไคโตซานโฮโมพอลิเมอร์ได้จากขบวนการ alkali hydrolysis ของไคติน

ปัจจัยสำคัญในการแบ่งประเภทว่าเป็นไคตินหรือไคโตซาน คือ degree of N-acetylation (DA) หรือ degree of deacetylation (DD) ซึ่งบ่งบอกถึงอัตราส่วนของ N-acetylglucosamine residue ต่อ glucosamine residue ในโครงสร้างของไคติน-ไคโตซาน โคพอลิเมอร์ โดยค่า DA สูงจะบ่งบอกถึงสัดส่วนของไคตินมาก ไคโตซานน้อย ในขณะที่ค่า DD สูงจะบ่งบอกถึงสัดส่วนไคโตซานมาก ไคตินน้อย จึงนิยมเรียกโคพอลิเมอร์ที่มี DA สูง หรือ DD ต่ำ ว่าไคติน และในทางกลับกัน โคพอลิเมอร์ที่มี DA ต่ำหรือ DD สูง ว่าไคโตซาน ค่า DA หรือ DD มีผลต่อสมบัติการละลาย (solubility) ของไคตินและไคโตซานอย่างมาก ไคตินและไคโตซานไม่มีจุดหลอมเหลวจะสลายตัวไปก่อน (decompose) โดยไม่เกิดการหลอมเหลว การทำให้เป็นของเหลวทำได้วิธีเดียว คือ การละลาย

ไคตินและไคโตซานมีสมบัติพื้นฐานที่เข้ากับธรรมชาติได้ดี ย่อยสลายง่าย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งไคโตซาน มีหมู่อะมิโนที่แสดงสมบัติพิเศษหลายประการที่ต่างจากเซลลูโลส เช่น การละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง การจับกับไอออนของโลหะได้ดี และการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ไคโตซานยังมีสมบัติสำคัญอีกหลายประการ เช่น เป็นวัสดุที่สามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพกับสิ่งมีชีวิต (biocompatible) สามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ เช่น เจล [7] เม็ด [8] เส้นใย [9] เมมเบรน [10] เป็นต้น ไม่เป็นพิษ และมีประจุบวกอ่อนๆทำให้เซลล์ยึดเกาะได้ดี จึงมีการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในหลายๆด้าน เช่น ในอุตสาหกรรมยาเป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยยาให้ถูกปลดปล่อยออกมาช้าๆ และใช้เป็นตัวนำส่งยา (drug carrier) ในอุตสาหกรรมเกษตรใช้เคลือบผลไม้เพื่อชะลอการสุก ใช้ผสมเครื่องสำอางเพื่อให้มีความหนืด ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารควบคุมน้ำหนักในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เป็นตัวสร้างตะกอน (flocculant) ในการบำบัดน้ำเสีย ในทางการแพทย์ใช้ทำเป็นแผ่นปิดแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวก ใช้ทำแผ่นเยื่อเลือกผ่านเป็นต้น

2.1.2 ตัวอย่างการนำไคติน-ไคโตซานไปใช้งานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม [11]

ไคตินและไคโตซานเป็นสารธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและเซลล์ของร่างกายสามารถรับประทานได้ และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติโดยไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จึงมีงานวิจัยจำนวนมากที่ให้ความสนใจกับการนำสารไคติน-ไคโตซานมาประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรมดังตัวอย่างต่อไปนี้

<u>วัสดุปิดบาดแผล (wound dressing)</u>

บาดแผล (wound) ซึ่งอาจเกิดจากการผ่าตัด หรือได้รับบาดเจ็บ หรือแผลไฟไหม้ ซึ่งแผลเหล่านี้ต้องการผ้าปิดแผล (dressing) เพื่อป้องกันการติดเชื้อและช่วยเยียวยาให้แผลหายเป็นปกติเร็วขึ้น ผ้าปิดแผลที่ดีควรที่จะช่วยปกป้องแผลจากสิ่งแปลกปลอมที่ทำลายเนื้อเยื่อ พร้อมทั้งช่วยลดความเจ็บปวด และสามารถดูดซึมของเหลวที่ไหลออกจากบริเวณแผล (exudates) และสามารถห้ามเลือดได้

ไคตินและไคโตซานที่นำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลนั้นอาจเป็นได้ทั้งในรูปของแผ่นเยื่อบาง (membrane) แผ่นคล้ายฟองน้ำ (sponge) หรือผสมร่วมกับผ้าฝ้าย หรือใช้เป็นผงละเอียด โดยจะมีผลกระตุ้นการสร้างเซลล์ใหม่ และป้องกันการติดเชื้อ จึงช่วยทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น [11] ตัวอย่างเช่น การศึกษาการเตรียมแผ่นเยื่อไคโตซานแบบไม่สมมาตร[12] ในลักษณะเป็นรูพรุนขนาดใหญ่คล้ายฟองน้ำ และมีชั้นบนสุดเป็นชั้นผิวที่มีเนื้อแน่น (dense skin surface) จากการทดสอบพบว่า ออกซิเจนสามารถซึมผ่านแผ่นเยื่อได้ดี ช่วยควบคุมการสูญเสียน้ำ และช่วยป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ได้ ปัจจุบันวัสดุปิดแผลหรือผิวหนังเทียมที่ผลิตจากไคตินหรือไคโตซานเพื่อใช้งานด้านการแพทย์ทั้งในมนุษย์และสัตว์มีการผลิตในเชิงพาณิชย์ออกจำหน่ายแล้ว [13] รูปที่ 2.4 วัสดุปิดแผลที่ผลิตจากไคโตซานของบริษัท Shanghai xindong medical material Co.,Ltd

รูปที่ 2.4 วัสดุปิดแผลจากไคโตซาน [13]

<u>ระบบนำส่งยา (drug delivery system)</u>

การเตรียมแผ่นเยื่อไคโตซาน (chitosan membrane) เพื่อใช้ในการปลดปล่อยยา โดยทำการแก้ปัญหาการบวมตัวจากการดูดซับน้ำที่รวดเร็วของไคโตซานโดยใช้วิธีดัดแปรโครงสร้างด้วยอัลคิลเฮไลด์ที่มีขนาดสายโซ่ต่างๆ กัน และใช้กลูโคสไดแอลดีไฮด์ (glucose dialdehyde) เป็นสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) แทนการใช้ glutaraldehyde ที่มีความเป็นพิษ [14] จากการทดลองใช้แผ่นเยื่อไคโตซานดังกล่าวในการศึกษาอัตราการปลดปล่อยยา ซึ่งใช้วิตามินบี 2 เป็นโมเดลยา พบว่า การซึมผ่านและการแพร่ของยาลดลงเมื่อ pH สูงขึ้น และเมื่อสายโซ่อัลคิลที่ต่อเติมบนโครงสร้างของไคโตซานยาวขึ้น อนุพันธ์ของไคโตซานจะแสดงสมบัติ hydrophobicity เพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้อัตราการซึมผ่านและการแพร่ลดลง

<u>สารป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของเลือด (blood anticoagulant) และสารห้ามเลือด (hemostatic)</u>

ไคโตซานมีสมบัติในการห้ามเลือด [15] แต่เนื่องจากไคโตซานนั้นเป็นวัสดุที่ไม่ละลายน้ำ จึงต้องทำให้อยู่ในรูป "คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน" ซึ่งเป็นอนุพันธ์หนึ่งของไคโตซานที่ละลายน้ำได้ ทั้งนี้หลังจากได้คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานซึ่งขึ้นรูปเป็นแผ่นปิดแผลแล้ว จะนำไปผ่านการให้ความร้อนโดยการอบไอน้ำ คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานที่ละลายน้ำก็จะเปลี่ยนไปเป็นอุ้มน้ำแทน ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวทำให้แผ่นปิดแผลช่วยดูดซับน้ำเลือด น้ำหนองจากบาดแผลได้ อีกทั้งคุณสมบัติของไคติน-ไคโตซานยังช่วยยับยั้งเชื้อและสมานแผลด้วย

<u>วัสดุทดแทนกระดูก (bone substitute)</u>

จากงานวิจัยที่ผ่านมามีการรวมพอลิเมอร์เข้ากับไฮดรอกซีอะพาไทต์ เนื่องจากไฮดรอกซีอะพาไทต์มีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูก จึงได้มีการเตรียม hydroxyapatite (HA)-chitin [16] เพื่อใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก โดยดัดแปรไคตินด้วยไฮดรอกซีอะพาไทต์เพื่อเป็นวัสดุทดแทนกระดูกบริเวณ hard tissue ที่มีประสิทธิภาพ โดยผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคติน และเปลี่ยนแปลงปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ 10-50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จากการทดสอบสมบัติเชิงกลพบว่า เมื่อเติมไฮดรอกซีอะพาไทต์ในปริมาณสูงจะมีผลทำให้วัสดุมี maximum tensile stress ลดลง แต่ยังคงแสดงสมบัติความเป็นพลาสติกอยู่ มีรายงานถึงการใช้ phosphoryl chitosan (P-chitosan) ร่วมกับ calcium phosphate cement (monocalcium phosphate และ calcium oxide) [17] เพื่อผลิตวัสดุทดแทนกระดูกที่แข็งตัวได้รวดเร็ว พบว่าเมื่อเติม P-chitosan ทำให้ calcium phosphate cement มีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น นอกจากนี้มีการเตรียม HA-chitosan microspheres [18] เพื่อใช้เป็น filling ในกระดูกและฟัน โดยใช้วิธีผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์กับสารละลายไคโตซานตามด้วยน้ำมันพาราฟิน (paraffin oil) เฮกเซน (hexane) และ

สารลดแรงตึงผิวแล้วทำการเชื่อมขวางด้วย glutaraldehyde ซึ่งพบว่า สามารถเตรียม microspheres ที่มีขนาดในช่วง 125-1,000 ไมครอน

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ(tissue engineering)

งานวิจัยที่ผ่านมาศึกษาการเตรียมไคตินเมทริกซ์ที่มีรูพรุน (porous chitin matrixes) [19] โดยเริ่มจากการเตรียมไคตินเจล จากสารละลายไคติน ที่ละลายในระบบตัวทำละลาย 5% *N, N*-dimethylacetamide (DMAc)/lithium chloride (LiCl) แล้วทำแห้ง ณ จุดเยือกแข็ง (lyophilization) ทำให้เกิดเป็นไคตินเมทริกซ์ที่มีรูพรุน พบว่า รูพรุนที่เกิดขึ้นมีขนาดอยู่ในช่วง 100-500 ไมครอน และเมื่อทดลองกับ fibroblast cell ของหนูและมนุษย์พบว่า เซลล์เหล่านี้สามารถเจริญเติบโตปกคลุมรูพรุนได้ นอกจากนี้ยังมีการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างไคโตซานและแคลเซียมฟอสเฟตที่มีรูพรุนขนาดใหญ่ทำหน้าที่เป็นโครงเลี้ยงเซลล์ (macroporous chitosan/calcium phosphate scaffold) [20] โดยไคโตซานทำหน้าที่เป็นโครงเลี้ยงเซลล์เพื่อเหนี่ยวนำให้เซลล์มายึดเกาะ ในขณะที่แคลเซียมฟอสเฟตซึ่งเป็นสารว่องไวทางชีวภาพ (bioactive agent) จะช่วยเสริมการเกาะติดของเซลล์กระดูก (osteoblast) และเพิ่มความแข็งแรงให้แก่โครงเลี้ยงเซลล์

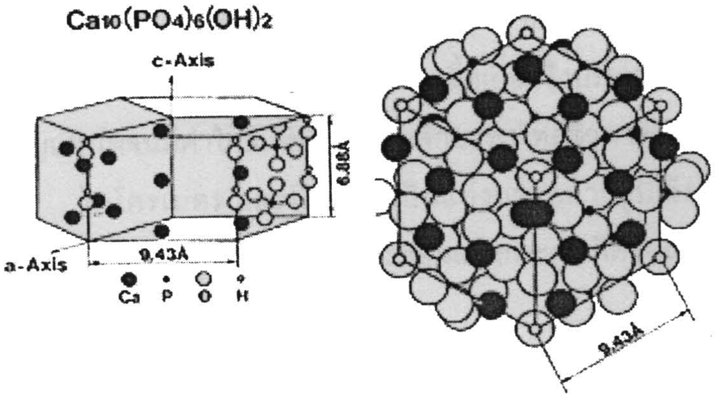
2.1.3 ข้อจำกัดในการนำไคโตซานไปใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก

เนื่องจากไคโตซานมีประจุบวกอ่อนๆ สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มายึดเกาะได้ดีแต่มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุให้เซลล์ที่มายึดเกาะเกิดการเจริญเติบโตได้ช้า ดังนั้นการแก้ปัญหา คือ การเติมสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูก ซึ่งได้แก่ ไฮดรอกซีอะพาไทต์

2.2 ไฮดรอกซีอะพาไทต์ [21]

ไฮดรอกซีอะพาไทต์, ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) เป็นสารประกอบระหว่างธาตุแคลเซียมและฟอสเฟต มีอัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P เป็น 1.67:1 ไฮดรอกซีอะพาไทต์มีรูปผลึกเป็นเฮกซะโกนอล (Hexagonal) ขนาดหน่วยเซลล์ (Unit cell) a=9.43 Å c=6.88 Å และ b=120° ดังรูปที่ 2.5 โดยมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ที่บริเวณมุมที่ฐานรอมบิค (Rhombic) ของหน่วยเซลล์ ซึ่งมีการจัดเรียงตัวเป็นคอลัมน์ในที่ว่าง ซึ่งมีความสูงเป็นครึ่งหนึ่งของความสูงหน่วยเซลล์ คอลัมน์ของหมู่ไฮดรอกซิลจะถูกล้อมรอบด้วยแคลเซียมไอออน 6 ไอออน ที่จัดเรียงตัวในลักษณะสามเหลี่ยมด้านเท่า 2 รูป ตั้งฉากกับคอลัมน์ของไฮดรอกซิล โดยมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นศูนย์กลางแคลเซียมไอออนอีก 4 ไอออนที่เหลือ

จะเรียงต่อกันเป็นคอลัมน์ 2 คอลัมน์ระหว่างสามเหลี่ยมด้านเท่าของแคลเซียมไอออนขนานกับคอลัมน์ของไฮดรอกซิล แคลเซียมไอออนเหล่านี้จะถูกล้อมรอบด้วยออกซิเจนของออโทฟอสเฟตเตตระฮีดรอน (Ortho phosphate tetrahedral) โดยออกซิเจนของไฮดรอกซิล (Hydroxyl oxygen) จะอยู่ห่างจากระนาบของสามเหลี่ยมไฮดรอกซิลประมาณ 0.3 Å



รูปที่ 2.5 โครงสร้างผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์

2.2.1 **ความสามารถในการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์** [21]

ไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถละลายได้ในกรด และละลายได้เล็กน้อยในน้ำกลั่น แต่ไม่สามารถละลายได้ในอัลคาไลน์ โดยมีค่าการละลายในน้ำกลั่น (pKs) ประมาณ 120

$$pKs = -\log([Ca]^{10}[PO_4]^{6}[OH]_2) \cong 120$$

ความสามารถในการละลายในน้ำกลั่นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารอิเล็กโตรไลต์ (electrolyte) แต่ความสามารถในการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์จะเปลี่ยนแปลงเมื่อมีกรดอะมิโน โปรตีน เอนไซม์และสารเคมีอื่นๆ สมบัติด้านการละลายนี้สัมพันธ์กับความสัมพันธ์ในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ และปฏิกิริยาเคมีกับสารประกอบอื่นๆ อย่างไรก็ตาม อัตราของการละลายยังขึ้นอยู่กับความแตกต่างของรูปร่าง ความพรุน ขนาดผลึก และการเสียรูปเนื่องจากความเครียด (strain defects) เมื่อนำไฮดรอกซีอะพาไทต์ไปเผาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ความสามารถในการละลายลดลง สำหรับเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะมีอัตราการละลายเป็น 0.1 มิลลิเมตรต่อปี โดยที่ไฮดรอกซีอะพาไทต์จะเกิดปฏิกิริยาเคมีกับโปรตีน ไขมัน สารอนินทรีย์อื่นๆ และแร่ธาตุอินทรีย์ได้

ไฮดรอกซีอะพาไทต์พบได้ในรูปแร่ผลึกตามธรรมชาติ และพบภายในร่างกาย เช่น ใน extracellular matrix กระดูกและฟัน ในปัจจุบันเราสามารถสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีก็ได้ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีลักษณะเฉพาะแตกต่างกันไป คุณสมบัติหลักของไฮดรอกซีอะพาไทต์ คือเป็นผลึก มีรูพรุน เปราะแตกง่าย และสามารถเข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatible) ซึ่งคุณสมบัติหลังนี้ จึงมีการนำไฮดรอกซีอะพาไทต์ มาใช้ในวงการแพทย์หลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นการใช้เป็นสารบรรจุแทนกระดูก (bone fillers) [22] หรือการใช้เคลือบโลหะสำหรับ

ปลูกแทนกระดูก [23] เป็นต้น นอกจากในทางการแพทย์แล้ว ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ยังถูกนำมาใช้ในการวิจัยพื้นฐานทางชีววิทยา เช่น ในงานวิจัย สเต็มเซลล์ (Stem cell) ใช้เป็นวัสดุให้เซลล์ยึดเกาะและเจริญเติบโต [24]

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ เป็นแร่ธาตุที่พบมากในกระดูกและฟัน ในความเป็นจริงองค์ประกอบของไฮดรอกซีอะพาไทต์ของกระดูกจะแตกต่างกันเล็กน้อยตามอายุ สปีชี่ส์ของสิ่งมีชีวิต (Species) และส่วนของอวัยวะ เป็นต้น อัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P ในเนื้อเยื่อแข็งประเภทกระดูกและฟันจะเพิ่มขึ้นตามอัตราการเจริญเติบโตจนมีค่าใกล้เคียง 1.67 ผลึกอะพาไทต์ชีวภาพจะมีขนาดเล็กมากโดยมีขนาดเล็กกว่า 0.2 ไมโครเมตร และมีรูปร่างเป็นแท่งยาวคล้ายรูปเข็ม (Needle-like) เนื่องจากอะพาไทต์มีผลึกขนาดเล็กจึงช่วยให้การสร้างและซ่อมแซมกระดูกเกิดขึ้นได้เร็ว

2.2.2 **การเตรียมไฮดรอกซีอะพาไทต์** [25]

การเตรียมไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถเตรียมได้จาก3 แหล่ง คือ

1. การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์จากกระบวนการทางเคมี เช่น ปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมไนไตรทและแอมโมเนียมฟอสเฟต เป็นต้น
2. การสกัดแคลเซียมคาร์บอเนตจากปะการัง โดยนำมาผ่านกระบวนการเปลี่ยนเป็นสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ แต่ปะการังมีปริมาณน้อย และมีปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมจึงไม่นิยมนำมาใช้
3. การสกัดไฮดรอกซีอะพาไทต์จากกระดูกสัตว์ เช่น โค กระบือ ช้าง ปลา สุกร รวมทั้งจากมนุษย์ โดยนิยมใช้กระดูกโคและกระบือมากกว่า เนื่องจากมีปริมาณมากและเป็นสัตว์ที่มนุษย์ใช้ประโยชน์อยู่แล้ว ทั้งใช้ในการบริโภคและใช้แรงงาน

2.2.3 **การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์** [26]

วิธีการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่

- วิธีตกตะกอนทางเคมี (Precipitation method)
- วิธีปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis method)
- วิธีปฏิกิริยาสภาวะของแข็ง (Solid-state reaction method)
- วิธีไฮโดรเทอร์มัล (Hydrothermal method)
- วิธีอัลคอกไซด์ (Alkoxide method)

1. วิธีตกตะกอนทางเคมี (Precipitation method)

การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ โดยวิธีการตกตะกอนโดยทั่วไปจะเป็นไปตามวิธีของ Rathje [27] และ Hayek กับ Newesly [28] วิธีของ Rathje จะเป็นการเติมกรดฟอสฟอริกลงในสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ปั่นกวนอยู่ ดังสมการ

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

ส่วนวิธีของ Hayek กับ Neweslyได้มีการปรับปรุงวิธีการตกตะกอน โดยการทำให้ปฏิกิริยามีความเป็นเบสสูง เพื่อให้เกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ดีด้วยการเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร่วมด้วย

$$10Ca(NO_3)_2 + 6(NH_4)_2HPO_4 + 2NH_4OH \longrightarrow 2Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 20NH_4NO_3$$

วิธีนี้จะมีความไวต่อค่า pH และความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ สามารถใช้ $CaCO_3$, CaC_2O_4, $CaCl_2$ หรือ $Ca(CH_3COO)_2$ แทน $Ca(NO_3)_2$ และในทำนองเดียวกันสามารถใช้ $(NH_4)_3PO_4$, K_2HPO_4, KH_2PO_4 หรือ NaH_2PO_4 แทน $(NH_4)_2HPO_4$ แคลเซียมแอซีเตต ($Ca(CH_3COO)_2$) ได้ถูกเสนอให้นำมาใช้แทนแคลเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมไนเตรต เนื่องจากแอซีเตตไอออนจะไม่รวมเข้าด้วยกันกับไฮดรอกซีอะพาไทต์เหมือนไนเตรตไอออนหรือคลอไรด์ไอออนที่อาจรวมเข้ากับไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ อุณหภูมิที่ใช้ในการตกตะกอนจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิห้องถึง 95-100 องศาเซลเซียส

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้จากการตกตะกอนมีลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียด และจับตัวกันเป็นโครงสร้างที่มีรูปผลึกที่ยังไม่สมบูรณ์

2. วิธีปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis method)

ไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกรดแคลเซียมฟอสเฟต เช่น ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$) ออกตะแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$ ไดแคลเซียมฟอสเฟต ($CaHPO_4$) ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ [29] นอกจากนี้ไฮดรอกซีอะพาไทต์ยังสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแคลเซียมคาร์บอเนตในสารละลายแอมโมเนียมฟอสเฟตหรือโซเดียมฟอสเฟต [30]

