



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาซีเมนต์เชื่อมกระดูกแคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบชนิด
เซ็ดตัวได้เองเพื่อใช้งานทางการแพทย์

โดย ผศ.ดร. ศิริรัตน์ ทับสูงเนิน รัตนจันทร์ และคณะ

สิ้นสุดโครงการเมื่อ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาซีเมนต์เชื่อมกระดูกแคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบชนิด
เซ็ดตัวได้เองเพื่อใช้งานทางการแพทย์

คณะผู้วิจัย

- ผศ.ดร. ศิริรัตน์ ทับสูงเนิน รัตนจันทร์
- รศ.ดร. จรัสศรี ลอประยูร

สังกัด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตได้มีการพัฒนากันอย่างกว้างขวางเพื่อใช้เป็นวัสดุซ่อมแซมการเสียหายของกระดูก เนื่องจากซีเมนต์ไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถเข้ากับร่างกายได้ดี เมื่อเซตตัวจะมีลักษณะโครงสร้างเหมือนกระดูกในธรรมชาติ จึงทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อได้เร็วขึ้นทำให้การรักษาการแตกหักของกระดูกทำได้อย่างรวดเร็ว โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสังเคราะห์สารแคลเซียมฟอสเฟตหลายชนิดได้แก่เตตระแคลเซียมฟอสเฟต (Tetracalcium phosphate, TTCP), ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (Dicalcium phosphate dibasic, DCPD), ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) และไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite) เพื่อให้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมเป็นซีเมนต์กระดูกเชิงประจักษ์ด้วยไคโตซานและปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพให้เหมาะสมต่อการใช้งานทางการแพทย์ เช่น เวลาในการเซตตัว ความแข็งแรงหลังจากเซตตัว พฤติกรรมในการเซตตัวที่เหมาะสมในสภาวะต่างๆ และความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อ ในโครงการวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความบริสุทธิ์สูง โดยกระบวนการสังเคราะห์ในบรรยากาศปรกติ ที่อุณหภูมิ 75-80°C ที่ pH 9-10 และนำผงไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 300°C เมื่อเติมไคโตซานในปริมาณ 5% โดยน้ำหนัก สามารถเพิ่มความต้านทานต่อแรงกดของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย α -TCP + DCPD และ TTCP+DCPD ได้ แต่ถ้าเติมในปริมาณมากกว่านี้จะทำให้ความต้านทานต่อแรงกดต่ำลง นอกจากนี้ไคโตซานยังทำให้ซีเมนต์ไม่สามารถเซตตัวได้อย่างสมบูรณ์ในเวลาที่กำหนดได้ ซึ่งสรุปได้ว่าการเติมไคโตซานด้วยปริมาณที่มากเกินไปมีผลต่อการเซตตัวและการเกิดเฟส HA นอกจากนี้เพื่อให้ได้ซีเมนต์ที่มีความแข็งแรงเพียงพอและมีการเซตตัวเหมาะสมแก่การใช้งาน ปริมาณของแคลเซียมฟอสเฟต เฮมิไฮเดรต ที่เหมาะสมในการเติมลงในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย Single HA คือ 50 % โดยน้ำหนัก การผสมด้วย 3% โดยน้ำหนักของไคโตซานที่ละลายใน กรดซิตริกเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนัก จะทำให้ซีเมนต์มีความต้านทานแรงกดหลังจากบ่มเป็นเวลา 7 วัน คือ 13 MPa และพบว่าเวลาในการเซตตัวเริ่มต้นและเซตตัวอย่างสมบูรณ์ของซีเมนต์นี้คือ 6 และ 30 นาที ตามลำดับ การเพิ่มอัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์ทำให้ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ลดลง อัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์ที่เหมาะสมคือ 0.5 ml/g ซึ่งจะทำให้ซีเมนต์ขึ้นรูปได้ดีและมีความแข็งแรงสูง ซีเมนต์จะละลายและเกิดการเซตตัวอย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะมีความแข็งแรงและมีเฟสของ HA ที่เสถียรได้ หลังจากการแช่ในสารละลายคล้ำร่างกายมนุษย์หลังจาก 14 วัน ซีเมนต์ที่ประกอบด้วย ผง chitosan/brushite ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100°C และผสมกับ สารละลายของ Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 4%โดยน้ำหนัก ทำให้ได้ซีเมนต์ที่มีความต้านทานแรงกดสูงถึง 18.6 MPa หลังจากเซตตัวเป็นเวลา 7 วัน ในการทดสอบความเป็นพิษจากสิ่งสกปรกได้จากตัวอย่างที่ทดสอบ พบว่าซีเมนต์ที่ประกอบด้วยผง Chitosan/brushite ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์

Abstract

Calcium Phosphate Cement (CPC) has been widely developed for using in orthopedic fixation or repair. Since CPC has biocompatibility and crystallographic similarity to the natural human bones and teeth, it induces to form bone tissue resulting in short period of curing. The objectives of this research project is to synthesis of calcium phosphate compounds such as Tetracalcium phosphate (TTCP), Dicalcium phosphate (DCPD), Tricalcium phosphate (TCP) and Hydroxyapatite (HA) for using as the starting powders of self-setting calcium phosphate cement composite with chitosan. To improve the properties of bone cement for the clinical applications, the effects of chitosan contents and additives on the cement properties are studied; such as the setting times, the mechanical strength after setting, setting behavior in various environments and cytotoxicity test. In this study, high purity hydroxyapatite with nanopowder was achieved by the chemical method at temperature of 75-80°C, kept pH at 9-10 and then heat-treated at 300°C for 12 hours. With 5%wt chitosan, compressive strength of cement consisting of α -TCP+DCPD and TTCP+DCPD increased. While the future increasing the chitosan content, compressive strength of cements decreased. Moreover, cement with chitosan could not only set in the short time but also it converted to hydroxyapatite slowly. To obtain the suitable mechanical properties of CPC, the content of calcium sulfate hemihydrate for the single HA cement is 50% by weight. With 3%wt chitosan in citric acid, compressive strength after curing for 7 days is 13 MPa. The initial and final setting times of this cement are 6 and 30 min, respectively. When increasing the L/P ratio, compressive strength of CPC decreased. To achieve the suitable handling and high strength of cement, L/P ratio in this study is 0.5 ml/g. In SBF condition with several days, CPC was resolved and formed hydroxyapatite after soaking in SBF condition for 14 days. After curing for 7 days, cement consist of chitosan/brushite powder heated at 100°C with 4%wt Na₂HPO₄ solution had the highest compressive strength of 18.6 MPa. For extraction method in In vitro test, it was evaluated that the CPC with chitosan/brushite powder was not cytotoxicity.

Keywords: Calcium phosphate cements; Composites bone cement; Hydroxyapatite: Self-setting bone cements, Chitosan

แบบสรุปโครงการวิจัย (Executive Summary)

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันมีวัสดุหลายชนิดที่นำมาใช้ในการซ่อมแซมการเสียหายหรือแตกร้าวของกระดูก ซึ่งในกรณีนี้วัสดุต้องสัมผัสกับกระดูกและอยู่ในร่างกายของมนุษย์โดยตรง และควรจะสามารถเกิดการยึดเกาะที่แข็งแรงเพียงพอหลังจากผ่าตัด วัสดุที่ต้องการประเภทนี้จะต้องเข้าได้ดีกับร่างกายมนุษย์ (Biocompatibility) และยังสามารถสลายตัวได้เพื่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ทดแทนและเกิดการยึดเกาะตามธรรมชาติ (Biodegradability)

จากการประชุมเชิงวิชาการ International Symposium on Biomedical Engineering 2004: Application of Biomedical Engineering in Dentistry and Medicine เมื่อวันที่ 15-19 พฤศจิกายน 2547 พบว่าทางการแพทย์นิยมใช้โลหะไททาเนียมหรืออัลลอยด์เข้าไปทดแทนกระดูกหรือตามส่วนที่บกพร่องของกระดูกและฟัน ในการตกแต่งแก้ไขของบกพร่องของกระดูกหรือการทำศัลยกรรมโดยการเชื่อมต่อกับซีเมนต์ชนิดโพลีเมตเทิลเมตาอะครีเลต (Polymethylmethacrylate, PMMA) ซึ่งซีเมนต์ชนิดนี้มีข้อเสีย เช่น จะแข็งตัวที่อุณหภูมิสูง ทำให้เนื้อเยื่อโดยรอบถูกทำลายและเป็นอันตรายได้ เมื่อแข็งตัวแล้วจะมีการหดตัวสูง ทำให้เกิดการหลวม ไม่ยึดเกาะ สารบางตัวอาจจะทำให้เกิดอาการแพ้หรืออักเสบของเนื้อเยื่อได้ นอกจากนี้ผลการใช้ในระยะยาวยังไม่ได้มีการรับรอง และอาจก่อให้เกิดอันตรายหรือผลข้างเคียงแก่ผู้ป่วยได้

