



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

**โครงการ: การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไฮดรอกซีแอปาทิต/พอลิเอทิลีนกลูตาเรต
สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์**

โดย ผศ.ดร.ปณณมา ศิริพันธ์โนน และคณะ

มิถุนายน 2549



สัญญาเลขที่ MRG4780131

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

**โครงการ: การเตรียมวัสดุเชิงประกอบไฮดรอกซีแอปาทาइट/พอลิเอทิลีนกลูตาเรต
สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์**

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. ผศ.ดร.ปณณมา ศิริพันธ์โนน
2. รศ.ดร.สุพัตรา จินาวัฒน์
3. รศ.ดร.เข็มชัย เหมะจันทร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

วัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปาทาइटกับพอลิเอทิลีนกลูตาเรตสามารถเตรียมได้ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงของสารประกอบวงโอลิโกเอทิลีนกลูตาเรตภายในรูปพรุนของก้อนไฮดรอกซีแอปาทาइट โดยเริ่มต้นจากการแช่ก้อนไฮดรอกซีแอปาทาइटในสารละลายผสมของสารประกอบวงโอลิโกเอทิลีนกลูตาเรตและตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ประมาณ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันที่อุณหภูมิ 200°C ภายใต้สภาวะสูญญากาศเป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พอลิเอทิลีนกลูตาเรตที่เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงในวัสดุเชิงประกอบมีลักษณะเป็นชั้นฟิล์มบางปกคลุมบนพื้นผิวเกรนของผลึกไฮดรอกซีแอปาทาइट ปริมาณพอลิเอทิลีนกลูตาเรตในก้อนวัสดุเชิงประกอบมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าในช่วงประมาณ 13 – 16 % โดยน้ำหนัก ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของพอลิเอทิลีนกลูตาเรตในก้อนวัสดุเชิงประกอบวิเคราะห์ด้วยเจลเพอมีเอชันโครมาโทกราฟีมีค่าอยู่ในช่วง 4,300 – 6,800 กรัม/โมล ค่าความแข็งแรงกดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 3 MPa ของก้อนไฮดรอกซีแอปาทาइटที่มีรูปพรุนเป็น 11 – 15 MPa ของก้อนวัสดุเชิงประกอบทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณของพอลิเอทิลีนกลูตาเรตในก้อนวัสดุเชิงประกอบ การทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพทำได้โดยการแช่วัสดุเชิงประกอบในสารละลายจำลองเซลล์ของเหลวในร่างกายที่อุณหภูมิ 36.5°C เป็นระยะเวลา 7 – 28 วัน หลังจากการแช่ในระบบจำลองเป็นระยะเวลานานพบว่าการก่อตัวของชั้นผลึกที่มีลักษณะเกรนทรงกลมปกคลุมบนพื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบ ชั้นผลึกดังกล่าวประกอบด้วยผลึกขนาดนาโนของไฮดรอกซีแอปาทาइटที่ก่อตัวจากสารละลายจำลองเซลล์ของเหลวในร่างกาย การก่อตัวของผลึกลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้เป็นวัสดุที่มีความว่องไวทางชีวภาพ

ABSTRACT

Hydroxyapatite/poly(ethylene glutarate) (HAp/PEG) biomaterial composites were prepared by ring-opening polymerization (ROP) of cyclic oligo(ethylene glutarate) (C-PEG) in porous HAp scaffolds. The HAp/C-PEG pre-composites were prepared by immersing the porous HAp scaffolds in the mixture solution of C-PEG and dibutyl tin oxide catalyst overnight and polymerizing at 200°C for 24, 48 and 72 hours under vacuum. PEG in the composites was present as a thin layer coating on the HAp grains and was evenly distributed throughout the samples. The PEG content was about 13 – 16 wt% and decreased with increasing of polymerization time. Its molecular weight ($\overline{M}_w$, weight average) measured by gel permeation chromatography was in a range of 4,300 – 6,800 g/mol. Compressive strength of the HAp/PEG composites was significantly increased from 3 MPa of the porous HAp scaffold to 11 – 15 MPa depending on the PEG content in the composites. *In vitro* bioactivity of the HAp/PEG composites was studied by soaking in simulated body fluid (SBF) at 36.5°C for 7 – 28 days. After prolonged soaking, the HAp nanocrystals precipitated from the SBF solution and formed as a layer of globular aggregates, coated on the composite surfaces. This result suggested that the HAp/PEG composite was a bioactive material.

Executive Summary

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปพาไทต์กับพอลิเอทิลีนกลูตาเรต (HAp/PEG) สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ โดยศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบ จากนั้นศึกษาสมบัติเชิงกลและสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ โดยในช่วงแรกเริ่มจากการสังเคราะห์วัตถุดิบไฮดรอกซีแอปพาไทต์ (HAp) ด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วมระหว่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับกรดฟอสฟอริกในสภาวะที่เป็นเบสสูง สารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีวัฏภาคองค์ประกอบหลัก คือ ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ โดยอัตราส่วนโมลระหว่างแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca:P) ใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎี (1.67) จากนั้นนำไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่เตรียมได้มาขึ้นรูปเป็นก้อนเซรามิกที่มีรูพรุน ในส่วนของวัตถุดิบพอลิเมอร์เริ่มจากสังเคราะห์พอลิเอทิลีนกลูตาเรต (PEG) ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นจากสารตั้งต้นไดเมทิลกลูตาเรต เอทิลีนไกลคอล และตัวเร่งปฏิกิริยาเตตระไฮโซโพรพิลออกซิเจนที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 7 วัน PEG ที่ได้มีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก ($\overline{M}_w$) ประมาณ 3500 และมีค่าการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) เท่ากับ 1.8 จากนั้น PEG ที่ได้นำไปทำปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงภายใต้สภาวะสารละลายเจือจางสูงโดยใช้ไดบิวทิลทินออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบวงโอดีโกเอทิลีนกลูตาเรต (C-PEG) ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กเหมาะสมแก่การเตรียมวัสดุเชิงประกอบ สารประกอบวง C-PEG มีค่า M_w ของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าประมาณ 570 ซึ่งมีค่าต่ำกว่า $\overline{M}_w$ ของสารตั้งต้น PEG

ในขั้นถัดเตรียมวัสดุเชิงประกอบโดยการแช่ก้อนเซรามิก HAp ในสารละลายของสารประกอบวง C-PEG และตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงที่อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะสุญญากาศ วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้มีค่าความหนาแน่นเพิ่มจากก้อนเซรามิก HAp ประมาณ 12 – 16 % เนื่องจากมี PEG จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงแทรกอยู่ในรูพรุนภายในก้อนเซรามิก ปริมาณ PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG มีค่าประมาณ 13 – 16 % โดยน้ำหนัก ค่าความหนาแน่นของก้อนวัสดุเชิงประกอบแปรผันตรงกับปริมาณของ PEG แต่แปรผกผันกับระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง โดย PEG ที่เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงมีค่า $\overline{M}_w$ อยู่ในช่วง 4,300 – 6,800 ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ค่าความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบอยู่ในช่วง 11 – 15 MPa ซึ่งมีค่าแปรผันโดยตรงกับปริมาณพอลิเอทิลีนกลูตาเรตในวัสดุเชิงประกอบ

การทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ทำได้โดยการแช่วัสดุเชิงประกอบในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (Simulated Body Fluid, SBF) ที่อุณหภูมิ 36.5°C ภายใต้การควบคุมอัตราการไหลของสารละลายที่ 130 มิลลิลิตรต่อวัน เป็นระยะเวลา 7 – 28 วัน ภายหลังจากแช่ในสารละลาย SBF พบว่ามีการก่อตัวของชั้นผลึกใหม่ที่มีโครงสร้างจุลภาคเป็นเกรนทรงกลมคล้ายลูกบอล ซึ่งประกอบด้วยผลึกขนาดเล็กระดับนาโนเป็นแท่งคล้ายเข็มของ HAp จำนวนมากรวมตัวกันอยู่ และจากการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค SEM-EDS พบว่าปริมาณธาตุบนพื้นผิววัสดุเชิงประกอบเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/C และ Ca/P มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่ก้อนวัสดุเชิงประกอบในสารละลาย SBF เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการสลายตัวของพอลิเอทิลีนกลูตาเรตร่วมกับการก่อตัวของชั้นผลึกใหม่จากสารละลาย SBF บนพื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบ ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงถึงสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของก้อนวัสดุประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้

สารบัญ

บทคัดย่อ	A
ABSTRACT	B
Executive Summary	C
สารบัญ	E
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	2
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	3
บทที่ 2 การสังเคราะห์วัตถุดิบและการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์	4
2.1 การสังเคราะห์วัตถุดิบและการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์	5
2.1.1 ไฮดรอกซีแอปาทาइट (HAp)	5
2.1.2 พอลิเอทิลีนกลูตาเรต (Poly(ethylene glutarate), PEG)	5
2.1.3 สารประกอบวงโอลิโกเอทิลีนกลูตาเรต	
(Cyclic oligoethylene glutarate, C-PEG)	6
2.2 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	7
2.2.1 ไฮดรอกซีแอปาทาइट (HAp)	7
2.2.2 พอลิเอทิลีนกลูตาเรต (Poly(ethylene glutarate), PEG)	8
2.2.3 สารประกอบวงโอลิโกเอทิลีนกลูตาเรต	10
(Cyclic oligoethylene glutarate, C-PEG)	
บทที่ 3 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์	13
3.1 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปาทาइटกับพอลิเอทิลีนกลูตาเรต	14
(HAp/PEG Composite) และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์	
3.2 การทดสอบความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG	15
3.3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	16
3.3.1 ลักษณะทางกายภาพและลักษณะโครงสร้างจุลภาคของ	16
ก้อนวัสดุเชิงประกอบ	
3.3.2 วัฏภาคที่เป็นผลึกจากเทคนิค XRD	21
3.3.3 ความหนาแน่นของก้อนวัสดุเชิงประกอบและปริมาณ ROP-PEG	22
ในวัสดุเชิงประกอบ	

3.3.4 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบ	23
3.3.5 สมบัติด้านความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ	25
บทที่ 4 การศึกษาสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG	28
4.1 การเตรียมสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (Simulated body fluid, SBF)	29
4.2 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG	30
4.3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	38
5.1 การสังเคราะห์วัสดุติบไฮดรอกซีแอปาทิตและการขึ้นรูป	39
5.2 การสังเคราะห์วัสดุติบพอลิเอทิลีนกลูตาเรตและ สารประกอบวงโพลิเอทิลีนกลูตาเรต	39
5.3 วัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปาทิตกับพอลิเอทิลีนกลูตาเรต	39
5.4 แนวทางที่ควรจะศึกษาต่อไป	40
เอกสารอ้างอิง	41
Output ที่ได้จากโครงการ	44
ภาคผนวก	45

บทที่ 1

บทนำ

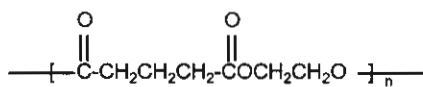
1.1 ความสำคัญและที่มา

เมื่ออวัยวะและเนื้อเยื่อในร่างกายเกิดการติดเชื้อหรือถูกทำลายเนื่องจากโรคภัยไข้เจ็บ และอุบัติเหตุ การบำบัดรักษาโรคหนึ่งวิธีหนึ่งที่ใช้กันตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันได้แก่ การเปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อจากธรรมชาติ (Transplantation) โดยจะทำการผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่บกพร่องออก แล้วแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อจากอวัยวะส่วนอื่นในร่างกายผู้ป่วยเอง เนื้อเยื่อผู้บริจาคทั้งที่ยังมีชีวิตอยู่ (เช่น หัวใจ หัวใจและปอด ไต ตับ เรตินา) หรือเสียชีวิตแล้วก็ได้ (เช่น กระดูก) หรือเนื้อเยื่อจากสิ่งมีชีวิตสปีชีส์อื่นทั้งที่ยังมีชีวิตอยู่หรือเสียชีวิตแล้วก็ได้ (เช่น ลิ้นหัวใจจากหมู) อย่างไรก็ตามการรักษาวิธีนี้ประสบปัญหาหลายประการ เช่น ปัญหาด้านปริมาณและแหล่งที่มาของเนื้อเยื่อที่มีจำกัดจึงก่อให้เกิดความยากลำบากและความล่าช้าในการบำบัดรักษาผู้ป่วย ปัญหาด้านคุณภาพของเนื้อเยื่อธรรมชาติซึ่งขึ้นโดยตรงกับสุขภาพและอายุของผู้บริจาค ปัญหาด้านระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะก่อให้เกิดการล้มเหลวภายหลังการบำบัดรักษา และปัญหาด้านศีลธรรม เป็นต้น

ในช่วง 50 กว่าปีที่ผ่านมา มีการศึกษาค้นคว้าด้านวัสดุทางการแพทย์และอวัยวะเทียมอย่างกว้างขวาง การศึกษาเหล่านี้นำไปสู่การค้นพบวัสดุชนิดใหม่ที่มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่เหมาะสมแก่การนำมาผลิตเป็นอวัยวะเทียมเพื่อใช้ทดแทนอวัยวะบางส่วนภายในร่างกายที่บกพร่อง เช่น กระดูกเทียม รากฟันเทียม ลิ้นหัวใจเทียม ข้อต่อสะโพกเทียม ฯลฯ วัสดุสังเคราะห์และอวัยวะเทียมประเภทนี้ช่วยแก้ไขปัญหามากหลายประการที่เกิดกับเนื้อเยื่อธรรมชาติได้ ดังนั้นในปัจจุบันการบำบัดรักษาโดยการเปลี่ยนถ่ายด้วยอวัยวะเทียม (Implantation) จึงมีบทบาทสำคัญในทางการแพทย์ วัสดุหลายชนิดได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยและพัฒนาจนสามารถนำมาใช้ได้จริงในร่างกายมนุษย์ ในระยะแรกนิยมใช้วัสดุที่เฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาในทางชีวภาพ (Bioinert) อย่างไรก็ตามอวัยวะเทียมที่ผลิตจากวัสดุเหล่านี้ยังถือเป็นสิ่งแปลกปลอมเมื่อนำมาใช้ในร่างกาย ดังนั้นร่างกายจึงสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาห่อหุ้มอวัยวะเทียมนั้น การเคลื่อนไหวที่บริเวณรอยต่อระหว่างอวัยวะเทียมและเนื้อเยื่อเดิมของร่างกาย จะมีผลทำให้ความหนาของเนื้อเยื่อที่ร่างกายสร้างขึ้นมาห่อหุ้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการเสื่อมหลุดของอวัยวะเทียม ทำให้อายุการใช้งานของอวัยวะเทียมสั้นลง วัสดุสังเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพ (Bioactive materials) และไม่เป็นพิษต่อร่างกายถูกเสนอขึ้นมาเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น เนื่องจากอวัยวะเทียมที่ผลิตจากวัสดุสังเคราะห์ชนิดนี้สามารถเชื่อมติดกับเนื้อเยื่อภายในร่างกายได้โดยตรงด้วยการสร้างสารอนินทรีย์ที่มีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกับกระดูกขึ้นที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุสังเคราะห์และเนื้อเยื่อเดิม ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเสื่อมหลุดของอวัยวะเทียมภายหลังการทำศัลยกรรมได้ วัสดุที่มีความว่องไวทางชีวภาพที่ได้รับความสนใจมาก ได้แก่ วัสดุที่ผลิตจากไฮดรอกซีแอปพาไทต์ เนื่องจากไฮดรอกซีแอปพาไทต์เป็นแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักในกระดูกและฟัน อย่างไรก็ตามไฮดรอกซีแอปพาไทต์เป็นสารที่

สมบัติเชิงกลค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงสมบัติดังกล่าวของวัสดุสังเคราะห์เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อนำไปใช้งานจริงในร่างกาย

ทางเลือกหนึ่งที่นักวิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจในการวิจัยและพัฒนา คือ การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของไฮดรอกซีแอปพาไทต์ด้วยการเตรียมเป็นวัสดุเชิงประกอบกับสารพอลิเมอร์บางประเภทที่มีความยืดหยุ่นคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่ออ่อนประเภทเส้นใยคอลลาเจนและเส้นเอ็นในร่างกายมนุษย์ พอลิเอสเทอร์เป็นกลุ่มพอลิเมอร์ที่น่าสนใจเนื่องจากมีสมบัติเชิงกลและสมบัติความว่องไวทางชีวภาพที่หลากหลายขึ้นกับโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ ดังนั้นจึงสามารถเลือกชนิดของพอลิเมอร์ที่มีสมบัติเชิงกลและสมบัติความว่องไวทางชีวภาพที่เหมาะสมกับการใช้งานในส่วนต่างๆของร่างกายได้ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้พอลิเอทิลีนกลูตาเรต ซึ่งเป็นพอลิเอสเทอร์ที่มีโครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอนสายโซ่ตรง (รูปที่ 1.1) โครงสร้างลักษณะดังกล่าวทำให้พอลิเอทิลีนกลูตาเรตมีความยืดหยุ่นและมีแนวโน้มเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ในทางชีวภาพ จากสมบัติดังกล่าวพอลิเอทิลีนกลูตาเรตจะช่วยประสานและค้ำจุนโครงสร้างของวัสดุเชิงประกอบในช่วงแรกเมื่อนำไปใช้งาน แต่เมื่อเวลาผ่านไปพอลิเมอร์ที่อยู่ส่วนนอกของวัสดุเชิงประกอบจะถูกย่อยสลายและถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อตามธรรมชาติ



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของพอลิเอทิลีนกลูตาเรต

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1.2.1 เพื่อเตรียมวัสดุเชิงประกอบไฮดรอกซีแอปพาไทต์/พอลิเอทิลีนกลูตาเรต และหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบ
- 1.2.2 ศึกษาสมบัติเชิงกลบางประการ และสมบัติความว่องไวในทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้โดยใช้ระบบจำลองของร่างกาย

บทที่ 2

การสังเคราะห์วัตถุดิบและการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

2.1 การสังเคราะห์วัสดุก่อสร้างและการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

2.1.1 ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ (HAp)

HAp สามารถสังเคราะห์ด้วยเทคนิคการตกตะกอนร่วม (Co-precipitation) โดยใช้สารตั้งต้นแคลเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.25 โมล/ลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.6 โมล/ลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร กรดฟอสฟอริกจะถูกเติมลงในด้วยสารแขวนลอยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยเครื่องควบคุมอัตราการหยดสารที่อัตราการหยด เท่ากับ 1.1 มิลลิลิตร/นาที่ พร้อมกับเติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) ที่อัตราการหยด 1.5 มิลลิลิตร/นาที่ เพื่อควบคุม pH ของสารละลาย จากนั้นกรองตะกอนที่ได้ด้วยเครื่องกรองลดความดันแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

จากนั้นทำการขึ้นรูป HAp ที่สังเคราะห์ได้เป็นก้อนเซรามิกที่มีรูพรุน โดยแบ่งรูปแบบการขึ้นรูปเป็น 2 วิธีดังนี้

(ก) การขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก

นำผง HAp ที่ผ่านการแคลไซน์แล้วไปผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ซึ่งเป็นสารสร้างรูพรุนในอัตราส่วน HAp:PVA เท่ากับ 4:1 โดยน้ำหนัก นำของผสมที่ได้ประมาณ 1 กรัมมาอัดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก ได้เป็นชิ้นงานทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตร จากนั้นนำก้อนชิ้นงาน HAp ที่ได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 1100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

(ข) การขึ้นรูปแบบการลดความดัน

ละลาย PVA ปริมาณ 4 กรัม บั่นลงในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร พร้อมให้ความร้อนเป็นเวลา 45 นาที เติม HAp ที่สังเคราะห์ได้ ปริมาณ 20 กรัมลงในสารละลาย PVA (อัตราส่วน HAp:PVA เท่ากับ 4:1 โดยน้ำหนัก) ทำการปั่นจนต่อเนื่องเป็นเวลา 20 นาที นำของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองลดความดัน และทำการตัดชิ้นงานให้มีขนาด $1.0 \times 1.0 \times 1.0 \text{ cm}^3$ นำชิ้นงาน HAp ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำก้อนชิ้นงาน HAp มาเผาที่อุณหภูมิ 1100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ก้อนเซรามิกที่เตรียมได้ถูกนำไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคการคายรังสีเอ็กซ์ (X-ray fluorescence spectroscopy, XRF; Bruker AG, SRS3400) เทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffractometry, XRD; Bruker AG, D8 Advance) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM; LEO, LEO1455VP)

2.1.2 พอลิเอทิลีนกลูตาเรต (Poly(ethylene glutarate), PEG)

การสังเคราะห์ PEG ทำโดยผสมไดเมทิลกลูตาเรต 128 กรัม และเอทิลีนไกลคอล 50 กรัม ในขวดสามคอต่อใบพัดกวน อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิและชุดกลั่นเข้ากับขวดสามคอให้ความร้อน

ที่อุณหภูมิ 100°C จากนั้นเติมตัวเร่งปฏิกิริยาเตตระไฮโซโพรพิลออกโทททาเนต 0.7 มิลลิลิตร (0.5% โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์ไดเมทิลกลูตาเรต) แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 150°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาและทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาละลายด้วยไดคลอโรมีเทน แล้วนำมาตกตะกอนในเมทานอลพร้อมปั่นกรองอย่างรุนแรง ทิ้งให้ตกตะกอนอย่างสมบูรณ์ แล้วกรองด้วยเครื่องกรองลดความดัน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล นำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C ในตู้อบลดความดันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและหาเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่ได้ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR; Bruker AG, NMR 300 ULTRA SHIELD) โดยใช้เตตระเมทิลไซเรนเป็นสารละลายมาตรฐาน เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectrometry, FT-IR; Bruker AG, IFS28) และหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิคเจลเพอร์เมชันโครมาโทกราฟี (Gel permeation chromatography, GPC; Millipore, WATER 150-cv) โดยใช้พอลิสไตรีนเป็นสารละลายมาตรฐาน