3. วิธีปฏิกิริยาสภาวะของแข็ง (Solid-state reaction method)

วิธีการนี้เป็นวิธีการพื้นฐาน ทำได้โดยนำสารเคมีในสภาวะที่เป็นของแข็งมาทำปฏิกิริยากันที่อุณหภูมิสูง (Solid-state reaction) ตัวอย่างวิธีการสังเคราะห์โดยวิธีนี้ เช่น การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์จากปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมคาร์บอเนตและแอมโมเนียมฟอสเฟต และผสมในสถานะของแข็งด้วยเครื่องผสมพลังงานสูง ดังสมการ [31]

$$6NH_4H_2PO_4 + 10CaCO_3 \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 10CO_2 + 8H_2O + 6NH_3$$

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้จากปฏิกิริยาสภาวะของแข็งจึงมีลักษณะเป็นผงละเอียดและเรียงเป็นโครงสร้างผลึกในระดับนาโนเมตร โดยมีขนาดผลึกอยู่ในช่วงระหว่าง 10-50 นาโนเมตร

4.วิธีไฮโดรเทอร์มัล (Hydrothermal method)

วิธีนี้ทำโดยการนำสารเคมีที่เป็นเกลือของแคลเซียมและฟอสเฟต มาทำปฏิกิริยากันภายในบรรยากาศที่มีความดันและอุณหภูมิสูง เช่น Sun [32] ใช้ $Ca(NO_3)_2$ ทำปฏิกิริยากับ KH_2PO_4 ใน NaOH ที่ 500 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 360 บรรยากาศ เป็นเวลา 10 วัน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็นดังสมการนี้

$$10Ca(NO_3)_2 + 6KH_2PO_4 + 14NaOH \xrightarrow[\text{10 days}]{\text{500°C 360 atm}} Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 6KNO_3 + 14NaNO_3 + 12H_2O$$

ส่วนวิธีของ Somiya [33] ใช้ $Ca(NO_3)_2$ ทำปฏิกิริยากับ KH_2PO_4 ใน NaOH และควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ 100-200 องศาเซลเซียส และความดัน 0.1-0.2 เมกกะปาสคาล เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้จากวิธีนี้จะมีลักษณะเป็นผลึกเดี่ยว (Single crystal) ที่สมบูรณ์ และสามารถทำให้มีขนาดต่างๆได้

5.วิธีอัลคอกไซด์ (Alkoxide method) [34]

วิธีนี้เป็นวิธีใหม่ที่ใช้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ให้มีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ โดยใช้แคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรตกับกรดฟอสฟอริก ละลายในน้ำกลั่น ซึ่งสารละลายผสมมีสภาวะเป็นกรดทำให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์ยังไม่เกิดการตกผลึก จากนั้นนำสารละลายไปฉีดพ่นบนโลหะไทเทเนียมโดยใช้ก๊าซอาร์กอนเป็นตัวพลักดันสารละลายผ่านหัวฉีด

2.2.4 **สารประกอบจำพวกแคลเซียมฟอสเฟตอื่นๆ** [25]

นอกจากไฮดรอกซีอะพาไทต์แล้วยังมีสารประกอบจำพวกแคลเซียมฟอสเฟตอีกหลายชนิดที่เข้ามามีบทบาทในงานวิจัยด้านวัสดุทางการแพทย์และอวัยวะเทียม สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตเหล่านี้แตกต่างกันที่อัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P ในโครงสร้างและชนิดของไอออนองค์ประกอบอื่นๆ ตัวอย่างของแคลเซียมฟอสเฟตบางชนิดแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แคลเซียมฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่มีอัตราส่วน Ca:P แตกต่างกัน

สูตร	ชื่อ	อักษรย่อ	Ca:P
$Ca_4 (PO_4)_2 O$	Tetracalcium phosphate	TeCP	2.0
$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Hydroxyapatite	Hap	1.67
$Ca_{10-x}H_{2x}(PO_4)_6(OH)_2$	Amorphous calcium phosphate	ACP	-
$Ca_3(PO_4)_2$	Tricalcium phosphate	TCP	1.50
$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	Octacalcium phosphate	OCP	1.33
$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	Dicalcium phosphate dehydrate	DCPD	1.0
$CaHPO_4$	Dicalcium phosphate	DCP	1.0
$Ca_2P_2O_7$	Calcium pyrophosphate dehydrate	CPPD	1.0
$Ca_7(P_5O_{16})_2$	Heptacalcium dihydrogen phosphate	HCP	0.7
$Ca_2H_2P_6O_4$	Tetracalcium dihydrogen phosphate	TCHP	0.67
$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	Monocalcium phosphate mpnphydrate	MCPM	0.5
$Ca(PO_3)_2$	Calcium metaphosphate (α,β,γ)	CMP	0.5

ไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีการศึกษาในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกมากที่สุด เนื่องจากไฮดรอกซีอะพาไทต์มีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี มีความสามารถที่จะเกิดพันธะเคมี กับเนื้อเยื่อรอบๆได้โดยตรงและสามารถที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกได้ นอกจากนี้ยังไม่เป็นพิษ ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบและไม่ต่อต้านกับระบบภูมิคุ้มกัน (non-immunogenic) อย่างไรก็ตามไฮดรอกซีอะพาไทต์มีข้อจำกัด คือ ความเปราะเมื่อนำไปใช้ในกระบวนการทดแทนกระดูก และขึ้นรูปได้ยาก

2.2.5 **การประยุกต์ใช้งานของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในทางการแพทย์** [35]

ไฮดรอกซีอะพาไทต์แบบผง (powder hydroxyapatite) ใช้เคลือบลงบนโลหะที่ทำเป็นข้อสะโพกเทียมหรือรากฟันเทียม เพื่อให้โลหะทนทานต่อการกัดกร่อนของของเหลวภายในร่างกาย และสามารถเกิดการยึดติดระหว่างวัสดุชีวภาพและเนื้อเยื่อร่างกายได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังนำไปผสมกับวัสดุอื่น เช่น พอลิเมอร์เพื่อใช้ทำกระดูกหูเทียม

1. ไฮดรอกซีอะพาไทต์แบบชิ้นเนื้อแน่น (Dense hydroxyapatite) จะมีสมบัติเชิงกลดีกว่าแบบรูพรุน มักนำไปใช้ทดแทนกระดูกสันหลังของผู้ป่วย โดยไฮดรอกซีอะพาไทต์จะกระตุ้นให้เซลล์กระดูกมาเกาะ ทำให้เกิดการยึดติดได้ดีขึ้น
2. ไฮดรอกซีอะพาไทต์แบบมีรูพรุน (Porous hydroxyapatite) นิยมใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูกเป็นตัวเติมทางด้านศัลยกรรมกระดูก ไฮดรอกซีอะพาไทต์ชนิดนี้มีพื้นที่ผิวมาก เนื่องจากมีรูพรุนจึงมีสมบัติเชิงกลต่ำ โดยเฉพาะด้านความแข็งแรง ดังนั้นจึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติเชิงกลก่อนนำไปใช้งาน ซึ่งสามารถทำโดยนำไปผลิตเป็นวัสดุเชิงประกอบ

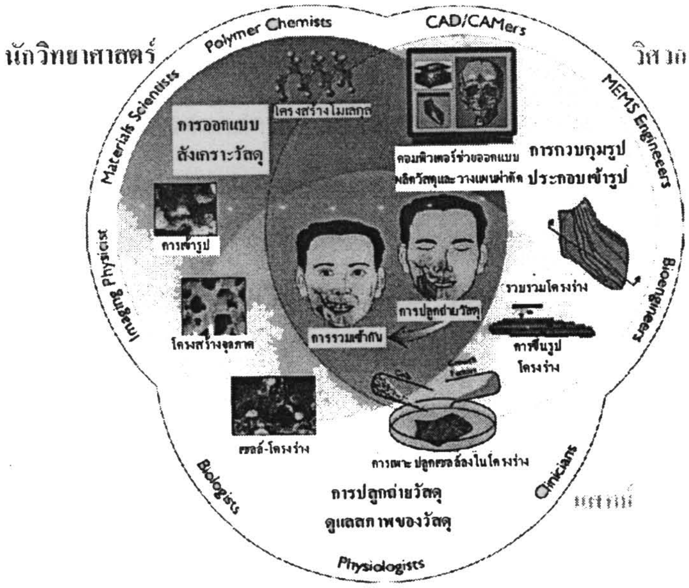
2.3 **วิศวกรรมเนื้อเยื่อ** (Tissue engineering)

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ คือพื้นฐานของการสร้างอะไหล่สำรองของเยื่อเยื่อหรืออวัยวะให้กับร่างกายมนุษย์ ซึ่งอาจรวมถึงการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (reconstruct) การแทนที่เนื้อเยื่อ (replace) หรือการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (repair) หรืออวัยวะที่ได้รับบาดเจ็บนั้นๆ

วัสดุสร้างเนื้อเยื่อทดแทน (tissue-engineered substitute) คือวัสดุที่มีสามมิติ และสามารถนำไปปลูกถ่าย (implant) ในร่างกาย พร้อมทั้งชักนำให้เนื้อเยื่อเดิมในร่างกายยอมรับและสร้างเนื้อเยื่อหรืออวัยวะใหม่ที่ซับซ้อนกว่าขึ้นมาซ่อมแซม ซึ่งวัสดุสร้างเนื้อเยื่อทดแทนจะประกอบไปด้วยเซลล์และเมทริกซ์ของพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ

การรักษาผู้ป่วยที่สูญเสียกระดูกจากการประสบอุบัติเหตุ ผ่าตัดเนื้องอก หรือมีกระดูกที่เสียรูป มักใช้วิธีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระดูก เพื่อทำการซ่อมแซมส่วนที่เสียหายหรือแหว่งหายไป หรือแม้แต่กระดูกหักที่ไม่สามารถเชื่อมติดกัน ในต่างประเทศวัสดุทดแทนกระดูกได้ถูกจัดว่าเป็นวัสดุปลูกถ่ายที่สำคัญรองจากการให้เลือดและผลิตภัณฑ์จากเลือด การรักษาโดยใช้วัสดุทดแทนกระดูกประกอบด้วยวัสดุปลูกถ่ายจากตัวผู้ป่วยเอง (autograft) วัสดุปลูกถ่ายจากผู้อื่น (allograft) และวัสดุเลียนแบบชีวภาพ (biomimetric materials) [1] ความรู้ความก้าวหน้าทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) มีส่วนเข้ามาพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูก อันประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ โครงเลี้ยงเซลล์ (scaffolds) สารโปรตีนกระตุ้นการเจริญ (growth factors) และเซลล์ (cells) เซลล์ที่นำมาศึกษาทดลองคือ เซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) ซึ่งนำมาจากตัวคน (adult stem cells) หรือนำมาจากตัวอ่อน (embryonic stem cells) ก็ได้ โดยอาศัยโปรตีนที่เป็นปัจจัยช่วยกระตุ้นการเจริญของเซลล์ (growth factors) สำหรับโครงร่างสามารถนำโครงเลี้ยงเซลล์ตามธรรมชาติ หรือนำโครงเลี้ยงเซลล์สังเคราะห์ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงธรรมชาติและสลายตัวได้ เพื่อให้เซลล์มาเกาะรวมกันเป็นเนื้อเยื่อกระดูกซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา เนื้อเยื่อกระดูกประกอบด้วยเซลล์และเส้นใยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันนอกเซลล์ ดังนั้นการศึกษาวิจัยทางวิศวกรรม

เนื้อเยื่อต้องอาศัยความร่วมมือกับนักวิจัยในสาขาต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น นักวิทยาศาสตร์ วิศวกร และแพทย์ เป็นต้น ผู้เชี่ยวชาญเหล่านี้มีส่วนเข้ามาร่วมศึกษาพัฒนาวัสดุทดแทนเพื่อนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วย นักวิทยาศาสตร์จำเป็นต้องเข้าใจกลไกพื้นฐานการเจริญพัฒนาของเซลล์และเนื้อเยื่อ เข้าใจกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อส่วนที่เสียหาย แล้วจึงประดิษฐ์วัสดุเนื้อเยื่อมาทดแทน ในขณะที่วิศวกรต้องคิดค้นระบบจำลองวัสดุโดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์มาช่วยสร้างรูปแบบโครงร่างวัสดุ เพื่อนำความเข้าใจพื้นฐานที่เป็นข้อมูลอันสำคัญในการนำไปใช้ประดิษฐ์รูปทรงวัสดุ และในที่สุดแพทย์สามารถนำวัสดุเนื้อเยื่อทดแทนเหล่านั้นมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยให้ดีขึ้น สรุปได้ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แผนภาพการร่วมมือของนักวิจัยสาขาต่างๆ [36]

ปัจจุบันมีการนำกระดูกเทียมมาใช้ทางการแพทย์แล้ว แต่ข้อจำกัดของกระดูกเทียมที่พบคือมีความแข็งไม่เพียงพอ จึงมีการเชื่อมโยงความรู้กันระหว่างผู้เชี่ยวชาญทางด้านวัสดุเชิงประกอบและนักวิจัยทางการแพทย์ เพื่อคิดค้นกระดูกเทียมทำจากวัสดุสังเคราะห์ที่รวมทั้งสมบัติทางโครงสร้างและสมบัติทางชีวภาพเข้าด้วยกัน

2.4 วัสดุเชิงประกอบ [37]

เนื่องจากวัสดุชีวภาพที่ผลิตมาจากโลหะ พอลิเมอร์ หรือเซรามิกส์เพียงอย่างเดียว อาจมีข้อด้อยในสมบัติบางประการ ดังนั้นจึงมีการพัฒนานำวัสดุแต่ละชนิดมาประกอบร่วมกันเพื่อให้ได้วัสดุที่มีสมบัติตามต้องการและสามารถนำไปใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4.1 ความหมายของวัสดุเชิงประกอบ

วัสดุเชิงประกอบ (Composites) คือวัสดุที่ประกอบด้วยสารตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปผสมกัน โดยสารแต่ละชนิดจะมีรูปร่างและส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน นอกจากนี้สารแต่ละชนิดต้องไม่ละลายซึ่งกันและกัน วัสดุเชิงประกอบนั้นจัดทำขึ้นเพื่อปรับปรุงสมบัติและคุณภาพของวัสดุให้ตรงกับการใช้งานมากยิ่งขึ้น หรืออาจจะกล่าวได้ว่าเป็นการนำเอาข้อดีของวัสดุแต่ละชนิดมาทำให้ได้วัสดุใหม่ที่มีสมบัติดีขึ้น วัสดุเชิงประกอบจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่

1. ส่วนเสริมแรง (Reinforcement) คือส่วนที่เป็นโครงสร้างที่ให้ความแข็งแรงแก่วัสดุเชิงประกอบ วัสดุที่เป็นส่วนเสริมแรงนี้จะมีความแข็งแรงและมอดุลัสสูง เช่น เส้นใยคาร์บอน โลหะ และเซรามิกส์ เป็นต้น
2. เมทริกซ์ (Matrix) เป็นวัสดุที่ทำหน้าที่ยึดส่วนเสริมแรงเข้าด้วยกัน โดยจะล้อมรอบและปกป้องส่วนเสริมแรงจากสภาวะแวดล้อมภายนอก เมทริกซ์จะทำหน้าที่เป็นตัวถ่ายแทแรงที่ได้รับไปสู่ส่วนเสริมแรง

2.4.2 ชนิดของวัสดุเชิงประกอบ

ชนิดของวัสดุเชิงประกอบสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. วัสดุเชิงประกอบที่มีพอลิเมอร์เป็นเมทริกซ์ (Polymer Matrix Composites, PMCs) พอลิเมอร์ถูกนำมาใช้เนื่องด้วยความแข็งแรง มีสมบัติที่ดี แบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามสมบัติทางความร้อน คือ เทอร์โมเซตและเทอร์โมพลาสติก
2. วัสดุเชิงประกอบที่มีเซรามิกส์เป็นเมทริกซ์ (Ceramic Matrix Composites, CMCs) เซรามิกส์เป็นวัสดุที่เปราะแตกง่ายซึ่งเป็นสาเหตุที่ไม่นำไปใช้เป็นวัสดุวิศวกรรม แต่เนื่องจากเซรามิกส์มีสมบัติทางความร้อนที่ดี ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการเสริมแรงด้วยเส้นใยเพื่อนำไปใช้งานด้านอากาศยาน
3. วัสดุเชิงประกอบที่มีโลหะเป็นเมทริกซ์ (Metal Matrix Composites, MMCs) มักใช้ในงานด้านอุตสาหกรรมรถยนต์และยานอวกาศ แต่มีข้อเสีย เนื่องจากความหนาแน่นของโลหะทำให้วัสดุมีน้ำหนักมาก

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการเตรียมวัสดุเชิงประกอบพอลิเมอร์และไฮดรอกซีอะพาไทต์

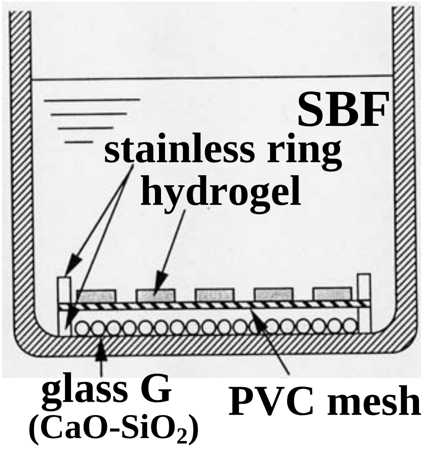
โดยทั่วไปการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างพอลิเมอร์และไฮดรอกซีอะพาไทต์แบ่งออกได้เป็น 2 วิธีการหลักๆ คือ วิธีที่จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ก่อนและวิธีที่ไม่จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ก่อน

1. วิธีที่จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ก่อน

<u>Biomimetic method</u>

Kokubo [38] ได้ทำการสังเคราะห์อะพาไทต์ไปบนไฮโดรเจลที่วางบนตาข่ายพีวีซี เพื่อเลียนแบบกระดูกธรรมชาติ

<u>การทดลอง</u> โดยการนำไฮโดรเจลวางอยู่บนตาข่ายพีวีซีแช่ในสารละลายที่เลียนแบบของไหลในร่างกาย (Simulated Body Fluid) ความเข้มข้น 1.5 เท่า โดยด้านล่างของตาข่ายพีวีซีมี glass G ซึ่งมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดอะพาไทต์บนไฮโดรเจลได้ดี ทำให้สามารถสังเคราะห์อะพาไทต์บนไฮโดรเจลได้ ดังรูปที่ 2.7



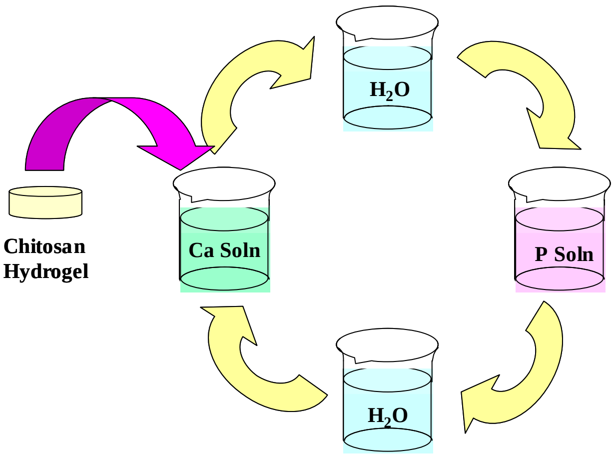
รูปที่ 2.7 การสังเคราะห์อะพาไทต์บนไฮโดรเจลด้วย Biomimetic Method

<u>Alternate soaking process</u>

Tachaboonyakiat และคณะ [39] สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ไปยังไคโตซานไฮโดรเจลโดยกระบวนการจุ่มสลับ (Alternate soaking process)

<u>การทดลอง</u> การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ให้เกิดบนไคโตซานไฮโดรเจลโดยวิธีการจุ่มสลับไคโตซานไฮโดรเจลลงในสารละลายตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ คือ

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



รูปที่ 2.8 การสังเคราะห์ไฮดอรกซีอะพาไทต์ภายในไคโตซานไฮโดรเจลด้วยกระบวนการจุ่มสลับ (Alternate soaking process)

Double diffusion system

Manjubala และคณะ [40] ศึกษาการเกิด ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซาน 3 มิติที่มีรูพรุน (3D porous chitosan scaffold) โดยใช้ระบบ double diffusion system

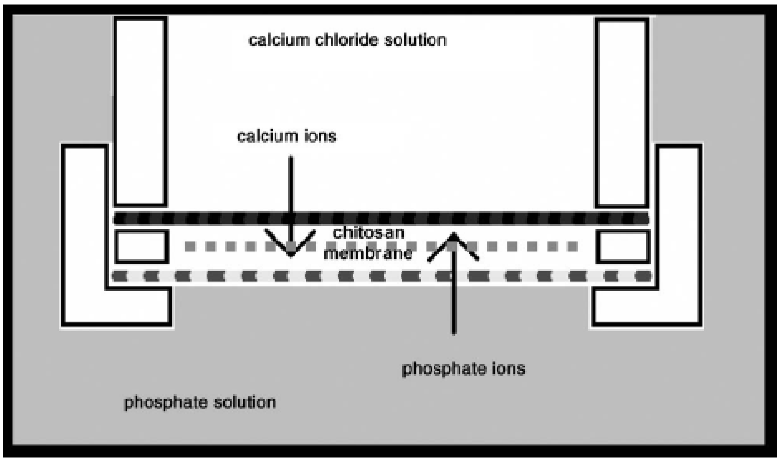
การทดลอง การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายในโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซาน 3 มิติที่มีรูพรุน ซึ่งโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซาน 3 มิติที่มีรูพรุนนี้ได้จากการนำสารละลายไคโตซานมาทำแห้งภายใต้ความดันสุญญากาศ ณ จุดเยือกแข็ง (lyophilisation) ระบบ double diffusion จะประกอบด้วย chamber ที่ถูกแยกออกเป็นสองส่วนด้วยช่องว่างตรงกลาง และนำโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซานยึดอยู่บริเวณนี้เพื่อแยกสารละลาย calcium chloride และ sodium dihydrogen phosphate ออกจากกัน สารละลายจะเกิดการแพร่ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซานที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการแพร่ผ่านโครงเลี้ยงเซลล์ไคโตซานตั้งแต่ 4 จนถึง 48 ชั่วโมง เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังสมการ จากการศึกษาด้วย SEM พบว่าเมื่อเวลาในการ mineralization มากขึ้นก็จะพบไฮดรอกซีอะพาไทต์มากขึ้นด้วย ซึ่งไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้จากวิธีนี้มีผลึกเป็นรูปเข็มอยู่กันเป็นกลุ่มก้อน (cluster of needle-shaped) ซึ่งสามารถพิสูจน์ผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ด้วย XRD ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดระดับนาโนเมตร ซึ่งสามารถยืนยันจาก TEM

$$10\,CaCl_2 + 6\,NaH_2PO_4 + 2H_2O \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 6\,NaCl + 14\,HCl$$