ดังนั้นจึงได้มีการปรับปรุงซีเมนต์ที่ใช้กับร่างกายมนุษย์ที่สามารถเข้าได้ดีกับร่างกายและก่อให้เกิดการยึดเกาะเกิดเป็นเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ตามธรรมชาติ จากการค้นพบซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตที่ประกอบด้วยเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (Tetracalcium phosphate, TTCP), ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (Dicalcium phosphate dibasic, DCPD) และ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium phosphate, TCP) ซึ่งหลังจากแข็งตัวจะได้สารไฮดรอกซีอะพาไทต์จะมีคุณสมบัติเหมือนกระดูกทำให้มีความพยายามที่จะนำสารชนิดนี้มาทดแทนโลหะและซีเมนต์โพลีเมตเทิลเมตาอะครีเลต เพราะไฮดรอกซีอะพาไทต์เข้าได้ดีกับร่างกายและสามารถก่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่มาทดแทน

ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตได้ถูกพัฒนาขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการคือ เข้าได้ดีกับร่างกายมนุษย์ ก่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่เพื่อให้เกิดการยึดเกาะตามธรรมชาติ และสามารถแข็งตัวได้เองที่อุณหภูมิร่างกายมนุษย์ ดังนั้นสามารถนำซีเมนต์ชนิดนี้ไปใช้โดยการขึ้นรูปตามรูปแบบที่ต้องการแล้วนำไปใส่ในส่วนที่บกพร่องของกระดูกหรือใช้ในการเชื่อมประสานรอยแตกร้าวได้ เนื่องจากซีเมนต์สามารถปรับคุณสมบัติให้ฉีดได้ (injectibility) นอกจากนี้ยังนำไปผสม

กับยาฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการติดเชื้อหลังผ่าตัด หรือผสมกับยารักษาโรคอื่นๆ เพื่อเป็นตัวส่งยา (drug delivery) เพื่อส่งยาไปรักษาเฉพาะบริเวณได้ หลังจากเซ็ดตัวไม่เกิดความร้อนเหมือนกับซีเมนต์กระดูกชนิดอื่นๆ

อย่างไรก็ตามซีเมนต์เชื่อมกระดูกที่มีขายซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศหรือยังมีการพัฒนาอยู่ในขณะนี้ ยังต้องการคุณสมบัติที่ดีทั้งทางเคมีและทางกายภาพยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการแพทย์จริง เนื่องจากยังคงมีข้อเสียหลายประการเช่น ความแข็งแรงของซีเมนต์จะลดลงเมื่อนำไปใส่ในร่างกาย เนื่องจากการเกาะกันที่ไม่ดี และอาจทำให้เกิดอนุภาคเล็กๆแตกและหลุดเข้าไปปะปนกับของเหลวในร่างกาย ก่อให้เกิดอันตรายได้ หรือความแข็งแรงไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นส่วนโครงสร้างใหญ่ที่ต้องรับน้ำหนักหรือแรงกดมาก

งานวิจัยนี้จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่สามารถนำไปพัฒนาซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบ โดยการสังเคราะห์ขึ้นได้เองในห้องปฏิบัติการและขยายผลไปสู่การใช้งานจริง ซึ่งได้แก่ การเซ็ดตัวในเวลาที่เหมาะสมและความแข็งแรงเทียบเท่ากับกระดูกในธรรมชาติ และสามารถศึกษาความเป็นไปได้ในการนำซีเมนต์กระดูกชนิดนี้ไปใช้ในการแพทย์จริง เพื่อลดการนำเข้าวัสดุจากต่างประเทศและได้วัสดุที่มีคุณภาพเทียบเท่ากับวัสดุทางการค้า

2. ระเบียบวิธีวิจัย

1. ศึกษาค้นคว้า หาข้อมูลเพิ่มเติมในงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. วางแผน ลำดับขั้นตอนการทดลอง และดำเนินการติดต่อ จัดซื้อสารเคมี เครื่องมือที่ใช้สำหรับงานวิจัย
3. ศึกษาและทำการทดลองสังเคราะห์สารประกอบกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการเตรียมเป็นซีเมนต์กระดูก เช่น Tetracalcium phosphate (TTCP), α -tricalcium phosphate (α -TCP), Dicalcium phosphate dehydrate (DCPD), Dicalcium phosphate (DCP) และ Hydroxyapatite (HA) จากสารเคมีที่บริสุทธิ์
4. ตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะต่างๆของผงสารที่สังเคราะห์ได้ เช่น การหาองค์ประกอบทางเคมี ความบริสุทธิ์ เฟสที่ได้ และขนาดอนุภาค เป็นต้น
5. ทดลองการเตรียมสารประกอบกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟตในปริมาณที่เพิ่มขึ้น และทำการสังเคราะห์ให้ได้สารที่มีคุณสมบัติเหมือนเดิม (Reproduction)
6. ทดลองเตรียมซีเมนต์กระดูกจากสารที่สังเคราะห์ได้ เช่นจาก TTCP+DCPD, α -TCP+DCPD +HA เป็นต้น โดยการศึกษาผลของการผสมผงซีเมนต์กับ Organic acids หรือ Polyacid เช่น citric acid, polycarboxylic acid และ chitosan เป็นต้น แล้วนำไปตรวจสอบ

สมบัติทางกายภาพเพื่อเปรียบเทียบกับผงซีเมนต์ตั้งต้น เช่น โครงสร้างผลึก ปฏิริยาที่เกิดขึ้นรูพรุนของซีเมนต์หลังจากการเซตตัว เวลาในการเซตตัว ความแข็งแรงต่อแรงกด ฯลฯ โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อคุณสมบัติต่างๆของซีเมนต์ที่ได้ เช่น ผลของขนาดอนุภาค อัตราส่วนของผงซีเมนต์ต่อของเหลว (Powder/ liquid ratio)

7. ทำการทดลองปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพของซีเมนต์ให้เหมาะสม โดยเลือกศึกษาผลของตัวเติม (Additives) หรือ ตัวเร่ง (seeds) บางชนิดที่มีผลต่อซีเมนต์ที่เตรียมได้

8. ดำเนินการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในร่างกาย โดยการทดสอบปฏิริยาต่อเซลล์ หรือเนื้อเยื่อในของเหลวจำลองของร่างกายมนุษย์

3. สรุปผลของโครงการวิจัย

จากการศึกษาในโครงการวิจัยนี้ได้ผลสรุปดังต่อไปนี้

1. จากการเตรียมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซีเมนต์เชื่อมกระดูก ได้แก่ สารไดแคลเซียมฟอสเฟต ไดไฮเดรต (DCPD), ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (TCP), เตตระแคลเซียม ฟอสเฟต (TTCP) พบว่าได้สารที่มีความบริสุทธิ์สูงและมีขนาดอนุภาคที่เหมาะสมในการนำมาเตรียมเป็นสารตั้งต้นสำหรับซีเมนต์เชื่อมกระดูก ในโครงการวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความบริสุทธิ์สูง โดยกระบวนการสังเคราะห์ในบรรยากาศปรกติ ที่อุณหภูมิ 75-80°C ที่ pH 9-10 และนำผงไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 300°C
2. ไคโตซานสามารถเพิ่มความต้านทานต่อแรงกดของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย α -TCP + DCPD และ TTCP+DCPD ได้เมื่อเติมในปริมาณ 5% โดยน้ำหนัก แต่ถ้าเติมในปริมาณมากกว่านี้จะทำให้ความต้านทานต่อแรงกดต่ำลง นอกจากนี้ไคโตซานยังทำให้ซีเมนต์ไม่สามารถเซตตัวได้อย่างสมบูรณ์ในเวลาที่กำหนดได้ ซึ่งสรุปได้ว่าการเติมไคโตซานด้วยปริมาณที่มากเกินไปมีผลต่อการเซตตัวและการเกิดเฟส HA หลังจากทีซีเมนต์ผ่านการบ่มการเติม CSH ที่ปริมาณ 50%โดยน้ำหนักจะทำให้เกิดเฟสของ calcium sulfate dihydrate ที่ทำให้เกิดความแข็งแรงขึ้นในซีเมนต์ ดังนั้นปริมาณของ CSH ที่เหมาะสมในการเติมลงในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย Single HA คือ 50 % โดยน้ำหนัก เพื่อให้ได้ซีเมนต์ที่มีความแข็งแรงเพียงพอและมีการเซตตัวเหมาะสมแก่การใช้งาน
3. การผสมด้วย 3% โดยน้ำหนักของไคโตซานที่ละลายใน กรดซิตริกเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนัก จะทำให้ซีเมนต์มีความต้านทานแรงกดหลังการบ่มเป็นเวลา 7 วัน คือ 13 MPa และพบว่าเวลาในการเซตตัวเริ่มต้นและเซตตัวอย่างสมบูรณ์ของซีเมนต์นี้คือ 6 และ 30 นาทีตามลำดับ