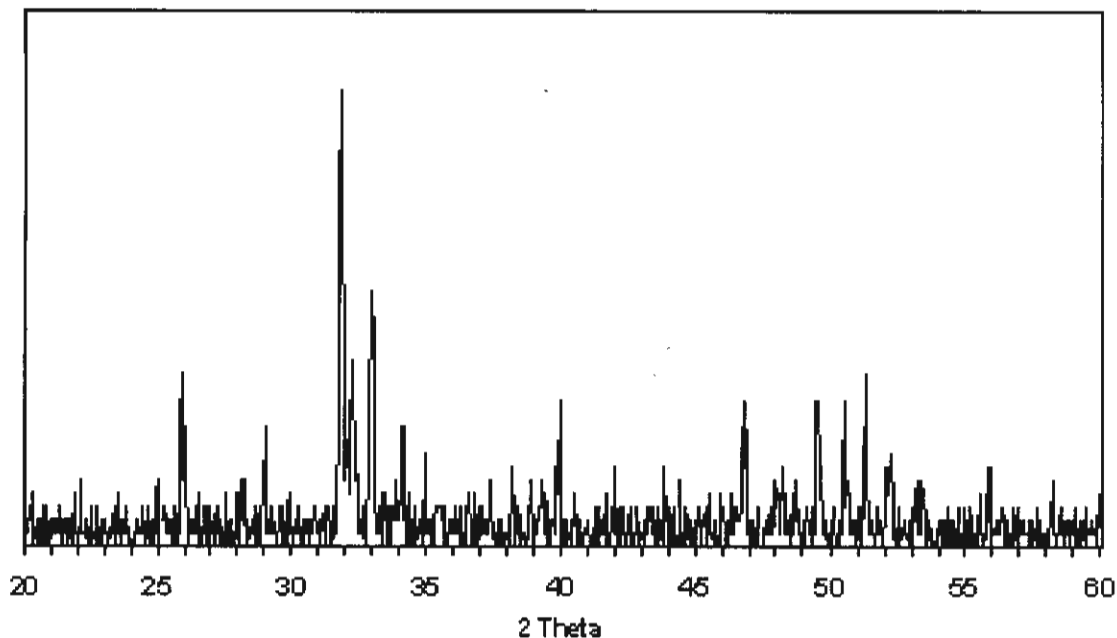
2.1.3 สารประกอบวงโกลิโกเอทิลีนกลูตาเรต (Cyclic oligoethylene glutarate, C-PEG)

เนื่องจาก PEG เป็นพอลิเมอร์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่จึงยากแก่การนำไปใช้ในการเตรียมวัสดุเชิงประกอบร่วมกับ HAp ดังนั้นจึงนำ PEG มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมเป็นสารประกอบวง C-PEG ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง โดยสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันแบบปิดวง (Cyclodepolymerization, CDP) โดยนำ PEG ที่สังเคราะห์ได้ปริมาณ 4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ 0.19 กรัม (3% โมลของหน่วยซ้ำพอลิเมอร์) และตัวทำละลายคลอโรเบนซีน 240 มิลลิลิตร (อัตราส่วนพอลิเมอร์ต่อตัวทำละลาย 1:60 กรัม/มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดก้นกลม ทำการรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำไประเหยตัวทำละลาย นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปอบด้วยตู้อบลดความดันที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค NMR FT-IR GPC และดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริเมทรี (Differential scanning calorimetry, DSC; Pyris Diamond DSC)

2.2 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

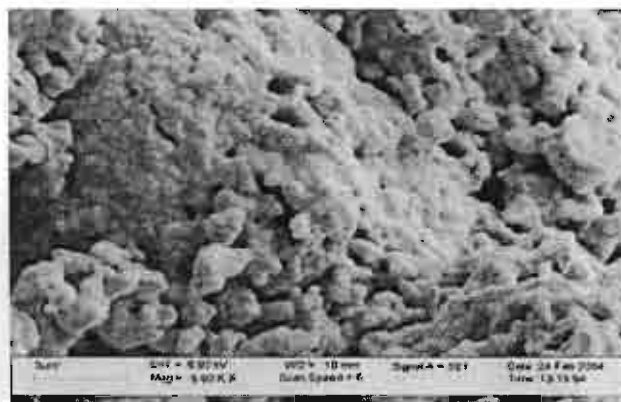
2.2.1 ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HAp)

ผง HAp ที่สังเคราะห์ได้จากวิธีการตกตะกอนร่วมและถูกนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปขึ้นรูปเป็นก้อนเซรามิกตัวอย่างและเผาที่อุณหภูมิ 1100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ได้เป็นก้อนเซรามิกที่มีรูพรุน ซึ่งเมื่อนำไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRF เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมี พบว่าก้อนเซรามิกที่เตรียมได้นั้นประกอบด้วย CaO อยู่ในช่วง 55.0 – 56.5 % โดยน้ำหนัก และ P_2O_5 อยู่ในช่วง 43.0 – 44.5 % โดยน้ำหนัก โดยคิดเป็นอัตราส่วนโดยโมลของ Ca:P อยู่ในช่วง 1.56 – 1.67 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎีของ HAp คือ 1.67 และนำก้อนเซรามิกที่ได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD เพื่อหาวัฏภาคผลึก พบว่า ไฮดรอกซีแอพาไทต์ (HAp) เป็นวัฏภาคผลึกที่เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งปรากฏพิกที่สำคัญในตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.9, 31.8, 32.2, 32.9, 39.6, 46.5 และ 49.4 องศา ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของ HAp ที่สังเคราะห์ได้ภายหลังการขึ้นรูปและเผาที่อุณหภูมิ 1100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

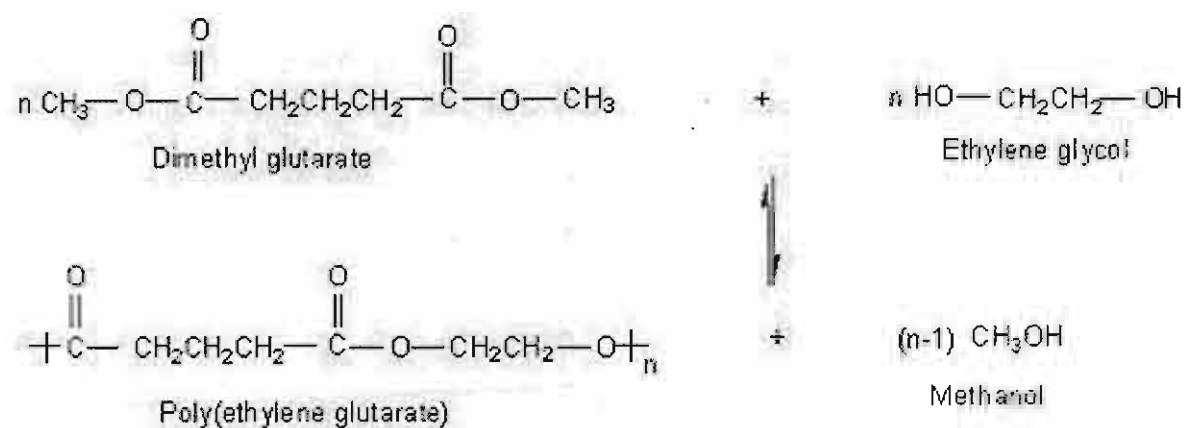
เมื่อนำก้อนเซรามิกภายหลังการเผาที่อุณหภูมิ 1100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ไปตรวจวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคด้วย SEM พบว่า ผลึกของ HAp มีลักษณะเป็นเกรนค่อนข้างกลมเชื่อมต่อกันและมีช่องว่างที่เกิดจากการสลายตัวของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เป็นผลให้ชิ้นงานที่ได้มีรูพรุนเปิดทั้งภายในและภายนอกก้อนเซรามิก ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของชิ้นงาน HAp ที่ผ่านกระบวนการขึ้นรูปและเผาที่อุณหภูมิ 1100 °C (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

2.2.2 พอลิเอทิลีนกลูตาเรต (Poly(ethylene glutarate), PEG)

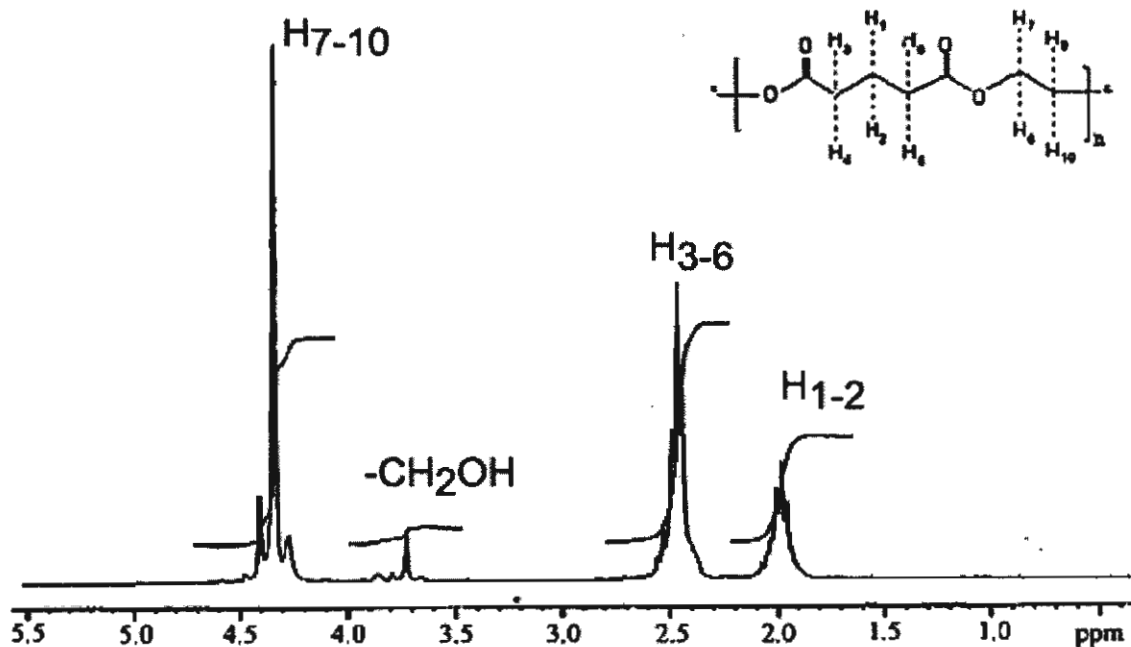
PEG สังเคราะห์ได้ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นระหว่างไดเมทิลกลูตาเรตและเอทิลีนไกลคอล โดยมีเตตระไฮโซโพรพิลออกโทพิทาเนตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 170 °C ดังแสดงในสมการที่ 2.1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลและเปอรเซ็นต์ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 60



สมการที่ 2.1 ปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่นระหว่างไดเมทิลกลูตาเรตกับเอทิลีนไกลคอล

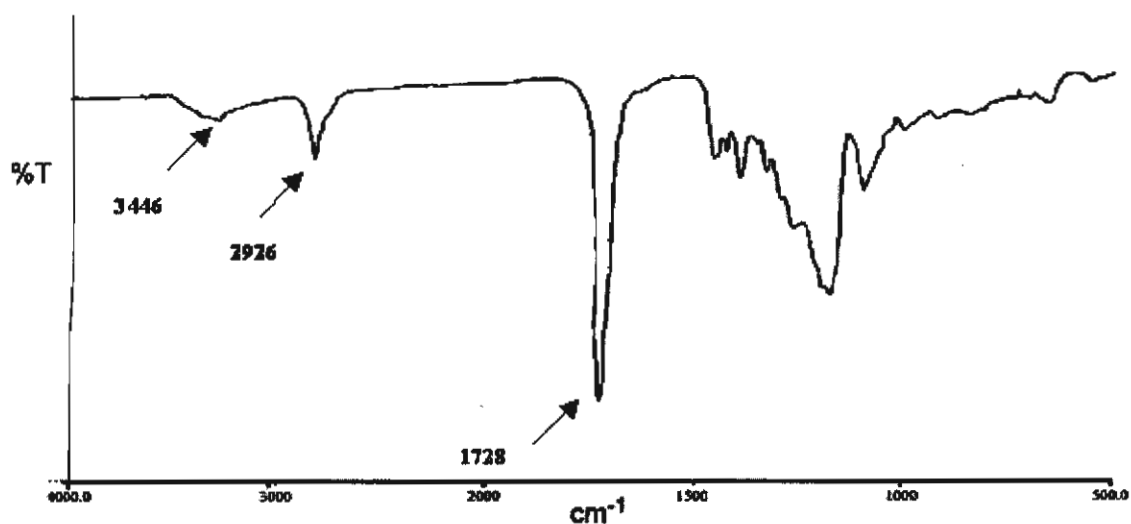
เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาควบแน่นตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ¹H-NMR จะได้สเปกตรัมดังแสดงในรูปที่ 2.3 จากสเปกตรัมพบว่ามีสัญญาณโปรตอนที่สำคัญของหมู่เมทิลจากสายโซ่หลักของ PEG เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง δ 4.1 – 4.5 ppm จาก -OCH₂CH₂- ที่ตำแหน่ง δ 1.8 – 2.1 ppm จาก -CH₂CH₂CH₂- และที่ตำแหน่ง δ 2.3 – 2.5 ppm จาก -COCH₂- นอกจากนี้ยังพบสัญญาณโปรตอนของหมู่เมทิลที่ตำแหน่งปลายสายโซ่ซึ่งอยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิล -CH₂OH ที่ตำแหน่ง

δ 3.6 – 4.0 ppm อย่างไรก็ตามเนื่องจากหมู่เมทิลที่ตำแหน่งปลายสายโซ่มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับหมู่เมทิลที่อยู่บนสายโซ่หลัก ดังนั้นสัญญาณโปรตอนที่พบจึงมีความเข้มต่ำมาก



รูปที่ 2.3 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ PEG ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่น

ในรูปที่ 2.4 แสดงสเปกตรัม FT-IR ของ PEG ที่สังเคราะห์ พบว่ามีสัญญาณการสั่นของหมู่ฟังก์ชันบนสายโซ่หลักของ PEG ที่ตำแหน่ง 1728 cm^{-1} จาก $\nu_{\text{C=O}}$ ของหมู่เอสเทอร์ ที่ตำแหน่ง 2426 cm^{-1} จาก $\nu_{\text{C-H}}$ ของอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน และพบสัญญาณการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิลที่ปลายสายโซ่ของ PEG ที่ตำแหน่ง 3446 cm^{-1} ผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลจากเทคนิค NMR

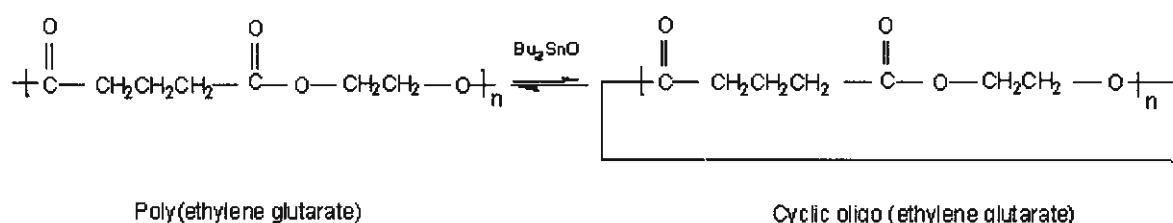


รูปที่ 2.4 สเปกตรัม FT-IR ของ PEG ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่น

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปหาค่าน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิคเจลเพอมีเอชันโครมาโทกราฟี (GPC) พบว่ามีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (M_w) เท่ากับ 3,500 และมีค่าการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) เท่ากับ 1.8

2.2.3 สารประกอบวงโพลิเอทิลีนกลูตาเรต (C-PEG)

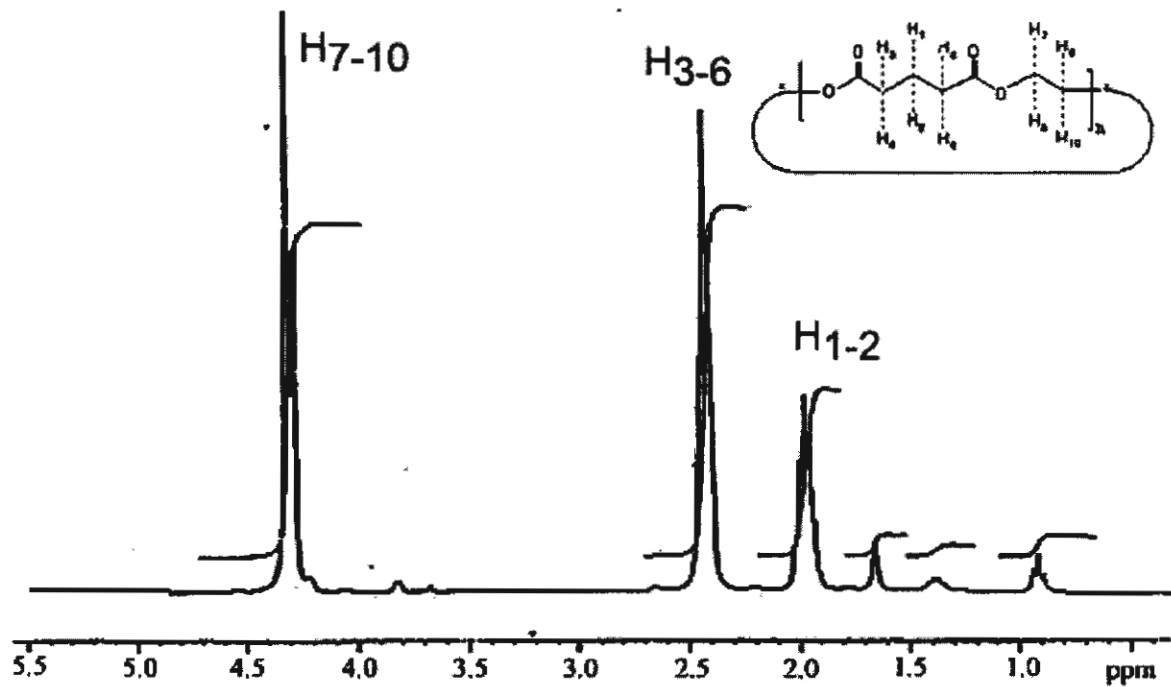
สารประกอบวง C-PEG ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กสามารถสังเคราะห์ได้จากวัตถุดิบ PEG ที่สังเคราะห์ได้ในขั้นตอนที่ผ่านมา โดยทำการรีฟลักซ์ PEG ในตัวทำละลายคลอโรเบนซีนและตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ในสภาวะสารละลายเจือจางสูงเป็นเวลา 10 วัน ในสภาวะดังกล่าวจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันแบบปิดวงดังแสดงในสมการที่ 2.2 ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลึกของแข็งสีเหลืองอมน้ำตาล มีเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 88



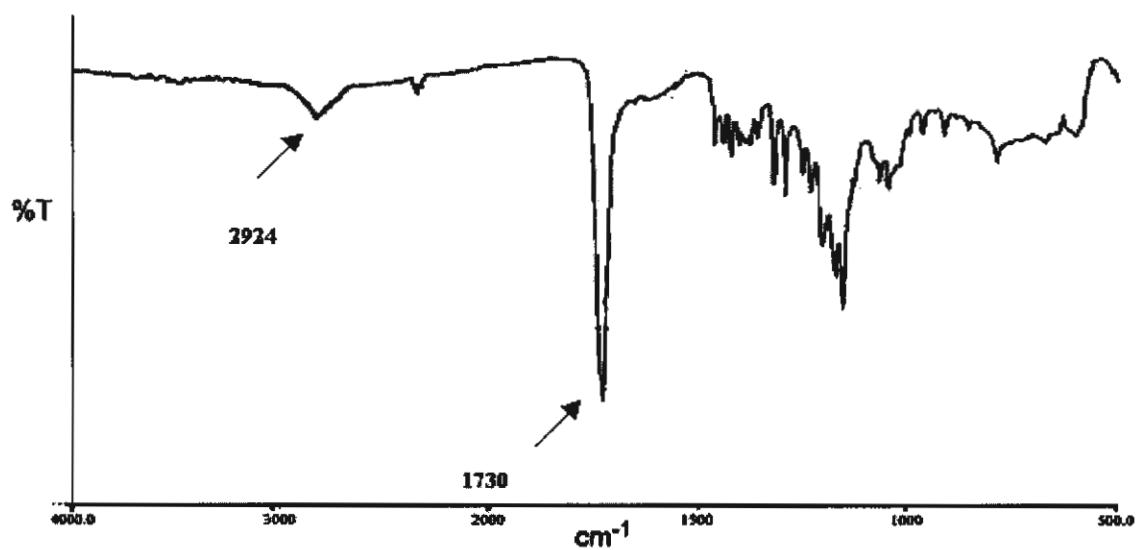
สมการที่ 2.2 ปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันแบบปิดวงของพอลิเอทิลีนกลูตาเรต (PEG)