Dual membrane diffusion system

Ehrlich และคณะ [41] ศึกษาการเกิด ไฮดรอกซีอะพาไทต์ บนไคโตซานเจลเมมเบรนในระบบ dual membrane diffusion

การทดลอง ในระบบนี้ chitosan membrane จะถูกวางอยู่ระหว่าง cation-selective membrane และ anion-selective membrane เพื่อทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่านให้เกิดการแพร่ผ่านของ calcium ion และ phosphate ion ผ่าน cation-selective membrane และ anion-selective membrane ตามลำดับ ไปยังแผ่นเยื่อไคโตซาน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3 วัน ดังรูปที่ 2.9 ซึ่งสามารถที่จะทำให้เกิดผลึกแคลเซียมฟอสเฟตภายในไคโตซานเมทริกซ์ เมื่อนำมาศึกษาสัณฐานวิทยาพบว่าเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแผ่นเยื่อไคโตซาน จากการยืนยันผลด้วย FTIR ปรากฏพีกที่แสดงความเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ 561 และ 601 cm^{-1}



รูป 2.9 การสังเคราะห์ไฮดอรกซีอะพาไทต์ภายในแผ่นเยื่อไคโตซานด้วยระบบ dual membrane diffusion

2. วิธีที่ไม่จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ก่อน

วิธีการผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงในสารละลายพอลิเมอร์

Mathieu และคณะ [42] ได้เตรียมวัสดุเชิงประกอบที่มีความสามารถในการดูดซับได้ทางชีวภาพ (bioresorbable) จากพอลิเมอร์และเซรามิก

การทดลอง การเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างพอลิแลคติคแอซิดและไฮดรอกซีอะพาไทต์ โดยนำผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ค่อยเติมลงไปในสารละลายพอลิแลคติกแอซิด (PLA) แล้วทำการปั่น

กวน เพื่อให้ได้สารแขวนลอยที่เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วระเหยตัวทำละลายออก แล้วนำไปขึ้นรูปให้เป็นโฟมด้วยวิธี gas foaming technique เพื่อเตรียมเป็นวัสดุเชิงประกอบที่มีรูพรุน

Chemical wet method

Kong และคณะ [43] ได้ศึกษาการเตรียมวัสดุเชิงประกอบนาโนไฮดรอกซีอะพาไทต์และไคโตซานที่มีโครงร่าง 3 มิติ โดยใช้วิธีทางเคมีแบบเปียก (chemical wet method) ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ in situ ซึ่งเป็นการสังเคราะห์แบบระบบสารละลาย 2 ชนิด ซึ่งได้แก่สารละลาย $Ca(NO_3)_2$ และสารละลาย $(NH_4)_2HPO_4$ การสังเคราะห์แบบนี้จะทำให้ของผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ง่ายกว่าระบบการผสมของแข็งและสารละลาย และวัสดุเชิงประกอบที่ได้จะเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่า แล้วทำให้สารละลายผสมวัสดุเชิงประกอบนั้นมาขึ้นรูปสามมิติที่มีรูพรุนโดยวิธีทำแห้งภายใต้ความดันสุญญากาศ ณ จุดเยือกแข็ง (lyophilization)

การทดลอง วัสดุเชิงประกอบระหว่างสารละลายไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถเตรียมได้โดยค่อยๆเติมสารละลาย $Ca(NO_3)_2$ และสารละลาย$(NH_4)_2HPO_4$ ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปในสารละลายไคโตซานแล้วคนให้เข้ากัน

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

ข้อดี ทำให้ได้ของผสมที่เป็นเนื้อเดียวกันได้ง่ายกว่าการเตรียมโดยผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปโดยตรง

in situ hybridization

Hu และคณะ [44] ได้เตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซาน-ไฮดรอกซีอะพาไทต์ระดับนาโนในลักษณะแท่งทรงกระบอก (rod) และเสนอกลไกการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซาน-ไฮดรอกซีอะพาไทต์ว่า การมีหมู่อะมิโนทำให้ไคโตซานสามารถอยู่ในรูปสารละลายหรือของแข็งได้ ขึ้นอยู่กับ pH ของระบบ หมู่อะมิโนอิสระของไคโตซาน ($CS\text{-}NH_2$) จะถูกโปรโตเนตไปเป็น $CS\text{-}NH_3^+$ เมื่อไคโตซานถูกละลายในสารละลายกรดแอซีติก (HAc) ซึ่งแสดงดังนี้

$$CS\text{-}NH_2 + HAc \rightleftharpoons CS\text{-}NH_3^+ + Ac^- \qquad (pH=4.2)$$

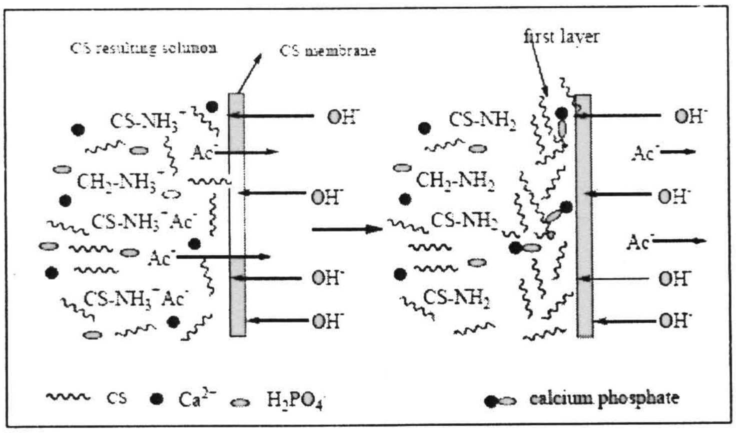
pH ที่ทำให้ไคโตซานเกิดการตกตะกอนโดยปกติแล้วคือเข้าใกล้ 6.0 และจากการอ้างอิงถึงงานวิจัยของ Viala และคณะ [45] ที่แสดงให้เห็นว่า แคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนในสารละลายจะยังคงทำให้ไคโตซานละลายได้เมื่อ pH ต่ำกว่า 6.7 ในขณะที่ pH ของการเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์จะมากกว่า 10 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนยังคงอยู่ในรูปของไอออนใน

สารละลาย และไคโตซานจะเกิดการตกตะกอนพร้อมกับเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ทันทีเมื่อ pH ของสารละลายมากกว่า 10

$$CS\text{-}NH_3^+ + OH^- \longrightarrow CS\text{-}NH_2 + H_2O \qquad (pH>6.7)$$

$$10Ca^{2+} + 6H_2PO_4^- + 14OH^- \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 12H_2O \qquad (pH>10)$$

กระบวนการเตรียมวัสดุเชิงประกอบที่มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก จะใช้แผ่นเยื่อไคโตซาน (chitosan membrane) เป็นตัวขัดขวางสารละลาย ขนาดของไอออนที่เล็กพอที่จะแพร่ผ่านแผ่นเยื่อไคโตซานได้ เช่น OH^-, H^+, Ac^- และอื่นๆ ส่วน Ca^{2+} และ $H_2PO_4^-$ จะแพร่ผ่านแผ่นเยื่อไคโตซานได้ยากกว่าเนื่องมาจากความหนืดของสารละลาย เมื่อ OH^- แพร่ไปยังสารละลายก็จะเจอ $CS\text{-}NH_3^+$, Ca^{2+} และ $H_2PO_4^-$ แล้วทำให้ไคโตซานเกิดการตกตะกอนพร้อมกับเกิดแคลเซียมฟอสเฟตเป็นชั้นแรกของวัสดุเชิงประกอบ ดังรูปที่ 2.10



รูป 2.10 กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบของไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธี *in situ* hybridization

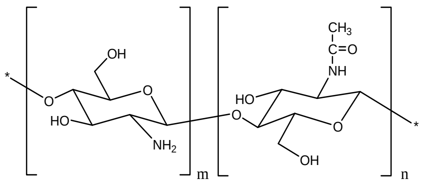
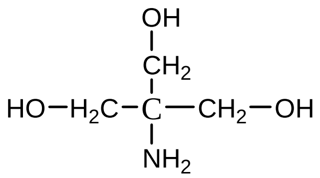
บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 **สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง**

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	สูตรโครงสร้าง	บริษัท
ไคโตซาน		Fluka, Japan
แคลเซียมคลอไรด์ เกรดสำหรับวิเคราะห์	$CaCl_2$	Carlo Erba Reagent, Italy
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เกรดสำหรับวิเคราะห์	Na_2HPO_4	Carlo Erba Reagent, Italy
กรดแอซิติก	CH_3COOH	Bdh Laboratory Supply, England
โซเดียมแอซีเตต เกรดสำหรับวิเคราะห์	CH_3COONa	Scharlua, Spain
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane เกรดสำหรับวิเคราะห์		Scharlua, Spain
กรดไฮโดรคลอริก	HCl	J.T. BAKER, U.S.A.

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 แผ่นเยื่อเลือกผ่านที่มี MWCO 6000-8000 ของ Membrane Filtration Products, Inc., U.S.A.

3.2.2 หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร แบบมีฝาเกลียว

3.2.3 ไมโครปิเปตขนาด 100, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร รุ่น Propette autoclavable

3.2.4 เครื่องผสมแบบความเร็วสูง (vortex mixer)

3.2.5 pH-meter รุ่น Ultrabasic

3.2.6 แม่แบบพลาสติก

3.2.7 ขวดวัดปริมาตรขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.8 ตู้อบ

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

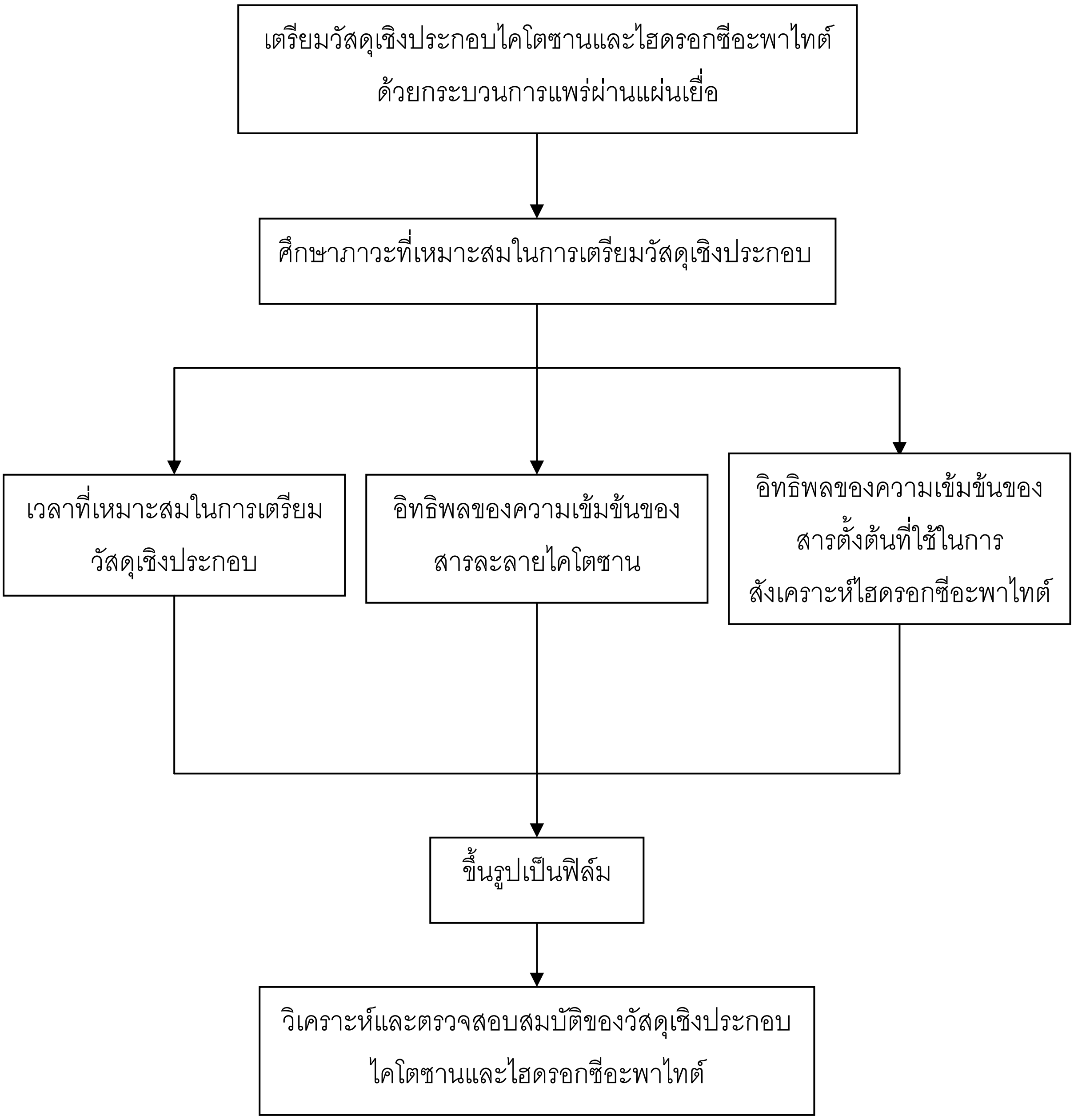
เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

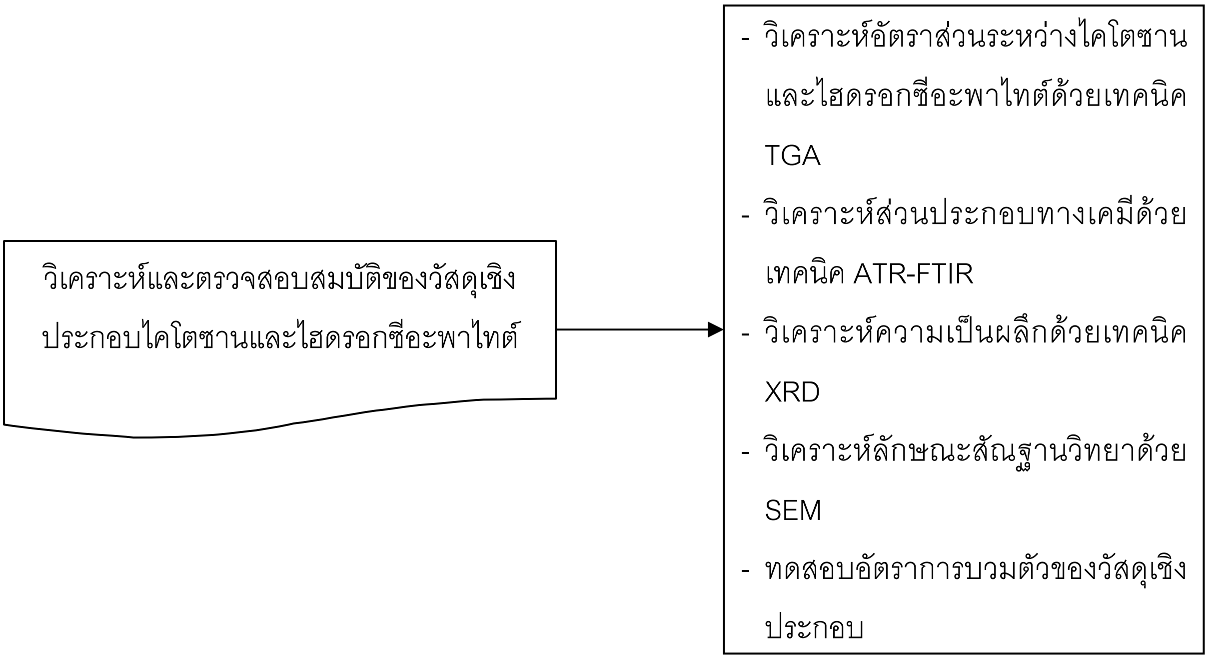
เครื่อง	รุ่น	หมายเหตุ
เครื่องเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาไลเซอร์ (Thermogravimetic Analyzer, TGA)	METTLER TOLEDO (TGA/SDTA 851)	ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)	JEOL JSM-5800LV	ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาฯ
เครื่องเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกโตมิเตอร์ (X-ray diffractometer, XRD)	Bruker AXS Model D8	ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ
เครื่องแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (ATR-FTIR)	Nicolet 6700	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ

3.4 ขอบเขตของการทดลอง

ขอบเขตของการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังขอบเขตการทดลอง



รูปที่ 3.1 แผนผังขอบเขตการทดลอง (ต่อ)

3.5 **วิธีการทดลอง**

3.5.1 **การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ**

1) ละลายไคโตซานด้วย 0.1 M อะซีเตตบัฟเฟอร์ (CH_3COOH/CH_3COONa) กวนจนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่องปั่นผสมแบบความเร็วสูง (vortex mixer)
2) ละลายแคลเซียมคลอไรด์ด้วย 0.1 M แอซีเตตบัฟเฟอร์ (CH_3COOH/CH_3COONa) จากนั้นค่อยๆหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในสารละลายข้อ 1) แล้วกวนจนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่องปั่นผสมแบบความเร็วสูง (vortex mixer)
3) เทสารละลายที่ได้จากข้อ 2) ลงในแผ่นเยื่อเลือกผ่าน
4) เตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ในน้ำกลั่น และเติม tris-(hydroxymethyl)-aminomethane แล้ววัดค่า pH ด้วยเครื่องวัด pH จากนั้นปรับ pH เป็น 7.4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

5) จากนั้นนำแผ่นเยื่อเลือกผ่านที่มีสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ แช่ลงในสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังรูปที่ 3.2 เพื่อให้เกิดการแพร่ของไอออนผ่านแผ่นเยื่อแล้วเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังสมการ

$$10\,CaCl_2 + 6\,Na_2HPO_4 + 2H_2O \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 12\,NaCl + 8\,HCl \quad [39]$$

6) เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดเทสารละลายที่ได้ลงในแม่แบบพลาสติก เพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม
7) อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน
8) ล้างฟิล์มที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เพื่อกำจัดแคลเซียมคลอไรด์ที่หลงเหลือจากปฏิกิริยาและโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์
9) นำฟิล์มที่ได้ไปหาวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

รูปที่ 3.2 สารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์แช่ในสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

3.5.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ แบ่งออกเป็น 3 ส่วน

ก) ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

โดยการควบคุมความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ คือ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.40 M และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจน

ฟอสเฟตเข้มข้น 0.24 M ให้คงที่ จากนั้นเปลี่ยนแปลงเวลาที่ทำให้เกิดการแพร่ของไอออน มีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.40 M โดยละลายไคโตซาน 0.1000 กรัม และแคลเซียมคลอไรด์ 0.222 กรัม ด้วยสารละลาย 0.1 M แอซีเตตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร ปั่นกวนจนกระทั่งสารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมแบบความเร็วสูง
2) นำสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ในข้อ 1) บรรจุลงในแผ่นเยื่อเลือกผ่าน
3) เตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.24 M, pH 7.4 โดยละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.408 กรัม ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติม Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane ละลายให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 7.4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4) นำแผ่นเยื่อเลือกผ่านที่มีสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ แช่ลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 20 มิลลิลิตร
5) เปลี่ยนแปลงเวลาในการแพร่ผ่านของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเป็น 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน เพื่อหาเวลาที่ปฏิกิริยาเคมีเกิดสมดุล
6) จากนั้นเมื่อได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มโดยเทสารละลายลงในแม่พิมพ์พลาสติก แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7) ล้างฟิล์มที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เพื่อกำจัดแคลเซียมคลอไรด์ที่หลงเหลือจากปฏิกิริยาและโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์
8) นำฟิล์มไปวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเครื่องเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาลิเซอร์

ข) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ

โดยเตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วควบคุมความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.40 M และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.24 M ให้คงที่ และควบคุมเวลาที่ทำให้เกิดการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนตามที่ได้จากการทดลองข้อ ก) ดังนี้

1) เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.40M และสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.222 กรัม

และไคโตซาน 0.0500, 0.0750, 0.0875 และ 0.1000 กรัม ในสารละลาย 0.1 M แอซีเตตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2) นำสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ในข้อ 1) บรรจุลงในแผ่นเยื่อเลือกผ่าน
3) เตรียมสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 0.24 M, pH 7.4 เช่นเดียวกับการทดลองข้อ ก)
4) นำแผ่นเยื่อเลือกผ่านที่มีสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ แช่ลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 20 มิลลิลิตร
5) ควบคุมเวลาในการแพร่ผ่านของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนตามที่ได้จากการทดลองข้อ ก)
6) ขึ้นรูปเป็นฟิล์มโดยเทสารละลายลงในแม่พิมพ์พลาสติก แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7) ล้างฟิล์มที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เพื่อกำจัดแคลเซียมคลอไรด์ที่หลงเหลือจากปฏิกิริยาและโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์
8) นำฟิล์มไปวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเครื่องเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาไลเซอร์