4. การเพิ่มอัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์ทำให้ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ลดลง และอัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์ที่เหมาะสมคือ 0.5 ml/g ซึ่งจะทำให้ซีเมนต์ขึ้นรูปได้ดี และมีความแข็งแรงสูง
5. ความแข็งแรงของซีเมนต์จะเพิ่มขึ้นมากที่สุดในช่วง 7 วันแรกและจะลดลงและคงที่ในที่สุด หลังจากเซตตัว 14 วัน ซีเมนต์จะละลายและเกิดการเซตตัวอย่างสมบูรณ์ภายใน 7 วัน และจะเสถียรหลังจาก 14 วัน ซึ่งจะมีความแข็งแรงและมีเฟสของ HA ที่เสถียรได้หลังจาก การแช่ในสารละลายคล้ายร่างกายมนุษย์หลังจาก 14 วัน
6. ซีเมนต์ที่ประกอบด้วย C/B จะมีความต้านทานแรงกดสูงกว่าซีเมนต์ที่ไม่มี chitosan อย่างไรก็ตามด้วยการนำผงผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100°C และผสมกับ สารละลายของ Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 4%โดยน้ำหนัก ทำให้ได้ซีเมนต์ที่มีความต้านทานแรงกดสูงถึง 18.6 MPa หลังจากเซตตัวเป็นเวลา 7 วัน
7. ภายหลังจากการทดสอบกับสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างเป็นเวลา 4 วัน พบว่าเซลล์ออสทีโอ บลาสต์ของมนุษย์ในชุดตัวอย่าง ที่ประกอบ 95% โดยน้ำหนัก TCP และ 5% โดยน้ำหนัก ของ C/B มีลักษณะเซลล์ที่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามในชุดทดสอบของ Single HA เพียง อย่างเดียวผสมกับน้ำกลั่น พบว่าเซลล์ถูกทำลายและมีลักษณะไม่สมบูรณ์ ซึ่งผลจากการ ทดสอบนี้เป็นผลการทดสอบความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อเบื้องต้นเท่านั้น ซึ่งมีได้ ศึกษาสิ่งที่สกัดได้ว่าสิ่งใดเป็นพิษต่อเซลล์

รายละเอียดโครงการ

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาซีเมนต์เชื่อมกระดูกแคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบชนิดเซตตัวได้เองเพื่อใช้งานทางการแพทย์

(ภาษาอังกฤษ) The Development of the Self-setting Calcium Phosphate Composite used as Bone Cement for Surgical Applications

ชื่อหัวหน้าโครงการ (ภาษาไทย) ดร. ศิริรัตน์ ทับสูงเนิน รัตนจันทร์

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Sirirat Tubsungnoen Rattanachan

(ตำแหน่งวิชาการ) ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ระยะเวลาดำเนินการ: 2 ปี (และขอขยายเวลาต่อ 6 เดือน)

เวลาทำงานวิจัยในโครงการประมาณสัปดาห์ละ 18 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

สถานที่ติดต่อ:

ที่ทำงาน สำนักวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถ.
มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 224489

โทรสาร (044) 224612

e-mail sirirat.b@sut.ac.th

ชื่อนักวิจัยที่ปรึกษา (ภาษาไทย): ดร. จรัสศรี ลอประยูร

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Charussri Lorprayoon

(ตำแหน่งวิชาการ) รองศาสตราจารย์

สถานที่ติดต่อ:

ที่ทำงาน สำนักวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถ.
มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 224473

โทรสาร (044) 224612

e-mail char@ccs.sut.ac.th

ชื่ออธิการบดี หรือผู้รับมอบอำนาจให้ลงนามแทนอธิการบดี

ผศ. ดร. ทวี เลิศปัญญาวิทย์

อธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

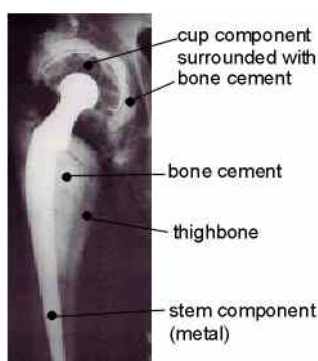
	หน้า
แบบสรุปโครงการวิจัย	ก-จ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของโครงการ	3
3. การเชื่อมโยงกับนักวิจัยที่เป็นผู้เชี่ยวชาญในสาขาที่ทำวิจัย	3
4. ระเบียบวิธีวิจัย	3
5. ขอบเขตของงานวิจัย	4
6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	4
7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
8. แผนการดำเนินการวิจัย	6
9. ผลงาน/หัวข้อเรื่องที่ตีพิมพ์	6
10. งบประมาณโครงการ	7
บทที่ 2 ปรัชญาบรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	19
3.1 อุปกรณ์การทดลอง	19
3.2 วัสดุและสารเคมี	20
3.3 วิธีการทดลอง	21
ตอนที่ 1 การเตรียมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซีเมนต์เชื่อมกระดูก	21
ตอนที่ 2 การวิเคราะห์สมบัติของสารตั้งต้นของซีเมนต์เชื่อมกระดูก	24
ตอนที่ 3 การเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก	28
ตอนที่ 4 การวิเคราะห์สมบัติของซีเมนต์หลังจากการเซตตัว	33
บทที่ 4 ผลการทดลอง	40
ตอนที่ 1 การสังเคราะห์สารตั้งต้นในการเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก	40
ตอนที่ 2 ผลการทดลองเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	80
เอกสารอ้างอิง	83
OUTPUT ที่ได้จากโครงการ	86
ภาคผนวก: สำเนาบทความที่พิมพ์เผยแพร่	87

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เมื่อกระดูกได้รับการบาดเจ็บหรือติดเชื้อ จำเป็นต้องได้รับการซ่อมแซมให้เกิดกลับมาใช้งานดังเดิม ในปัจจุบันมีวัสดุหลายชนิดที่นำมาใช้ในการซ่อมแซมการเสียหายหรือแตกร้าวของกระดูก ซึ่งในกรณีนี้วัสดุต้องสัมผัสกับกระดูกและอยู่ในร่างกายของมนุษย์โดยตรง และควรจะสามารถเกิดการยึดเกาะที่แข็งแรงเพียงพอหลังจากผ่าตัด วัสดุที่ต้องการประเภทนี้จะต้องเข้ากับร่างกายมนุษย์ได้ดี (Biocompatibility) และยังสามารถสลายตัวได้เพื่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ทดแทน และเกิดการยึดเกาะตามธรรมชาติ (Biodegradability) หรือมีคุณสมบัติช่วยให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ทดแทนได้ในเวลาอันรวดเร็ว (Bioactive) ซึ่งทางการแพทย์นิยมใช้โลหะหรืออัลลอยด์เข้าไปแทนกระดูก โดยการเชื่อมต่อด้วยซีเมนต์ชนิดโพลีเมตเทิลเมตาอะครีเลต นอกจากนี้ในการรักษาโรคข้อเข่าหรือข้อสะโพกเสื่อมในผู้ป่วยสูงอายุ ในรายที่มีการเสื่อมอย่างรุนแรง จำเป็นต้องได้รับการเปลี่ยนข้อเข่าหรือข้อสะโพกเทียม (The knee and hip replacement) โดยการเชื่อมต่อระหว่างกระดูกและข้อเทียมจะใช้ซีเมนต์เชื่อมกระดูกประเภท polymethylmethacrylate (PMMA) ที่ประกอบด้วย PMMA ประมาณ 90% และมี แบเรียมซัลเฟต (barium sulfate) หรือ เซอร์โคเนียม ออกไซด์ (Zirconium oxide) ที่ทำให้เกิดการทึบเมื่อต้องถ่ายภาพ X-ray ดังรูป 1.1



รูป 1.1 รูปถ่าย X-ray ของข้อสะโพกเทียมที่ประกอบด้วยซีเมนต์กระดูก
(ที่มาของรูป Valdemar SURIN, Total joints)