เมื่อนำสารประกอบวงที่ได้จากปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันแบบปิดวงของ PEG ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ จะได้สเปกตรัมดังแสดงในรูปที่ 2.5 พบว่ามีสัญญาณโปรตอนที่ตำแหน่ง δ 4.1 – 4.5 ppm จาก $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ ที่ตำแหน่ง δ 1.8 – 2.1 ppm จาก $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ และที่ตำแหน่ง δ 2.3 – 2.5 ppm จาก $-\text{COCH}_2-$ เช่นเดียวกับสเปกตรัมของ PEG ในรูปที่ 2.3 เนื่องจากสัญญาณดังกล่าวเป็นของโปรตอนจากหมู่ฟังก์ชันบนสายโซ่หลัก ซึ่งหมู่ฟังก์ชันดังกล่าวเป็นองค์ประกอบหลักทั้งในพอลิเมอร์ PEG และ สารประกอบวง C-PEG อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมทั้งสองจะพบว่าปริมาณความเข้มของสัญญาณที่ตำแหน่ง δ ประมาณ 3.6 – 4.0 ppm ของหมู่เมทิลที่ตำแหน่งปลายสายโซ่ซึ่งอยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิล $-\text{CH}_2\text{OH}$ ในสเปกตรัมของ สารประกอบวง C-PEG มีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด ผลดังกล่าวแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาดีพอลิเมอร์ไรเซชันแบบปิดวงของ PEG ไปเป็นสารประกอบวง C-PEG จึงเป็นผลให้หมู่ปลายสายโซ่ของ PEG มีปริมาณลดลง

นอกจากนี้การเกิดสารประกอบวง C-PEG ยังสามารถยืนยันได้จากสเปกตรัม FT-IR ของ C-PEG ที่สังเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งในสเปกตรัมดังกล่าวไม่พบสัญญาณการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3446 cm^{-1}



รูปที่ 2.5 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ สารประกอบวง C-PEG ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันแบบปิดวง



รูปที่ 2.6 สเปกตรัม FT-IR ของ สารประกอบวง C-PEG ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันแบบปิดวง

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ของสารประกอบวงที่ได้ไปหาค่าน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค GPC พบว่ามีค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (M_w) เท่ากับ 430 และมีค่าการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) เท่ากับ 1.31 และเมื่อนำสารประกอบวงที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC พบว่าอุณหภูมิในการหลอมเหลวผลึกของสารประกอบวงที่ได้มีค่าเท่ากับ 127°C

บทที่ 3

การเตรียมวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

3.1 การเตรียมวัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปพาไทต์กับพอลิเอทิลีนกลูตาเรต (HAp/PEG Composite) และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์

วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG สามารถเตรียมได้จากก้อนเซรามิก HAp ที่เตรียมได้ในบทที่ 1 (ขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกและแบบกรองลดความดัน) ซึ่งแต่ละก้อนมีน้ำหนักชิ้นงานประมาณ 1 กรัม โดยนำก้อนเซรามิกมาแช่ในสารละลายของสารประกอบวง C-PEG ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบวง C-PEG จำนวน 0.5 กรัม และตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ปริมาณ 3% โมลโดยน้ำหนักของน้ำหนักหน่วยซ้ำพอลิเมอร์ ละลายในไดคลอโรมีเทน 5 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสาร 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายดังกล่าวใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นแช่ชิ้นงาน HAp ลงในสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำชิ้นงาน Pre-composite ออกจากสารละลายวางบนกระดาษฟิลา ค่อยๆ หยดสารละลายที่เหลือลงบนชิ้นงาน รอให้สารละลายถูกดูดเข้าสู่รูพรุนภายในชิ้นงาน แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยดสารละลายที่เหลือลงบนชิ้นงานต่อไปอีกทำสลับกันไปเช่นนี้จนชิ้นงานไม่สามารถดูดซับสารละลายได้หมด นำ Pre-composite ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายออก หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักชิ้นงาน Pre-composite ที่ได้

นำก้อน Pre-composite ที่ได้ใส่ในหลอดทดลองสำหรับทำปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันแบบเปิดวง (Ring-opening polymerization, ROP) ดังแสดงในรูปที่ 3.1 จากนั้นปิดหลอดทดลองในแนวนำไปทำให้อยู่ในสภาวะสุญญากาศ นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนโดยใช้อ่างทรายที่อุณหภูมิ 200 °C เป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำหลอดปฏิกิริยามาทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ไปชั่งน้ำหนัก



รูปที่ 3.1 ชุดอุปกรณ์สำหรับทำปฏิกิริยา ROP

ค่าความหนาแน่นของก้อนเซรามิก HAp และก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ด้วยวิธีการแทนที่น้ำ จากนั้นนำวัสดุเชิงประกอบไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD และตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคด้วยเทคนิค SEM และวิเคราะห์การกระจายตัวของธาตุองค์ประกอบภายในวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray spectrometry ร่วมกับ SEM (SEM-EDS) การหาปริมาณพอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในก้อนวัสดุเชิงประกอบสามารถทำได้โดยการชั่งน้ำหนักก้อน HAp บริสุทธิ์เปรียบเทียบกับก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้และจากเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทรี (Thermogravimetric analyzer, TGA; Pyris 1 TGA, Perkin Elmer)

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ส่วนของพอลิเมอร์ที่เกิดจากปฏิกิริยา ROP ภายในก้อนวัสดุเชิงประกอบทำได้โดยนำก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ไปแช่ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนเพื่อสกัดแยกส่วนของพอลิเมอร์ออกจากก้อนวัสดุเชิงประกอบ จากนั้นนำสารที่สกัดได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค NMR และหาน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค GPC โดยละลายสารที่สกัดได้นี้ด้วยตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (THF) เกรด HPLC แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์โดยใช้พอลิสไตรีนเป็นสารละลายมาตรฐาน

3.2 การทดสอบความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG

นำก้อนเซรามิก HAp และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG อย่างละ 3 ตัวอย่างมาทดสอบหาค่าความแข็งแรงกด (Compressive strength) โดยใช้เครื่องทดสอบอเนกประสงค์ (Universal testing machine) โดยมีสภาวะการทดสอบ ดังนี้

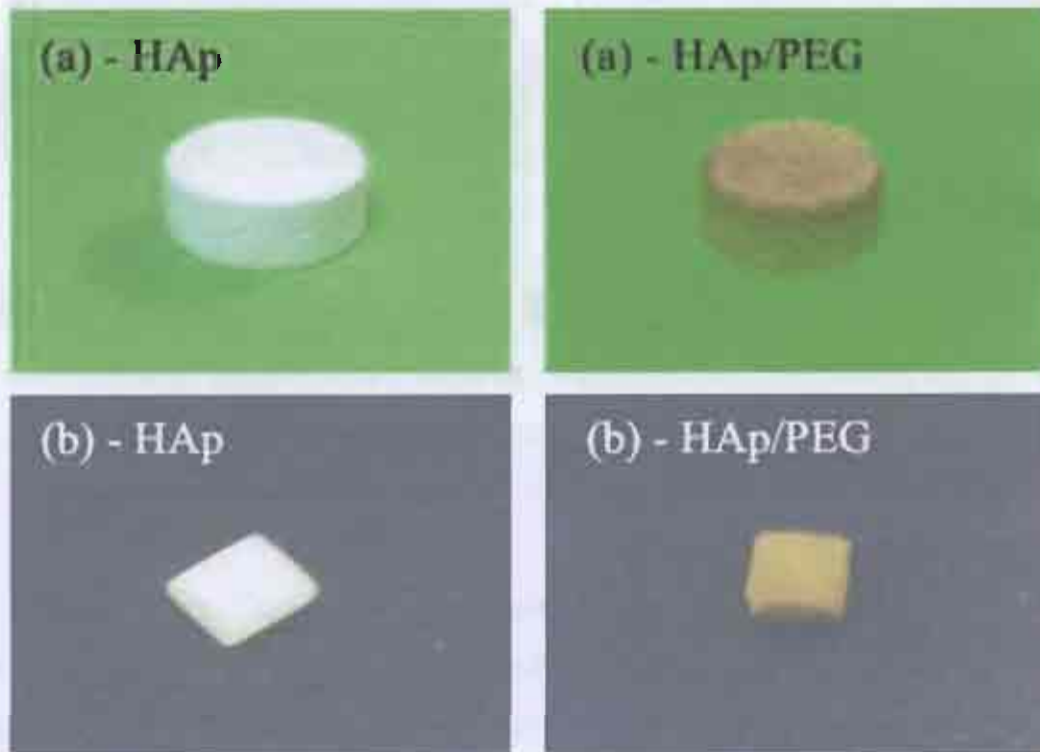
Load cell	: 30 kN
Test speed	: 2.5 mm/min

3.3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

3.3.1 ลักษณะทางกายภาพและลักษณะโครงสร้างจุลภาคของก้อนวัสดุเชิงประกอบ

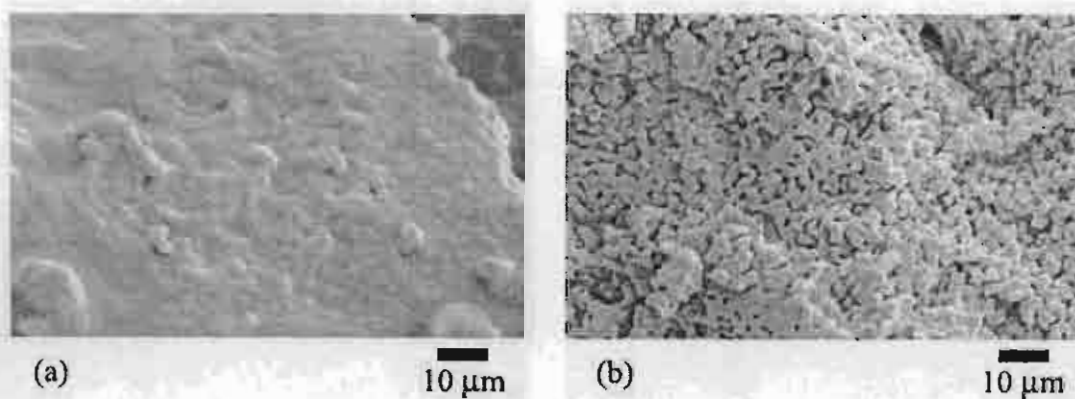
วัสดุเชิงประกอบเตรียมได้โดยแช่ก้อนเซรามิก HAp ที่ขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกและแบบกรองลดความดันในสารละลายของสารประกอบวง C-PEG และตัวเร่งปฏิกิริยาไดบิวทิลทินออกไซด์ แล้วนำไปทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะสุญญากาศ

รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะทางกายภาพภายนอกของก้อน HAp บริสุทธิ์ที่ขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิกและแบบกรองลดความดัน เปรียบเทียบกับลักษณะทางกายภาพภายนอกของก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ภายหลังจากการทำปฏิกิริยา ROP ของสารประกอบวง C-PEG พบว่าด้านนอกของก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมจากทั้งสองวิธีมีชั้นฟิล์มพอลิเมอร์สีเหลืองอมน้ำตาลปกคลุมพื้นผิวด้านนอกและพอลิเมอร์บางส่วนแทรกอยู่ในรูพรุนของก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้



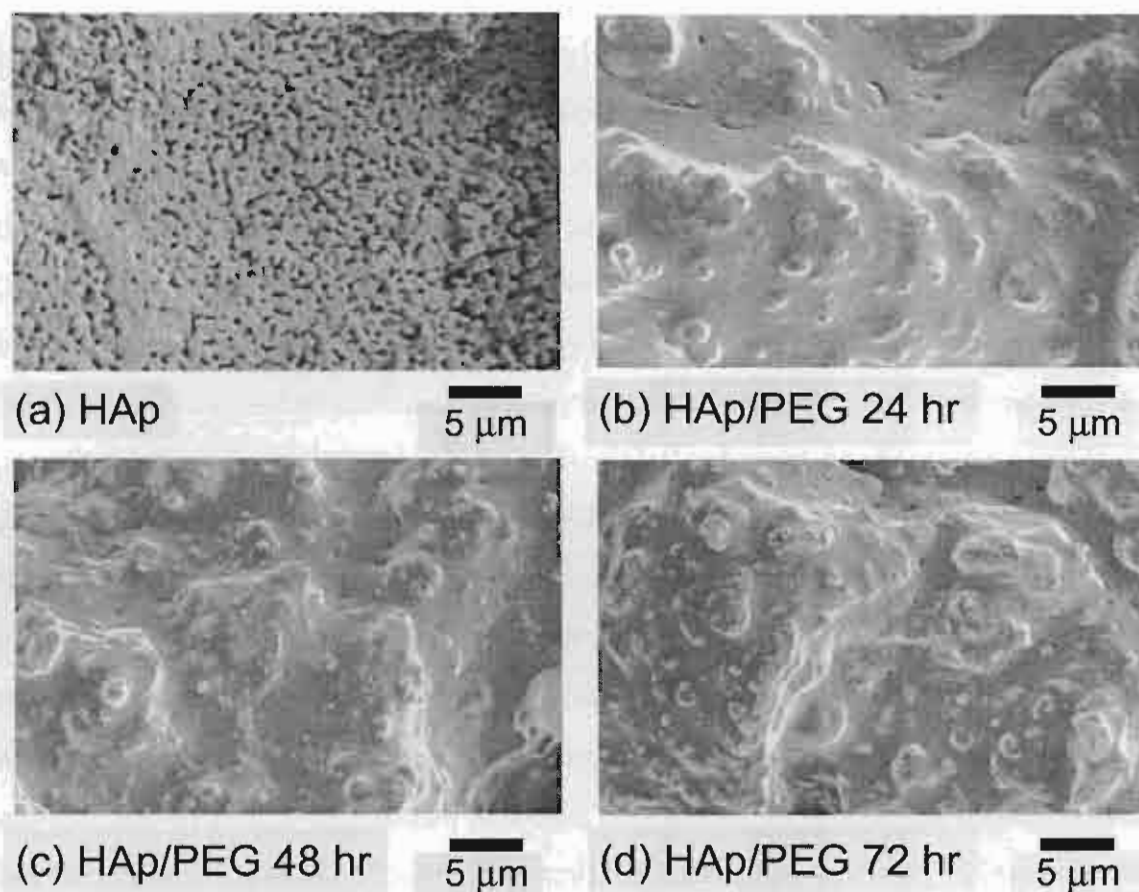
รูปที่ 3.2 ลักษณะทางกายภาพของก้อน HAp บริสุทธิ์ และ วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เวลา 24 ชั่วโมง โดยขึ้นรูป HAp ด้วย (a) เครื่องอัดไฮดรอลิก และ (b) แบบกรองลดความดัน

เมื่อนำก้อนวัสดุเซิงประกอบมาผ่าครึ่งแล้วนำไปศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค SEM เพื่อดูลักษณะทางกายภาพภายใน ในรูปที่ 3.3 แสดงลักษณะโครงสร้างจุลภาคภายนอกและภายในของก้อนวัสดุเซิงประกอบที่เตรียมจากก้อนเซรามิกขึ้นรูปด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก พบว่าก้อนวัสดุเซิงประกอบที่เตรียมจากเครื่องอัดไฮดรอลิกจะพบชั้นฟิล์มพอลิเมอร์เฉพาะด้านนอกของชิ้นงาน แต่ไม่พบในส่วนด้านในของก้อนวัสดุเซิงประกอบ ทั้งนี้เนื่องจากการขึ้นรูปวิธีนี้เนื้อเซรามิกจะอัดตัวกันแน่น เป็นผลให้รูพรุนมีปริมาณน้อยกว่าวิธีการกรองลดความดัน และรูพรุนบางส่วนในก้อนเซรามิกน่าจะเป็นรูพรุนปิดภายหลังการเผาที่อุณหภูมิสูง จึงเป็นผลให้สารละลายของสารประกอบวง C-PEG ไม่สามารถแทรกเข้าไปภายในได้อย่างทั่วถึง



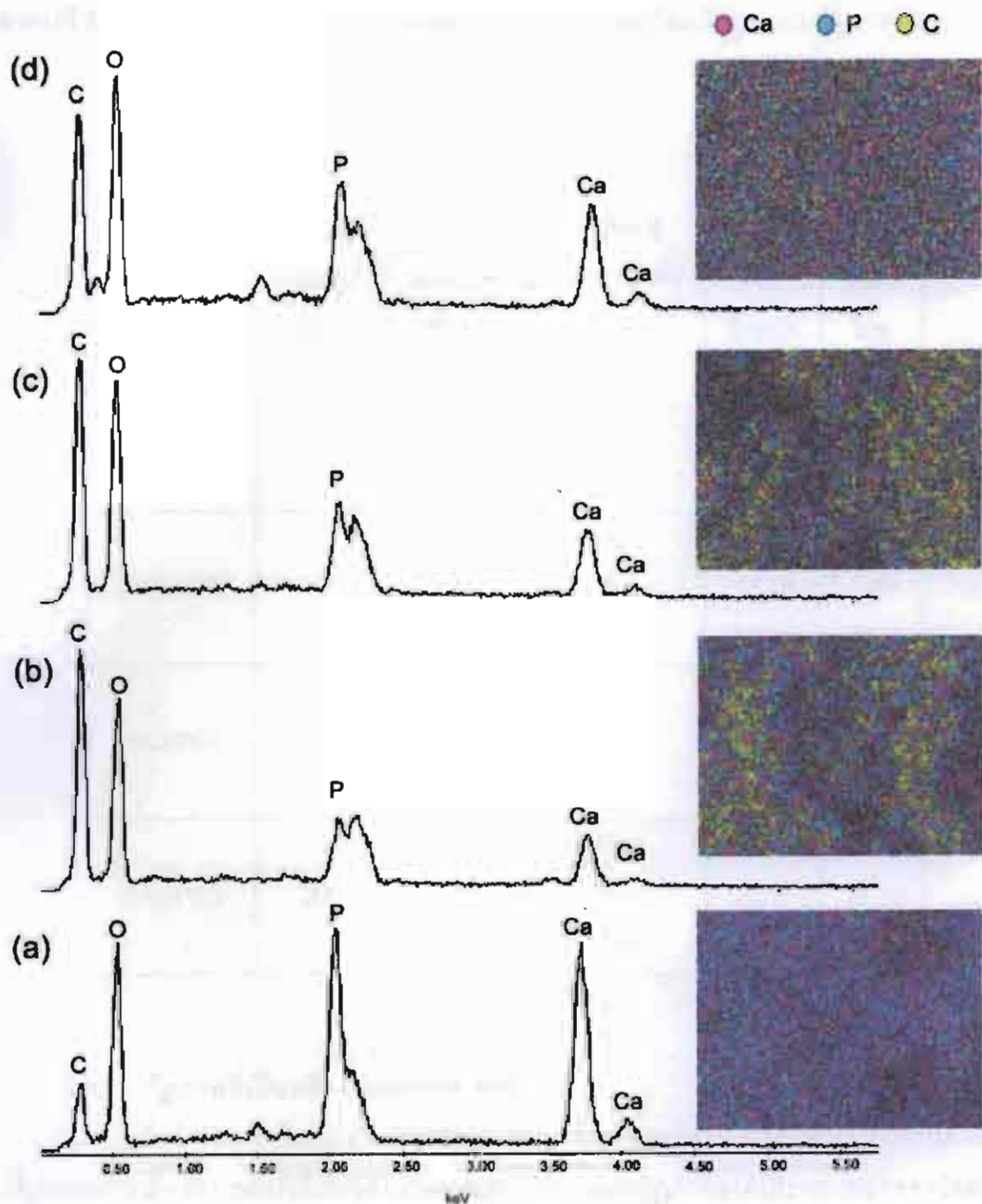
รูปที่ 3.3 ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของ (a) พื้นผิวภายนอก และ (b) ภาพตัดขวางบริเวณพื้นผิวภายใน วัสดุเซิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เวลาในการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง โดยการขึ้นรูปก้อน HAp ด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก

ในขณะที่ในรูปที่ 3.4(a) เป็นภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างจุลภาคของพื้นผิวภายในก้อน HAp บริสุทธิ์ก่อนการทำปฏิกิริยา ROP เปรียบเทียบกับรูปที่ 3.4(b) (c) และ (d) เป็นภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างจุลภาคของผิวภายในก้อนวัสดุเซิงประกอบที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เวลาในการทำปฏิกิริยา 24 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่าก้อนวัสดุเซิงประกอบที่เตรียมจากการกรองลดความดันมีชั้นฟิล์มพอลิเมอร์แทรกปกคลุมด้านในชิ้นงานอย่างทั่วถึง ผลดังกล่าวแสดงว่ารูพรุนภายในก้อนเซรามิกไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่ขึ้นรูปด้วยวิธีนี้เป็นรูพรุนเปิด สารละลายของสารประกอบวง C-PEG จึงสามารถแทรกเข้าไปภายในก้อนเซรามิกและเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชันได้ ในขณะที่ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะใช้เฉพาะก้อนเซรามิก HAp ที่ขึ้นรูปด้วยการกรองลดความดันในเตรียมวัสดุเซิงประกอบ การทดสอบและการตรวจวิเคราะห์



รูปที่ 3.4 ภาพตัดขวางแสดงลักษณะโครงสร้างจุลภาคของผิวภายใน (a) HAp บริสุทธิ์ และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา (b) 24 ชั่วโมง (c) 48 ชั่วโมง และ (d) 72 ชั่วโมง