ค) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ

โดยควบคุมเวลาและความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานให้คงที่ตามที่ได้จากการทดลองข้อ ก) และ ข) ตามลำดับ แล้วเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตดังแสดงในตารางที่ 3.3 มีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมสารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้นตามที่จากการทดลองข้อ ข) แล้วเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์เป็น 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 และ 2.00 M โดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 0.111, 0.222, 0.333, 0.444, 0.555 และ 1.111 กรัม ตามลำดับ ละลายในสารละลาย 0.1 M แอซีเตตบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร
2) นำสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ในข้อ 1) บรรจุลงในแผ่นเยื่อเลือกผ่าน

3) เตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.12, 0.24, 0.36, 0.48, 0.60 และ 1.20 M โดยละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.704, 3.408, 5.112, 6.816, 8.520 และ 17.040 กรัม ในน้ำกลั่น ตามลำดับ ปรับ pH เป็น 7.4 และปรับปริมาตรจนได้ 100 มิลลิลิตร
4) นำแผ่นเยื่อเลือกผ่านที่มีสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ แช่ลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 20 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 3.3
5) ควบคุมเวลาในการแพร่ผ่านของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนตามที่ได้จากการทดลองข้อ ก)
6) ขึ้นรูปเป็นฟิล์มโดยเทสารละลายลงในแม่พิมพ์พลาสติก แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7) ล้างฟิล์มที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เพื่อกำจัดแคลเซียมคลอไรด์ที่หลงเหลือจากปฏิกิริยาและโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์
8) นำฟิล์มไปวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเครื่องเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาไลเซอร์

ตารางที่ 3.3 แสดงอัตราส่วนโดยโมลระหว่างแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

สูตร	$CaCl_2$ (M)	Na_2HPO_4 (M)
HA1	0.20	0.12
HA2	0.40	0.24
HA3	0.60	0.36
HA4	0.80	0.48
HA5	1.00	0.60
HA6	2.00	1.20

3.6 การวิเคราะห์และทดสอบ

3.6.1 การวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์

3.6.1.1 การวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาไลซิส (Thermogravimetic Analysis, TGA)

การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA เป็นการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ โดยอาศัยเสถียรภาพทางความร้อนที่แตกต่างกันของสารอินทรีย์ (ไคโตซาน) และสารอนินทรีย์ (ไฮดรอกซีอะพาไทต์) ด้วยเทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลเซอร์ของ METTLER TOLEDO รุ่น TGA/SDTA 851^{e} ดังรูปที่ 3.3 โดยนำสารตัวอย่างที่มีน้ำหนักประมาณ 3-10 มิลลิกรัม ใส่ในถาดอะลูมินา ใช้ภาวะในการทดสอบเริ่มจากอุณหภูมิ 50 ถึง 700 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิที่ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที อัตราการเพิ่มความร้อน 20 องศาเซลเซียส/นาที ทดสอบภายใต้บรรยากาศของแก๊สออกซิเจน และมีอัตราเร็วในการไหล (gas flow rate) 20 มิลลิลิตร/นาที

รูปที่ 3.3 เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลเซอร์ ของ METTLER TOLEDO รุ่น TGA/SDTA 851^{e}

3.6.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ

วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมได้จากกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ โดยควบคุมเวลาในการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อให้คงที่ตามเวลาที่เหมาะสมจากการทดลอง ข้อ 3.5.2 (ก) และคงที่ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เหมาะสม ตามที่ได้จากการทดลองข้อ

3.5.2 (ข) โดยวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ สูตร HA1, HA3 และ HA5 ถูกเลือกมาเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์คุณลักษณะของไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังต่อไปนี้

3.6.2.1 วิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (Attenuated Total Reflection Fourier transform Infrared, ATR-FTIR)

เทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด เป็นการวิเคราะห์พื้นผิวของวัสดุ โดยรังสีอินฟราเรดจะถูกส่งผ่าน infrared transmitting crystal ที่มีดัชนีการหักเหของแสงสูง แล้วเกิดการสะท้อนของรังสีภายในผลึกหรือเอทีอาร์ปริซึม โดยตัวอย่างจะถูกวางอยู่บน crystal แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง ATR-FTIR ดังแสดงในรูปที่ 3.4

รุ่น Nicolet 6700 FTIR Spectrometer (Thermo Electron Corporation, Madison, WI, USA)

Source Standard Globar™ Infrared Light Source

Detector MCT/A

Spectral resolution 4 cm^{-1}

Number of scan 128 scans

Advance parameter

Zero filing -

Apodization Hopp-Genzel

Phase correction Mertz

Continum Infrared Microscope

Instrument setup

Objective 15x Schwarzschild-Cassegrain

Aperture size 150x150 μm

หาแถบดูดกลืนที่เกิดจากหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ซึ่งสามารถบอกถึงโครงสร้างทางเคมีของสารได้ โดยอินฟราเรดสเปรกตรัมของไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์จะอยู่ในช่วง 4000-650 ซม$^{-1}$ พีกที่สำคัญของไคโตซานแสดงดังตารางที่ 3.4 และพีกที่ระบุหมู่ฟังก์ชันเฉพาะของไฮดรอกซีอะพาไทต์อยู่ที่ 1110 ซม$^{-1}$ (PO_4^{3-})

ตารางที่ 3.4 พีก FTIR ของไคโตซาน [40]

Peak value (cm^{-1})	Assignment
2900	-CH2
1650	Amide I
1600	Amine deformation
1595	-NH2 amino
1077	C-O Stretching
1000	C=O (undeacetylation)
899	C-O

รูปที่ 3.4 เครื่องแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (ATR-FTIR) รุ่น Nicolet 6700

3.6.2.2 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD)

วิเคราะห์โครงสร้างของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยเทคนิคเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (XRD) ด้วยเครื่อง Bruker AXS Model D8 ดังแสดงในรูปที่ 3.5

ภาวะที่ใช้ในการทดลอง

หลอดรังสีเอ็กซ์ : Cu

แหล่งกำเนิดรังสีเอ็กซ์ : CuK_{α} (λ=1.54060)

โดยเครื่องเริ่มทำงานที่มุม 2θ ตั้งแต่ 10-55 องศา ด้วยอัตราเร็ว 0.02 องศา/วินาที

รูปที่ 3.5 เครื่องเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกโตรมิเตอร์ ของ Bruker AXS Model D8

3.6.2.3 **วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด** (Scanning Electron Microscope, SEM)

การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น JEOL JSM-5800LV ดังแสดงในรูปที่ 3.6 เป็นการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบ โดยนำฟิล์มไปเคลือบผิวด้วยทองคำ ใช้ 15 แอมแปร์ เป็นเวลา 3 นาที ก่อนทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่ใช้ศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ ที่กำลังขยาย 1,500 เท่า

3.6.2.4 **วิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด** (Scanning Electron Microscope, SEM) **พร้อมเครื่องวิเคราะห์ธาตุในโครงสร้างจุลภาคชนิดแจกแจงพลังงานรังสีเอกซ์** (Energy X-ray Dispersive Spectroscope, EDS)

การวิเคราะห์ธาตุในโครงสร้างจุลภาคชนิดแจกแจงพลังงานรังสีเอกซ์ (Energy Dispersive X-ray Spectrometer) ทำโดยนำวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ต้องการวิเคราะห์ไปวางบนเทปกาวคาร์บอนที่แปะอยู่บนฐานวางตัวอย่าง เนื่องจากโครงสร้างของวัสดุเชิงประกอบมีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่มากทำให้อิเลคตรอนสามารถวิ่งผ่านได้โดยไม่จำเป็นต้องเคลือบด้วยผงคาร์บอน ซึ่งการทำงานของเครื่องจะทำภายใต้สุญญากาศจากนั้นจึงตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5800LV ดังรูปที่ 3.6

โดยใช้ศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ ที่กำลังขยาย 2,500 เท่า โดยตั้งระยะห่างระหว่างลำแสงอิเลคตรอนและตัวอย่างให้คงที่ ที่ 15 ไมโครเมตร

รูปที่ 3.6 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น JEOL JSM-5800LV

3.6.2.5 **การทดสอบอัตราการบวมตัวของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์**

การทดสอบอัตราการบวมตัวของไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ทำได้โดยนำไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1, HA3 และ HA5 ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์มแล้วมาชั่งน้ำหนักขณะแห้ง (W_0) แล้วนำฟิล์มไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ดังกล่าวไปแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 2 วัน เพื่อทดสอบการบวมตัว จากนั้นนำไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เกิดการบวมตัวในน้ำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W) เพื่อหาอัตราการบวมตัวในน้ำ ดังสมการ

$$\% \text{ Swelling ratio} = ((W-W_0)/W_0)*100$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

โดยทั่วไปการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์นั้นทำได้หลายวิธี ได้แก่ Biomimetic Method [38], Alternate Soaking Process[39], Double Diffusion System[40] และ Dual Membrane Diffusion System[41] เป็นต้น ซึ่งวิธีการเหล่านี้จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ให้อยู่ในรูปแบบที่ต้องการก่อน จึงจะสังเคราะห์สารอนินทรีย์ภายในเมทริกซ์ของพอลิเมอร์นั้น ๆ ได้ ซึ่งถ้าต้องการวัสดุเชิงประกอบที่มีขนาดเล็กมาก ๆ จะทำให้ยากต่อการขึ้นรูปพอลิเมอร์เมทริกซ์ ดังนั้น จากงานวิจัยที่ผ่านมามีการพัฒนาการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์โดยไม่จำเป็นต้องขึ้นรูปพอลิเมอร์ กล่าวคือ เป็นการสังเคราะห์สารอนินทรีย์ภายในสารละลายพอลิเมอร์นั้น ๆ ซึ่งได้แก่ การผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงในสารละลายพอลิเมอร์โดยตรง [42] และ Chemical Wet Method [43] ซึ่งวิธีเหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยการกวนของผสมอยู่ตลอดเวลาเพื่อป้องกันมิให้เกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์แยกชั้นออกจากสารละลายพอลิเมอร์

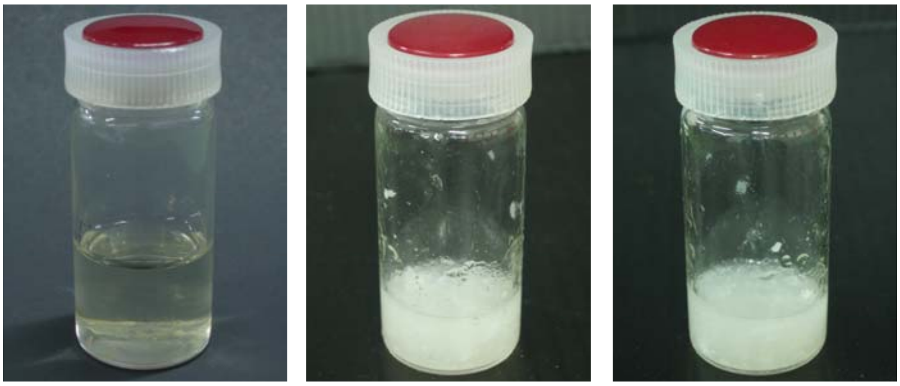
ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปในสารละลายไคโตซานโดยตรง การจะทำให้ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายไคโตซานได้ ต้องอาศัยการปั่นหรือการกวน แต่ก็ไม่สามารถทำให้ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ เพราะเมื่อทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่ง ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์จะเกิดการตกตะกอนลงมา ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีดังกล่าวไม่สามารถที่จะทำให้ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายไคโตซานได้นาน โดยเติมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปในสารละลายไคโตซาน (รูปที่ 4.1 (a)) แล้วกวนให้ไฮดรอกซีอะพาไทต์กระจายอยู่ในสารละลายไคโตซานจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมแบบความเร็วสูง (vortex mixer) ดังแสดงในรูปที่ 4.2 (b) จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ไฮดรอกซีอะพาไทต์จะเกิดการตกตะกอนไม่สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายไคโตซานได้ดังแสดงในรูปที่ 4.2 (c) ดังนั้นการผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปในสารละลายไคโตซานโดยตรงจึงไม่เหมะสมต่อการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างพอลิเมอร์และ สารอนินทรีย์ทั่วไป รวมถึงการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงพัฒนากระบวนการในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ (Membrane Diffusion Process) โดยใช้แผ่นเยื่อเป็นตัวชะลอการแพร่ของไอออนที่ใช้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งได้แก่แคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนผ่านไปยังสารละลายไคโตซาน ทำให้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีเสถียรภาพในการกระจายตัวอยู่ในสารละลายไคโตซานได้

(a) (b) (c)

รูปที่ 4.1 การผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคโตซาน: (a) สารละลายไคโตซาน, (b) การผสมผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายไคโตซาน, (c) ผงไฮดรอกซีอะพาไทต์เกิดการตกตะกอนหลังจากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

4.1 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ

การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ ทำได้โดยละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ด้วยสารละลาย 0.1 M แอซีเตตบัฟเฟอร์จนได้สารละลายเนื้อเดียวกัน (รูปที่ 4.2 (a)) จากนั้นเทสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ลงในแผ่นเยื่อเลือกผ่าน แล้วแช่ลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เมื่อไอออนของไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแพร่ผ่านแผ่นเยื่อเข้ามาทำปฏิกิริยาเคมีกับไอออนของแคลเซียมคลอไรด์ที่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายไคโตซานทำให้สามารถสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในสารละลายไคโตซานได้ ดังปฏิกิริยาเคมีสมการที่ (1) รูปที่ 4.2 (b) แสดงลักษณะของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อในลักษณะที่ยังเป็นสารละลายอยู่ จากนั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน พบว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์ยังคงกระจายตัวได้ดีภายในสารละลายไคโตซาน โดยไม่ตกตะกอนลงมา ดังรูปที่ 4.2 (c) ดังนั้นวิธีการเตรียมด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ จึงสามารถแก้ปัญหาการตกตะกอนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้



(a) (b) (c)

รูปที่ 4.2 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ: (a) สารละลายไคโตซาน (b) วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ และ (c) วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์หลังจากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และไม่เกิดการตกตะกอน

$$10\ CaCl_2 + 6\ Na_2HPO_4 + 2H_2O \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 12\ NaCl + 8 \quad (1)$$

หลังจากการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายในสารละลายไคโตซาน นำสารละลายเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้ไปขึ้นรูปเป็นฟิล์มและทดสอบการกระจายตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแผ่นฟิล์ม

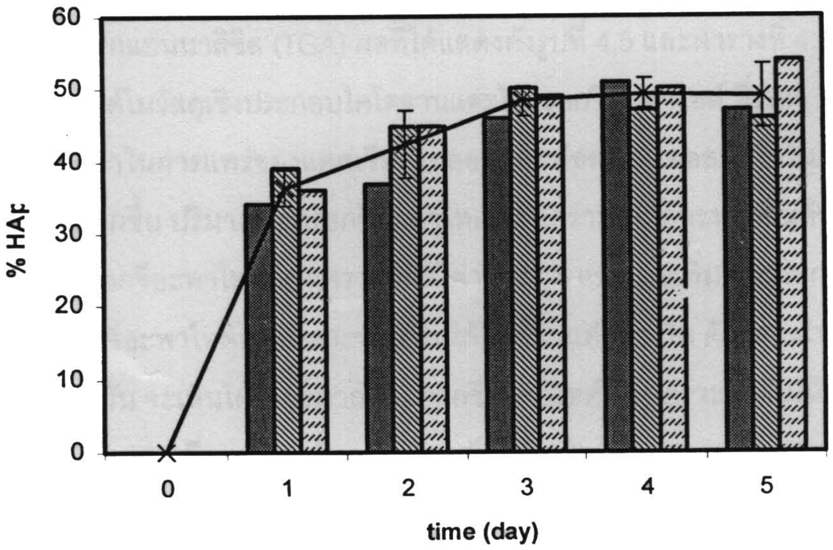
การตรวจสอบการกระจายตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่เตรียมได้ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อโดยใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออนผ่านแผ่นเยื่อแตกต่างกันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน หลังจากสิ้นสุดกระบวนการเทสารละลายเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแม่แบบพลาสติกแล้วอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม จากนั้นใช้เทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาลิซิส (TGA) หาร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ในแผ่นฟิล์มดังกล่าว 3 บริเวณที่แตกต่างกัน เพื่อตรวจสอบการกระจายตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สม่ำเสมอแทรกตัวอยู่ในเนื้อของไคโตซานเมทริกซ์

ซึ่งจากรูปที่ 4.3 และตารางที่ 4.1 พบว่า ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในบริเวณ 3 บริเวณที่แตกต่างกันของแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมได้ของแต่ละตัวอย่างจาก 5 ตัวอย่างซึ่งใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออนที่แตกต่างกัน จะเห็นว่าในแต่ละตัวอย่างมีค่าร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ใน 3 บริเวณของแผ่นฟิล์มที่ใกล้เคียงกันซึ่งดูได้จากค่าเบี่ยงเบน

มาตรฐาน แสดงให้เห็นว่าวัสดุเชิงประกอบไคซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ค่อนข้างมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอแทรกอยู่ภายในเนื้อของไคโตซาน

ตารางที่ 4.1 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในบริเวณที่แตกต่างกัน ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน

เวลา (วัน)	ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	34	39	36	36.33	2.51
2	37	45	45	42.33	4.61
3	46	50	49	48.33	2.08
4	51	47	50	49.33	2.08
5	47	46	54	49	4.35



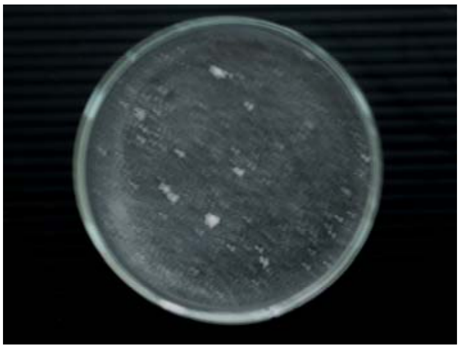
รูปที่ 4.3 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่กระจายตัวอยู่ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์จาก 3 บริเวณของชิ้นตัวอย่าง ซึ่งแต่ละชิ้นตัวอย่างได้จากการใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออนที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้มาจากบริเวณที่แตกต่างกัน 3 บริเวณของแต่ละชิ้นตัวอย่าง)

4.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ แบ่งออกเป็น 3 ส่วน

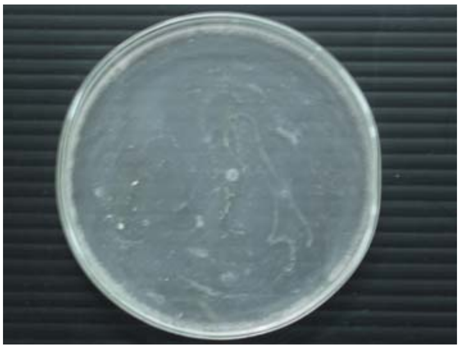
4.2.1 เวลาที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ

โดยการควบคุมความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ คือ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.40 M และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.24 M ให้คงที่ จากนั้นเปลี่ยนแปลงเวลาที่ทำให้เกิดการแพร่ของไอออนเป็น 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน เพื่อหาเวลาที่ปฏิกิริยาเคมีเกิดสมดุล จากนั้นขึ้นรูปวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้เป็นแผ่นฟิล์ม เพื่อวิเคราะห์หาอัตราส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ พบว่าเมื่อให้เวลาการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนมากขึ้น ลักษณะของสารละลายจะขุ่นมากขึ้น ดังรูปที่ 4.4

เมื่อนำฟิล์มที่ขึ้นรูปมาทดสอบหาอัตราส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้เทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาลิซิส (TGA) ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.5 และตารางที่ 4.2 ซึ่งแสดงร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ให้มากขึ้น ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ก็จะมากขึ้นด้วย จนเมื่อถึงที่เวลา 4 วัน ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้มีค่าสูงที่สุด และเมื่อเพิ่มเวลาในการแพร่ให้มากขึ้นไปอีกปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ก็ไม่ได้มากขึ้นแต่อย่างใด ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และเมื่อพิจารณาที่ 3 และ 4 วัน จะเห็นได้ว่าปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์คือ 3 วัน

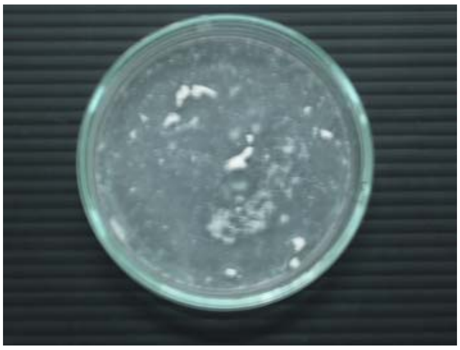


(a)

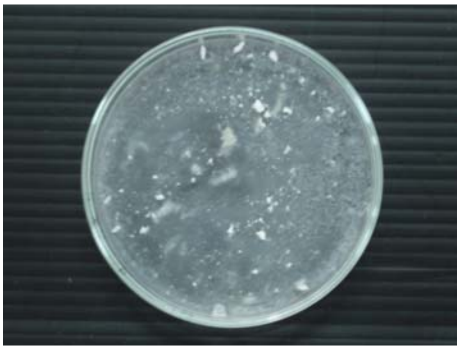


(b)

(c)



(d)