ดังนั้นซีเมนต์ชนิดนี้จะทำหน้าที่เป็นเสมือนตัวเติม (Filler) มากกว่าจะทำหน้าที่เป็นกาว เพื่อให้เกิดการยึดติด การแพทย์ในประเทศไทยนิยมใช้ซีเมนต์ polymethylmethacrylate กันอย่างแพร่หลายมานาน แต่ซีเมนต์ชนิดนี้มีข้อเสีย เช่น จะเซตตัวที่อุณหภูมิสูง ทำให้เนื้อเยื่อโดยรอบถูกทำลายและเป็นอันตรายได้ เมื่อเซตตัวแล้วจะมีการหดตัวสูง ทำให้เกิดการหลวม ไม่ยึดเกาะ สารบางตัวอาจจะทำให้เกิดอาการแพ้หรืออักเสบของเนื้อเยื่อได้ นอกจากนี้ผลการใช้ในระยะยาวยังไม่ได้มีการรับรอง และอาจก่อให้เกิดอันตรายหรือผลข้างเคียงแก่ผู้ป่วยได้

ดังนั้นจึงได้มีการปรับปรุงซีเมนต์ที่ใช้กับร่างกายมนุษย์ที่สามารถเข้าได้ดีกับร่างกายและก่อให้เกิดการยึดเกาะเกิดเป็นเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ตามธรรมชาติ จากการค้นพบซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตที่ประกอบด้วยเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (Tetracalcium phosphate, TTCP) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (Dicalcium phosphate dihydrate, DCPD) ซึ่งหลังจากเซตตัวจะได้สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite, HA) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกระดูกทำให้มีความพยายามที่จะนำสารชนิดนี้มาทดแทนโลหะและ โพลีเมตเทิลเมตทาอะครีเลต เพราะไฮดรอกซีอะพาไทต์เข้าได้ดีกับร่างกายและสามารถก่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่มาทดแทน

ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟสได้ถูกพัฒนาขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการคือ เข้าได้ดีกับร่างกายมนุษย์ ก่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่เพื่อให้เกิดการยึดเกาะตามธรรมชาติ และสามารถเซตตัวได้เองที่อุณหภูมิร่างกายมนุษย์ ดังนั้นสามารถนำซีเมนต์ชนิดนี้ไปใช้โดยการขึ้นรูปตามรูปแบบที่ต้องการแล้วนำไปใส่ในส่วนที่บกพร่องของกระดูกหรือใช้ในการเชื่อมประสานรอยแตกร้าวได้ เนื่องจากซีเมนต์สามารถปรับคุณสมบัติให้ฉีดได้ (injectability) นอกจากนี้ยังนำไปผสมกับยาฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการติดเชื้อหลังผ่าตัด หรือผสมกับยารักษาโรคอื่นๆ เพื่อเป็นตัวส่งยา (drug delivery) เพื่อส่งยาไปรักษาเฉพาะบริเวณได้ หลังจากเซตตัวไม่เกิดความร้อนเหมือนกับซีเมนต์กระดูกชนิดอื่นๆ เช่น โพลีเมตเทิลเมตทาอะครีเลต (Polymethylmethacrylate, PMMA) ที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นขณะเซตตัวจะทำลายเนื้อเยื่อโดยรอบทำให้เป็นอันตรายได้

อย่างไรก็ตามซีเมนต์เชื่อมกระดูกที่มีขายหรือยังมีการพัฒนาอยู่ในขณะนี้ ยังต้องการปรับปรุงคุณสมบัติทั้งทางเคมีและทางกายภาพให้เหมาะสมในการนำไปใช้งานทางการแพทย์จริง และยังคงมีข้อเสียคือ ความแข็งแรงของซีเมนต์จะลดลงเมื่อนำไปใส่ในร่างกาย เนื่องจากการเกาะกันที่ไม่ดี และอาจทำให้เกิดอนุภาคเล็กๆแตกและหลุดเข้าไปปะปนกับของเหลวในร่างกาย และก่อให้เกิดอันตรายได้หรือความแข็งแรงไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นส่วนโครงสร้างใหญ่ที่ต้องรับน้ำหนักหรือแรงกดมาก อีกทั้งยังไม่มีมีการรับรองที่แน่นอนในการนำไปใช้ในระยะยาว งานวิจัยนี้จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการสังเคราะห์และพัฒนาซีเมนต์กระดูกชนิดเซตตัวได้เองจากสารเคมี

ที่บริสุทธิ์ และปรับปรุงคุณสมบัติให้เทียบเท่ากับซีเมนต์ทางการค้า เพื่อนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการแพทย์จริง

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อได้รับองค์ความรู้ใหม่ในการสังเคราะห์สารตั้งต้นสำหรับการเตรียมเป็นซีเมนต์กระดูกแคลเซียมฟอสเฟต ด้วยวิธีการทางเคมี เพื่อให้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์และราคาถูก
2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้และการพัฒนาซีเมนต์กระดูกชนิดแคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบที่มีคุณสมบัติที่ดีคือมีการเซ็ตตัวในเวลาที่เหมาะสมและมีความแข็งแรงใกล้เคียงกระดูกมนุษย์ในการนำไปใช้งานทางการแพทย์
3. เพื่อสังเคราะห์ซีเมนต์เชื่อมกระดูกและนำซีเมนต์กระดูกนี้มาทดแทน และเพิ่มคุณภาพชีวิตให้ผู้ป่วยในอนาคต
4. ผลที่ได้จากโครงการสามารถนำไปเขียนบทความ เพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารทางวิชาการได้ และความคาดหวังในการจดสิทธิบัตรทั้งในประเทศและต่างประเทศ

3. การเชื่อมโยงกับนักวิจัยที่เป็นผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชาที่ทำการวิจัย

โครงการวิจัยได้รับคำปรึกษาจาก รศ.ดร. จรัสศรี ลอประยูร สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญในสาขาวัสดุเซรามิกที่ใช้ในทางการแพทย์ ได้แก่ สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ และ คณาจารย์ในสาขาวิชาวิศวกรรมโพลิเมอร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. ระเบียบวิธีวิจัย

1. ศึกษาค้นคว้า หาข้อมูลเพิ่มเติมในงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. วางแผน ลำดับขั้นตอนการทดลอง และดำเนินการติดต่อ จัดซื้อสารเคมี เครื่องมือที่ใช้สำหรับ งานวิจัย
3. ศึกษาและทำการทดลองสังเคราะห์สารประกอบกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟต ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการเตรียมเป็นซีเมนต์กระดูก เช่น Tetracalcium phosphate (TTCP), α -tricalcium Phosphate (α -TCP), Dicalcium phosphate dehydrate (DCPD), Dicalcium phosphate (DCP) และ Hydroxyapatite (HA) จากสารเคมีที่บริสุทธิ์

4. ตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะต่างๆของผงสารที่สังเคราะห์ได้ เช่น การหาองค์ประกอบทางเคมี ความบริสุทธิ์ เฟสที่ได้ ขนาดอนุภาค และพื้นที่ผิวจำเพาะของผง เป็นต้น
5. ทดลองการเตรียมสารประกอบกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟตในปริมาณที่เพิ่มขึ้น และทำการสังเคราะห์ให้ได้สารที่มีคุณสมบัติเหมือนเดิม (Reproduction)
6. ทดลองเตรียมซีเมนต์กระดูกจากสารที่สังเคราะห์ได้ เช่นจาก TTCP+DCP, α -TCP +HA เป็นต้น โดยการศึกษาผลของการผสมผงซีเมนต์กับ Organic acids หรือ Polyacid เช่น citric acid, polycarboxylic acid และ chitosan เป็นต้น แล้วนำไปตรวจสอบสมบัติทางกายภาพเพื่อเปรียบเทียบกับผงซีเมนต์ดั้งเดิม เช่น โครงสร้างผลึก ปฏิริยาที่เกิดขึ้น รูปทรงของซีเมนต์หลังจากการเซตตัว เวลาในการเซตตัว ความแข็งแรงต่อแรงกด ฯลฯ โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อ คุณสมบัติต่างๆของซีเมนต์ที่ได้ เช่น ผลของขนาดอนุภาค อัตราส่วนของผงซีเมนต์ต่อ ของเหลว (Powder/ liquid ratio)
7. ทำการทดลองปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพของซีเมนต์ให้เซตตัวที่เหมาะสม โดยเลือกศึกษาผลของตัวเติม (additives) หรือ ตัวเร่ง (seeds) บางชนิดที่มีผลต่อซีเมนต์ที่เตรียมได้
8. ดำเนินการศึกษาคือความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในร่างกาย โดยการทดสอบปฏิริยาต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อในของเหลวจำลองของร่างกายมนุษย์