รูปที่ 3.5 แสดงสเปกตรัม EDS และภาพ SEM แสดงการกระจายตัวของธาตุ (Elements Mapping) บนพื้นผิวภาคตัดขวางของก้อน HAp บริสุทธิ์และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้ในขณะที่ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณธาตุองค์ประกอบในก้อนตัวอย่าง จากสเปกตรัม EDS พบว่าองค์ประกอบหลักของก้อน HAp บริสุทธิ์ประกอบด้วยธาตุแคลเซียม (Ca) ฟอสฟอรัส (P) และออกซิเจน (O) เป็นหลัก ค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P คำนวณจากสเปกตรัม EDS มีค่าประมาณ 1.65 ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วย XRF (ดังแสดงในบทที่ 1) และมีค่าใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซีแอพาไทต์ ส่วนสเปกตรัม EDS ของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG นั้นพบว่ามีธาตุคาร์บอน (C) เป็นองค์ประกอบหลักในปริมาณสูง เนื่องจากมีชั้นฟิล์มของผลิตภัณฑ์ PEG ที่เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง (ROP-PEG) ปกคลุมบนพื้นผิวเซรามิก HAp จึงทำให้สัดส่วนของ Ca และ P มีค่าต่ำกว่าก้อน HAp บริสุทธิ์ เมื่อพิจารณาภาพ SEM ที่แสดงการกระจายตัวของธาตุองค์ประกอบของก้อนวัสดุเชิงประกอบตัวอย่าง (รูปที่ 3.5(b) – 3.5(d)) พบว่าธาตุ C มีการกระจายตัวโดยทั่วไปบนพื้นผิวภาคตัดขวางพื้นผิวภาคตัดขวางของก้อนวัสดุเชิงประกอบ จากลักษณะดังกล่าวแสดงว่าสารประกอบวง C-PEG นั้นถูกดูดซับเข้าไปในเข่าพรุนของก้อน HAp และสามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงได้เป็นชั้นฟิล์มผลิตภัณฑ์ ROP-PEG กระจายตัวอยู่บนพื้นผิวรูพรุนที่อยู่ภายใน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณธาตุ C ในก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมโดยใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงที่ต่างกัน พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงเพิ่มขึ้น พบว่าปริมาณธาตุ C มีค่าลดลงในขณะที่ปริมาณธาตุ Ca และ P มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะก้อนวัสดุเชิงประกอบที่ใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาเป็น 72 ชั่วโมง ผลดังกล่าวแสดงถึงการลดลงของปริมาณผลิตภัณฑ์ ROP-PEG เมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณผลิตภัณฑ์ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบที่จะกล่าวต่อไปในหัวข้อ 3.3.3



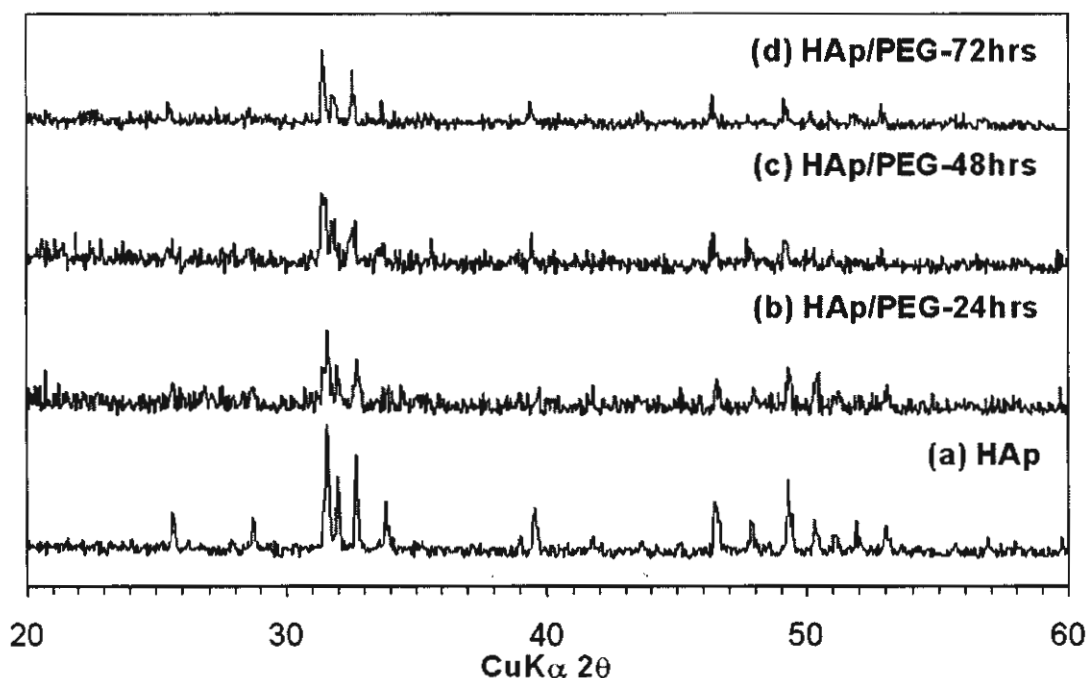
รูปที่ 3.5 สเปกตรัม EDS และภาพ SEM แสดงการกระจายตัวของธาตุ (Elements Mapping) บนพื้นผิวภาคตัดขวางของ (a) ก่อน HAp บริสุทธิ์ และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา (b) 24 ชั่วโมง (c) 48 ชั่วโมง และ (d) 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.1 ปริมาณธาตุองค์ประกอบในก้อน HAp บริสุทธิ์ และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG
วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM-EDS

สารตัวอย่าง	สภาวะที่ใช้ใน ปฏิกิริยา ROP		ชนิดธาตุ องค์ประกอบ	ปริมาณ ธาตุองค์ประกอบ	
	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)		%โดย น้ำหนัก	%โดย โมล
HAp บริสุทธิ์	-	-	Ca K	54.95	33.54
			P K	24.79	19.75
			C K	20.26	46.71
HAp/PEG	200	24	Ca K	23.17	9.05
			P K	11.48	5.80
			C K	65.36	85.16
HAp/PEG	200	48	Ca K	26.48	10.82
			P K	13.23	6.99
			C K	60.29	82.19
HAp/PEG	200	72	Ca K	45.70	25.16
			P K	22.17	15.79
			C K	32.14	59.05

3.3.2 วัฏภาคที่เป็นผลึกจากเทคนิค XRD

เมื่อนำวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้มาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD ได้รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ดังแสดงในรูปที่ 3.6 พบว่าวัฏภาคองค์ประกอบหลักของวัสดุเชิงประกอบปรากฏพีกสำคัญที่ตำแหน่ง 2 θ อยู่ในช่วง 30 – 35 องศาซึ่งเป็นวัฏภาคองค์ประกอบหลักของ HAp อย่างไรก็ตามพีกของ HAp มีลักษณะกว้างขึ้นและการแยกกันของพีกมีความชัดเจนน้อยลง ทั้งนี้เนื่องมาจากการซ้อนทับของวัฏภาค PEG ที่เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง ซึ่ง PEG เป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน



รูปที่ 3.6 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของ (a) ก้อนเซรามิก HAp บริสุทธิ์ และ วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา (b) 24 ชั่วโมง (c) 48 ชั่วโมง และ (d) 72 ชั่วโมง

3.3.3 ความหนาแน่นของก้อนวัสดุเชิงประกอบและปริมาณ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบ

ค่าความหนาแน่นของก้อนเซรามิก HAp และวัสดุเชิงประกอบสามารถหาได้จากเทคนิคการแทนที่น้ำและ ปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG สามารถวิเคราะห์ได้ 2 วิธี ได้แก่ การคำนวณน้ำหนักที่เปลี่ยนไปของก้อนเซรามิก HAp เปรียบเทียบกับก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG โดยการชั่งน้ำหนัก และการคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของน้ำหนักของก้อนวัสดุเชิงประกอบจากเทคนิค TGA ค่าความหนาแน่นและปริมาณ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ดังแสดงในตารางที่ 3.2

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบที่คำนวณจากทั้ง 2 วิธีมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 13 – 16 % โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามปริมาณของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบมีค่าลดลง เมื่อระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก ROP-PEG เป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด ในระหว่างการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง ความหนืดของสารในรูปพูนของก้อนเซรามิก HAp จึงมีค่าลดลง เป็นผลให้มีสารบางส่วนไหลออกจากก้อนเซรามิกบางส่วนในระหว่างที่ปฏิกิริยาดำเนินไป ดังนั้นเมื่อเพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยา ทำให้ปริมาณสารในก้อนวัสดุเชิงประกอบลดลง

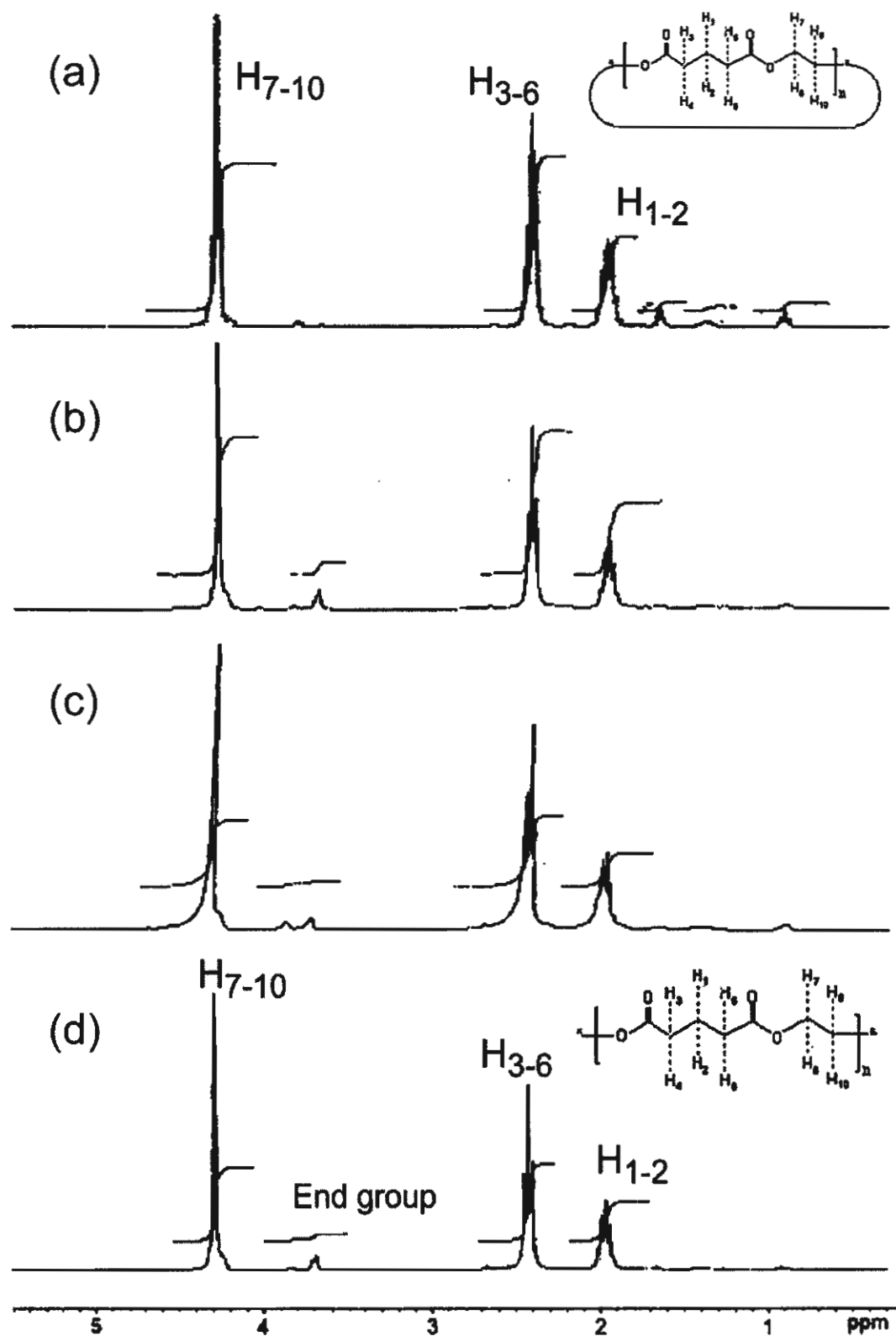
เมื่อพิจารณาค่าความหนาแน่นของวัสดุเชิงประกอบที่เปลี่ยนแปลง พบว่า ความหนาแน่นของวัสดุเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นจากก่อนเซรามิก HAp เดิมในช่วงประมาณ 12 – 16 % ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจาก ROP-PEG ที่แทรกอยู่ในรูพรุนภายในก้อนเซรามิก HAp โดยค่าความหนาแน่นแปรผันตรงกับปริมาณของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ แต่แปรผกผันกับระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง เนื่องจากเหตุที่กล่าวข้างต้น

ตารางที่ 3.2 ความหนาแน่นของก้อนเซรามิก HAp และวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG, ปริมาณ PEG (%โดยน้ำหนัก) ในวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG โดยเทคนิคการชั่งน้ำหนักและเทคนิค TGA

สภาวะในการทำปฏิกิริยา		ความหนาแน่น (g/cm ³)		ความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น (%)	น้ำหนักของ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบ (%โดยน้ำหนัก)	
อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ก่อนทำปฏิกิริยา	หลังทำปฏิกิริยา		การชั่งน้ำหนัก	เทคนิค TGA
200	24	1.06	1.23	15.62	15.31	16.23
200	48	1.08	1.22	12.96	13.46	13.66
200	72	1.08	1.21	12.04	13.30	12.50

3.3.4 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบ

เมื่อนำก้อนวัสดุเชิงประกอบไปสกัดแยกส่วนของพอลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน แล้วนำสารที่สกัดได้ไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ¹H-NMR จะได้สเปกตรัมดังแสดงในรูปที่ 3.7 จากสเปกตรัมพบว่าสารประกอบวง C-PEG ที่เป็นสารตั้งต้นและสารที่สกัดได้จากวัสดุเชิงประกอบให้สัญญาณโปรตอนของหมู่เมทิลที่ตำแหน่ง δ เดียวกัน ได้แก่ ที่ประมาณ 4.1 – 4.5 ppm สำหรับ -OCH₂CH₂- ที่ประมาณ 1.8 – 2.1 ppm สำหรับ -CH₂CH₂CH₂- และที่ประมาณ 2.3 – 2.5 ppm สำหรับ -CH₂CH₂CH₂- ซึ่งสัญญาณเหล่านี้เป็นสัญญาณจากในสายโซ่หลักของ C-PEG และ PEG แต่จะพบสัญญาณโปรตอนจากหมู่ปลายสายโซ่ที่ตำแหน่ง δ ประมาณ 3.6 – 3.8 ppm เฉพาะในสารที่สกัดได้จากวัสดุเชิงประกอบเท่านั้น ซึ่งผลการทดลองในลักษณะดังกล่าวแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงของสารประกอบวง C-PEG กลายเป็นสายโซ่ของ PEG แทรกตัวอยู่ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG



รูปที่ 3.7 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของสารประกอบวง C-PEG (a) และ PEG ในวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา (b) 24 ชั่วโมง (c) 48 ชั่วโมง และ (d) 72 ชั่วโมง

เมื่อนำเอา PEG ที่สกัดออกมาจากวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้มาทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GPC เพื่หาน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา ROP ที่สภาวะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยและการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของวัตถุดิบ PEG ที่ได้จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่น, วัตถุดิบ C-PEG ที่ได้จากปฏิกิริยาปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง และ PEG ในวัสดุเชิงประกอบที่ได้จากปฏิกิริยาปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง

สารตัวอย่าง	อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ROP (°C)	เวลาในการทำปฏิกิริยา ROP (ชั่วโมง)	$\overline{M}_n$	$\overline{M}_w$	MWD
PEG	-	-	1950	3530	1.80
C-PEG	-	-	430	570	1.31
HAp/PEG	200	24	2590	4320	1.67
	200	48	2860	6430	2.25
	200	72	2900	6840	2.35

จากตารางที่ 3.3 พบว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก ($\overline{M}_w$) ของ PEG ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา ROP มีค่าอยู่ในช่วง 4,320 – 6,840 g/mol ซึ่งค่าสูงกว่าค่าน้ำหนักโมเลกุลของวัตถุดิบตั้งต้น C-PEG และค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของ PEG ที่ได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยามีค่าที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เพิ่มขึ้น เป็นผลให้สายโซ่โมเลกุลของ C-PEG ซึ่งเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นมีระยะเวลามากพอที่จะเคลื่อนที่เข้าหากันเพื่อให้เกิดการเชื่อมต่อของสายโซ่โมเลกุลของ C-PEG หลายๆ สายโซ่ เกิดเป็นสายโซ่โมเลกุลของ PEG ที่มีขนาดใหญ่ได้ จึงทำให้ได้น้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงถือได้ว่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ROP ถือเป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลโดยตรงต่อค่าน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ในวัสดุเชิงประกอบ

3.3.5 สมบัติด้านความแข็งแรงกตของวัสดุเชิงประกอบ

HAp เป็นวัสดุที่มีสมบัติเชิงกลที่ต่ำ เปราะและแตกง่าย โดยค่าความแข็งแรงกตของก้อนเซรามิก HAp แบบมีรูพรุนเปรียบเทียบกับวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200 °C เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ค่าความแข็งแรงกดของก้อนเซรามิก HAp บริสุทธิ์กับและก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากการทำปฏิกิริยา ROP

สารตัวอย่าง	สถานะในการทำปฏิกิริยา ROP		ค่าความแข็งแรงกด (MPa)	ค่ามอดุลัสความแข็งแรงกด (MPa)
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (ชั่วโมง)		
HAp บริสุทธิ์	-	-	3.4	29.2
HAp/PEG	200	24	14.8	189.1
	200	48	12.0	153.1
	200	72	10.6	126.8
Cancellous bone **	-	-	2 – 13	-
Cortical bone ***	-	-	100 – 230	-

หมายเหตุ * ปริมาณ PEG วิเคราะห์ด้วยเทคนิค TGA

** F.G. Evans and A. King. **Biomedical Studies of the Musculoskeletal System.**

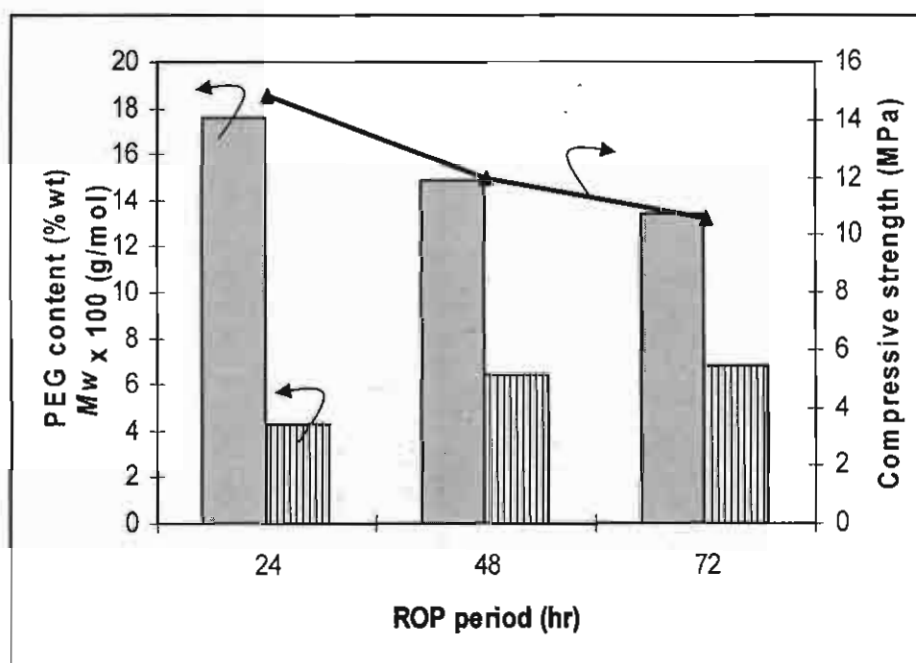
W. Bonfield. **Elastic and Viscoelasticity of Cortical Bone.** In: **Natural and Living Biomaterials.**

*** R.V. Audekercke and M. Martens. 1984. **Mechanical Properties of Cancellous Bone.** In: **Natural and Living Biomaterials.** Elsevier.