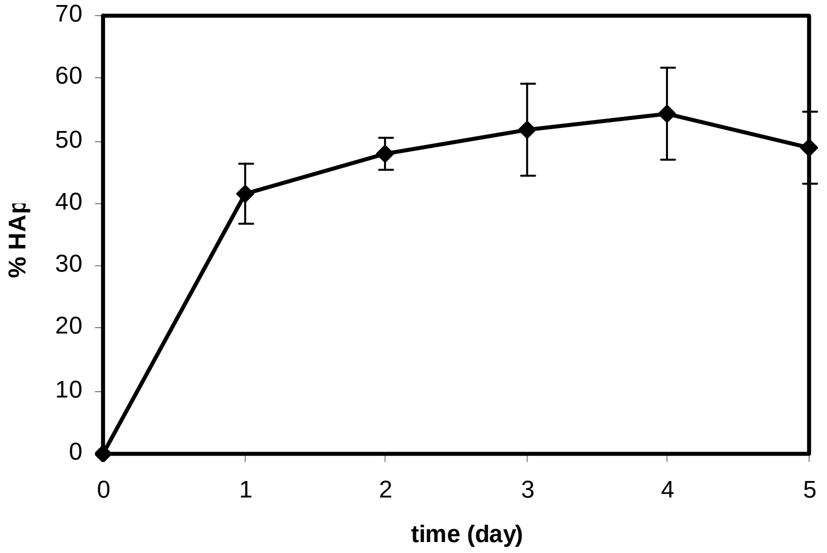


(e)

รูปที่ 4.4 วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
24	44.5	44	36	41.50	4.77
48	48.5	50	45	47.83	2.57
72	46	60	49	51.67	7.37
96	50	63	50	54.33	7.51
120	42.5	50	54	48.83	5.84



รูปที่ 4.5 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลาต่างๆ (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง)

4.2.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ

โดยเตรียมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แล้วควบคุมความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.40 Mและสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.24 M ให้คงที่ และควบคุมเวลาที่ทำให้เกิดการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเป็นเวลา 3 วัน ตามผลที่ได้จากข้อ 4.2.1 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานมากขึ้น ความหนืดของสารละลายจะมากขึ้น ในขณะที่ความสามารถในการละลายจะลดลง ต้องใช้เวลาในการละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันนานขึ้น สารละลายไคโตซานที่ได้ยังคงเป็นสารละลายใสทุกความเข้มข้น แต่พบว่าสารละลาย ไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ยังมีส่วนของไคโตซานที่ไม่ละลายหลงเหลืออยู่

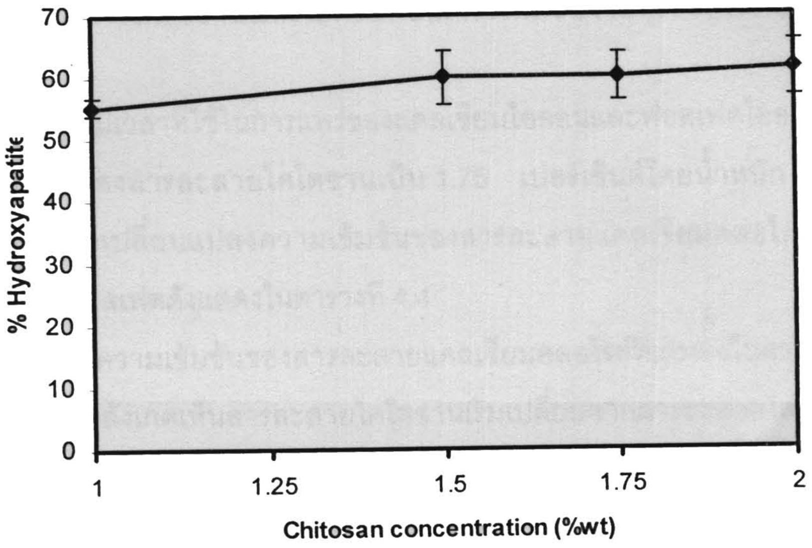
รูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ โดยใช้เทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกแอนนาลิซิส (TGA) วิเคราะห์สัดส่วนของวัสดุเชิงประกอบที่มีความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเป็น 3 วัน และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 0.4 M และ 0.24 M ตามลำดับ จาก 3 ชุดการทดลอง พบว่าแต่ละชุดการทดลองให้ผลที่มีแนวโน้มเดียวกันคือ เมื่อเพิ่มเข้มข้นของสารละลายไคโตซานจาก 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สัดส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานให้สูงขึ้นเป็น 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบว่าอัตราส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน ดังนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานให้สูงขึ้น ไคโตซานก็จะมีความสามารถในการห่อหุ้ม (encapsulate) แคลเซียมไอออนไว้ภายในเพื่อรอเกิดปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนได้เป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้มากขึ้น ดังรูปที่ 4.7 แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ปริมาณไคโตซานที่ใช้แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้จึงมีค่าใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาถึงผลของความหนืดของสารละลายไคโตซานและความสามารถในการละลายของไคโตซานก็จะพบว่า สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีความหนืดที่ต่ำกว่าสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักค่อนข้างมาก ดังนั้นเมื่อเตรียมเป็นวัสดุเชิงประกอบแล้วจะขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ยากกว่า ในขณะที่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะละลายค่อนข้างยาก ดังนั้นจึงมีส่วนที่ยังละลายไม่หมดหลงเหลือ

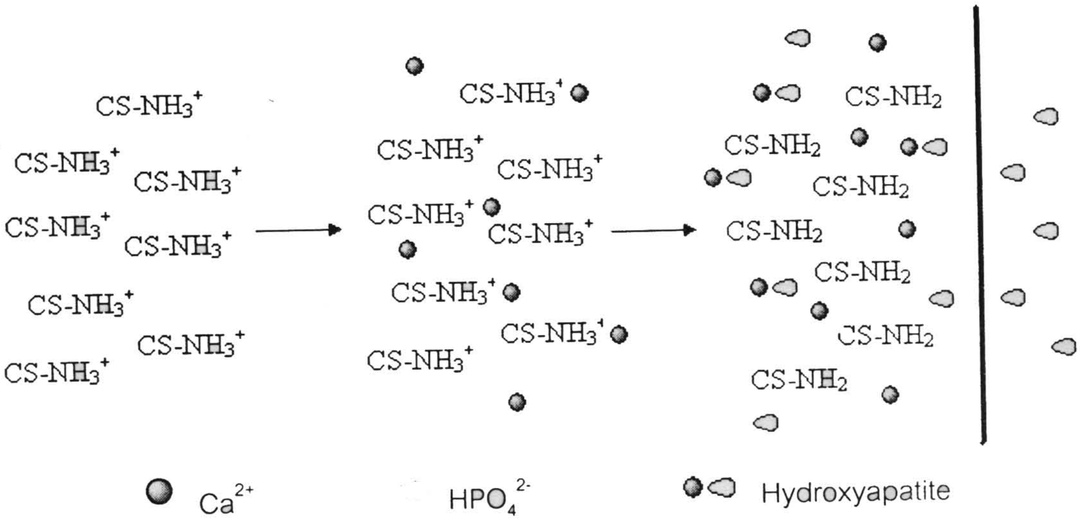
ด้วยทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังนั้น สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จึงเหมาะสมต่อเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่อไป เพราะมีความหนืดที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปเป็นฟิล์ม และมีความสามารถการละลายที่ดีไม่มีส่วนที่ไม่ละลายหลงเหลืออยู่

ตารางที่ 4.3 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลา 3 วัน

ความเข้มข้นของไคโตซาน (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	57	54	55	55.33	1.53
1.5	62.5	55	62.5	60.00	4.33
1.75	64.5	57	59	60.17	3.88
2	62	56.5	65.5	61.33	4.54



รูปที่ 4.6 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการให้ไอออนแพร่ผ่านแผ่นเยื่อเป็นเวลา 3 วัน (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง)



รูปที่ 4.7 กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ

4.2.3 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ

โดยควบคุมเวลาที่ใช้ในการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเป็น 3 วัน และควบคุมความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเป็น 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามที่ได้จากการทดลองข้อข้างต้น แล้วเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตดังแสดงในตารางที่ 4.4

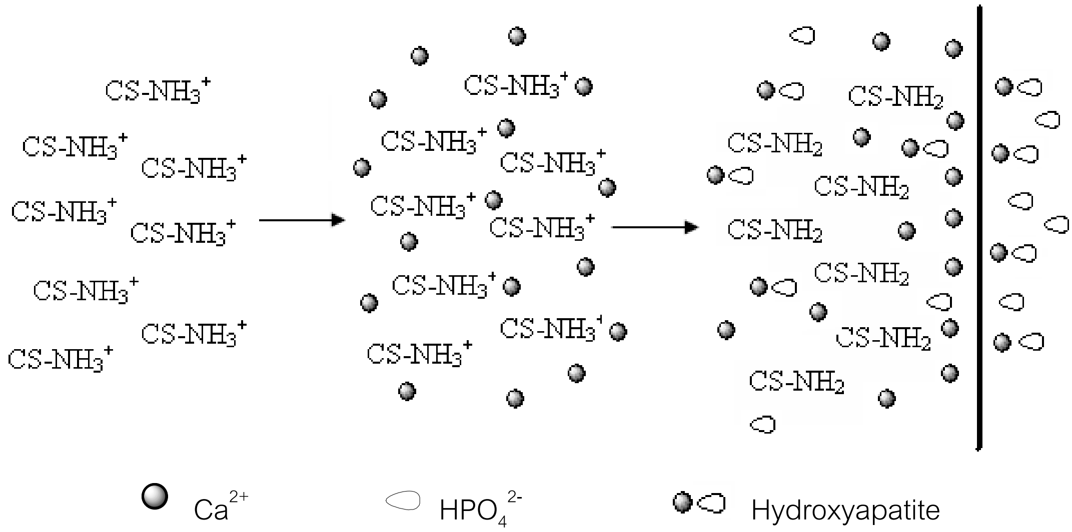
พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เติมลงในสารละลายไคโตซานมากขึ้นเป็น 0.6 M จะสังเกตเห็นสารละลายไคโตซานเริ่มเปลี่ยนจากสารละลายใสเป็นสีขาวขุ่น และสารละลายไคโตซานเริ่มจับตัวเป็นก้อน และเมื่อยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ให้มากขึ้นไปอีก ก็ยิ่งทำให้สารละลายไคโตซานจับตัวกันเป็นก้อนมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากแคลเซียมคลอไรด์ทำให้สารละลายไคโตซานตกตะกอนมากกว่าที่จะถูกไคโตซานห่อหุ้มแคลเซียมไอออนไว้

ตารางที่ 4.4 อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 ที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแต่ละสูตร

สูตร	$CaCl_2$ (M)	Na_2HPO_4 (M)
HA1	0.20	0.12
HA2	0.40	0.24
HA3	0.60	0.36
HA4	0.80	0.48
HA5	1.00	0.60
HA6	2.00	1.20

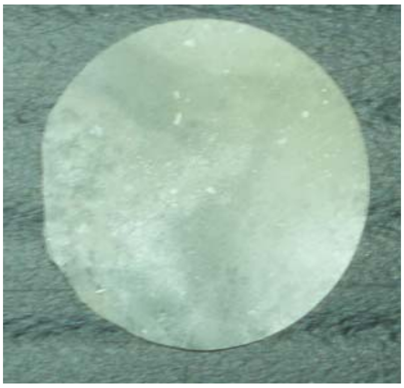
เมื่อนำสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์แช่ลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต พบว่าความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่สูงขึ้นตั้งแต่สูตร HA4 ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น โดยเฉพาะสูตร HA6 ปฏิกิริยาเกิดอย่างรวดเร็วมาก ซึ่งสังเกตได้จากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นรวดเร็วมากขึ้นตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยา ทั้งนี้เนื่องจาก เมื่อความเข้มข้นของสารละลายมากขึ้นอัตราเร็วในการแพร่ผ่านของไอออนมากขึ้น ทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

การกระจายตัวของแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายไคโตซานนั้น ไคโตซานจะห่อหุ้มแคลเซียมไอออนไว้ภายในเพื่อรอเกิดปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนที่แพร่ผ่านแผ่นเยื่อเข้ามา แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายไคโตซาน แคลเซียมไอออนบางส่วนจะถูกห่อหุ้มแทรกอยู่ภายในโมเลกุลของไคโตซาน ส่วนแคลเซียมไอออนที่มากเกินความสามารถในการห่อหุ้มไอออน จะทำหน้าที่ในการตกตะกอน (precipitation) ไคโตซาน กล่าวคือ แคลเซียมไอออนจะห้อมล้อมโมเลกุลของไคโตซานไว้ ทำให้ไคโตซานเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน (aggregate) สามารถสังเกตเห็นสารละลายเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่น ดังนั้นเมื่อฟอสเฟตไอออนแพร่ผ่านแผ่นเยื่อเข้ามาเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออนได้เป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์นั้น จะมีแคลเซียมไอออนที่มากเกินความสามารถในการห่อหุ้มของไคโตซานหรือกระจายตัวอยู่บริเวณรอบนอกโมเลกุลไคโตซานสามารถที่จะแพร่ผ่านแผ่นเยื่อออกไปสู่สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตและเกิดปฏิกิริยาเคมีเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์อยู่ในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังแสดงในรูปที่ 4.8

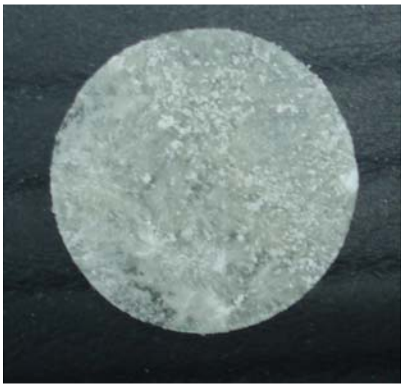


รูปที่ 4.8 กลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตสูง

จากนั้นเมื่อขึ้นรูปเป็นฟิล์ม พบว่ามีการกระจายตัวของอนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์ค่อนข้างดี และที่ความเข้มข้นต่ำๆ (สูตร HA1) ฟิล์มจะมีอนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์ขนาดเล็กกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นจะสังเกตเห็นอนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจน แต่ยังคงมีการกระจายตัวที่สม่ำเสมอ ดังรูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของฟิล์มที่ใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่แตกต่างกัน (สูตร HA1-HA6)



(a) (b)



(c) (d)

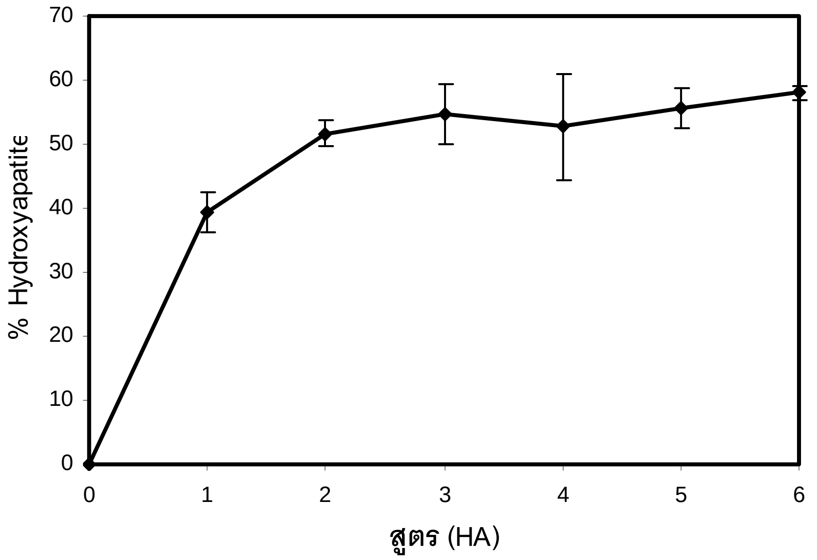
(d) (f)

รูปที่ 4.9 วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ขึ้นรูปเป็นฟิล์ม ความเข้มข้นไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในการแพร่ผ่านของไอออน 3 วัน สูตร (a) HA1, (b) HA2, (c) HA3, (d) HA4, (e) HA5, (f) HA6

จากรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.5 แสดงอัตราส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และมีอัตราส่วนความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตดังตารางที่ 4.4 เวลาที่เกิดการแพร่ของไอออนเป็น 3 วัน พบว่าปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต แต่เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตยิ่งสูงมากขึ้นก็ไม่ได้ทำให้เกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์มากขึ้นไปกว่าเดิม ทั้งนี้เนื่องมาจากความสามารถในการห่อหุ้มแคลเซียมไอออนไว้ภายในเพื่อรอเกิดปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนได้เป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ของไคโตซานมีจำกัด

ตารางที่ 4.5 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออน 3 วัน

สูตร	ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
HA1	36	40	42	39.33	3.06
HA2	50	54	51	51.67	2.08
HA3	60	53	51	54.67	4.73
HA4	46	62	50	52.67	8.33
HA5	55	59	53	55.67	3.06
HA6	36	40	42	39.33	3.06

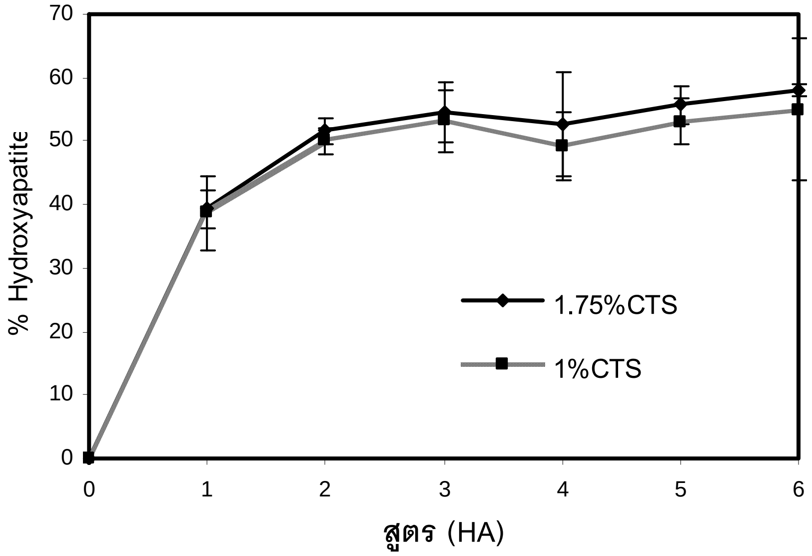


รูปที่ 4.10 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออน 3 วัน (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง)

ต่อมาเปรียบเทียบวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเข้มข้นของไคโตซานที่ 1 และ 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบว่าที่ความเข้มข้นไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีแนวโน้มของร้อยละไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับที่ความเข้มข้นไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แต่ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์น้อยกว่าเล็กน้อย ดังรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.6 ที่แสดงให้เห็นว่าไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีไฮดรอกซีอะพาไทต์น้อยกว่าเล็กน้อย อันเนื่องมาจากความสามารถในการห่อหุ้มแคลเซียมไอออนน้อยกว่า ซึ่งสอดคล้องกับกลไกการเกิดวัสดุเชิงประกอบดังรูปที่ 4.7 ที่ได้กล่าวมาแล้ว

ตารางที่ 4.6 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1 และ 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออน 72 ชั่วโมง

สูตร	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)	
	CTS 1% wt.	CTS 1.75% wt.
HA1	38.67	39.33
HA2	50.00	51.67
HA3	53.17	54.67
HA4	49.17	52.67
HA5	53.00	55.67
HA6	55.00	58.00



รูปที่ 4.11 ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1 และ 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของไอออน 72 ชั่วโมง (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้จากการทำการทดลอง 3 ครั้ง)

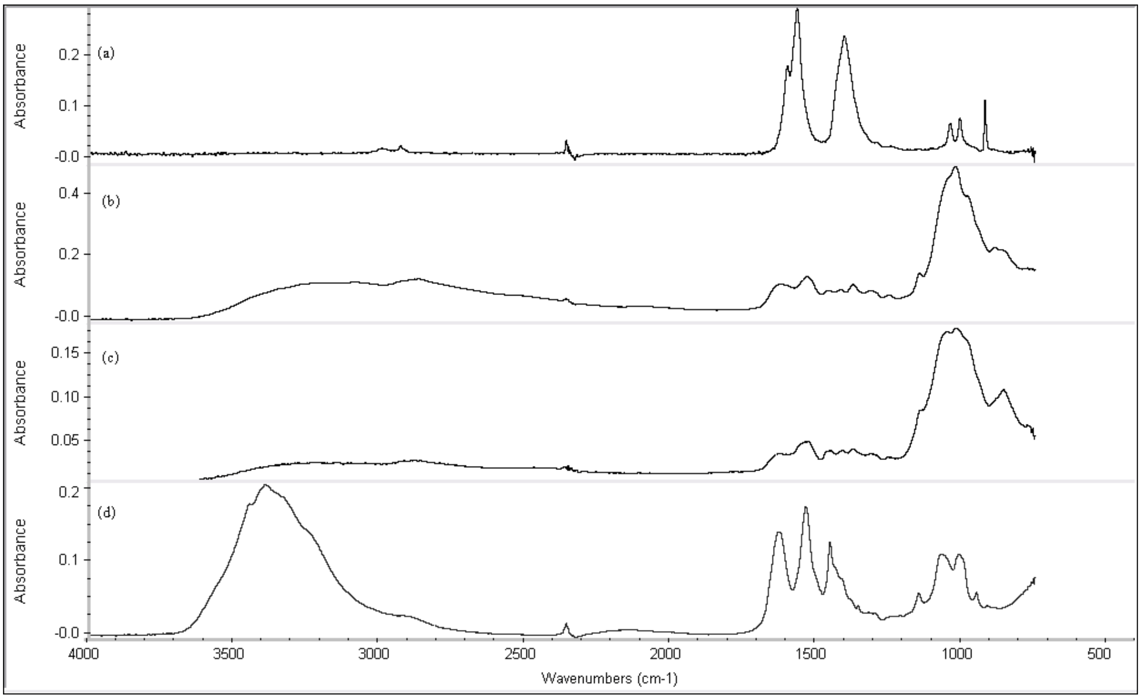
4.3 **การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด** (Attenuated Total Reflection Fourier transform Infrared, ATR-FTIR)

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีที่ผิวหน้าของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ เปรียบเทียบกับไคโตซานด้วยเครื่องแอทเทนนูเอทเตทโททอลรีเฟรกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี แสดงดังรูปที่ 4.12 โดยรูปที่ 4.12 (a) ปรากฏพีกช่วง 3300-3500 cm^{-1} เล็กน้อยแสดงให้เห็นถึงการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล (OH^- group) ของไคโตซาน หรือแสดงให้เห็นการดูดซึมน้ำหรือความชื้นของตัวอย่างที่ค่อนข้างต่ำ ช่วงพีกที่ 2996-2882 cm^{-1} แสดง C-H stretching ของวงไพราโนสของไคโตซาน สเปกตรัมที่ระบุลักษณะเฉพาะของไคโตซานแสดงดังตารางที่ 4.7