5. ขอบเขตของการวิจัย

ในโครงการวิจัยนี้มุ่งศึกษาการสังเคราะห์สารแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมซีเมนต์กระดูกชนิดเซตตัวได้เอง และศึกษาปฏิริยาที่เกิดขึ้น อิทธิพลของสารตัวเติม (Additives) และ ตัวเร่ง (Seeds) เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของซีเมนต์ให้เหมาะสมและดีหรือเทียบเท่ากับซีเมนต์ทางการค้า และศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์จริง

6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

โครงการนี้จะดำเนินการวิจัยโดยสถานที่ทำการทดลอง และ/หรือ เก็บข้อมูลในห้องปฏิบัติการของอาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว ได้แก่

- เครื่องวิเคราะห์เฟส X-ray diffraction
- Inductively coupled plasma spectrometer (ICPS)

- Scanning Electron Microscopy
- เครื่องวัดพื้นที่ผิวแบบ BET
- เครื่องวัดการกระจายขนาดของอนุภาค (Laser Particle Size Analysis)
- เครื่องวัดความพรุนตัว Mercury porosimeter
- เครื่องวัดความต้านทานแรงกด (Universal Testing Machine)
- เตาเผาอุณหภูมิ 1300-1400°C
- อุปกรณ์เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี
- pH meter

อุปกรณ์ที่ได้จัดหาเพิ่ม ได้แก่

- อุปกรณ์เครื่องแก้วเพิ่มเติม และ Crucibles
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น
- เครื่องวัดเวลาในการเข็ดตัว Gillmore needle test
- แบบสำหรับขึ้นรูปทำจากสแตนเลสไม่เป็นสนิม

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ซีเมนต์กระดูกเข็ดตัวได้เอง ชนิดแคลเซียมฟอสเฟตที่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ และคุณสมบัติที่ดีเหมาะกับการใช้ในทางการแพทย์จริง ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษาในประเทศไทย
2. พัฒนาระบบการสังเคราะห์สารแคลเซียมฟอสเฟต และการเตรียมซีเมนต์กระดูกที่มีคุณสมบัติที่ดี
3. ผลที่ได้จากโครงการสามารถนำไปเขียนบทความทางวิชาการ เช่น Journal of European Ceramic Society, Biomaterials, Dental Materials หรือคาดหวังที่จะเป็นผลิตผลทางการค้า เพื่อจดสิทธิบัตร
4. สามารถผลิตนักศึกษาระดับปริญญาโทได้อย่างน้อย 1 คน
5. สามารถขยายผลไปสู่วงการแพทย์ของประเทศไทย ให้มีสารที่เหมาะสมและปลอดภัยกับการใช้งานในการซ่อมแซมกระดูกได้

4. แผนการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการในแต่ละช่วง 6 เดือน

ตารางแผนงานวิจัย

ปี	ช่วงเดือน	แผนการดำเนินงานวิจัย
1	เดือนที่ 1-6	1. ค้นคว้าหาข้อมูลเพิ่มเติมของงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2. ออกแบบและวางแผนการทดลอง รวมทั้งจัดหาสารเคมีและอุปกรณ์อื่นๆที่เกี่ยวข้อง 3. ศึกษาและทดลองสังเคราะห์สารแคลเซียมฟอสเฟตที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับซีเมนต์กระดูก
	เดือนที่ 7-12	1. ตรวจสอบและวิเคราะห์สมบัติเฉพาะของผงสารที่สังเคราะห์ได้ 2. ทดลองเตรียมผงสารในปริมาณที่เพิ่มขึ้นและตรวจสอบสมบัติเฉพาะของผงสารที่สังเคราะห์ได้ 3. ทดลองเตรียมซีเมนต์จากสารที่สังเคราะห์ได้แล้วนำไปตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ 4. วิเคราะห์ผลการทดลอง และเขียนรายงานหรือบทความเผยแพร่งาน
2	เดือนที่ 1-6	1. ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อซีเมนต์ที่เตรียมได้ 2. ปรับปรุงคุณสมบัติโดยเลือกศึกษาผลของตัวเติมหรือตัวเร่งที่ผลต่อคุณสมบัติต่างๆของซีเมนต์
	เดือนที่ 7-12	1. ดำเนินการศึกษาทดสอบปฏิกิริยาต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อ โดยจำลองทำการทดลองในของเหลวร่างกายมนุษย์ 2. วิเคราะห์ข้อมูลและเขียนรายงานหรือบทความเพื่อเผยแพร่

5. ผลงาน/ หัวข้อเรื่องที่ตีพิมพ์

ปีที่ 1 :

- ชื่อเรื่องที่ตีพิมพ์: Chitosan-crystallized Apatite Composites for Bone Cements: Mechanical Strength and Setting Behavior ในงานสัมมนาวิชาการ Bioceramics 19, Chengdu ประเทศจีน ระหว่างวันที่ 10-13 ตุลาคม 2549
- ชื่อเรื่องที่ตีพิมพ์: Chitosan-calcium phosphate cement composites for bone substitutes ในงานสัมมนาวิชาการ Asian Symposium on Materials and Processing 2006 ประเทศไทย ระหว่างวันที่ 9-10 พฤศจิกายน 2549

3. ชื่อเรื่องที่ตีพิมพ์: Low Temperature Synthesis of Crystallized Apatite Nanoparticles ในงานสัมมนาวิชาการ Asian Bioceramic Symposium 2006 ประเทศไทย ระหว่างวันที่ 7-10 ธันวาคม 2549 ปีที่ 2 :

1. ชื่อเรื่องที่ตีพิมพ์: Synthesis of Chitosan/brushite Powders for Bone Cement Composites ในงานสัมมนาวิชาการ Asian Bioceramic Symposium 2007 ประเทศญี่ปุ่น ระหว่างวันที่ 25-27 กันยายน 2550

2. ชื่อเรื่องที่ตีพิมพ์: Synthesis of Chitosan/brushite Powders for Bone Cement Composites ใน Journal of Ceramic Society of Japan (accepted under minor correction)

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนาวัสดุเซรามิกทางชีวภาพสำหรับใช้ในงานทางด้านเป็นวัสดุทดแทนกระดูก ได้มีการคำนึงถึงการออกแบบวัสดุให้เหมือนหรือใกล้เคียงวัสดุธรรมชาติมากที่สุด เช่น กระดูก ฟัน และคุณสมบัติทั้งทางด้านเคมีและทางกลควรมีการสอดคล้องกับการใช้งานทางการแพทย์ ปัจจุบันในการศึกษาวัสดุทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) ได้มีการพัฒนาวัสดุเชิงประกอบพอลิเมอร์ (Polymer-based composite materials) โดยการผลิตสารอินทรีย์ชีวภาพที่มีขนาดระดับนาโน เช่น เกลือของ calcium phosphate กระจายตัวในเนื้อพอลิเมอร์ สารพอลิเมอร์ในกลุ่มของ chitosan ได้รับความสนใจเนื่องจากคุณสมบัติหลายประการได้แก่ Biocompatibility, Biodegradation, Bioactive ในร่างกายมนุษย์ สารไคตินและไคโตซานจัดอยู่ในกลุ่ม Homopolymer เนื่องจากประกอบด้วย Monomer ชนิดเดียวกัน คือ N-acetyl-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose และ 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose โดยเชื่อมกันผ่านพันธะ β -D-(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidic ไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง กระดองปูและแกนหมึก เนื่องจากสมบัติเด่นหลายประการได้แก่ สามารถย่อยสลายได้ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ไคโตซานได้รับความสนใจอย่างมากในการนำมาใช้ทางการแพทย์ เช่น เป็นวัสดุตกแต่งแผล (wound dressing) วัสดุทดแทนกระดูก (Bone substitutes) งานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) ระบบนำส่งยา (Drug delivery) สำหรับประเทศไทย มีการผลิตไคโตซานมีเป็นเวลากว่า 10 ปี แต่กำลังการผลิตยังมีน้อย โดยพบว่ากำลังการผลิตไคตินและไคโตซานของแต่ละบริษัทในประเทศไทย มีค่าตั้งแต่ 3-240 ตัน/ปี การผลิตไคโตซานส่วนใหญ่จะใช้ในประเทศ โดยจะส่งออกประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์

ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า Poly [β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็นสารชีวภาพที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลส แต่ต่างกันที่ตำแหน่ง C-2 โดยเซลลูโลสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล แต่ไคตินจะประกอบด้วยหมู่ Acetamido ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิติลของไคติน หรือที่เรียกว่าปฏิกิริยา deacetylation โดยแซไคตินในสารละลายต่างเข้มข้น ซึ่งไคโตซานที่ได้นี้มีชื่อทางเคมีว่า poly [β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมดรวมทั้งน้ำที่มีค่า pH เป็นกลางหรือต่างแต่สามารถละลายในกรดอ่อน

Yamaguchi et.al.[2.1] ได้ศึกษาการเตรียม Chitosan/hydroxyapatite ด้วยวิธี Co-precipitation โดยการหยดสารละลาย chitosan ในกรดฟอสฟอริก ลงในสารละลาย Calcium

hydroxide และมีงานวิจัยคล้ายๆกันมากมาย งานวิจัยได้เน้นที่การศึกษาและพยายามเข้าใจโครงสร้างในการพัฒนาวัสดุและเพื่อควบคุมวัสดุในระดับนาโน ซึ่งสารพอลิเมอร์มีอิทธิพลต่อการเกิดผลึก hydroxyapatite โดยการสร้างพันธะทางเคมีของ Ca^{2+} และหมู่ฟังก์ชัน (amino, acetylamino และ hydroxyl) ในโคไตรซาน ดังนั้นในการควบคุมการเกิดผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์ในโคไตรซานจึงต้องคำนึงถึงชนิด และสภาวะต่างๆในการเตรียม

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลการใช้ซีเมนต์เชื่อมกระดูกในโรงพยาบาลของประเทศไทย ได้แก่ โรงพยาบาลค่ายสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา และโรงพยาบาลสมเด็จพระญาณศรีราชา จังหวัดชลบุรี พบว่ามีการใช้ซีเมนต์เชื่อมกระดูกในการยึดเกาะของข้อสะโพกและข้อเข่าเทียมมากที่สุด นอกจากนี้ก็ยังมีใช้ในการผ่าตัดกระดูกสันหลัง และการเชื่อมและแก้ไขการแตกหักของกระดูกจะใช้ซีเมนต์เชื่อมกระดูกนี้น้อยมาก ซีเมนต์เชื่อมกระดูกที่นำมาใช้เป็นชนิด PMMA โดยมีปริมาณการใช้ต่อปีประมาณ 80-300 กล่อง คิดเป็นมูลค่าประมาณ 2 แสนถึง 5 แสนบาทต่อปี และมีการลองใช้ซีเมนต์ชนิด hydroxyapatite เพียงเล็กน้อย ซีเมนต์กระดูกที่ใช้ได้จากการนำเข้าสินค้าจาก บ. Johnson, Zimmer, Smith Nephew และ Biomet. ส่วนปัญหาที่แพทย์มักพบหลังจากการใช้ซีเมนต์เชื่อมกระดูกชนิด PMMA ได้แก่ การเกิดการหลวมตามอายุการใช้งาน ทำให้เกิดการสีกกร่อนและการเสียหายของข้อเข่าและข้อสะโพกเทียมตามมา ซึ่งอาจจำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดใหม่เพื่อทำการซ่อมแซม อย่างไรก็ตาม ตามความเห็นเพิ่มเติมของแพทย์ ต้องการให้ซีเมนต์ชนิดแคลเซียมฟอสเฟต หรือไฮดรอกซีอะพาไทต์เพื่อการผ่าตัดรักษากระดูกพรุนในกลุ่มผู้สูงอายุ โดยต้องคำนึงถึงการยึดเกาะของซีเมนต์กับกระดูก ต้องมีความแข็งแรงเพียงพอ และต้องไม่มีการละลายออกมา และสามารถทำให้เกิดการยึดติดหรือเกิดกระดูกมาทดแทนได้ภายใน 6 เดือน ในต่างประเทศมีการใช้ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตกันมาก แต่แพทย์ไทยยังไม่ค่อยนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากราคาแพงและยังไม่มีผู้นำเข้าอย่างแพร่หลาย ถ้ามีการศึกษาและสามารถผลิตได้ภายในประเทศจะทำให้คนไทยได้ใช้ซีเมนต์กระดูกที่ดีและมีราคาถูก

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

ตั้งแต่ปี 1980 สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้รับความสนใจในการนำมาใช้ทดแทนกระดูกและฟัน เนื่องจากสารนี้มีองค์ประกอบคล้ายกับกระดูกของมนุษย์ สามารถเข้าได้ดีกับร่างกายและพบการยึดเกาะของเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ [2.2-2.5] ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟต (Calcium phosphate cement, CPC) ได้มีการวิจัยต่างๆ พยายามพัฒนาเพื่อให้ได้ซีเมนต์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการใช้งานในทางการแพทย์ ดังต่อไปนี้

1. สามารถเซตตัวได้เองที่อุณหภูมิร่างกาย

2. มีส่วนประกอบทางเคมีจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray diffraction แล้วพบว่าเป็นสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ซึ่งเหมือนกับกระดูกในร่างกายมนุษย์
3. สามารถซึมเข้าไปสู่บริเวณที่บกพร่องของกระดูก
4. มีความแข็งแรงอย่างน้อยเทียบเท่ากระดูก
5. สามารถเกิดเป็นเนื้อเยื่อกระดูกใหม่มาเกาะหลังจากฝังในร่างกาย

คุณสมบัติทั้ง 5 ข้อ จัดได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญ (Key parameters) ในการพัฒนาซีเมนต์เชื่อมกระดูก

ซีเมนต์แคลเซียมฟอสเฟตได้จากการผสมของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตสองชนิดหรือมากกว่า กับของเหลว ซึ่งได้แก่ น้ำเกลือ (saline) หรือ sodium phosphate ซึ่งเกิดปฏิกิริยาการละลายและการตกผลึกเป็นสารใหม่ หลังจากเซตตัวจะมีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งความแข็งแรงขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ หรือขนาดอนุภาคของผงตั้งต้น Brown and Chow [2.6] ได้เตรียมซีเมนต์จากสารเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (Tetracalcium phosphate, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$) และสารไดแคลเซียมฟอสเฟต ไดไฮเดรต (Dicalcium phosphate dehydrate, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ที่ผสมกับน้ำที่อัตราส่วนผงต่อน้ำ เท่ากับ 4 ต่อ 1 ซีเมนต์ชนิดนี้สามารถเซตตัวเริ่มต้นได้ในเวลา 10-15 นาที และเซตตัวสมบูรณ์ภายใน 4 ชั่วโมง [2.7] และพบว่ามีความต้านทานแรงกด 36 MPa ภายใน 1 วัน หลังจากเซตตัวแล้วจะได้สารไฮดรอกซีอะพาไทต์ อย่างไรก็ตามพบว่าซีเมนต์ชนิดนี้ยังใช้เวลาในการเซตตัวนานเมื่อมีการสัมผัสกับน้ำ เลือดหรือของเหลวในร่างกาย ทำให้ปฏิกิริยาในการเซตตัวช้าลง วัสดุนี้ได้ถูกนำไปศึกษาในสุนัข และใช้คนไข้ภายในระยะเวลา 2 ปี พบว่าไม่มีผลข้างเคียง [2.8-2.10]

ซีเมนต์ที่ได้รับการพัฒนาจาก The Norian Skeletal Repair System/ Craniofacial Repair System (SRS/CRS, Norian Corp, Cupertino, CA) ประกอบด้วย monocalcium phosphate, α -tricalcium phosphate และ calcium carbonate ที่นำมาผสมกับ sodium phosphate [10] พบว่าสามารถเซตตัวได้ภายใน 12 ชั่วโมงและทนทานต่อแรงกดได้ 55 MPa ซีเมนต์กระดูกชนิดแคลเซียมฟอสเฟตมีส่วนผสมหลายชนิดขึ้นกับชนิดของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่เกิดขึ้นหลังจากการเซตตัว เช่น Dicalcium phosphate dehydrate ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD), calcium deficient hydroxyapatite ($\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$, CDHA), hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA) and amorphous calcium phosphate (ACP) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ในการผ่าตัดใช้งานจริง เวลาที่ซีเมนต์นำมาผสมและนำไปขึ้นรูปและคงรูปอยู่ได้แต่ยังไม่เซตตัวแข็งเรียกว่า Initial setting time (I) และเวลาที่ซีเมนต์เซตตัวสมบูรณ์เรียกว่า final setting time (F) ดังนั้นในทางการแพทย์ ซีเมนต์ที่ดีจะต้องถูกนำไปใช้ในบริเวณที่ต้องการก่อนจะถึงเวลาการเซตตัวเริ่มต้น และบาดแผลควรจะเย็บปิดได้หลังจากเวลา final setting time ซึ่งซีเมนต์จะเซต