ตารางที่ 3.4 พบว่าค่าความแข็งแรงกดและค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นจากก้อนเซรามิก HAp บริสุทธิ์ โดยค่าความแข็งแรงกดที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 11 – 15 MPa (ประมาณ 3 – 4 เท่า) และค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 130 – 190 MPa (ประมาณ 4 – 6.5 เท่า) ทั้งนี้เนื่องจาก PEG ที่แทรกตัวอยู่ในรูพรุนของก้อน HAp มีความยืดหยุ่นสูงกว่าก้อนเซรามิก HAp ดังนั้น PEG จึงช่วยปรับปรุงพฤติกรรมมารับแรงและการแตกหักของก้อน HAp ซึ่งมีลักษณะแข็งเปราะ เมื่อมีแรงภายนอกมากระทำต่อวัสดุเชิงประกอบ PEG จะทำหน้าที่รับแรงและส่งผ่านแรงไปทั่วก้อนวัสดุเชิงประกอบทำให้ความสามารถในการรับแรงเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับก้อนเซรามิก HAp บริสุทธิ์

ตัวแปรสำคัญซึ่งสันนิษฐานว่าน่าจะมีอิทธิพลต่อค่าความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ ได้แก่ ปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ ซึ่งกราฟในรูปที่ 3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของ ROP-PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ กับค่าความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ เมื่อพิจารณาจากกราฟจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ROP มีค่าเพิ่มขึ้น เป็นผลให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นดังที่ได้อภิปรายมาแล้วในหัวข้อ 3.3.4 แต่ค่าความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบกลับมีค่าลดลง ทั้งนี้สันนิษฐานว่าเป็นผลเนื่องมาจากการลดลงของปริมาณ PEG ในวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าปริมาณของ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบถือเป็นตัวแปรหลักที่มีอิทธิพลต่อค่าความแข็งแรงกดและค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดของก้อนวัสดุเชิงประกอบ ซึ่งค่าดังกล่าวแปรผันโดยตรงกับปริมาณของ ROP-PEG ในวัสดุเชิงประกอบ

เมื่อเปรียบเทียบความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้กับกระดูกในร่างกายมนุษย์ พบว่า วัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ในทุกๆ สภาวะอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา ROP มีค่าความแข็งแรงกดในช่วง 5 – 20 MPa ซึ่งใกล้เคียงกับกระดูกในส่วนของ Cancellous bone ที่มีค่าความแข็งแรงกดอยู่ในช่วง 2 – 13 MPa จึงคาดว่าวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในส่วนของกระดูกที่มีรูพรุนหรือส่วนที่ต้องการรับแรงได้ที่อยู่ในช่วงดังกล่าวได้



รูปที่ 3.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ PEG น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักของ PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG และค่าความแข็งแรงกดของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้โดยใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ROP ต่างๆ

บทที่ 4

การศึกษาสมบัติความว่องไวทางชีวภาพ ของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG

ในการศึกษาสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้ จะใช้ระบบจำลองที่มีอุณหภูมิและองค์ประกอบอนินทรีย์ของของเหลวที่ใช้ใกล้เคียงกับระบบภายในร่างกายมนุษย์ ซึ่งการศึกษาในระบบดังกล่าว เรียกว่า “*In vitro*” สาเหตุที่การเลือกใช้ระบบจำลองดังกล่าวในการศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นไปได้ในการนำวัสดุสังเคราะห์ไปใช้ในร่างกายมนุษย์นั้น เนื่องจากระบบดังกล่าวสามารถสร้างขึ้นได้ง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ไม่จำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลอง และสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆได้ง่าย อีกทั้งของเหลวที่ใช้ในระบบจำลองซึ่งเรียกว่า “สารละลายจำลอง คล้ายของเหลวในร่างกาย (Simulated body fluid, SBF)” นั้นประกอบด้วยสารอนินทรีย์ที่ องค์ประกอบและความเข้มข้นใกล้เคียงกับไอออนอนินทรีย์ในร่างกายมนุษย์ ซึ่งไอออนอนินทรีย์ใน สารละลาย SBF เป็นไอออนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการสร้างสารเชื่อมกระดูกบนวัสดุสังเคราะห์ที่ทำการทดสอบ โดยความสามารถในการสร้างสารเชื่อมกระดูกบนพื้นผิววัสดุสังเคราะห์ภายใต้สภาวะของ สารละลาย SBF เป็นค่าที่สื่อถึงความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุสังเคราะห์ นอกจากนี้สารละลาย SBF เป็นสารละลายที่ไม่มีองค์ประกอบของสารอินทรีย์ในระบบจำลอง ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใส่สารยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งสารประเภทดังกล่าวอาจจะมีผลต่อการสร้างสารเชื่อมกระดูก

4.1 การเตรียมสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (Simulated body fluid, SBF)

สารละลาย SBF สามารถเตรียมได้จากสารเคมีดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยค่อยๆ ละลาย สารเคมีจากตัวที่ 1 – 7 ที่ละตัวลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1400 มิลลิลิตร บั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวน แม่เหล็กและควบคุมอุณหภูมิของสารละลายให้มีค่าประมาณ 36-37°C จากนั้นจึงปรับค่าความเป็น กรด-เบสของสารละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกและ $(\text{CH}_3\text{OH})_3\text{CNH}_2$ ให้มีค่าประมาณ 7.4 แล้วจึงปรับ ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดเป็น 2000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บสารละลาย SBF ในขวด พลาสติกที่อุณหภูมิประมาณ 5°C สารละลาย SBF ที่เตรียมได้มีความเข้มข้นของไอออนอนินทรีย์ ดัง แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย SBF

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย	ปริมาณสารที่ใช้
1. NaCl	15.992 กรัม
2. NaHCO ₃	0.700 กรัม
3. KCl	0.448 กรัม
4. K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	0.348 กรัม
5. MgCl ₂ 6H ₂ O	0.612 กรัม
6. Na ₂ SO ₄	0.144 กรัม
7. CaCl ₂	0.556 กรัม
8. 1M HCl	80 มิลลิลิตร
9. (CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	12.116 กรัม

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของไอออนอนินทรีย์ในสารละลาย SBF และ Human blood plasma

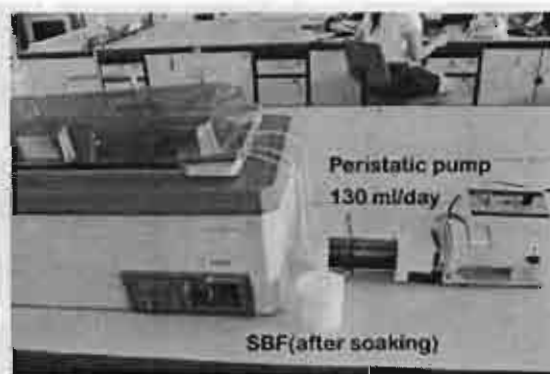
ชนิดไอออน	Simulated body fluid (mM)	Human blood plasma (mM)
Na ⁺	142.0	142.0
Cl ⁻	148.8	103.0
HCO ₃ ⁻	4.2	27.0
K ⁺	5.0	5.0
Mg ²⁺	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0

4.2 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG

นำก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG มาขัดผิวหน้าให้เรียบด้วยกระดาษทรายซิลิกอนคาร์ไบด์ที่มีความละเอียด 400 800 1000 และ 1200 ตามลำดับ และขัดอีกครั้งด้วยแผ่นขัดอนุภาคเพชรขนาด 4 ไมครอน จากนั้นล้างก้อนวัสดุเชิงประกอบให้สะอาดในน้ำกลั่นโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

นำก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG มาบรรจุไว้ในหลอดบรรจุตัวอย่าง โดยหนึ่งหลอดจะบรรจุตัวอย่างเพียงหนึ่งชิ้น จากนั้นนำหลอดบรรจุตัวอย่างต่อเข้ากับปลายข้างหนึ่งของท่อป้อนสาร ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งของท่อป้อนสารจะถูกต่อผ่านปั๊มควบคุมอัตราการไหลเข้าไปยังขวดบรรจุสารละลาย SBF เมื่อต่อท่อป้อนสารเสร็จแล้วจึงนำหลอดบรรจุตัวอย่างและขวดบรรจุสารละลาย SBF แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 36.5°C โดยจัดชุดทดสอบภายใต้ระบบจำลองของร่างกายดังแสดงในรูปที่ 4.1 จากนั้นทำการป้อนสารละลาย SBF พร้อมทั้งควบคุมอัตราการไหลของสารละลาย SBF ที่อัตราเร็ว 130 มิลลิลิตรต่อวัน โดยสารละลาย SBF ที่ไหลผ่านวัสดุเชิงประกอบแล้วจะถูกส่งผ่านท่อไปยังขวดเก็บสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป ทำการเก็บตัวอย่างภายหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF เป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน เมื่อนำวัสดุเชิงประกอบออกจากสารละลาย SBF ล้างด้วยน้ำกลั่นทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำวัสดุเชิงประกอบไปตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD และ SEM และหาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของธาตุองค์ประกอบบนพื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray spectrometry ร่วมกับ SEM (SEM-EDS)

นำสารละลาย SBF ที่ไหลผ่านวัสดุเชิงประกอบทุกๆ 7 วัน มาสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและระเหยตัวทำละลายออก จากนั้นละลายสารที่สกัดได้อีกครั้งด้วยคลอโรฟอร์มและนำมาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FT-IR



รูปที่ 4.1 ชุดทดสอบภายใต้ระบบจำลองของร่างกาย

4.3 ผลการทดลองและการอภิปรายผล

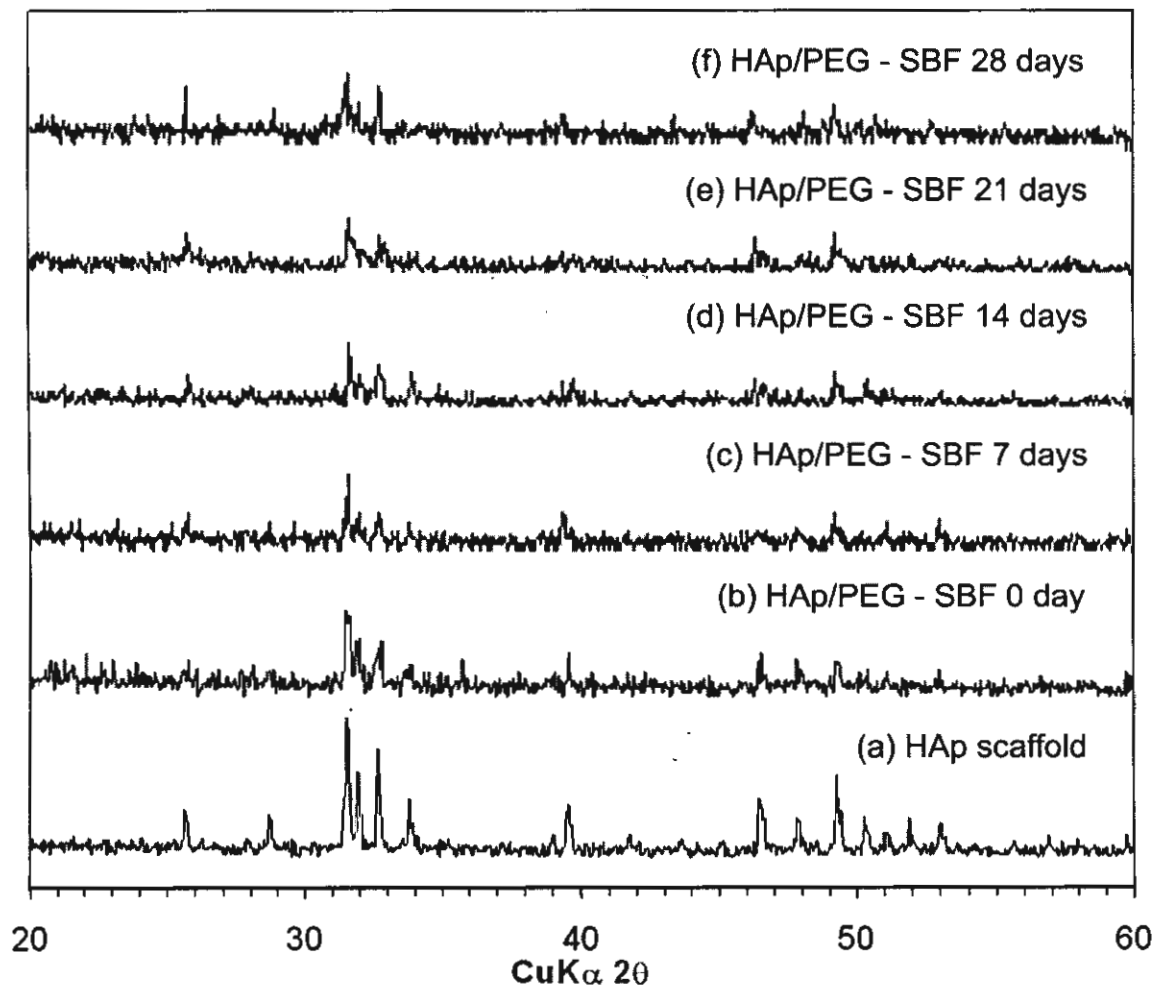
สารละลาย SBF เป็นสารละลายที่มีความอิ่มตัววดยิ่ง (Supersaturated solution) ของไฮดรอกซีอะปาทิตหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮดรอกซีอะปาทิตของแคลเซียมและฟอสฟอรัส ที่เป็นองค์ประกอบหลักในการก่อผลึกของ HAp ซึ่งหากมีการก่อตัวของผลึก HAp บนพื้นผิวของวัสดุภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF จะแสดงถึงสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุนั้น

รูปที่ 4.2 แสดงผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของก้อนวัสดุเชิงประกอบภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF ด้วยเทคนิค XRD ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของวัฏภาคที่เป็นผลึกบนพื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบ พบว่าแผนภาพการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของชิ้นตัวอย่างภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF ทุกช่วงเวลา ปรากฏสามพีกหลักที่ตำแหน่ง $2\theta = 31.8, 32.2$ และ 32.9 องศา ซึ่งพีกเหล่านี้เป็นพีกของ HAp เช่นเดียวกับก้อน HAp บริสุทธิ์และก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ก่อนการแช่ในสารละลาย SBF

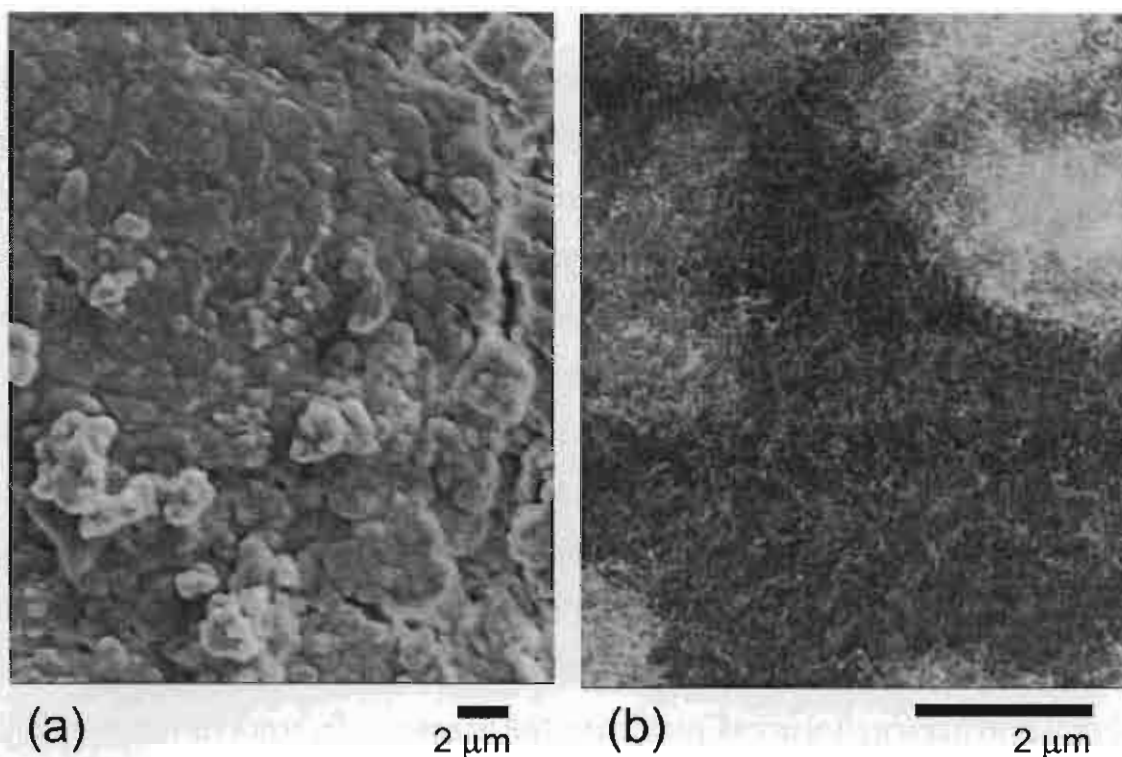
ถึงแม้ว่าพีกหลักในแผนภาพการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF จะคล้ายคลึงกับวัสดุเชิงประกอบก่อนการแช่ แต่ฐานพีกจะมีลักษณะกว้างขึ้นและการแยกของพีกทั้งสาม (Peak resolution) มีความชัดเจนลดลง โดยเฉพาะเมื่อระยะเวลาการแช่ตัวอย่างในสารละลาย SBF เพิ่มขึ้น ซึ่งพีกลักษณะดังกล่าวแสดงถึงการก่อตัวของผลึก HAp ขนาดเล็กจากสารละลาย SBF บนพื้นผิวของก้อนวัสดุเชิงประกอบ ซึ่งผลึก HAp ลักษณะดังกล่าวจะให้ลักษณะของพีกแตกต่างจากผลึก HAp ที่เกิดจากการแคลไซน์ที่อุณหภูมิสูงในก้อน HAp บริสุทธิ์และก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ก่อนแช่ในสารละลาย SBF

รูปที่ 4.3 แสดงภาพ SEM ของพื้นผิววัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าโครงสร้างจุลภาคของชิ้นผลึกของ HAp ที่ตกผลึกจากสารละลาย SBF มีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลมคล้ายลูกบอล (Ball-like particles) รวมตัวกันอย่างหนาแน่นดังแสดงในรูปที่ 4.3 (a) ซึ่งเมื่อเพิ่มกำลังขยาย ในรูปที่ 4.3 (b) จะพบว่าชิ้นผลึกดังกล่าวประกอบด้วยผลึกขนาดเล็กระดับนาโนเป็นแท่งคล้ายเข็ม (Needle-like crystals) จำนวนมากรวมตัวกันอยู่ ผลึกขนาดเล็กเช่นนี้สอดคล้องกับลักษณะพีกฐานกว้างในแผนภาพการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ อีกทั้งผลึกที่มีลักษณะเป็นรูปเข็มมีความชอบในการจัดเรียงตัวของผลึกในระนาบ 001 (Preferred orientation) มากกว่าระนาบอื่นๆ ดังจะเห็นได้จากการเพิ่มขึ้นของความเข้มของพีกที่ตำแหน่ง $2\theta = 25.8$ องศา เมื่อแช่วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ในสารละลาย SBF เป็นระยะเวลานาน ซึ่งพีกดังกล่าวเป็นพีกของระนาบ 002 การก่อผลึก HAp. ลักษณะนี้เป็นเอกลักษณ์เฉพาะที่เกิดจากสารละลาย SBF ซึ่งแตกต่างจากผลึกของ HAp จากการแคลไซน์ ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าการก่อผลึก HAp ขึ้นใหม่ภายหลังการแช่วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ในระบบจำลองของร่างกายมนุษย์

อย่างไรก็ตามชั้นผลึกของ HAp ที่ตกผลึกจากสารละลาย SBF น่าจะมีความหนาไม่มากพอ จึงไม่สามารถบดบังสัญญาณจากผลึก HAp ที่เกิดจากการแคลไซน์ในก้อนวัสดุเชิงประกอบได้ ทำให้ฟีกที่ปรากฏในรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ดังกล่าวเกิดการซ้อนทับกันระหว่างฟีกของ HAp ในวัสดุเชิงประกอบกับฟีกของ HAp ที่เกิดจากการตกผลึกในสารละลาย SBF



รูปที่ 4.2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของ (a) HAp บริสุทธิ์ (b) วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG (200°C , 48 ชั่วโมง) ก่อนการแช่ในสารละลาย SBF และวัสดุเชิงประกอบ ภายหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา (c) 7 วัน (d) 14 วัน (e) 21 วัน และ (f) 28 วัน

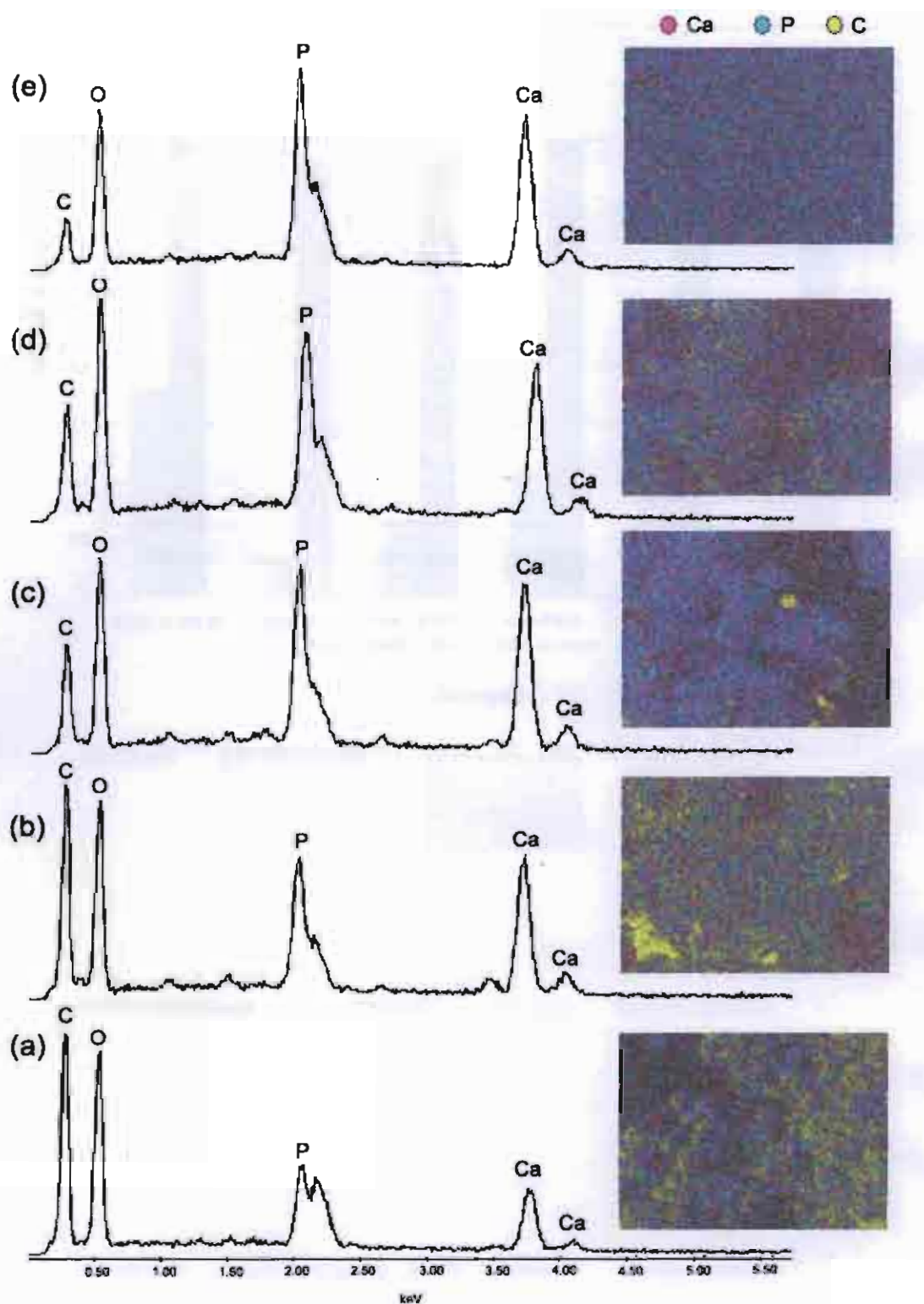


รูปที่ 4.3 ภาพ SEM แสดงลักษณะโครงสร้างจุลภาคของพื้นผิววัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 28 วัน (a) กำลังขยาย 2,500 เท่า และ (b) กำลังขยาย 10,000 เท่า