จากรูปที่ 4.12 (b-d) คือ วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1, HA3 และ HA5 ซึ่งสเปกตรัมแต่ละสูตรปรากฏพีกที่คล้ายคลึงกัน แต่อาจจะมีขนาดของพีกแตกต่างกัน ที่ช่วงตำแหน่ง 3200-3500 $ซม^{-1}$ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่พบสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันแบบไฮดรอกซิล ทั้งนี้เป็นผลมาจากการดูดความชื้นของตัวอย่างวัสดุเชิงประกอบเอง โดยทั้ง 3 สูตร จะปรากฏพีกที่ประมาณ 1120 cm^{-1}แสดงให้เห็นถึง P-O stretching ของอะพาไทต์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเกิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ขึ้นแทรกอยู่ภายในเนื้อไคโตซาน

ตารางที่ 4.7 พีก FTIR ของไคโตซาน

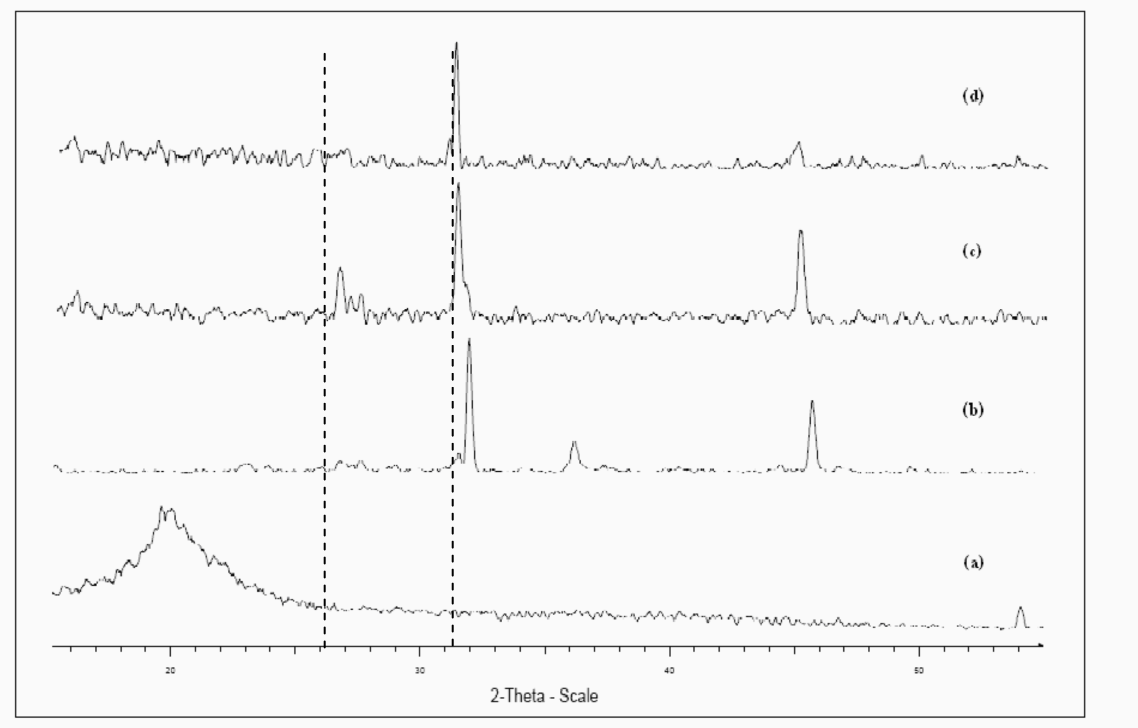
Peak value (cm^{-1})	Assignment
2996-2882	-CH stretching
1600	Amide I
1400	$-NH_2$ amino
1070-1000	C-O Stretching (pyranose)



รูปที่ 4.12 FTIR ของ (a) ไคโตซาน (b) HA1 (c) HA3 และ (d) HA5

4.4 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิคเอกซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD)

พีก XRD ดิฟแฟรกโตแกรมของไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์แตกต่างกัน สูตร HA1 HA3 และ HA5 โดยไคโตซานแสดง board peak ที่บริเวณ 2θ = 20° ดังรูปที่ 4.13 (a) ในขณะที่วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ทั้ง 3 สูตรแสดง strong reflection เป็น board peak ที่ตำแหน่งประมาณ 26° และ 32° (2θ) เหมือนกัน ดังรูปที่ 4.13 (b-d) ซึ่งเป็นพีกแสดงลักษณะเฉพาะของไฮดรอกซีอะพาไทต์ ประกอบกับผลการวิเคราะห์จาก ATR-FTIR ซึ่งแสดงพีกลักษณะเฉพาะของ P-O stretching ของอะพาไทต์ ที่ประมาณ 1120 cm^{-1} ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถสังเคราะห์ขึ้นภายในไคโตซานเมทริกซ์ได้ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ และมีกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

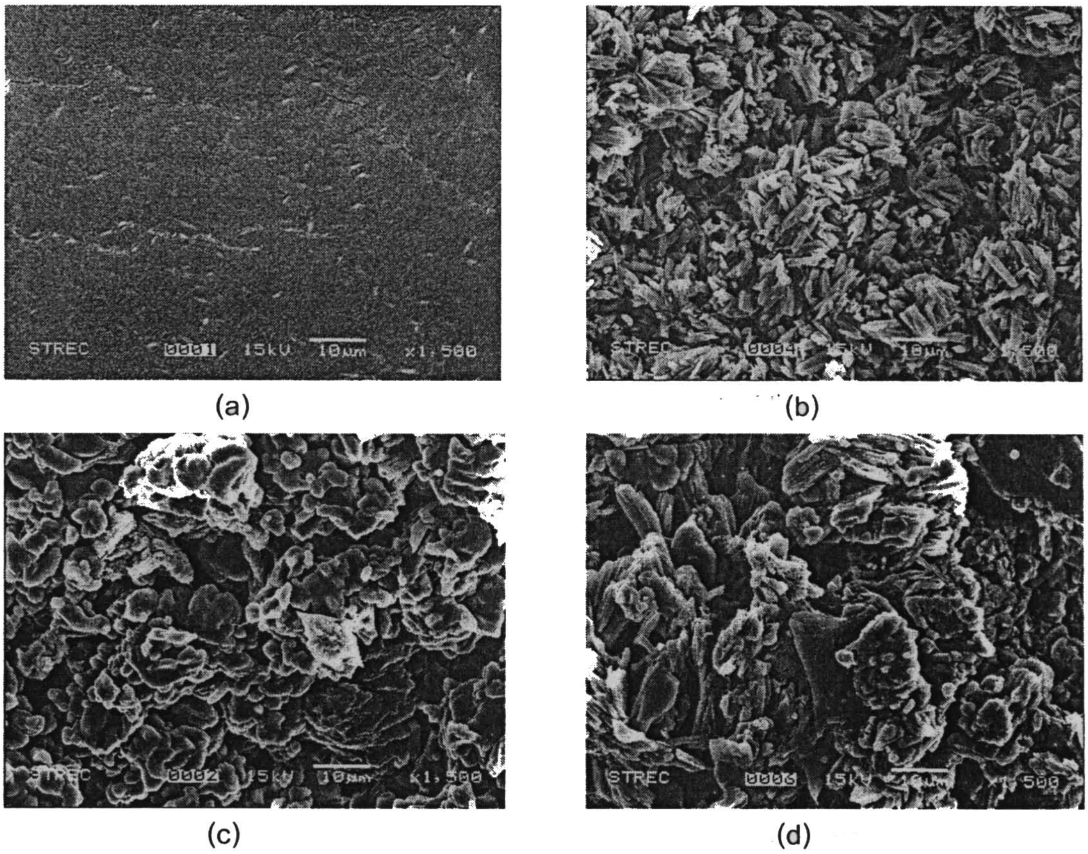


รูปที่ 4.13 เอกซ์เรย์ดิฟแฟรกโทแกรมของ (a) ไคโตซาน (b) HA1 (c) HA3 และ (d) HA5

4.5 การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของไคโตซาน (a) และวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเข้มข้นของไคโตซานเป็น 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก แต่มีความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 แตกต่างกัน โดยรูปที่ 4.14 (b) HA1 (c) HA3 (d) HA5 โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของไคโตซานจะค่อนข้างเรียบ แต่เมื่อสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ลงไปแล้วพบว่าลักษณะพื้นผิวจะขรุขระมากขึ้น โดยมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเนื่องมาจากผลึกของ ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่รวมตัวกัน นอกจากนี้วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1 จะพบว่าผลึกมีขนาดค่อนข้างเล็กเมื่อเทียบกับวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์อีก 2 สูตร (HA3 และ HA 5) ซึ่งมีผลึกที่มีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อยและมีการเรียงตัวของผลึกเป็นกลุ่มก้อน แสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตต่ำๆ จะทำให้อัตราเร็วในแพร่ผ่านของไอออนเป็นไปอย่างช้าๆ ดังนั้นขนาดของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้จึงค่อนเล็ก ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตให้สูงขึ้น อัตราเร็วในการแพร่ผ่านของไอออนก็จะมากขึ้นและเกิดปฏิกิริยาการ

สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์อย่างรวดเร็วทำให้อนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้มีเวลาไม่เพียงพอในการจัดเรียงผลึก ทำให้อนุภาคของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่า และรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนมากกว่า



รูปที่ 4.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (a) ไคโตซาน (b) HA1 (c) HA3 และ (d) HA5

4.6 **การวิเคราะห์อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสเฟตของวัสดุเชิงประกอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด** (Scanning Electron Microscope, SEM) **พร้อมเครื่องวิเคราะห์ธาตุในโครงสร้างจุลภาคชนิดแจกแจงพลังงานรังสีเอกซ์** (Energy X-ray Dispersive Spectroscope, EDS)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุ เพื่อหาอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสของวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อ พบว่าอัตราส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ได้มีค่าสูงกว่าอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสอุดมคติ (Ideal) ของไฮดรอกซี อะพาไทต์อยู่มาก

ซึ่งค่าอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสอุดมคติของไฮดรอกซีอะพาไทต์มีค่าประมาณ 1.67 ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการเตรียมวัสดุเชิงประกอบ มีการผสมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในสารละลายไคโตซาน ดังนั้นแคลเซียมไอออนที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในโมเลกุลของไคโตซานบางส่วน เกิดปฏิกิริยาได้เป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์แต่ยังมีบางส่วนหลงเหลืออยู่ ทำให้เมื่อวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสแล้วมีแคลเซียมในปริมาณที่มาก

ตารางที่ 4.8 อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส

สูตร	Ca/P	Ideal Ca/P
HA1	8.84	
HA3	7.77	1.67
HA5	5.47	

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนให้สูงขึ้น ปริมาณแคลเซียมไอออนที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในโมเลกุลไคโตซานยังคงถูกจำกัดด้วยความเข้มข้นของไคโตซานที่เท่ากัน แต่จะมีแคลเซียมไอออนที่ห้อมล้อมโมเลกุลของไคโตซานมากขึ้น ประกอบกับความเข้มข้นของสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น ทำให้ฟอสเฟตไอออนสามารถแพร่เข้ามาทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออนทั้งที่ถูกห้อมล้อมด้วยโมเลกุลไคโตซาน และแคลเซียมไอออนที่ห้อมล้อมโมเลกุลไคโตซานไว้เพิ่มมากขึ้นด้วย ส่งผลให้อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสมีค่าลดลง

แต่อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสที่ได้จากการทดลองมีค่ามากกว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์อุดมคติมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีแคลเซียมไอออนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์หลงเหลือและถูกห่อหุ้มอยู่ภายในโมเลกุลของไคโตซาน ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แคลเซียมที่หลงเหลือในวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

สูตร	% Atomic				Ca_{remain} [c]
	Ca [a]	Ca [b]	P [a]	Ideal Ca/P	
HA1	1.92	0.37	0.22		1.55
HA3	6.29	1.35	0.81	1.67	4.94
HA5	8.63	2.64	1.58		5.99

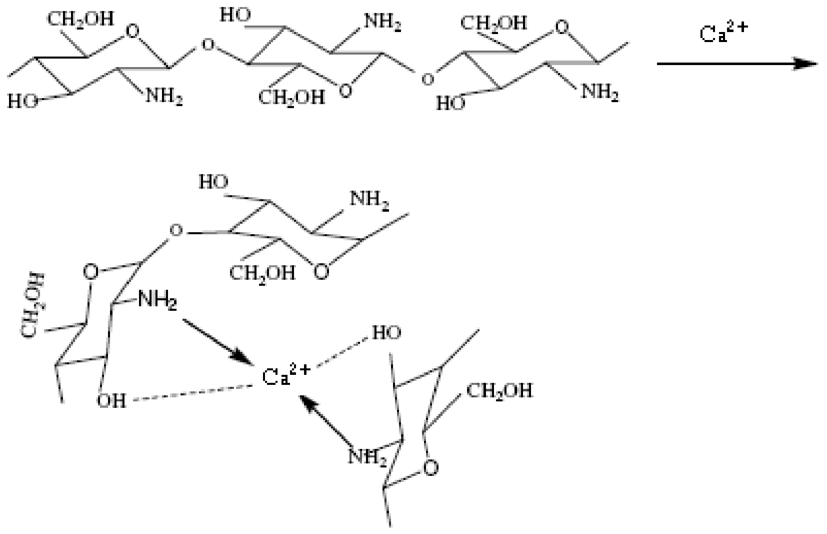
a ได้จาก % Atomic ที่วิเคราะห์จาก EDS

b ได้จากการคำนวณปริมาณ Ca ที่เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ เมื่อมีปริมาณ P จากการทดลอง (a)

c ปริมาณ Ca ions ที่เหลือจากการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งคำนวณจาก ปริมาณ Ca จากการทดลอง หักจากปริมาณ Ca ที่เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์

จากตารางที่ 4.9 เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเพิ่มขึ้นจากสูตร HA1, HA3 และ HA5 ตามลำดับ ปริมาณธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่วิเคราะห์ได้จาก EDS เพิ่มขึ้นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลาย ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตตามลำดับ ปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ควรจะเพิ่มขึ้นแบบแปรผันตรงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์มากขึ้นเช่นกัน แต่เนื่องจากความสามารถในการห่อหุ้มแคลเซียมไอออนถูกจำกัดให้คงที่ที่ความเข้มข้นของไคโตซานคงที่ จึงทำให้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ปริมาณที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญถึงแม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมและสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตก็ตามดังกล่าวข้างต้นในรูปที่ 4.10 อีกทั้งแคลเซียมไอออนที่ไม่ได้ถูกห้อมล้อมด้วยโมเลกุลของไคโตซาน กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ แคลเซียมไอออนอิสระที่ห้อมล้อมโมเลกุลของไคโตซานก็สามารถแพร่ผ่านแผ่นเยื่อออกไปทำปฏิกิริยากับสารละลายฟอสเฟตเกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ในสารละลายฟอสเฟตได้เช่นกัน แต่เนื่องจากแคลเซียมไอออนที่ถูกห้อมล้อมด้วยโมเลกุลของไคโตซานที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนที่แพร่ผ่านแผ่นเยื่อเข้ามา จะยังคงหลงเหลือเป็นแคลเซียมไอออนที่ยังคงถูกห้อมล้อมภายในโมเลกุลของไคโตซานและยากที่จะกำจัดออกด้วยการล้างน้ำกลั่น ดังนั้นเมื่อสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยกระบวนการแพร่ผ่านแผ่นเยื่อโดยการใช้ความเข้มข้นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์สูงๆ จะทำให้ปริมาณแคลเซียมไอออนที่หลงเหลือและถูกห้อมล้อมด้วยโมเลกุลของไคโตซานมีปริมาณมากขึ้นตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 4.9

ทั้งนี้การมีแคลเซียมไอออนหลงเหลืออยู่ในโมเลกุลของไคโตซานนั้น แคลเซียมไอออนสามารถที่จะเกิดคีเลชันกับหมู่ไฮดรอกซิลของไคโตซานได้ ดังรูปที่ 4.15 ทำให้วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถที่จะเกิดเจลได้



รูปที่ 4.15 การเกิดคีเลชันระหว่างไคโตซานและแคลเซียมไอออน

ตาราง 4.10 อัตราการบวมตัวของไคโตซานและวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1, HA3 และ HA5

สูตร	อัตราการบวมตัว (%)			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
CTS	1350.00	2088.17	1889.812	1775.99
HA1	1269.70	1200.70	2626.09	1698.83
HA3	357.56	264.73	254.42	292.24
HA5	N/A	N/A	N/A	N/A

N/A คือ ไม่สามารถหาค่าได้

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นว่าวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1 และ HA3 มีปริมาณแคลเซียมไอออนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาหลงเหลืออยู่ปริมาณ 1.55 และ 4.94 ตามลำดับ จึงทำให้วัสดุเชิงประกอบสามารถก่อเกิดเจลได้โดยมีอัตราการบวมตัวเป็น 1698.83 และ 292.24

เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1 มีปริมาณแคลเซียมไอออนที่หลงเหลืออยู่มีน้อยกว่า จุดที่จะเกิดคีเลชันกับหมู่ไฮดรอกซิลของไคโตซานก็จะน้อย ทำให้อัตราการบวมตัวที่ได้มีค่ามากกว่าสูตร HA3 ซึ่งมีปริมาณแคลเซียมไอออนที่หลงเหลืออยู่มากกว่า

แต่เมื่อมีปริมาณแคลเซียมไอออนที่หลงเหลืออยู่มากเกินไปในสูตร HA5 กลับทำให้ไคโตซานเกิดการตกตะกอน (aggregate) มากกว่าที่จะก่อเกิดเป็นเจล ดังนั้นเมื่อนำฟิล์มมาใส่ในน้ำจึงทำให้ฟิล์มค่อยๆสลายตัวจนหมดภายใน 1 วัน ดังนั้นจึงไม่สามารถหาอัตราการบวมตัวได้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

1) จากผลการตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิค TGA พบว่าในบริเวณที่ต่างกัน 3 บริเวณของแต่ละแผ่นฟิล์มมีปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ใกล้เคียงกัน แสดงว่าวัสดุเชิงประกอบมีการกระจายตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์แทรกภายในเนื้อของไคโตซานอย่างสม่ำเสมอ

2) การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิค TGA พบว่าเมื่อเปลี่ยนแปลงเวลาที่เกิดการแพร่ผ่านของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนไปจนถึงเวลา 72 ชั่วโมงปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่สังเคราะห์มีค่ามากที่สุดหลังจากนั้นค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นเวลา 72 ชั่วโมงจึงเหมาะสมที่สุด

3) การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานสูงขึ้นปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์ในวัสดุเชิงประกอบจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่อพิจารณาถึงผลของความหนืดและความสามารถในการละลาย ไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจึงมีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีความหนืดที่ต่ำกว่าสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักค่อนข้างมาก ดังนั้นเมื่อเตรียมเป็นวัสดุเชิงประกอบแล้วจะขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ยากกว่า ในขณะที่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจะละลายค่อนข้างยาก ดังนั้นจึงมีส่วนที่ยังละลายไม่หมดหลงเหลือด้วยทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

4) การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ต่ออัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ของวัสดุเชิงประกอบ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่อไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมากขึ้น จะมีอัตราส่วนของไฮดรอกซีอะพาไทต์มากขึ้นเล็กน้อย

5) การศึกษาสัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบ พบว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มอยู่รวมเป็นกลุ่มก้อน (cluster of needle-shaped) เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมากขึ้น ผลึกจะรวมกันเป็นกลุ่มก้อนใหญ่ขึ้น ขนาดอนุภาคของไฮดรอกซีอะพาไทต์จะใหญ่ขึ้น แต่ละผลึกมีขนาดประมาณ 7-10 ไมโครเมตร ดังนั้นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตสูตร HA1 ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเจือจางที่สุดเป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากผลึกมีลักษณะเป็นรูปเข็มอยู่รวมเป็นกลุ่มก้อนคล้ายคลึงกับไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่พบในกระดูกและฟันมากที่สุด

6) จากการวิเคราะห์วัสดุเชิงประกอบด้วย FTIR พบพีกที่ประมาณ 1120 cm^{-1} สอดคล้องกับ P-O stretching ของอะพาไทต์ และการวิเคราะห์ด้วย XRD พบพีกที่ตำแหน่งประมาณ 26° และ 32° (2θ) ซึ่งเป็นพีกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ยืนยันได้ว่าวัสดุเชิงประกอบที่สังเคราะห์ได้เป็นวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

7) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุพบว่าอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสที่ได้มีค่าสูงกว่าอุดมคติ (Ideal) อยู่มาก เนื่องจากวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์มีแคลเซียมไอออนหลงเหลืออยู่มาก ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนเพิ่มขึ้น จะทำให้แคลเซียมไอออนที่เหลือจากปฏิกิริยาและถูกห้อมล้อมภายในโมเลกุลของไคโตซานมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแคลเซียมไอออนสามารถที่จะเกิดคีเลชันกับหมู่ไฮดรอกซิลของไคโตซานได้ ทำให้วัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถที่จะเกิดเจลได้

ข้อเสนอแนะ

1) ศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ เพื่อเปรียบเทียบความเหมาะสมของอุณหภูมิที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ งานวิจัยนี้สังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์เนื่องจากการแพร่ของแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนแล้วเกิดปฏิกิริยาเคมีตกตะกอนออกมาเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์แทรกอยู่ภายในสารละลายไคโตซาน ดังนั้นอุณหภูมิจึงน่ามีผลต่อความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาหรือความสามารถในการตกผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งอาจทำให้สัณฐานวิทยาและความเป็นผลึกเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งความเป็นผลึกที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ยังอาจส่งผลถึงความสามารถในการดูดซับทางชีวภาพ (bioresorbability) หรือ ความสามารถในการสลายตัวทางชีวภาพ (biodegradablility) อีกด้วย

2) ศึกษาปัจจัยของการรบกวนปฏิกิริยาการตกผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยการสั่นเปรียบเทียบกับการตั้งปฏิกิริยานิ่ง เนื่องจากการสั่นสารละลายตลอดเวลาน่าจะเพิ่มความสามารถในการแพร่ของไอออน แต่ลดความสามารถในการตกผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ วัสดุเชิงประกอบที่ได้น่าจะมีปริมาณไฮดรอกซีอะพาไทต์มากขึ้น แต่ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ลดลง ซึ่งส่งผลถึงความสามารถในการดูดซับทางชีวภาพ (bioresorbability) หรือ ความสามารถในการสลายตัวทางชีวภาพ (biodegradablility) อีกเช่นกัน

รายการอ้างอิง

[1] Zhang, N.; Nichols, H.L.; Tylor, S.; and Wen, X. Fabrication of nanocrystalline hydroxyapatite doped degradable composite hollow fiber for guided and biomimetic bone tissue engineering. Materials Science and Engineering: C 27 (2007):599–606.