ตัวสมบูรณ ซีเมนต์กระดูกเมื่อนำไปใช้งานได้สัมผัสกับน้ำหรือของเหลวในร่างกายจะมีการแตกสลายตัวได้ ดังนั้นต้องมีการทดสอบเวลาที่ยึดเกาะกัน (Cohesion time, CT) ก่อนที่จะนำมาใช้จริง ซึ่งในทางการแพทย์ต้องการซีเมนต์ที่เซตตัวหลัง cohesion time แต่ก่อน initial setting time นั้นคือจะมีเวลาอย่างน้อยหนึ่งนาทีก่อนในการทำงานจริง

ดังนั้นในทางการแพทย์ต้องการซีเมนต์ที่มีคุณสมบัติดังนี้

$$3 \leq I < 8 \text{ นาที}$$

$$I - CT \geq 1$$

$$F \leq 15 \text{ นาที}$$

ส่วนความแข็งแรงของซีเมนต์ได้ทำการทดสอบแรงกด (Compressive strength) และการทนทานต่อแรงดึง (diametric tensile strength, DTS) หลังจากซีเมนต์เซตตัวใน ringer's solution ที่ 37 °C ในทางการแพทย์ต้องการซีเมนต์ที่มีความต้านทานแรงกดมากกว่า 30 MPa นอกจากนี้ซีเมนต์กระดูกต้องการคุณสมบัติในการฉีดเข้าสู่แบบหรือร่องเล็ก ซึ่งพบว่าเมื่อผสม silicon ลงในส่วนผสมซีเมนต์ จะทำให้ซีเมนต์ไหลและฉีดได้ [11] ในปัจจุบันนี้ซีเมนต์ยังได้มีการศึกษาและทดลองเติมสารฆ่าเชื้อหรือยารักษาโรคบางประเภท เพื่อทำหน้าที่ส่งยา หรือป้องกันการติดเชื้ออักเสบหลังผ่าตัดด้วย [2.13-2.16]

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของซีเมนต์กระดูกชนิดต่างๆ

ชนิดของซีเมนต์	Additive (%)	L/P ratio	เวลาการเซตตัวเริ่มต้น (นาที)	เวลาการเซตตัวสมบูรณ์ (นาที)	ความแข็งแรง (compressive strength, MPa)	เอกสารอ้างอิง
ความต้องการทางการแพทย์			$3 \leq I < 8$	$F \leq 15$	≥ 30	Ginebra, M.P.et al.,1994
90% α -TCP+5%PHA +5%CaCO ₃	2.5%Na ₂ HPO ₄ 4%Na ₂ HPO ₄	0.32	7	14.5	36	Khairoun I. et al.,1997
		0.32	6	11	35	
		0.35	6.5	15	35	
90% α -TCP+2%PHA +8%CaCO ₃	4%Na ₂ HPO ₄	0.32	7.5	15	38	Khairoun I. et al.,1997
95% α -TCP+5%DCPD	-	0.3	5	14	3	Bigi A. et al.,2004
	Gelatin	0.3	4	10	14	
58% α -TCP+8.5%PHA +25DCP+8.5CaCO ₃	4%sodium dextran sulfate	0.35	5.30	14	36	Khairoun I. et al.,1999
58% α -TCP+8.5%PHA +25DCP+8.5CaCO ₃	1% β -cyclodextrin	0.35	8	15	39	Khairoun I. et al.,1999

วัสดุชนิดนี้ได้รับการจดสิทธิบัตรมากมายดังต่อไปนี้

US patent 6,670,293	Porous calcium phosphate cement
US patent 6,398,859	Resin-based pulp capping and basing cement
US patent 20,040,101,960	Injectable bone substitute material
US patent 20,040,086,573	Inorganic bone adhesion agents and its use in human hard tissue repair
US patent 20,020,073,894	Biocompatible cement containing reactive calcium phosphate nanoparticles and methods for making and using such cement
US patent 20,020,137,812	Premixed calcium phosphate cement pastes
US patent 20,020,155,167	Self-setting calcium phosphate pastes and related products
US patent 20,030,104,069	Calcium phosphate composition and method of preparation
US patent 20,030,167,093	Self-hardening calcium phosphate materials with high resistance to fracture, controlled strength histories and tailored macropore formation rates

ตาราง 2.2 ตัวอย่างของซีเมนต์ทางการค้า

ชื่อทางการค้า	บ.ผู้ผลิต	ส่วนผสมผงซีเมนต์	ส่วนผสมของเหลว	คุณสมบัติของซีเมนต์
Vertebroplastic TM	DePuy Acro Med, England	(%wt) PMMA 75.08, methyl-methacrylate/ethyl methacrylate/styrene terpolymer 14.62, benzoyl peroxide <2.3, barium sulphate 8	(%wt) Methyl-methacrylate 98, N,N-dimethyl-p-toluidine <2.0, hydroquinone 75 ppm (liq./powder = 20/9)	ไม่ได้รับ
Palacos R	Heraeus Kulzer, Germany	(%wt) Methyl-methacrylate/methyl-acrylate copolymer 84.5, benzoyl-peroxide 0.5, zirconium dioxide 15, chlorophyll <0.001	(%wt) methyl-methacrylate 97.87, chlorophyll < 0.01, N,N-dimethyl-p-toluidine 2.12 (liq./powder= 20/9.4)	ไม่ได้รับ
Simplex TM P	Stryker	(%wt) methyl methacrylate- styrene-copolymer 75, barium sulfate 10	(%wt) polymethyl methacrylate	ไม่ได้รับ
Zimmer® osteobond LVC ® bone cement	Stryker	PMMA	methyl-methacrylate	มีความหนืดต่ำ
Plexiglas	-	Polymethyl methacrylate and Barium sulfate	ไม่ได้รับ	ไม่ได้รับ
Bone Source®	Howmedica-osteonics, Rutherford, NJ	Calcium phosphate cement	ไม่ได้รับ	ได้ HA (Ca/P= 1.67) เซ็ตตัวภายใน 10-15 นาที มีความต้านทานแรงกด 36 MPa มีฤทธิ์กระตุ้นกระดูก
SRS® injectable	Norian Corp., CA	MCMP, TCP, calcium carbonate	Sodium phosphate	เซ็ตตัวภายใน 10 นาที ความต้านทานแรงกดภายใน 12 ชั่วโมง คือ 55 MPa

ชื่อทางการค้า	บ.ผู้ผลิต	ส่วนผสมผงซีเมนต์	ส่วนผสมของเหลว	คุณสมบัติของซีเมนต์
Alpha-BSM®	ETEX Corporation, Cambridge, MA	MCMP, TCP, calcium carbonate	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
CEMEX	Exactech.	PMMA	ไม่ได้ระบุ	ไม่ได้ระบุ
Biobon (α BSM)	-	ACP and DCPD	ไม่ได้ระบุ	ได้ HA, Ca/P = 1.45 เซตตัวภายใน 15-20 นาที ความแข็งแรง 12 MPa มีรพูน 50-60%
Biopex	-	75% α -TCP, 18% TTCP, 5%DCPD, 2% HA	ไม่ได้ระบุ	ได้ HA เซตตัวภายใน 8 นาที มีความต้านทานแรงกด 80 MPa และรพูนระดับไม่ครอน
Calcibon	-	61% α -TCP, 26%DCPA, 10%CaCO ₃ , 3%pHA	ไม่ได้ระบุ	ได้ Calcium deficient HA (Ca/P=1.53) เซตตัวภายใน 2-3 นาที มีความต้านทานแรงกด 60-70 MPa และมีรพูน 44%
Cementek	-	α -TCP , TTCP, Ca(OH) ₂	ไม่ได้ระบุ	ได้ HA (Ca/P=1.64) เซตตัวภายใน 40 นาที มีความต้านทานแรงกด 20 MPa มีรพูน 50%
Chronos inject	-	42% β -TCP, 21%MCPM, 31% β -TCP granules, 5% MgHPO ₄ .3H ₂ O	ไม่ได้ระบุ	ได้ Brushite (DCPD) เซตตัวภายใน 12 นาที มีความต้านทานแรงกด 3 MPa และรพูนระดับไม่ครอน