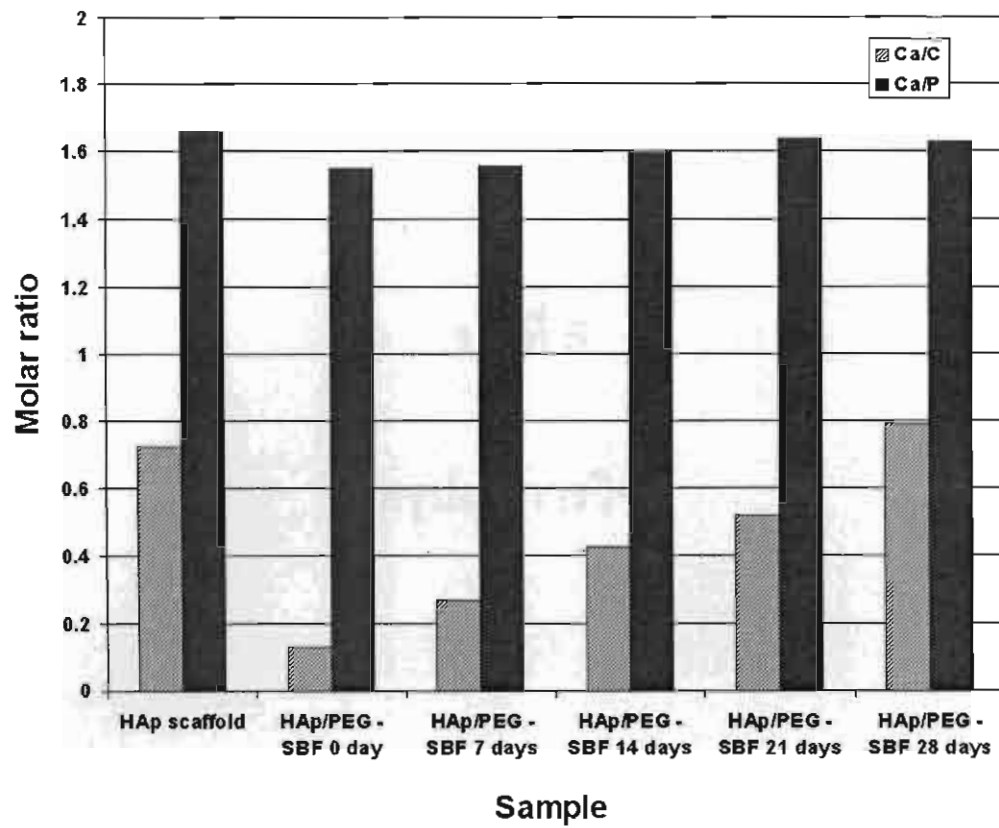
รูปที่ 4.4 แสดงสเปกตรัม EDS และภาพ SEM แสดงการกระจายตัวของธาตุ (Elements Mapping) บนพื้นผิวภาคตัดขวางของก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมได้จากสภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนการแช่ในสารละลาย SBF และหลังการแช่ในสารละลาย SBF จากสเปกตรัม EDS พบว่าองค์ประกอบหลักบนพื้นผิวของก้อนวัสดุเชิงประกอบมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยปริมาณธาตุ C มีค่าลดลงในขณะที่ปริมาณธาตุ Ca และ P มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ก้อนวัสดุเชิงประกอบ ผลดังกล่าวสามารถสรุปเป็นกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโดยโมลของธาตุองค์ประกอบ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จากกราฟพบว่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/C ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวเนื่องมาจากฟิล์มบาง ROP-PEG ที่ปกคลุมพื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบเกิดการสลายตัวในระหว่างที่ทำการแช่วัสดุเชิงประกอบในสารละลาย SBF เป็นผลให้ปริมาณ C บนพื้นผิวดูอย่าง ในขณะเดียวกันมีการก่อตัวของชั้นผลึก HAp จากไอออน Ca^{2+} and PO_4^{3-} ในสารละลาย SBF บนพื้นผิวของก้อนวัสดุเชิงประกอบไปด้วย ซึ่งการก่อตัวของชั้นผลึก HAp ใหม่ เป็นผลให้ปริมาณ Ca และ P มีค่าเพิ่มขึ้นพร้อมกัน ดังนั้นอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/C จึงมี

ค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P มีการเปลี่ยนแปลงไม่ชัดเจนนัก โดยค่าอัตราส่วนโดยโมล ของ Ca/P ของก้อนวัสดุเชิงประกอบจะมีค่าค่อยๆเพิ่มขึ้นทีละน้อย เมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่ในสารละลาย SBF จนกระทั่งมีค่าประมาณ 1.63 ภายหลังการแช่เป็นระยะเวลา 28 วัน นอกจากนี้ค่าอัตราส่วนโดยโมลของ Ca/P มีแนวโน้มใกล้เคียงกับค่าอัตราส่วนโดยโมล Ca/P ของก้อน HAp บริสุทธิ์ ผลดังกล่าวน่าจะเนื่องมาจากในระยะแรกที่แช่ในสารละลาย SBF สัญญาณของ Ca และ P โดยส่วนใหญ่มาจาก HAp ที่เกิดจากการแคลไซน์ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ แต่เมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น ก่อให้เกิดชั้น HAp ที่ตกผลึกจากสารละลาย SBF ดังนั้นสัญญาณของ Ca และ P ในช่วงหลังจึงมาจากชั้นของ HAp ที่เกิดจากการตกผลึกร่วมกับสัญญาณจาก HAp ในก้อนวัสดุเชิงประกอบ จึงไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราส่วนโดยโมล Ca/P ที่ชัดเจนภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF อย่างไรก็ตามผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ก้อนวัสดุเชิงประกอบด้วยเทคนิค EDS ให้ผลสอดคล้องกับผลจากเทคนิค XRD และ SEM ซึ่งได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

การก่อตัวของชั้นผลึก HAp บนก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมโดยใช้ปฏิกิริยา ROP ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF แสดงถึงสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของก้อนวัสดุประกอบ



รูปที่ 4.4 สเปกตรัม EDS และภาพ SEM แสดงการกระจายตัวของธาตุ (Elements Mapping) บนพื้นผิวภาคตัดขวางของ (a) ก้อนวัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG ที่เตรียมโดยใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยา ROP ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนการแช่ในสารละลาย SBF และหลังการแช่ในสารละลาย SBF เป็นระยะเวลา (b) 7 วัน (c) 14 วัน (d) 21 วัน และ (e) 28 วัน



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงค่าอัตราส่วนโดยโมลระหว่าง Ca/C และ Ca/P บนพื้นผิวก่อนตัวอย่าง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 การสังเคราะห์วัสดุไฮดรอกซีแอปพาไทต์และการขึ้นรูป

งานวิจัยนี้สังเคราะห์ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่มีอัตราส่วนโดยโมล Ca:P อยู่ในช่วง 1.56 – 1.67 และไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ถูกนำมาเตรียมเป็นก้อนเซรามิกส์ที่มีรูพรุน โดยการเผาที่อุณหภูมิ 1100°C ได้ชิ้นงานที่มีความหนาแน่นเฉลี่ยประมาณ 1.07 g/cm³ และมีค่าความแข็งแรงกดเฉลี่ยเท่ากับ 3.4 MPa ค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดเฉลี่ย เท่ากับ 29.2 MPa

5.2 การสังเคราะห์วัสดุปอลิเอทิลีนกลูตาเรตและสารประกอบวงโพลิโกเอทิลีนกลูตาเรต

พอลิเอทิลีนกลูตาเรตที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบแน่น มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลอมเหลืองที่อุณหภูมิห้อง $\overline{M}_w$ เท่ากับ 3500 g/mol $\overline{M}_n$ เท่ากับ 1950 g/mol MWD เท่ากับ 1.8 และนำพอลิเอทิลีนกลูตาเรตที่สังเคราะห์ได้มาสังเคราะห์สารประกอบวงด้วยปฏิกิริยาดิพอลิเมอไรเซชันแบบปิดวงได้สารประกอบวง C-PEG ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอมน้ำตาล $\overline{M}_w$ เท่ากับ 570 g/mol $\overline{M}_n$ เท่ากับ 430 g/mol MWD เท่ากับ 1.3 และอุณหภูมิในการหลอมเหลวเฉลี่ย เท่ากับ 127°C

5.3 วัสดุเชิงประกอบระหว่างไฮดรอกซีแอปพาไทต์กับพอลิเอทิลีนกลูตาเรต

วัสดุเชิงประกอบ HAp/PEG สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวงของสารตั้งต้น C-PEG ภายในรูพรุนของก้อน HAp โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 200°C และเวลาในการทำปฏิกิริยา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า

- ก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้มีสีเหลืองอมน้ำตาล เนื่องจากมี PEG แทรกตัวอยู่ทั่วพื้นผิวทั้งภายในและภายนอกก้อน HAp
- ปริมาณ PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบแปรผกผันกับอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ปริมาณ PEG ในวัสดุเชิงประกอบมีค่าลดลง ซึ่งส่งผลให้ความหนาแน่นของวัสดุเชิงประกอบมีค่าลดลง
- น้ำหนักโมเลกุลของ PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบแปรผันโดยตรงกับอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา ของ PEG ในก้อนวัสดุเชิงประกอบอยู่ในช่วง $\overline{M}_w$ 4,300 – 6,800 g/mol และ MWD อยู่ในช่วง 1.7 – 2.4
- ความแข็งแรงกดและค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดขึ้นอยู่กับปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ในวัสดุเชิงประกอบ โดยค่าความแข็งแรงกดของก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้ เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 11 – 15 MPa และค่ามอดุลัสความแข็งแรงกดเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 126 – 189 MPa ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความแข็งแรงกดของกระดูกในร่างกายมนุษย์ พบว่า

ใกล้เคียงกับกระดูกในส่วนของ Cancellous bone ที่มีค่าความแข็งแรงกดอยู่ในช่วง 2 – 13 MPa

- การทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของวัสดุเชิงประกอบ โดยการแช่วัสดุเชิงประกอบในสารละลาย SBF พบว่ามีการสลายตัวของ PEG ในสารละลาย SBF และมีการก่อตัวของผลึก HAp ที่ตกผลึกจากสารละลาย SBF ซึ่งแสดงถึงสมบัติความว่องไวทางชีวภาพของก้อนวัสดุเชิงประกอบที่เตรียมได้

5.4 แนวทางที่ควรจะศึกษาต่อไป

- ศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเอทิลีนกลูตาเรตในวัสดุเชิงประกอบต่ออัตราการสลายตัวของ PEG โดยการแช่ในสภาวะจำลองของเหลวในร่างกาย
- ศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์ร่วมระหว่างพอลิเอทิลีนกลูตาเรตซึ่งเป็นอะลิฟาติกพอลิเอสเทอร์กับอะโรมาติกพอลิเอสเทอร์อื่นๆ เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของวัสดุเชิงประกอบให้เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

- Arnold, U., Lindenhayn, K., and Perka, C., In vitro-cultivation of human periosteum derived cells in bioresorbable polymer-TCP-composites, *Biomaterials*.2002; 23: 2303-2310.
- Bonfield, W., Grynpas, M.D., Tully, A.E., Bowman, J., and Abram, J., Hydroxyapatite reinforced polyethylene – a mechanically compatible implant material for bone replacement, *Biomaterials*.1981; 2: 185-186.
- Bonfield, W., Composites for bone replacement, *J.Biomed.Eng.*1988; 10: 522-526.
- Chang, B.S., Lee, C.K., Hong, K.S., Youn, H.J., Ryu, H.S., Chung, S.S., and Park, K.W., Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations, *Biomaterials*.2000; 21: 1291-1298.
- Daculsi, G., LeGeros, R.Z., Heughebaert M., and Barbieux, I., Formation of carbonateapatite crystal after implantation of calcium phosphate ceramics, *Calcif.Tissue.Int.*1990; 46: 20-27.
- Eckert, K.-L.K.-L., Mathey, M., Mayer, J., Homberger, F.R., Thomann, P.E., Groscurth, P., and Wintermantel, E., Preparation and in vivo testing of porous alumina ceramics for cell carrier applications, *Biomaterials*.2000; 21: 63-69.
- Fischman, G.S., Bioceramics: Materials and applications, American Ceramic Society, Ohio (1993).
- Furukawa, T., Matsusue, Y., Yasunaga, T., Shikinami, Y., Okuno, M., and Nakamura, T., Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly (L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures, *Biomaterials*.2000; 21: 889-898.
- Filgueiras, M.R., Torre, G.R., and Hench, L.L., Solution effects on the surface reaction of a bioactive glass, *J.Biomed.Mater.Res.*1993; 27: 445-453.
- Hench, L.L., Splinter, R.J., Allen, W.C., and Greenlee, T.K., Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthesis materials, *J.Biomed.Mater.Res.*1971; 2: 117-141.
- Hench, L.L., Bioceramics : From concept to clinic, *J.Am.Ceram.Soc.*1991; 74: 1487-1510.
- Hench, L.L., and Wilson, J., An introduction to bioceramics. World Scientific, Singapore (1993).

- Ignjatovic, N., Tomic, S., Dakic, M., Miljkovic, M., Plavsic, M., and Uskokovic, D., Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials, *Biomaterials*.1999; 20: 809-816.
- Jarcho, M., Kay, J.L., Gumaer, R.H., and Drobeck, H.P., Tissue, cellular and subcellular events at bone-ceramic hydroxyapatite interface, *J.Bioeng*.1977; 1: 79-92.
- Kapanen, A., Ryhanen, J., Danilov, A., and Tuukkanen, J., Effect of nickel–titanium shape memory metal alloy on bone formation, *Biomaterials*.2001; 22: 2475-2480.
- Kokubo, T., Shigematsu, M., Nagashima, Y., Tashiro, M., Nakamura, T., Yamamuro, T., and Higashi, S., Apatite- and wollastonite-containing glass-ceramic for prosthetic application, *Bull.Inst.Chem.Res*.1982; 60: 260-268.
- Kokubo, T., Surface chemistry of bioactive glass-ceramics, *J.Non-Cryst.Solids*, 1990; 120: 138-151.
- Liu, D.-M.D.-M., Yang, Q., and Troczynski, T., Sol–gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates, *Biomaterials*.2002; 23: 691-698.
- Piconi, C., Labanti, M., Magnani, G., Caporale, M., Maccauro, G., and Magliocchetti, G., Analysis of a failed alumina THR ball head, *Biomaterials*.1999; 20: 1637-1646.
- Sanchez, E., Baro, M., Soriano, I., Perera, A., and Evora, C., In vivo–in vitro study of biodegradable and osteointegrable gentamicin bone implants, *Euro.J.Pharm.Biopharm*.2001; 52: 151-158.
- Siriphannon, P., Kameshima, Y., Yasumori, A., Okada, K., and Hayashi, S., Comparative study on formation of hydroxyapatite in simulated body fluid under static and flowing systems, *J.Biomed.Mater.Res*.2002; 60: 175-185.
- Uo, M., Watari, F., Yokoyama, A., Matsuno, H., and Kawasaki, T., Tissue reaction around metal implants observed by X-ray scanning analytical microscopy, *Biomaterials*.2001; 22: 677-685.
- Varma, H.K., and Sureshbabu, S., Oriented growth of surface grains in sintered β tricalcium phosphate bioceramics, *Mater.Lett*.2001; 49: 83-85
- Vehof, J.W.M., Spauwen, P.H.M., and Jansen, J.A., Bone formation in calcium-phosphate-coated titanium mesh, *Biomaterials*.2000; 21: 2003-2009.

- Verheyen, C.C.P.M., de Wijn, J.R., van Blitterwijk, C.A., and de Groot, K., Evaluation of hydroxyapatite/poly(L-lactide) composites: mechanical behavior, *J.Biomed.Mater. Res.*1992; 26: 1277-1296.
- Vuola, J., Taurio, R., Goransson, H., and Asko-Seljavaara, S., Compressive strength of calcium carbonate and hydroxyapatite implants after bone-marrow-induced osteogenesis, *Biomaterials*.1998; 19: 223-227.
- Walsh, D., Furuzono, T., and Tanaka, J., Preparation of porous composite implant materials by in situ polymerization of porous apatite containing ϵ -caprolactone or methyl methacrylate, *Biomaterials*.2001; 22: 1205-1212.

Output ที่ได้จากโครงการ

Siriphannon, P., Monvisade, P., Jinawath, S., and Hemachandra, K., Preparation and characterization of hydroxyapatite/poly(ethylene glutarate) biomaterials, *J.Biomed.Mater.Res. in press.*

ภาคผนวก

Preparation and characterization of hydroxyapatite/poly(ethylene glutarate) biomaterials

Punnama Siriphannon,¹ Pathavuth Monvisade,¹ Supatra Jinawath,² Khemchai Hemachandra²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chalongkrung Road, Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

²Department of Materials Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pyathai Road, Bangkok 10330, Thailand

Received 6 February 2006; revised 29 June 2006; accepted 31 July 2006

Published online 00 Month 2006 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/jbm.a.31032

Abstract: Hydroxyapatite/poly(ethylene glutarate) (HAp/PEG) biomaterial composites were prepared by ring-opening polymerization (ROP) of cyclic oligo(ethylene glutarate) (C-PEG) in porous HAp scaffolds. The HAp/C-PEG pre-composites were prepared by immersing the porous HAp scaffolds in the mixture solution of C-PEG and dibutyl tin-oxide catalyst overnight and polymerizing at 200°C for 24, 48, and 72 h under vacuum. The successful ROP of C-PEG in the porous HAp scaffolds was corroborated by the signals of hydroxyl end-group of PEG shown in the ¹H NMR spectrum of the ROP-products extracted from the composites. PEG in the composites was present as a thin layer coating on the HAp grains and was evenly distributed throughout the samples. The PEG content was about 13–16 wt % and decreased with increasing polymerization time. Its molecular weight (M_w , weight average) measured by

gel permeation chromatography was in the range of 4300–6800 g/mol. Compressive strength of the HAp/PEG composites was significantly increased from 3 MPa of the porous HAp scaffold to 11–15 MPa, depending on the PEG content in the composites. *In vitro* bioactivity of the HAp/PEG composites was studied by soaking in simulated body fluid (SBF) at 36.5°C for 7–28 days. After prolonged soaking, the HAp nanocrystals precipitated from the SBF solution and formed as a layer of globular aggregates, coated on the composite surfaces. This result suggested that the HAp/PEG composite was a bioactive material. © 2006 Wiley Periodicals, Inc. *J Biomed Mater Res* 80A: 000–000, 2007

Key words: hydroxyapatite; poly(ethylene glutarate); ring-opening polymerization; biomaterials; nanocrystals

INTRODUCTION

Since the early 1970s, bioactive materials such as glasses,^{1,2} glass ceramics,^{3–6} hydroxyapatite (HAp),^{7–10} composite materials,^{11–15} and so forth have been synthesized and developed for medical applications. HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is one of the most attractive materials for implantation because of its biocompatibility and being the same crystalline phase as bone mineral. There are, however, some disadvantages of HAp, that is difficulty to shape and brittleness, causing a limitation on the usage of HAp. Thus, many researchers have studied the composites dealing with the combination of HAp and some polymers, such as polyethylene (PE),^{11,12} poly-L-lactide,^{13,14} polycaprolactone,¹⁵ and

poly(methyl methacrylate),¹⁵ in order to improve some properties, especially mechanical properties.^{11,16}

From the aforementioned reason, our research group had studied the preparation of composites between HAp and various types of polyesters, that is aliphatic and aromatic polyesters. The polyesters were selected because they possessed a very wide range of mechanical properties and bioactivity, depending on their structures and functional groups, and so we could design various composite systems with different properties for different medical applications.

In this research, poly(ethylene glutarate) (PEG), which was an aliphatic polyester, was selected because it was a biodegradable polymer.¹⁷ Various biodegradable polymers had been used in medical implants to ensure a temporary mechanical or therapeutic function. After prolonged implantation, they would gradually degrade and be replaced by the surrounding tissues. In addition, HAp/biodegradable polymer composites were attractive, because the HAp could release calcium ions that would be neutralized by the acidic degradation products of biodegradable polymers.

Correspondence to: Siriphannon; e-mail: kspunnam@kmitl.ac.th

Contract grant sponsor: The Thailand Research Fund

TABLE I
Ion Concentrations of Simulated Body Fluid
and Human Blood Plasma

	Ion Concentration (mM)						
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻
Simulated body fluid	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8	4.2	1.0
Human blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0

Some previous researchers prepared HAp/polyester composites by soaking a porous HAp block in a polymer solution¹⁸ or polymer melt.¹⁹ However, the viscosity of polymer solution or melt caused variation of polymer distribution in the HAp/polyester composites. To overcome this problem, we prepared the precomposites by soaking the porous HAp scaffolds in the dilute solution of cyclic oligo(ethylene glutarate) (C-PEG).²⁰ These precomposites were heated under vacuum to induce the ring-opening polymerization (ROP) of C-PEG within the porous HAp scaffolds, resulting in the HAp/PEG composites. Characteristics, compres-

sive strength, and *in vitro* bioactivity of the HAp/PEG composites were studied.