[2] An, Y.B.; and Lee, W.H. Synthesis of porous titanium implants by environmental-electro-discharge-sintering process. Materials Chemistry and Physics 95 (2006):242–247.

[3] Yuehuei, H.A.; and Kylie, L.M. Handbook of histology methods for bone and cartilage. Totowa, N.J.: Humana Press, 2003: 64-65.

[4] วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ. เอกสารประกอบการสอนวิชาพอลิเมอร์ที่ใช้ทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2548.

[5] "เรื่องน่ารู้ไคติน-ไคโตซาน". [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.poodang.net.

[6] "Preparation of chitin and chitosan". [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: www.mse.uiuc.edu/biomaterials/research.

[7] Li, J.; Chen, Y.; Yin, Y.; Yao, F.; and Yao, K. Modulation of nano-hydroxyapatite size via formation on chitosan–gelatin network film in situ. Biomaterials 28 (2007):781–790.

[8] Chen, X.; Liu , C.; Liu , C.; Meng, X.; Lee, C.M.; and Park, H. Preparation and biocompatibility of chitosan microcarriers as biomaterial. Biochemical Engineering Journal 27 (2006):269–274.

[9] Min, B.; Lee, S.W.; Lim, J.N.; You, Y.; Lee, T.S.; Kang, P.H.; and Park, W.H. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. Polymer 45 (2004):7137–7142.

[10] Hong, H.; Wei, J.; and Liu, C. Development of asymmetric gradational-changed porous chitosan membrane for guided periodontal tissue regeneration. Composites: Part B 38 (2007):311–316.

[11] Mi, F.L.; Shyu, S.S.; Wu, Y.B.; Lee, S.T.; Shyong, J.Y.; and Ro, H.R.N. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. Biomaterials 22 (2001):165–173.

[12] Yusof, N.L.M.; Lim, L.Y.; and Khor, E. Preparation and characterization of chitin beads as a wound dressing precursor. Journal of Biomedical Materials Research 54 (2001):59–68.

[13] "Chitosan dressing". [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.shanghai5f.com/EN/class.asp?LarCode=Dressing&MidCode=Chitosan+dressing.

[14] Li, F.; Liu, W.G.; and Yao, K.D. Preparation of oxidized glucosecrosslinked N-alkylated chitosan membrane and in vitro studies of pH-sensitive drug delivery behavior. Biomaterials 23 (2002):343–347.

[15] "ประโยชน์ของสารไคโตซาน". [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.poodang.net.

[16] Wan, A.C.A.; Khor, E.; and Hastings, G.W. Hydroxyapatite modified chitin as potential hard tissue substitute material. Journal of Biomedical Materials Research 38 (1997):235–241.

[17] Wang, X.; Ma, J.; Wang, Y.; and He, B. Structural characterization of phosphorylated chitosan and their applications as effective additives of calcium phosphate cements. Biomaterials 22 (2001): 2247-2255.

[18] Sunny, M.C.; Ramesh, P.; and Varma, H.K. Microstructured microspheres of hydroxyapatite ceramic. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 13 (2002):623–632.

[19] Chow, K.S.; Khor, E.; and Wan, A.C.A. Porous chitin matrices for tissue engineering: fabrication and in-vitro cytotoxic assessment. Journal of Polymer Research 8 (2001):27–35.

[20] Zhang, Y.; and Zhang, M. Synthesis and characterization of macroporous chitosan/calcium phosphate composite scaffolds for tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research 55 (2001):304–312.

[21] LeGeros, R.Z.; and LeGeros, J.P. **Dense Hydroxyapatite.** An introduction to bioceramics Singapore: World Scientific Publishing, (1993).

[22] Ge, Z.; Baguenard, S.; Lim, L.Y.; Wee, A.; and Khor, E. Hydroxyapatite–chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. Biomaterials 25 (2004):1049–1058.

[23] Cheng, G.J.; Pirzada , D.; Cai , M.; Mohanty , P.; and Bandyopadhyay, A. Bioceramic coating of hydroxyapatite on titanium substrate with Nd-YAG laser. Materials Science and Engineering: C 25 (2005):541 – 547.

[24] Arinzeh, T.L.; Tran, T.; Mcalary, J.; and Daculsi, G. A comparative study of biphasic calcium phosphate ceramics for human mesenchymal stem-cell- induced bone formation. Biomaterials 26 (2005):3631-3638.

[25] Aoki, H. Medical Application of Hydroxyapatite. Tokyo: Ishiyaky Euro America, (1994).

[26] Hench, L.L.; and Wilson, J. (editor). An Introduction to Bioceramics. Singapore: World Scientific Publishing, (1993).

[27] Rathje, W. Zur Kentnis de Phosphate I. Uber Hydroxyapatite. In: Inorganic Synthesis Vol.7 USA: Mcgraw-Hill Book, (1963).

[28] Hayek, E.; and Newesely, H. Pentacalcium Monohydroxyorthophosphate. In: Inorganic Synthesis Vol.7 USA: Magraw-Hill Book Company, (1963).

[29] Monma, H.; and Kamiya, T. Preparation of hydroxyapatite by the hydrolysis of brushite. Journal of Materials Science 22 (1987): 4247-4250.

[30] Ben-Nissan, B.; Milev, A.; and Vago, R. Morphology of sol-gel derived nano-coated coralline hydroxyapatite. Biomaterials 25 (2006): 4971-4975.

[31] Coreño J.A.; Coreño O.A.; Cruz J.J.R.; and RodrÍguez C.C. Mechanochemical synthesis of nanocrystalline carbonate-substituted hydroxyapatite. Optical Materials 27 (2005): 1281-1285.

[32] Sun, Y.; Guo, G.; Tao, D.; and Wang, Z. Reverse microemulsion-directed synthesis of hydroxyapatite nanoparticles under hydrothermal conditions. Journal of Physics and Chemistry of Solids 68 (2007): 373–377.

[33] Somiya, S.; Loku, K.; and Yoshimura, M. Hydroxyapatite Synthesis and Characterization of Fine Apatite Crystals. Ceramic Developments 34(1988): 371-378.

[34] Nakajima, A.; Takakuwa, K.; Kameshima, Y.; Hagiwara, M.; Sato, S.; Yamamoto, Y.; Yoshida, N.; Watanabe, T.; and Okada, K. Preparation and properties of titania-apatite hybrid films. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 177 (2006): 94-99.

[35] “ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) วัสดุทดแทนกระดูก”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.mtec.or.th/th/news/cool_stuff/cool.html.

[36] “ความสำคัญของการศึกษาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.md.chula.ac.th/th/HARP/pdf/07.pdf.

[37] “วัสดุเชิงประกอบ”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.bg.ic.ac.uk/Lecture/Hench/ BioCamp/Chap3.html.

[38] Kokubo, T. Surface chemistry of bioactive glass-ceramics. Journal of Non-crystalline Solid 120 (1990): 138-151.

[39] Tachaboonyakiat, W.; Serizawa, T.; and Akashi M. Hydroxyapatite formation on/in biodegradable chitosan hydrogels by an alternate soaking process. Polymer Journal 33 (2001): 177-181.

[40] Manjubala, I.; Scheler, S.; Bössert, J.; and Jandt, K.D. Mineralisation of chitosan scaffolds with nano-apatite formation by double diffusion technique. Acta Biomaterialia 2 (2006): 75-84.

[41] Ehrlich, H.; Krajewska, B.; Hanke, T.; and Born, R. Chitosan membrane as a template for hydroxyapatite crystal growth in a model dual membrane diffusion system. Journal of Membrane Science 273 (2006): 124-128.

[42] Mathieu, L.M.; Bourban, P.E.; and Månson, J.A.E. Processing of homogeneous ceramic/polymer blends for bioresorbable composites. Composites Science and Technology 66 (2006): 1606–1614.

[43] Kong, L.; Gao, Y.; Cao, W.; Gong, Y.; Zhao, N.; and Zhang, X. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds. Journal of Biomedical Materials Research Part A 75(2) (2005): 275-282.

[44] Hu, Q.; Li, B.; Wang, M.; and Shen, J. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture. Biomaterials 25 (2004): 779-785.

[45] Viala, S.; Freche, M.; and Lacout, J.L. Preparation of a new organic-mineral composite: chitosan-hydroxyapatite. Annales de Chimie Science des Matériaux 23(1-2) (1998): 69-72.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์

ก.1 การตรวจสอบการกระจายตัวของไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายในวัสดุเชิงประกอบ

ตาราง ก.1 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในบริเวณที่แตกต่างกัน ที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงจากเทคนิค TGA

เวลา (ชั่วโมง)	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
24	34	39	36	36.33	2.51
48	37	45	45	42.33	4.61
72	46	50	49	48.33	2.08
96	51	47	50	49.33	2.08
120	47	46	54	49	4.35

ก.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์จาก 3 ชุดการทดลอง

ตาราง ก .2 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงจากเทคนิค TGA

เวลา (ชั่วโมง)	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
24	44.5	44	36	41.50	4.77
48	48.5	50	45	47.83	2.57
72	46	60	49	51.67	7.37
96	50	63	50	54.33	7.51
120	42.5	50	54	48.83	5.84

ตาราง ก.3 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1, 1.5, 1.75 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของไคโตซาน (% โดยน้ำหนัก)	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	57	54	55	55.33	1.53
1.5	62.5	55	62.5	60.00	4.33
1.75	64.5	57	59	60.17	3.88
2	62	56.5	65.5	61.33	4.54

ตาราง ก.4 อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของ $CaCl_2$ และ Na_2HPO_4 ที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ในแต่ละสูตร

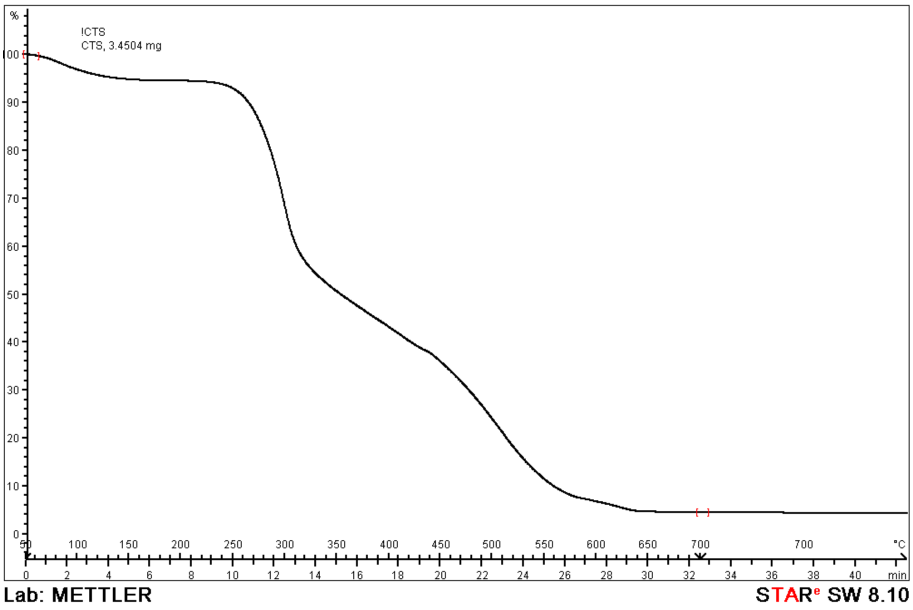
สูตร	$CaCl_2$ (M)	Na_2HPO_4 (M)
HA1	0.20	0.12
HA2	0.40	0.24
HA3	0.60	0.36
HA4	0.80	0.48
HA5	1.00	0.60
HA6	2.00	1.20

ตาราง ก.5 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 72 ชั่วโมง

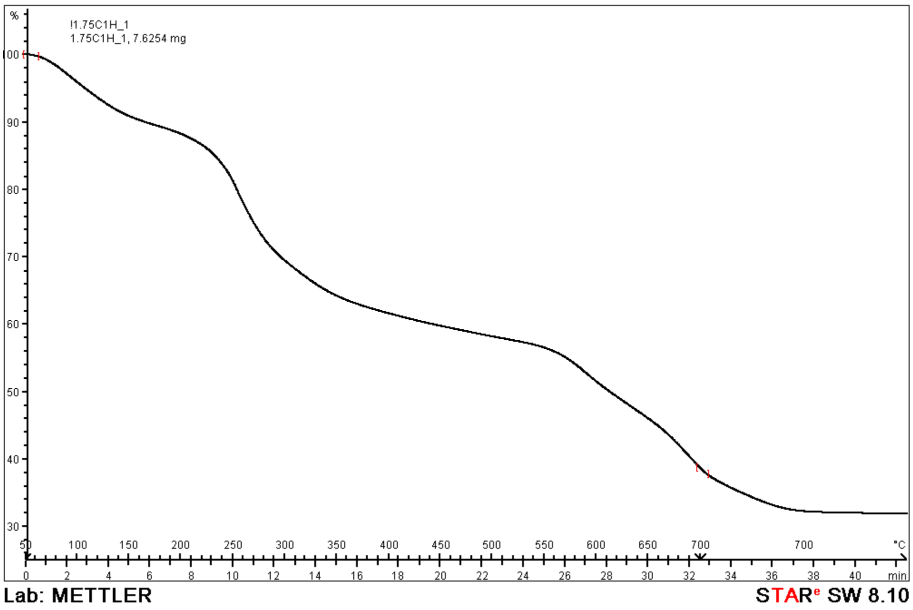
สูตร	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
HA1	36	40	42	39.33	3.06
HA2	50	54	51	51.67	2.08
HA3	60	53	51	54.67	4.73
HA4	46	62	50	52.67	8.33
HA5	55	59	53	55.67	3.06
HA6	57	58	59	58	1

ตาราง ก.6 ร้อยละของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการแพร่ผ่านของอิออน 72 ชั่วโมง

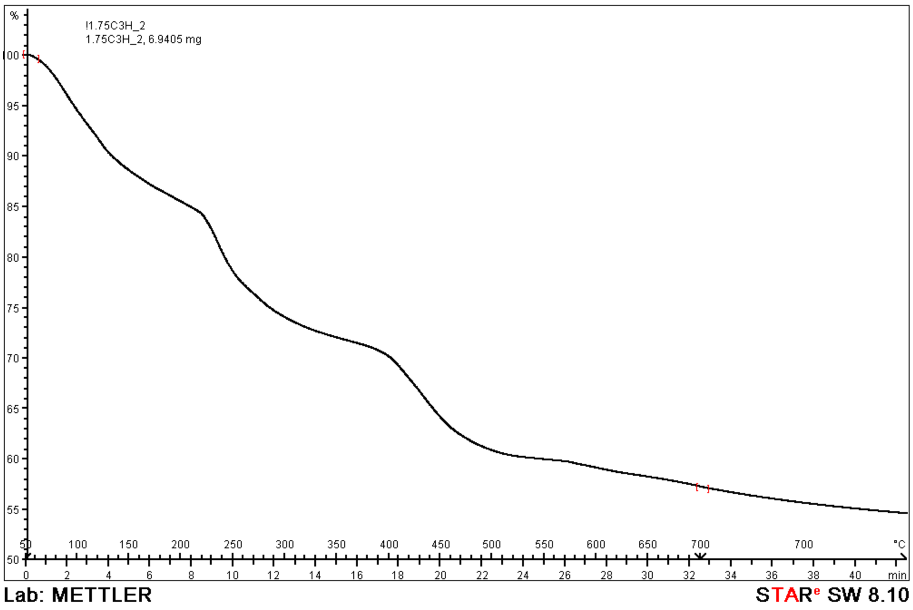
สูตร	สัดส่วนไฮดรอกซีอะพาไทต์ (%)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
HA1	41	43	32	38.67	5.86
HA2	52	48	50	50.00	2.00
HA3	48	58	53.5	53.17	5.01
HA4	53.5	43	51	49.17	5.48
HA5	57	50	52	53.00	3.61
HA6	65	43	57	55.00	11.14



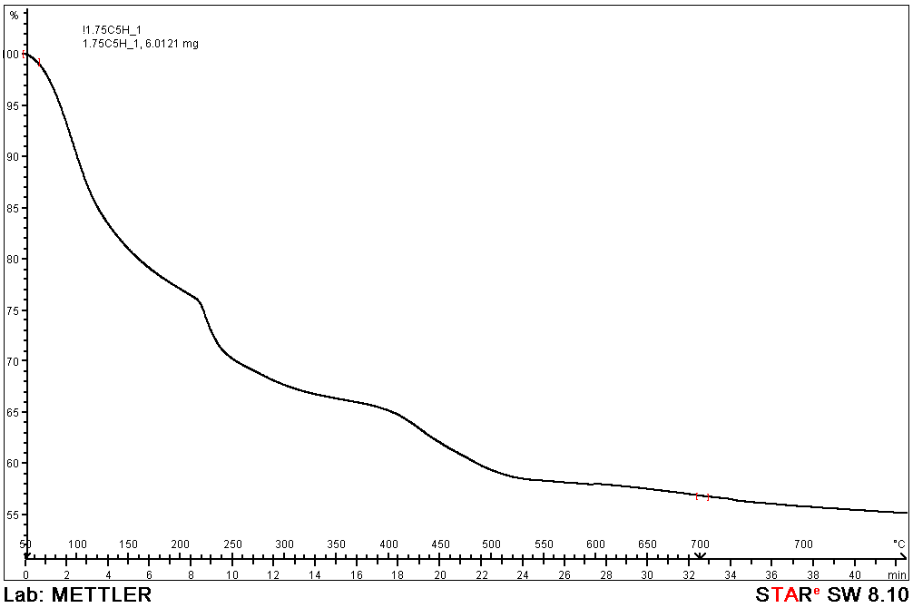
รูป ก.1 TGA เทอร์โมแกรมของไคโตซาน



รูป ก.2 TGA เทอร์โมแกรมของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ HA1



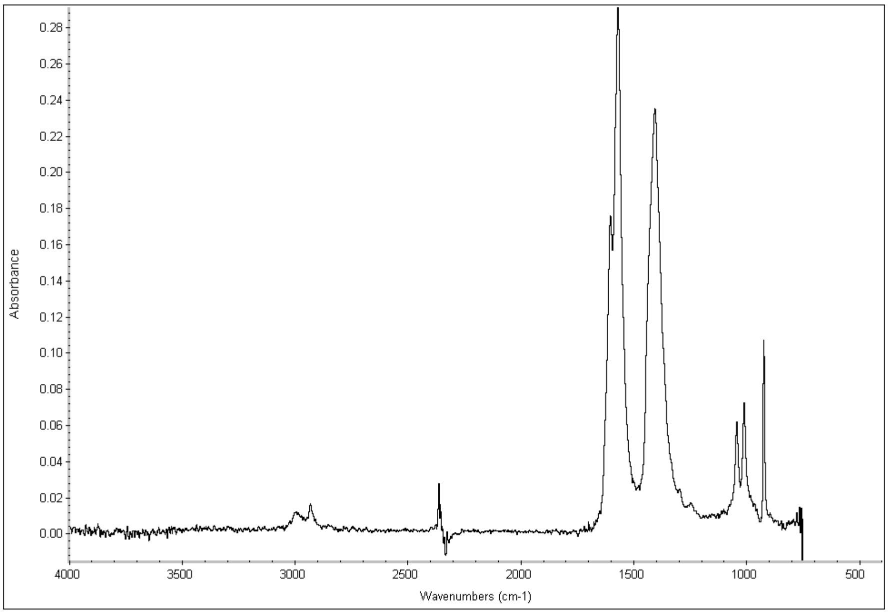
รูป ก.3 TGA เทอร์โมแกรมของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ สูตร HA3



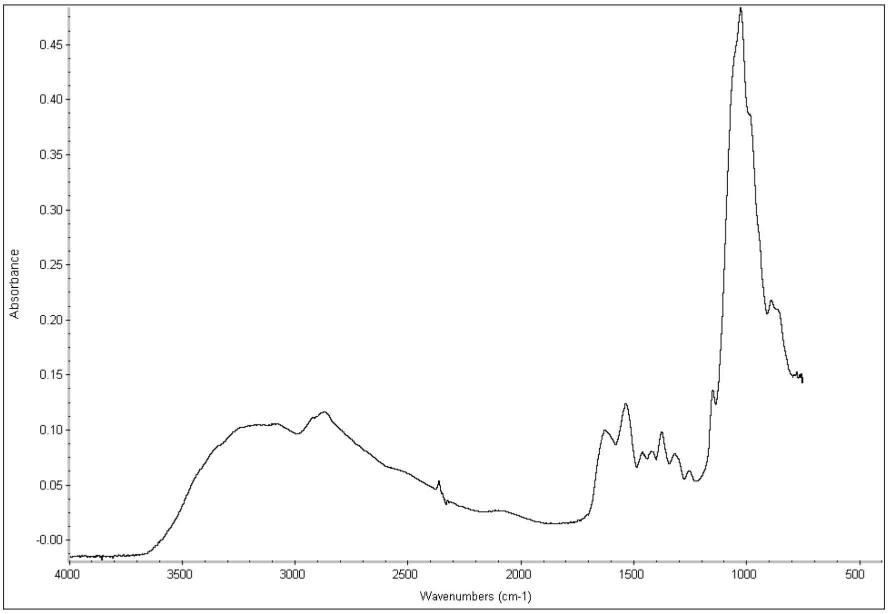
รูป ก.4 TGA เทอร์โมแกรมของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์ สูตร HA5

ภาคผนวก ข

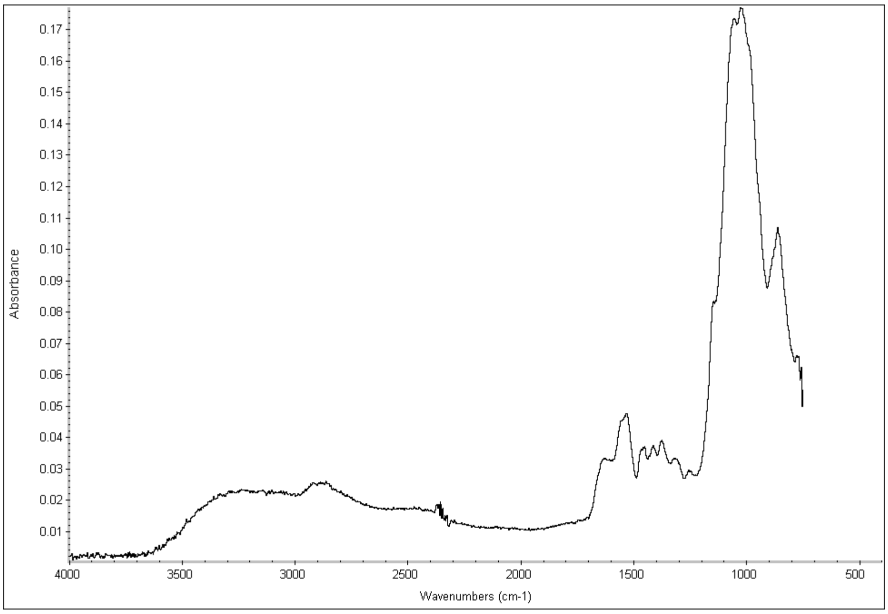
การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค FT-IR



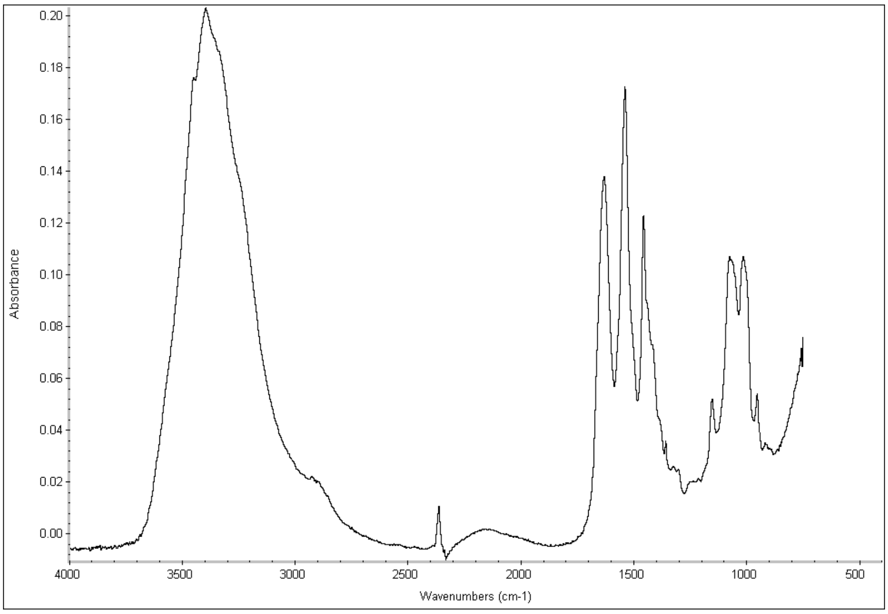
รูป ข.1 FT-IR ของไคโตซาน



รูป ข.2 FT-IR ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1



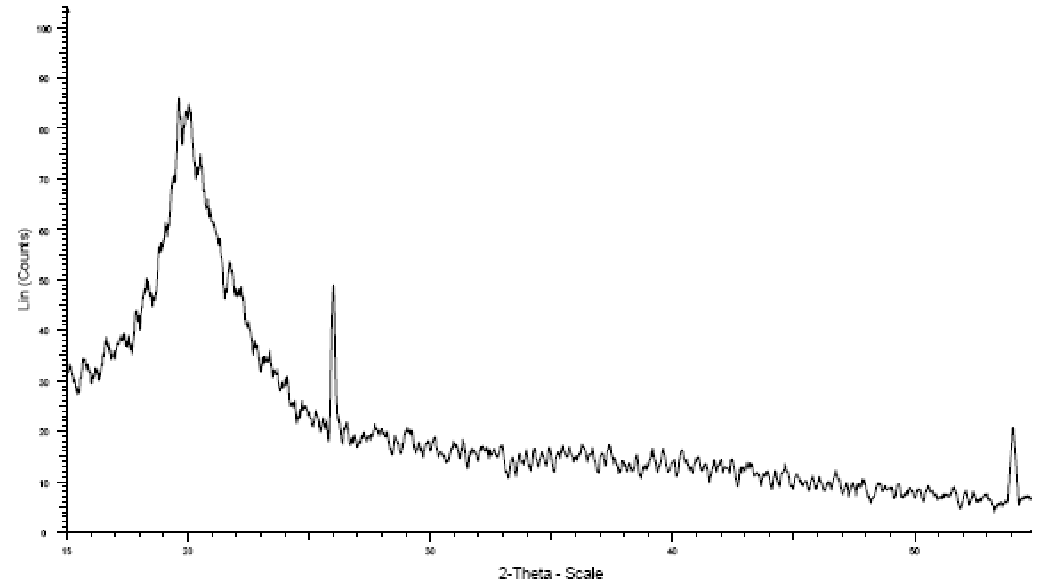
รูป ข.3 FT-IR ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA3



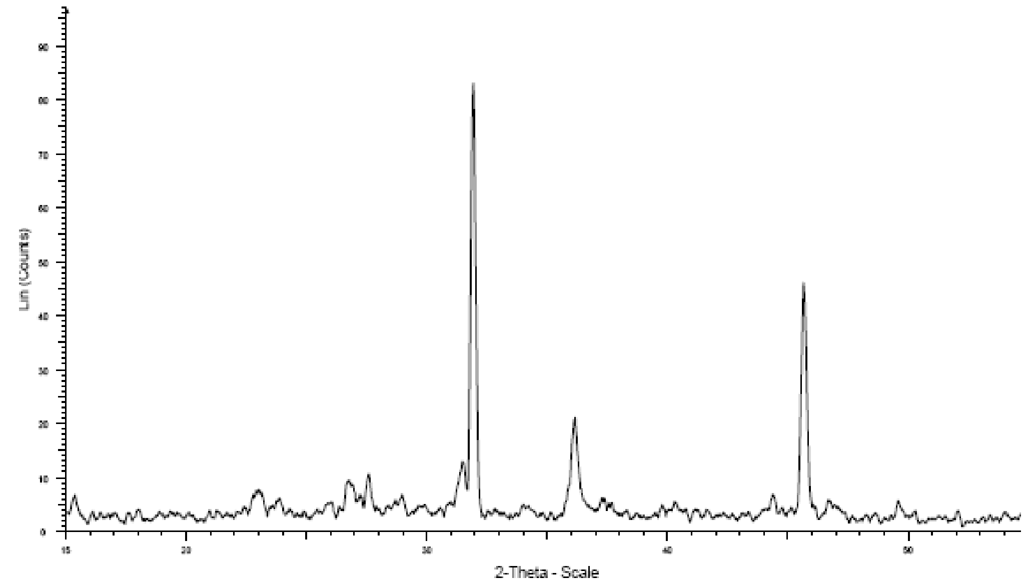
รูป ข.4 FT-IR ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA5

ภาคผนวก ค

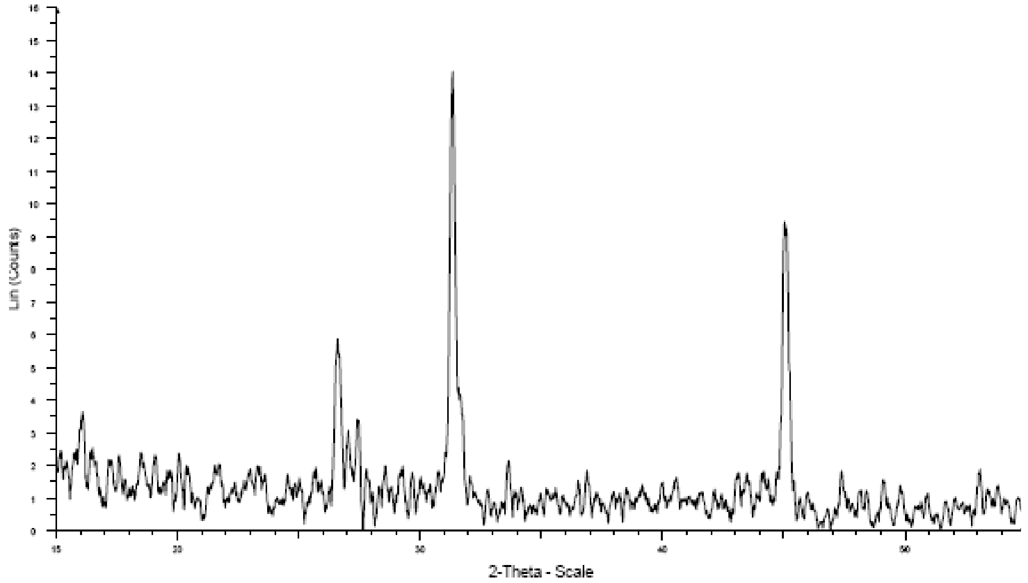
การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ด้วยเทคนิค XRD



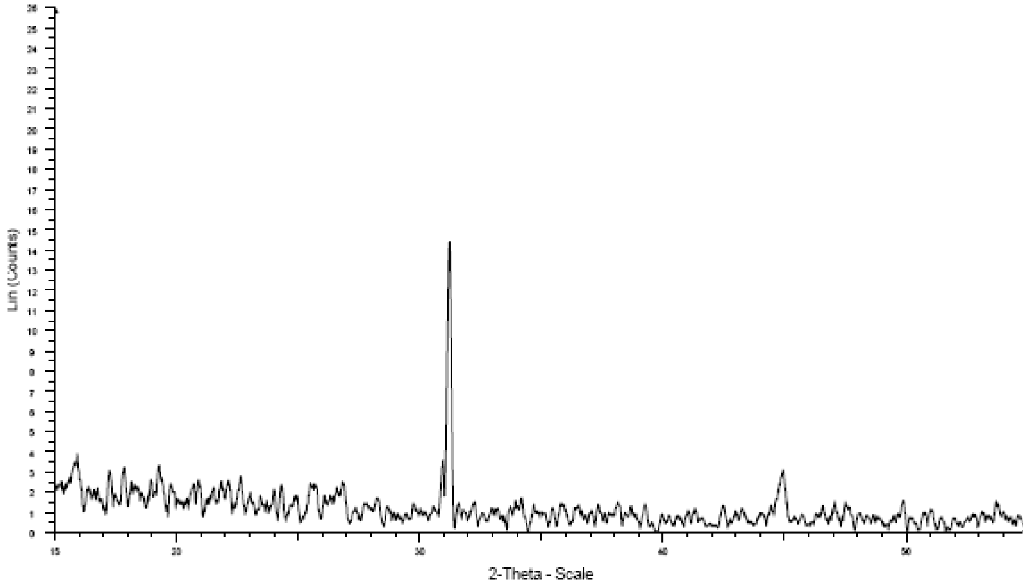
รูป ค.1 XRD ของไคโตซาน



รูป ค.2 XRD ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1



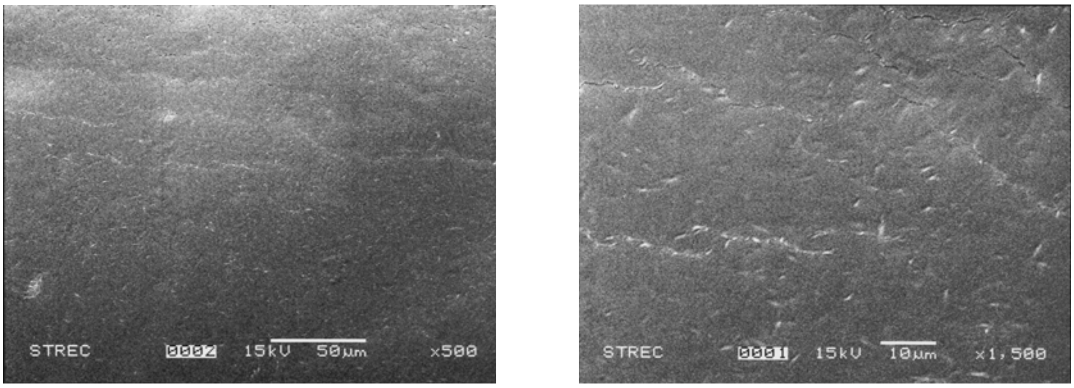
รูป ค.3 XRD ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA3



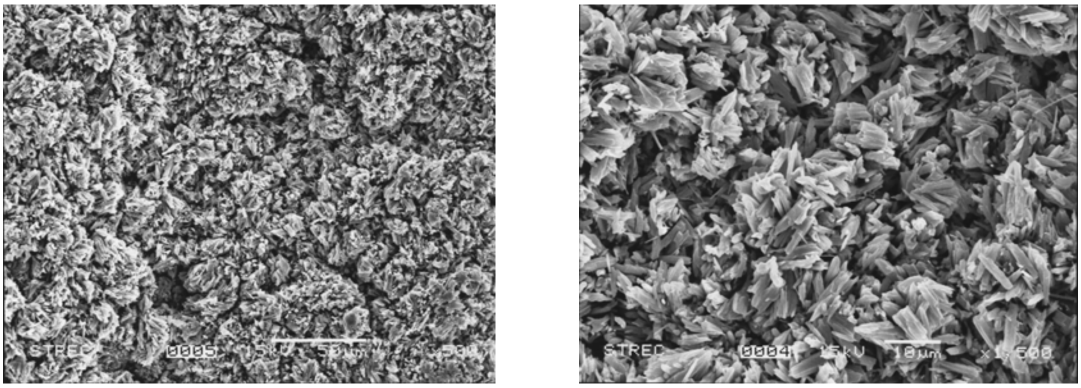
รูป ค.4 XRD ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA5

ภาคผนวก ง

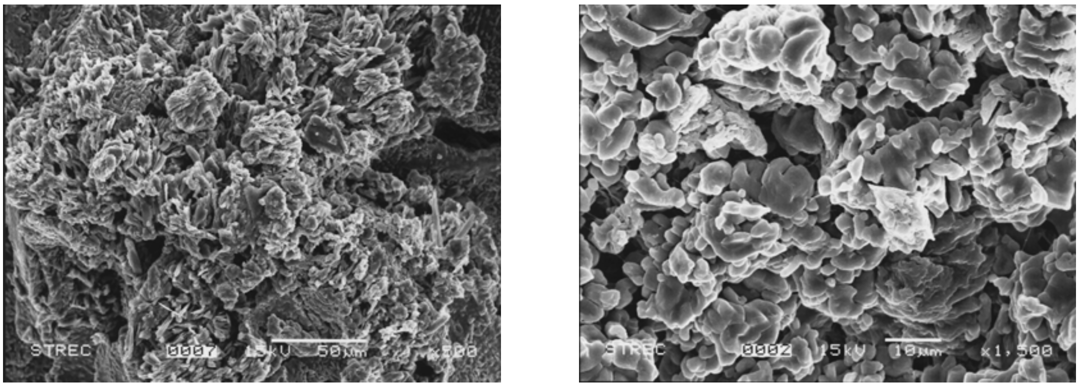
การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานภายนอกของวัสดุเชิงประกอบด้วยเทคนิค SEM



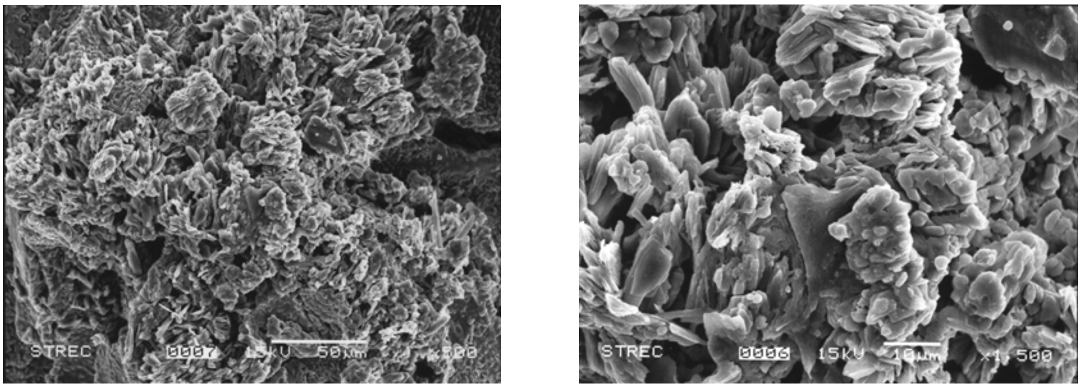
รูป ง.1 SEM ของไคโตซาน (กำลังขยาย 500 และ 1500 เท่า)



รูป ง.2 SEM ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA1 (กำลังขยาย 500 และ 1500 เท่า)



รูป ง.3 SEM ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA3 (กำลังขยาย 500 และ 1500 เท่า)



รูป ง.4 SEM ของวัสดุเชิงประกอบไคโตซานและไฮดรอกซีอะพาไทต์สูตร HA5 (กำลังขยาย 500 และ 1500 เท่า)

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุด้วยเทคนิค EDS

ตาราง จ.1 อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส

สูตร	Ca/P	Ideal Ca/P
HA1	8.84	
HA2	7.77	1.67
HA3	5.47	

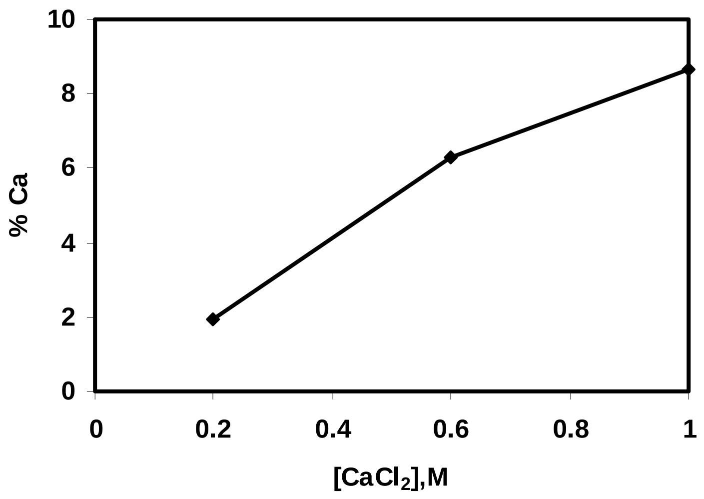
ตาราง จ.2 แคลเซียมที่หลงเหลือในวัสดุเชิงประกอบ

สูตร	% Atomic				Ca_{remain} [c]
	Ca [a]	Ca [b]	P [a]	Ideal Ca/P	
HA1	1.92	0.37	0.22		1.55
HA3	6.29	1.35	0.81	1.67	4.94
HA5	8.63	2.64	1.58		5.99

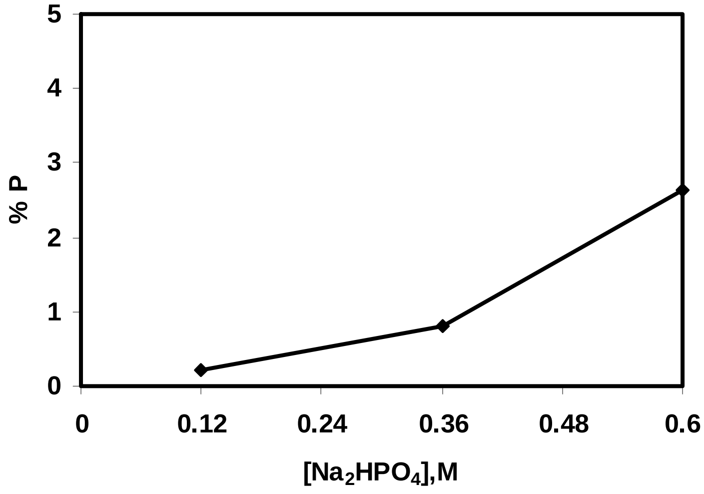
a ได้จาก % Atomic ที่วิเคราะห์จาก EDS

b ได้จากการคำนวณปริมาณ Ca ที่เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ เมื่อมีปริมาณ P จากการทดลอง (a)

c ปริมาณ Ca ions ที่เหลือจากการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งคำนวณจาก ปริมาณ Ca จากการทดลองหักจากปริมาณ Ca ที่เกิดเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์



รูป จ.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุแคลเซียมและความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เริ่มต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์



รูป จ.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุฟอสฟอรัสและความเข้มข้นของสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเริ่มต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวดุสิดา สหาวัตร เกิดเมื่อวันที่ 20 สิงหาคม พ.ศ.2526 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ภาควิชาวิทยาการและวิศวกรรมวัสดุ สาขาวิชาปิโตรเคมีและวัสดุพอลิเมอร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ในปีการศึกษา 2548 หลังจากนั้นจึงเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อภาคปลายปีการศึกษา 2548 และสำเร็จการศึกษาในภาคต้นของปีการศึกษา 2550 รวมระยะเวลาในการศึกษา 2 ปี