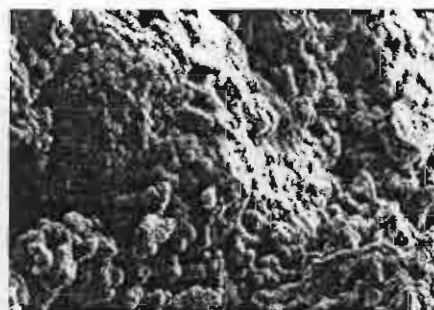
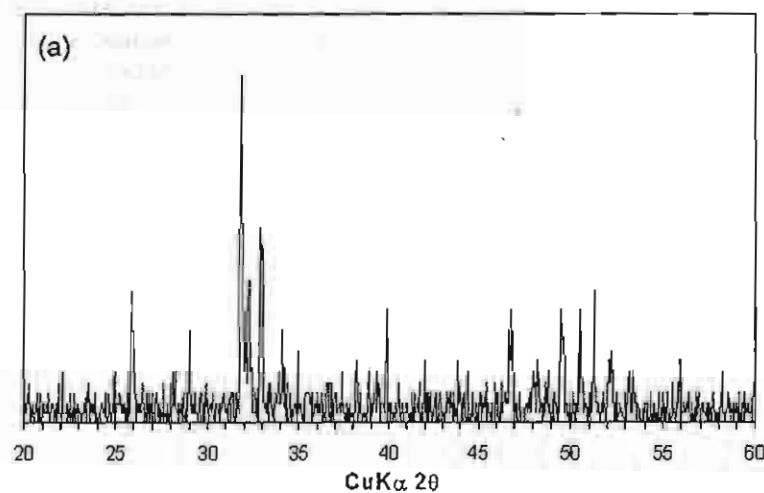
EXPERIMENTAL PROCEDURE

Preparation of raw materials

Porous HAp

HAp was prepared by coprecipitation of calcium hydroxide (Ca(OH)₂) and phosphoric acid (H₃PO₄). First, 0.5 mol of calcium hydroxide was suspended in 50 mL of water. The suspension was vigorously stirred and kept at 10°C. Concentrated phosphoric acid was diluted to 0.3 mol/L, then 250 mL of the diluted phosphoric acid and 250 mL of ammonium hydroxide were simultaneously added into the suspension at a rate of about 1 mL/min using peristaltic pump. After all the H₃PO₄ solution was added, the precipitate was filtered, dried overnight at 100°C and calcined at 500°C for 2 h.

A polymeric binder was prepared by dissolving 20 g of poly(vinyl alcohol) (PVA) in 100 mL of distilled water. The calcined HAp powder was dispersed in the



(b) - Outside



(b) - Inside

Figure 1. XRD pattern (a) and SEM micrographs (b) of HAp scaffold.

TABLE II
GPC Data of PEG Precursors and C-PEG

Sample	Molecular Weight (g/mol)		
	M_w	M_n	MWD
PEG	3500	1950	1.8
C-PEG	570	430	1.3

PVA solution and then left to set as a cake. The cake was then cut into rectangular shape with a dimension of $1 \times 1 \times 0.5 \text{ cm}^3$ and fired at 1100°C for 5 h. The porous HAp scaffolds were obtained after burning out of PVA at high temperature. Chemical composition and crystalline structure of the synthesized HAp were analyzed by X-ray fluorescence spectrometer (XRF; Bruker AG, SRS3400) and X-ray diffractometer (XRD; Bruker AG, D8 Advance), respectively.

Poly(ethylene glutarate) and cyclic oligo(ethylene glutarate)

One hundred and twenty-eight grams of dimethyl glutarate (DMG) and 50 g of ethylene glycol were mixed and heated with vigorous stirring at 100°C . Tetraisopropyl orthotitanate (0.5 wt % of DMG) was added, and the reaction temperature was then raised to 150°C under reduce pressure and kept over a period of 24 h. The mixture was then cooled down to room temperature. The crude product was dissolved in a mini-

mum amount of dichloromethane and precipitated in stirred methanol. The precipitate, PEG precursor, was collected and dried in an oven at 70°C for 72 h.

The PEG precursor (4 g) and dibutyltin oxide (3 mol % with respect to polymer) were dissolved in 240 mL of chlorobenzene. This mixture was refluxed for 10 days in order to cyclodepolymerize the PEG precursor. The solvent was removed from the mixture by rotary evaporator. The cyclic product (C-PEG) was dried in an oven at 70°C for 72 h.

The C-PEG was characterized in comparison with the PEG precursor by $^1\text{H-NMR}$ (Bruker AG, NMR 300 ULTRA SHIELD) using tetramethylsilane (TMS) as internal standard, and Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR; Bruker AG, IFS28) using KBr disc. The weight average molecular weight ($\bar{M}_w$), number average molecular weight ($\bar{M}_n$), and molecular weight distribution (MWD) of PEG and C-PEG were determined by gel permeation chromatography (GPC; Millipore, WATER 150-cv) using tetrahydrofuran as the mobile phase, at a flow rate of 1 mL/min. The GPC measurement was carried out at 30°C and commercial polystyrene standards were employed for the determination of the molecular weight of polyesters.

Preparation of HAp/PEG composites

About 0.1 mol/L of C-PEG and 3 mol % of dibutyltin oxide were dissolved in dichloromethane. The as-prepared porous HAp scaffolds were immersed in the C-PEG solution for 24 h to allow most of the C-PEG to penetrate into the porous structure of HAp. The pre-composite samples were *in situ* ROP at 200°C under vacuum for 24, 48, and 72 h.

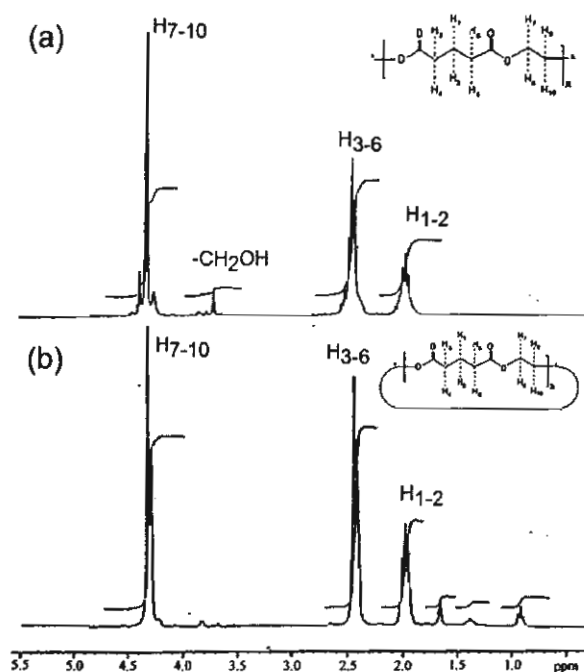


Figure 2. ^1H NMR spectra of PEG precursor (a) and C-PEG (b).

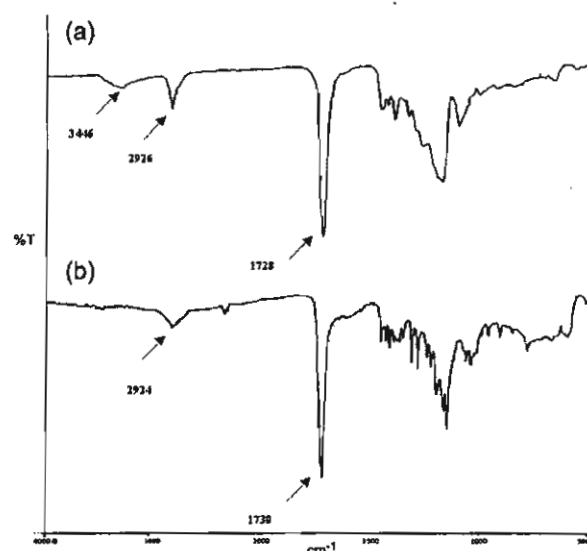


Figure 3. FT-IR spectra of PEG precursor (a) and C-PEG (b).

TABLE III
Average Densities, Weight Percent of ROP-PEG, Compressive Strength and Modulus of HAp/PEG Composites in Comparison With HAp Preform

Sample	Density (mg/m ³)	wt % of PEG in HAp/PEG Composite	Compressive Strength (MPa)	Compressive Modulus (MPa)
HAp templates	1.07	—	3	29
HAp/PEG-24h	1.23	16	15	189
HAp/PEG-48h	1.22	14	12	153
HAp/PEG-72h	1.21	13	11	127

Characterization of HAp/PEG composites

The HAp/PEG composites were characterized in comparison with the porous HAp scaffolds, using XRD and scanning electron microscope (SEM; LEO, LEO1455VP) with associated energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX; GENESIS2000, EDAX). The weight percent and decomposition temperature of the ROP-PEG in the composites were determined by thermogravimetric analysis (TGA; Perkin Elmer, Pyris 1 TGA), in which the composites were heated from 50 to 900°C at a heating rate of 10°C/min. The ROP-PEG was extracted from the HAp/PEG composites by soaking in dichloromethane for 24 h and characterized by ¹H-NMR using TMS as internal standard. The $\bar{M}_w$, $\bar{M}_n$ and MWD of the ROP-PEG were determined by GPC using the same condition as the PEG precursor.

sites were measured by universal testing machine (Lloyd Instrument, LR30K) using 30 kN load cell with a test speed of 2.5 mm/min.

In vitro bioactivity of HAp/PEG composites

Preparation of simulated body fluid

Simulated body fluid (SBF) was prepared by dissolving reagent-grade NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄·3H₂O, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂, and Na₂SO₄ in distilled water, with the ion concentrations adjusted similarly to those in human blood plasma as shown in Table I.^{21,22} The pH of the SBF solution was buffered at 7.4 with 1 mol/L of HCl and tris-(hydroxymethyl)-aminomethane [(CH₂OH)₃CNH₂].

T1

In vitro testing

Compressive strength and compressive modulus

Compressive strength and compressive modulus of the porous HAp scaffolds and the HAp/PEG compo-

sites were polished using 4-μm diamond paste. The composites were soaked in the SBF solution at 36.5°C

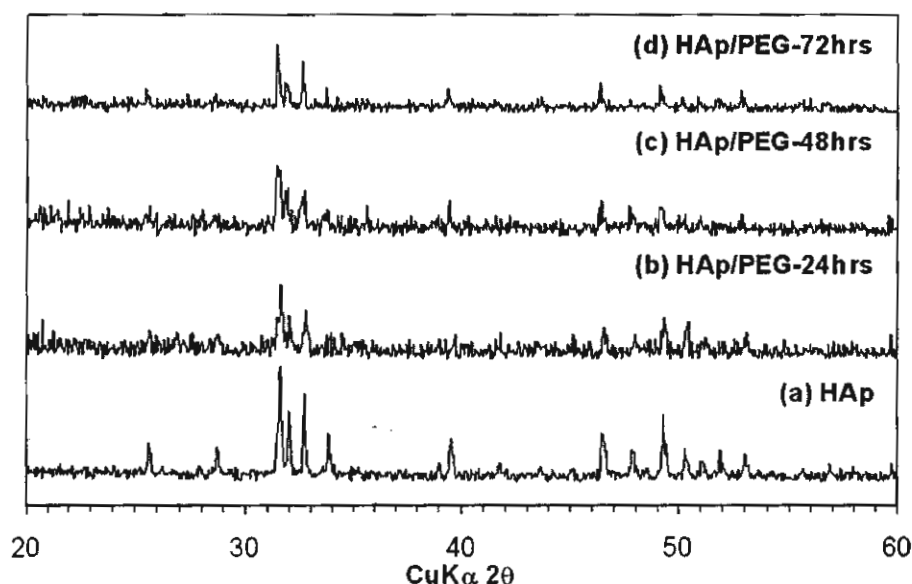


Figure 4. XRD patterns of HAp scaffold (a) and HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 24 h (b), 48 h (c), and 72 h (d).

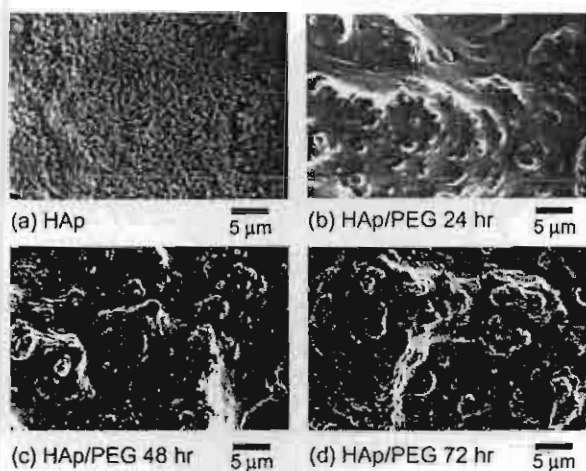


Figure 5. SEM micrographs of HAp scaffold (a) and HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 24 h (b), 48 h (c), and 72 h (d).

for 7, 14, 21, and 28 days using slow-flowing systems. In this system, the SBF solution was drawn from a supply bottle by peristaltic pump, at a flow rate of about 130 mL/day. The SBF solution then flowed through the HAp/PEG composite in a sample cell. After passing over the composite at each interval, the SBF solution was collected in individual bottles for further analysis. In all experiments, one pellet was removed from the soaking systems after each predetermined soaking time, gently washed with distilled water, and dried at room temperature.

The surfaces of the soaked HAp/PEG composites were investigated by XRD and SEM. Changes of calcium (Ca), phosphorus (P), and carbon (C) concentrations on the composite surface were determined by EDX microanalysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Porous HAp scaffolds

Chemical composition of the synthesized HAp measured by XRF was CaO 55.0–56.5 wt % and P₂O₅ 43.0–44.5 wt %. The Ca/P molar ratio of the HAp precursor is 1.56–1.67, which was close to the ideal value of HAp (Ca/P = 1.67). The XRD pattern and the microstructure of the porous HAp scaffold is shown in Figure 1(a,b), respectively. The crystalline peaks corresponding to HAp were observed at $2\theta = 25.9^\circ, 31.8^\circ, 32.2^\circ, 32.9^\circ, 39.6^\circ, 46.5^\circ, 49.4^\circ, 50.5^\circ, \text{ and } 51.2^\circ$. The dense agglomerated grains of HAp were observed in the SEM micrographs of the calcined HAp scaffolds. Pores of various sizes generated from the decomposition of PVA were also observed not only on the surface, but also inside the fractured specimens of the HAp scaffolds. These

interconnected pores in the HAp scaffolds absorbed the C-PEG. The average bulk density of the porous HAp scaffold was about 1.07 mg/m³, which was lower than the 3.16 mg/m³ (theoretical density) of HAp.

PEG and C-PEG precursors

Table II shows the GPC data of PEG and C-PEG precursors. It was found that the PEG precursor with $\bar{M}_w = 3499$ and MWD = 1.8 was obtained from condensation polymerization of DMG and ethylene glycol at 150°C for 24 h, with a conversion of 60%. This precursor was cyclodepolymerized using dibutyltin oxide as a catalyst, in which the cyclic product (C-PEG) with $\bar{M}_w = 433$ and MWD = 1.31 was obtained with 88% conversion.

Figure 2 shows the ¹H NMR spectra of the PEG and C-PEG precursors. The ¹H NMR spectrum of PEG precursor showed the signals of methyl groups in the main chains at δ 4.1–4.5 ppm for $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$, δ 1.8–2.1 ppm for $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, δ 2.3–2.5 ppm for $-\text{COCH}_2-$, and δ 3.6–4.0 ppm for $-\text{CH}_2\text{OH}$ end group. The amount of $-\text{CH}_2\text{OH}$ end group was much lower than that of methyl groups in the main chains; therefore, its signal was obtained in a trace level. All signals of the main chain structure were also observed in the spectrum of C-PEG, except that of $-\text{CH}_2\text{OH}$ end group (δ 3.6–4.0 ppm). This result indicated the transformation of PEG precursor to C-PEG by cyclodepolymerization under dilute condition. The FT-IR spectra also corroborated the formation of C-PEG as shown in Figure 3. Both PEG precursor and C-PEG spectra showed the absorbance peaks at about 1728 cm⁻¹ of $\nu_{\text{C=O}}$ ester group and 2426 cm⁻¹ of $\nu_{\text{C-H}}$ (aliphatic), corresponding to the functional groups of main chain. However, the peak of $-\text{OH}$ end group was observed only in the PEG spectrum at about 3446 cm⁻¹.

HAp/PEG biomaterial composites

The HAp/PEG composite was prepared by *in situ* ROP of C-PEG within the porous of HAp scaffold at 200°C for 24, 48, and 72 h.

Table III shows the average densities of porous HAp scaffolds in comparison with the HAp/PEG composites and the weight percent of ROP-PEG in HAp/PEG composites. The average densities of HAp/PEG composites were increased about 14% from that of HAp scaffolds to about 1.2 mg/m³ due to the impregnation of ROP-PEG. Amounts of ROP-PEG in the composites calculated from weight loss of the TGA thermograms were about 13–16 wt %. It was found that the longer the polymerization time, a lower amount of ROP-PEG was obtained in the HAp/PEG composites. This was because the ROP-PEG was a waxy product, and there-

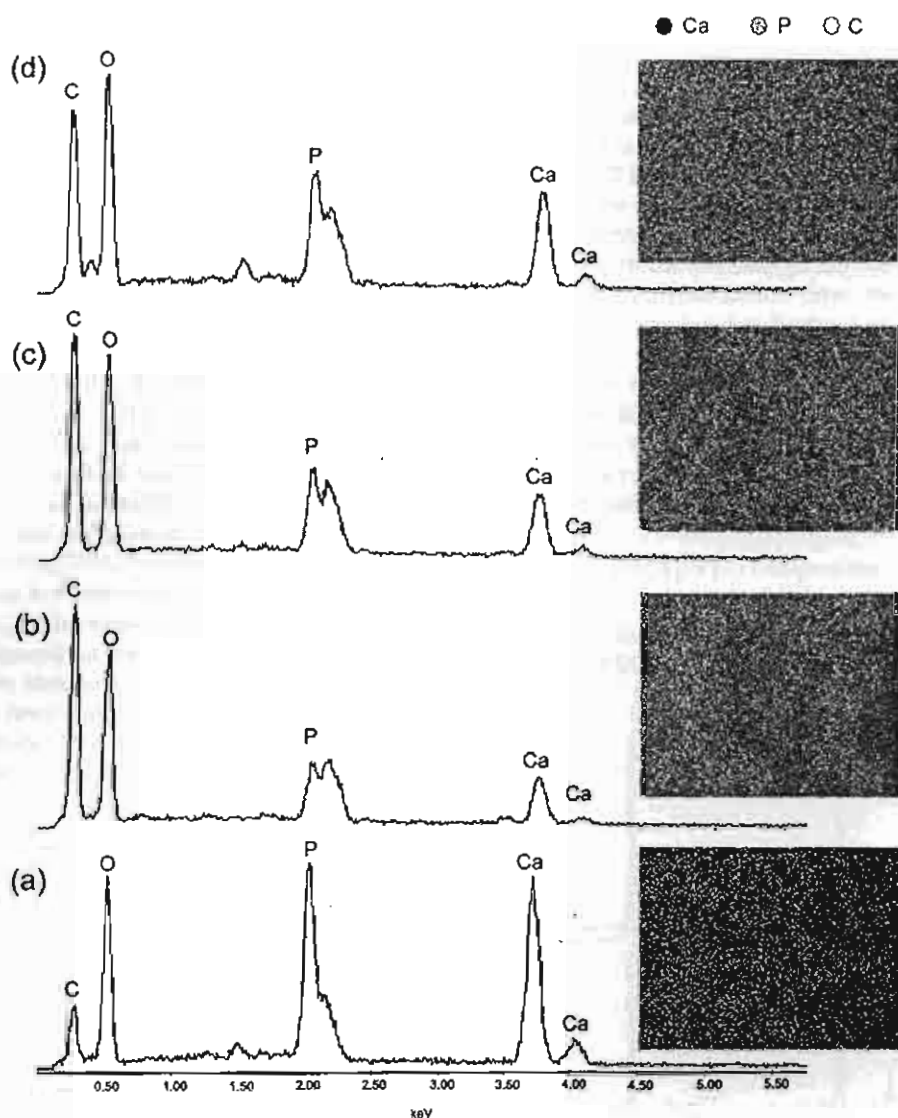


Figure 6. EDX spectra and elements mapping of the fracture surfaces of HAp scaffold (a) and HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 24 h (b), 48 h (c), and 72 h (d). [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

fore, some part of ROP-PEG flowed out from the HAp scaffolds. Although the prolonged polymerization of C-PEG would increase the molecular weight of PEG in HAp performs, however, the decreasing PEG content was considered to cause a significant effect on the mechanical properties of the HAp/PEG composites. From this consideration, a period of 24 h should be an optimal time for the ROP of C-PEG in the HAp performs at 200°C.

Figure 4 shows the XRD patterns of HAp/PEG composites in comparison with that of porous HAp scaffold. The patterns of HAp scaffold and HAp/PEG composites showed the crystalline peaks at $2\theta = 25.8^\circ$, 31.8° , 32.2° , 32.9° , 34.1° , 39.8° , 46.7° , 49.5° , and 50.5° , corresponding to those of HAp. Although the main crys-

talline peaks in the XRD patterns of HAp/PEG composites came from the HAp scaffolds, it seemed that all of the peaks were relatively broadened due to the superimposition of the amorphous PEG.

Figure 5 shows the changes in the surface microstructures of porous HAp scaffolds after the ROP at 200°C for 24, 48, and 72 h. Surface of agglomerated HAp grains in the HAp/PEG composites was coated with a thin layer of PEG obtained from ROP of C-PEG. Although the HAp grain boundaries were no longer observed in the HAp/PEG composites, the ROP-PEG layer was not thick enough to conceal the signal from the HAp scaffold. Therefore, some HAp grains were still observed in the SEM micrographs of HAp/PEG composites, and hence, the main constituent peaks of

F5

TABLE IV
Molecular Weight of C-PEG and ROP-PEG

Sample	Molecular Weight (g/mol)		
	M_w	M_n	MWD
C-PEG	570	430	1.3
HAp/PEG-24h	4320	2590	1.7
HAp/PEG-48h	6430	2860	2.3
HAp/PEG-72h	6840	2900	2.4

XRD patterns belonged to HAp substrate. Figure 6 shows the EDX spectra and elements mapping of the fractured surfaces of HAp scaffold and HAp/PEG composites. The EDX spectrum of the HAp scaffold was mainly composed of Ca, P, and O elements. The Ca/P molar ratio calculated from the EDX analysis was about 1.66, which corroborated to the XRF analysis. The spectra of HAp/PEG composites show higher carbon (C) content but lower Ca and P than those of the HAp scaffold. Distribution of C from the ROP-PEG layer was observed on the fractured surfaces of HAp scaffolds in the elements mapping of HAp/PEG composites. These results indicated that the ROP-PEG layer was evenly distributed throughout the porous HAp scaffolds. The longer the polymerization time employed, the lower amount of C but higher amounts of Ca and P were obtained in the HAp/PEG composites, corresponding to the decreasing amount of ROP-PEG in the composites as discussed previously.

The ROP-PEG was extracted from the composite by immersing the composite in dichloromethane for 24 h. The molecular weights of extracted polymer were analyzed by GPC as shown in Table IV. The M_w of ROP-PEG was in the range of 4300–6800 g/mol with the MWD of 1.7–2.4. The molecular weights of ROP-products significantly increased from those of C-PEG, indicating the transformation of C-PEG to PEG by ROP. The longer the polymerization time, the higher molecular weight but lower amount of PEG was obtained in the HAp/PEG composites. These were attributed to the flowing out of ROP-PEG products from the HAp scaffolds as discussed previously.

Figure 7 shows the ^1H NMR spectra of the extracted ROP-products. The spectra showed the signals of methyl groups in the main chains at δ 4.1–4.5 ppm for $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$, δ 1.8–2.1 ppm for $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, δ 2.3–2.5 ppm for $-\text{COCH}_2-$, and δ 3.6–4.0 ppm for $-\text{CH}_2\text{OH}$ end group. The signal of CH_2OH end group corroborated the successful ROP of C-PEG in the porous HAp scaffolds.

Compressive strength and compressive modulus

Table III shows the compressive strength and compressive modulus of HAp/PEG composites in comparison with those of porous HAp scaffolds. Both compres-

sive strength and compressive modulus of HAp/PEG composites significantly increased from those of the porous HAp scaffolds due to the presence of ROP-PEG. It was found that the compressive strength decreased from 15 to 11 MPa with the increasing polymerization time from 24 to 72 h. This result attributed to the effect of PEG content in the HAp/PEG composites. Although the compressive strength of HAp/PEG composites should be increased with the increasing PEG molecular weights by using longer polymerization time, the decrease of PEG content was considered to be the dominant effect on the compressive strength of HAp/PEG composites. The compressive strengths of HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 24, 48, and 72 h are in the range of compressive strength of cancellous bone, that is 2–13 MPa.²³ This result suggested that these HAp/PEG composites are possible for use as an implant.

Bioactivity of HAp/PEG composites

Figure 8 shows the XRD patterns of the surfaces of the HAp/PEG composites before and after soaking in

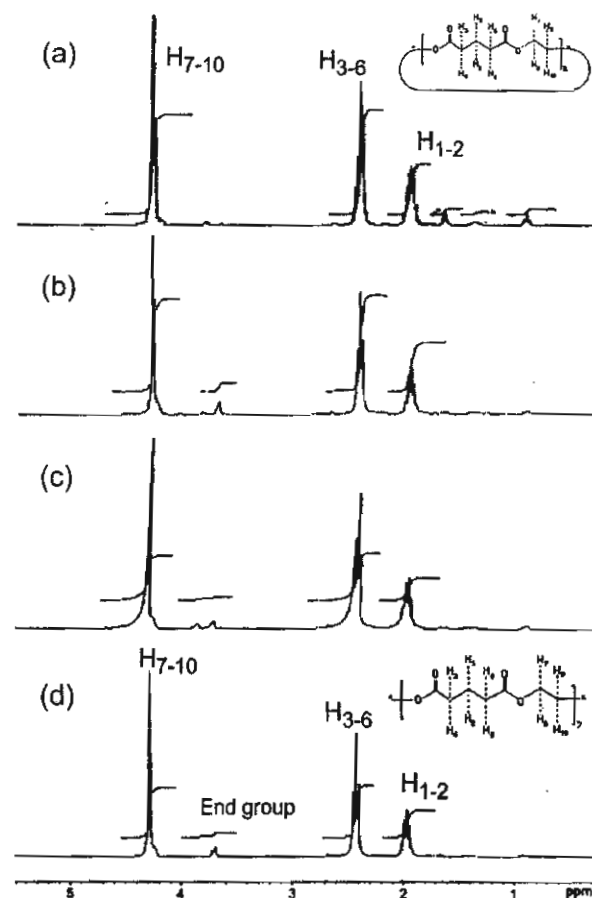


Figure 7. ^1H NMR spectra of C-PEG precursor (a) and PEG in the HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 24 h (b), 48 h (c), and 72 h (d).

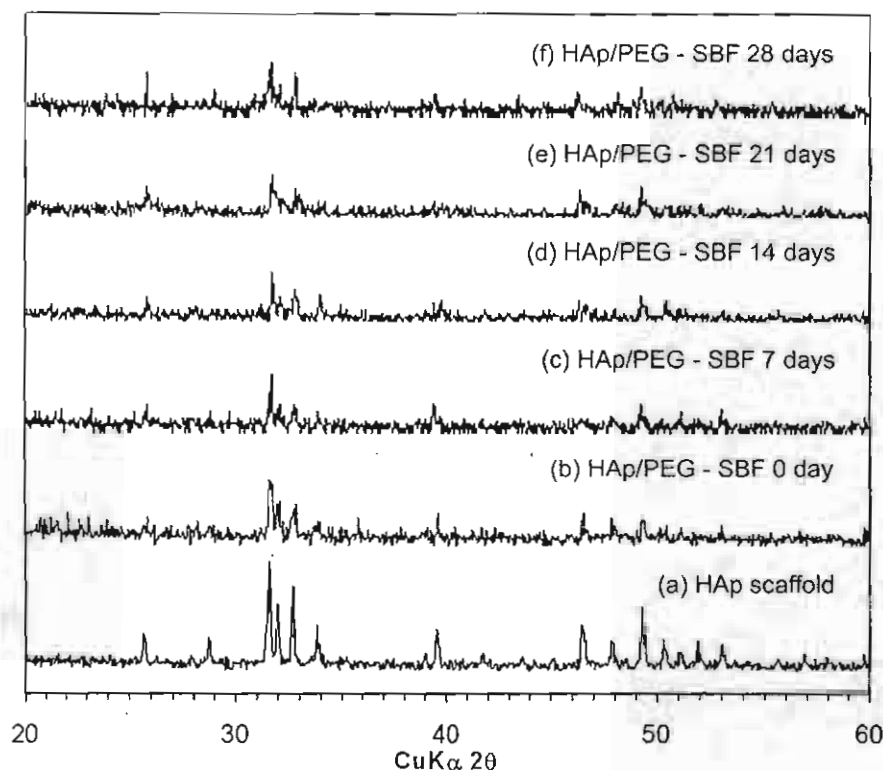


Figure 8. XRD patterns of the HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 48 h before soaking in SBF (a) and after soaking in SBF for 7 days (b) 14 days (c), 21 days (d), and 28 days (e).

the SBF solution for various periods in comparison with the HAp scaffold. After prolonged soaking in the SBF solution, the crystalline peaks of HAp around $2\theta = 31.7\text{--}32^\circ$ observed in the XRD patterns of the soaked composites were broadened. These results were considered to be due to the overlapping of 211 and 112 reflections of the newly formed HAp, related to the low crystallinity and small crystallite size of the HAp. In Figure 9(a), the HAp layer precipitated from the SBF solution after soaking for 28 days was observed as a rough layer of globular aggregates. These aggregates consisted of needle-like HAp nanocrystals, as shown in Figure 9(b). This microstructure indicated the preferred orientation of HAp crystals in the *c*-plane, resulting in an increase of intensity of 002 reflection at $25.8^\circ 2\theta$ after prolonged soaking. From these results, it was found that the particular microstructure of HAp precipitated from the SBF solution was quite different from the calcined HAp.

Figure 10 shows the EDX spectra and element mapping of the surfaces of the HAp/PEG composites before and after soaking in the SBF solution for various periods. The longer the soaking time, the lower amount of C but higher amounts of Ca and P were obtained similar to Figure 6. After prolonged soaking for 28 days, the C distribution was hardly observed in the elements mapping of composite surface as shown in Figure 10(e). The Ca/C and Ca/P molar ratios of the

surfaces of HAp/PEG composites increased with the increase of soaking time as shown in Figure 11. These results were attributed to the dissolution of ROP-PEG layer from the surfaces of HAp/PEG composites accompanied with the precipitation of HAp crystals from the SBF solution. The diminishing of C on the surfaces of the soaked composites was considered to be due to the dissolution of ROP-PEG layer and/or the

F11

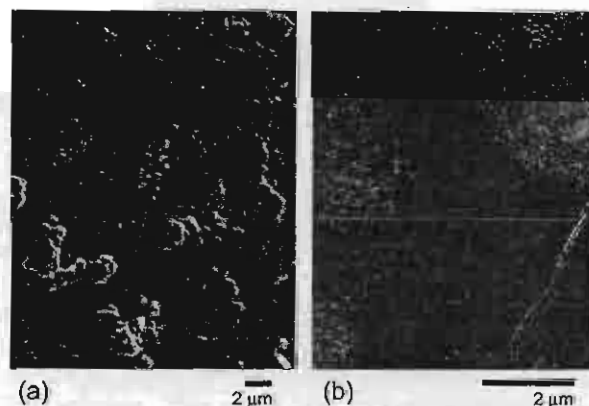


Figure 9. SEM micrographs of the HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 48 h after soaking in SBF for 28 days [magnification: $\times 2500$ (a) and $\times 10,000$ (b)].

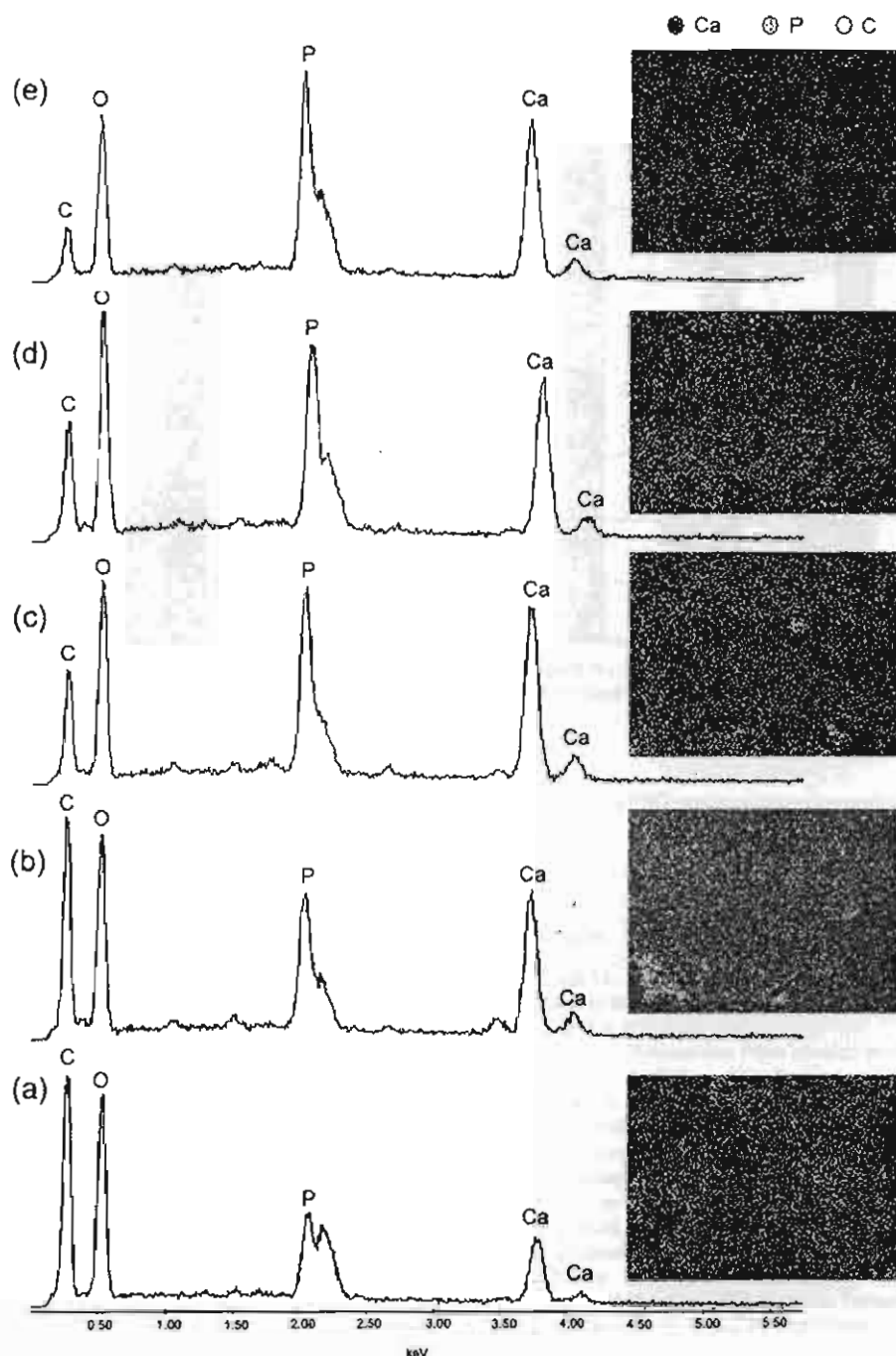
C
O
L
O
R

Figure 10. EDX spectra and elements mapping of the surfaces of HAp scaffold (a) and HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 48 h before soaking in SBF (b) and after soaking in SBF for 7 days (c), 14 days (d), 21 days (e), and 28 days (f). [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

superimposition of the precipitated HAp, resulting in the steep increase of Ca/C molar ratio. The concomitant increase in Ca and P occurred in all samples after prolonged soaking, indicating the consumption of Ca^{2+} and PO_4^{3-} from the SBF solution to form the HAp layer on the composite surfaces. The Ca/P molar ratio gradually increased until it reached about 1.63 after soaking

for 28 days. The change of Ca/P molar ratio indicated that the HAp layer gradually formed and then coated on the composite surfaces after prolonged soaking in SBF solution. This result was in agreement with the XRD and SEM results as discussed previously. It can be concluded from the earlier results that the HAp/PEG composite was a bioactive material.

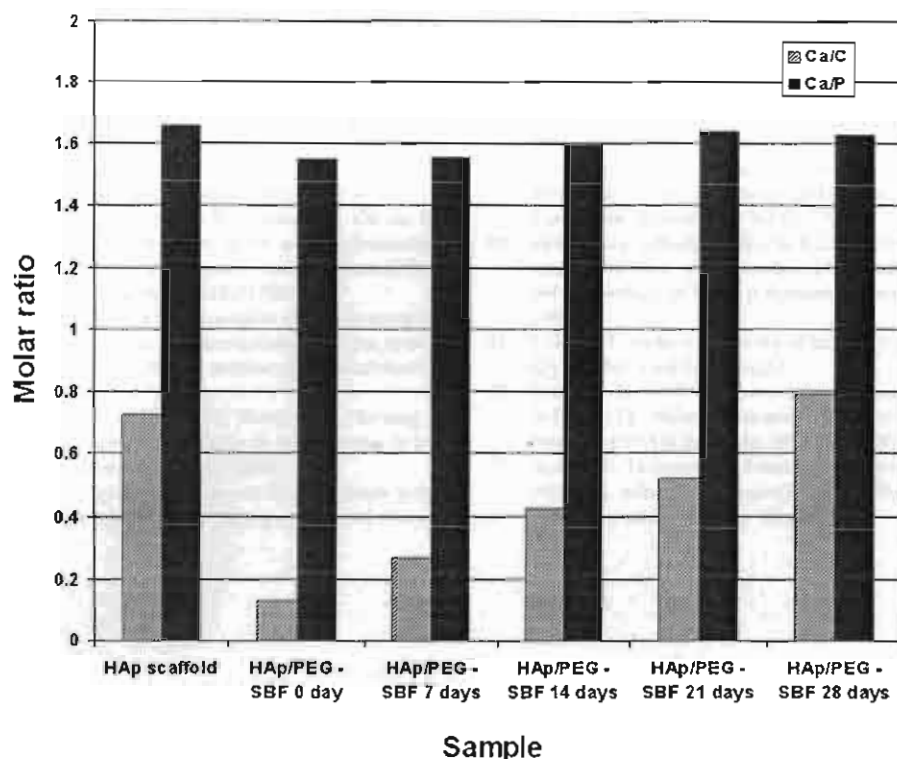


Figure 11. Ca/C and Ca/P molar ratios of the surfaces of HAp scaffold, HAp/PEG composites polymerized at 200°C for 48 h before and after soaking in SBF.

CONCLUSION

The HAp/PEG composites were successfully prepared by ROP of C-PEG within the porous HAp scaffolds at a temperature of 200°C for 24, 48, and 72 h under vacuum. The content of ROP-PEG in the HAp/PEG composites was in a range of 13–16 wt %, with the weight average molecular weight of 4300–6800 g/mol. The longer the polymerization time, the higher molecular weight but lower amount of PEG were obtained in the HAp/PEG composites. The compressive strength of HAp/PEG composites was in the range of 11–15 MPa, depending on the PEG content in the composites. The HAp/PEG composites with the highest compressive strengths were obtained by *in situ* ROP of C-PEG in the HAp scaffolds at 200°C for 24 h. After soaking in SBF at 36.5°C for 7–28 days, the HAp/PEG composite could induce the formation of globular aggregates consisting of the HAp nanocrystals from the SBF solution, indicating its bioactivity.

The authors thank the Scientific Instruments Service Center, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang for XRD, XRF, and SEM analyses.

References

- Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthesis materials. *J Biomed Mater Res* 1971;2:117–141.
- Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 1991;74:1487–1510.
- Kokubo T. Surface chemistry of bioactive glass-ceramics. *J Non-Cryst Solids* 1990;120:138–151.
- Siriphannon P, Hayashi S, Yasumori A, Okada K. Preparation and sintering of CaSiO_3 from coprecipitated powder using NaOH as precipitant and its apatite formation in simulated body fluid solution. *J Mater Res* 1999;14:529–536.
- Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, Okada K, Hayashi S. Influence of preparation conditions on the microstructure and bioactivity of α - CaSiO_3 ceramics: Formation of hydroxyapatite in simulated body fluid. *J Biomed Mater Res* 2000;52:30–39.
- Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, Okada K, Hayashi S. Comparative study on formation of hydroxyapatite in simulated body fluid under static and flowing systems. *J Biomed Mater Res* 2002;60:175–185.
- Jarcho M, Kay JL, Gumaer RH, Drobeck HP. Tissue, cellular and subcellular events at bone–ceramic hydroxyapatite interface. *J Bioeng* 1977;1:79–92.
- LeGeros RZ, LeGeros JP. Dense hydroxyapatite. In: Hench LL, Wilson J, editors. *An Introduction to Bioceramics*. Singapore: World Scientific; 1993. pp 140–145.
- Aoki H. Medical Application of Hydroxyapatite. Tokyo: Ishiyaku EuroAmerica; 1994. pp 1–12, 166–167.
- Chang BS, Lee CK, Hong KS, Youn HJ, Ryu HS, Chung SS, Park KW. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials* 2000;21:1291–1298.

HYDROXYAPATITE/POLY(ETHYLENE GLUTARATE) BIOMATERIALS

11 AQ1

11. Bonfield W, Grynpas MD, Tully AE, Bowman J, Abram J. Hydroxyapatite reinforced polyethylene—A mechanically compatible implant material for bone replacement. *Biomaterials* 1981;2:185–186.
12. Bonfield W. Composites for bone replacement. *J Biomed Eng* 1988;10:522–526.
13. Ignjatovic N, Tomic S, Dakic M, Miljkovic M, Plavsic M, Uskokovic D. Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials. *Biomaterials* 1999;20:809–816.
14. Furukawa T, Matsusue Y, Yasunaga T, Shikunami Y, Okuno M, Nakamura T. Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly (L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures. *Biomaterials* 2000;21:889–898.
15. Walsh D, Furuzono T, Tanaka J. Preparation of porous composite implant materials by in situ polymerization of porous apatite containing ϵ -caprolactone or methyl methacrylate. *Biomaterials* 2001;22:1205–1212.
16. Helwig E, Sandner B, Gopp U, Vogt F, Wartewig S, Henning S. Ring-opening polymerization of lactones in the presence of hydroxyapatite. *Biomaterials* 2001;22:2695–2702.
17. Amass W, Amass A, Tighe B. A review of biodegradable polymers: Uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym Int* 1999;47:89–144.
18. Jamshidi K, Shimizu T, Usui Y, Eberhart RC, Mooney V. Resorbable structured porous materials in the healing process of hard tissue defects. *ASAIO Trans* 1988;34:755–760.
19. Gen S, Jamshidi K, Ikada Y, Azuma S, Kayoda Y, Yamamuro T. Bone filler from poly(lactic-acid)-hydroxyapatite composites. *Konbunshi Ronbunshu* 1985;42:771–776.
20. Monvisade P, Hodge P, Ruddick CL. Synthesis of soluble combinatorial libraries of crown ether-ester analogues *via* the cyclodepolymerisation of linear polyesters. *Chem Commun* 1999;1987–1988.
21. Kokubo T. Surface chemistry of bioactive glass-ceramics. *J Non-Cryst Solids* 1990;120:138–151.
22. Kokubo T. A-W glass-ceramic: Processing and properties. In: Hench LL, Wilson J, editors. *An Introduction to Bioceramics*. Singapore: World Scientific; 1993. pp 75–88.
23. Shors CE, Holmes ER. Porous hydroxyapatite. In: Hench LL, Wilson J, editors. *An Introduction to Bioceramics*. Singapore: World Scientific; 1993. pp 181–198.