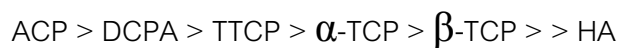
ชื่อทางการค้า	บ.ผู้ผลิต	ส่วนผสมผงซีเมนต์	ส่วนผสมของเหลว	คุณสมบัติของซีเมนต์
Mimix	-	α -TCP, TTCP	Citric acid	ได้ HA มีความต้านทานแรงกด 22 MPa และรุกรานระดับไม่ใคร
Norian-SRS	-	MCPM, α -TCP, CaCO_3	ไม่ได้ระบุ	Ca/P = 1.67 เซ็ตตัวภายใน 12 ชั่วโมง มีความต้านทานแรงกด 28-55 MPa และมีรุกรานน้อยมาก

ตาราง 2.3 สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต [2.17]

คำย่อ	ชื่อ	สูตรเคมี	สัดส่วน Ca/P
ACP	Amorphous calcium phosphate	-	$1.25 < x < 1.55$
BCP	Biphasic calcium phosphate	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$1.50 < x < 1.67$
CA	Carbonated apatite, dahlite	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{CO}_3$	1.67
CDHA	Calcium deficient hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	$1.50 < x < 1.67$
DCPA	Dicalcium phosphate anhydrous, Monetite	CaHPO_4	1.00
DCPD	Dicalcium phosphate dehydrate, brushite	$\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.00
HA	Hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
MCPM	Monocalcium phosphate monohydrate	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.50
OCP	Octacalcium phosphate	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
pHA	Precipitated hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	$1.50 < x < 1.67$
α -TCP	α -Tricalcium phosphate, Whitlockite	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50
β -TCP	β -Tricalcium phosphate, Whitlockite	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50
TTCP	Tetracalcium phosphate, Hilgenstockite	$\text{CaO} \cdot \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	2.00

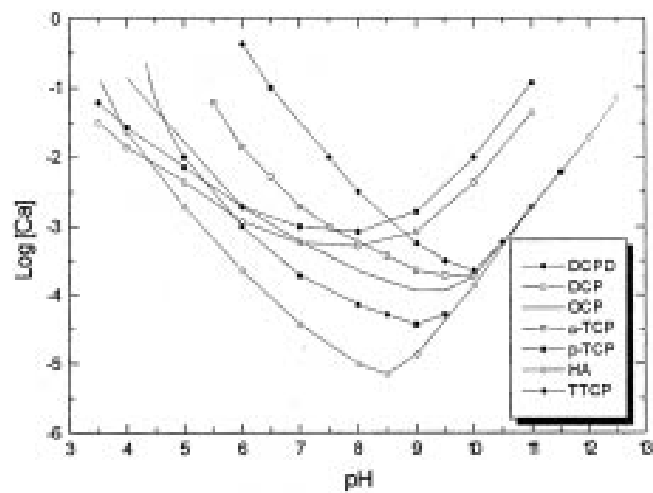
ความสามารถในการละลายของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต

ความสามารถในการละลายของสารประกอบในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟตขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ขนาดอนุภาค การเป็นผลึก และค่า pH อย่างไรก็ตามความสามารถในการละลายของสารแต่ละประเภท ซึ่งได้แก่

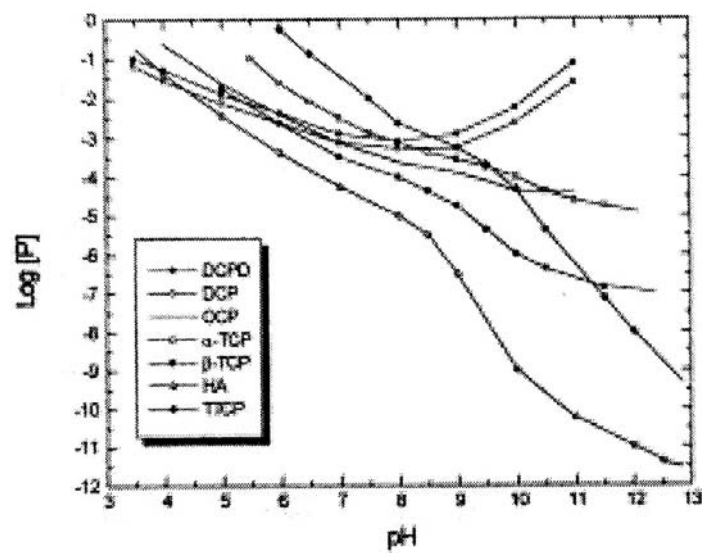


ซึ่ง pH ต่ำกว่า 4.2 จะได้ DCPD จะเป็นสารประกอบที่เสถียรที่สุด และที่ pH ประมาณ 7.2 จะได้ HA จะเป็นสารประกอบที่เสถียรที่สุด

การละลายของ Calcium phosphate สามารถอธิบายได้ด้วย Solubility diagrams ของ $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ ที่ 37°C [2.18] ดังรูป 2.1 และ 2.2 รูป 2.1 แสดงการละลายของเกลือ Calcium phosphate ต่างๆในสภาวะสมดุลที่อิ่มตัว โดยแสดงเป็นความเข้มข้นของแคลเซียม ($\log[\text{Ca}]$) กับค่า pH และรูป 2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอสเฟต ($\log[\text{P}]$) กับค่า pH โดยแสดงการละลายที่อุณหภูมิคงที่ของเกลือ calcium phosphate 7 ชนิด ได้แก่ Tetracalcium phosphate (TTCP), dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), dicalcium phosphate anhydrous (DCP), Octacalcium phosphate (OCP), α -tricalcium phosphate (α -TCP), β -tricalcium phosphate (β -TCP) และ Hydroxyapatite (HA) จากรูปข้างต้นความชันของกราฟเป็นลบในช่วงที่ pH เป็นกลางและเป็นกรด แสดงให้เห็นว่าสารประกอบต่างๆเหล่านั้นจะมีการละลายมากขึ้นเมื่อ pH ลดลง ซึ่งจากกราฟกล่าวได้ว่า DCPD และ DCP เป็นเกลือที่เป็นกรด เมื่อเปรียบเทียบกับ OCP, TCP, HA และ TTCP เพราะกราฟมีความชันน้อยกว่า ไดอะแกรมนี้ใช้ในการทำนายความสัมพันธ์ของการละลายของเกลือต่างชนิดกันที่ pH ต่างๆ ซึ่งที่ pH หนึ่งๆ เกลือใดที่มีเส้น isotherm ต่ำกว่าจะมีความเสถียรมากกว่าและละลายได้น้อยกว่าเกลือที่มีเส้น isotherm เหนือกว่า ดังนั้นในการเกิดสารไฮดรอกซีอะพาไทต์หลังจากที่ซีเมนต์เซตตัวจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยการละลายของสารตั้งต้นด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายประการได้แก่ ขนาดของอนุภาคของสารตั้งต้น ชนิดของของเหลวที่นำมาผสม ค่า pH และสภาวะที่ซีเมนต์เซตตัว เป็นต้น



รูป 2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Ca และ pH ของ Solubility isotherms ของเกลือ calcium phosphate ในสภาวะสมดุล ของระบบ $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ ที่ 37°C [2.18]



รูป 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ P และ pH ของ Solubility isotherms ของเกลือ calcium phosphate ในสภาวะสมดุล ของระบบ $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ ที่ 37°C [2.18]

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซีเมนต์เชื่อมกระดูก
ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์	ผู้ผลิต (แบบ/รุ่น)
เครื่องบดรวมแบบความเร็วต่ำ	ในประเทศ (มีรางบด 2 ชั้น)
ตู้อบควบคุมความชื้น	Soil Testing Siam Co., Ltd. (Matest)
ตะแกรงขนาด 63 ไมโครเมตร	HAAN (Retsch)
เตาเผาไฟฟ้าอุณหภูมิ 1100 °C	Elite Thermal Systems Limited
เครื่อง Inductive Couple Plasma Mass Spectrometer, ICP-OES	PerkinElmer Model Optima 3300 RL, S/N 069N-na
เครื่อง X-ray Diffractometer, XRD	Phillips (PW3710)
เครื่อง TEM (Electron Microscope)	JEOL (JEM-2010)
เครื่องเคลือบผิวตัวอย่างด้วยไอออน (Ion Sputtering Device)	JEOL (JFC-1100E)
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)	JEOL (JSM-6400)
เวอร์เนียร์	MITUTOYO (Diamond 0.02 mm)
เครื่อง Universal testing machine	INSTRON model 5565

3.2 วัสดุและสารเคมี

วัสดุและสารเคมีที่ใช้ในการทดลองและเตรียมสารตั้งต้นของซีเมนต์เชื่อมกระดูก แสดงในตารางที่ 3.2

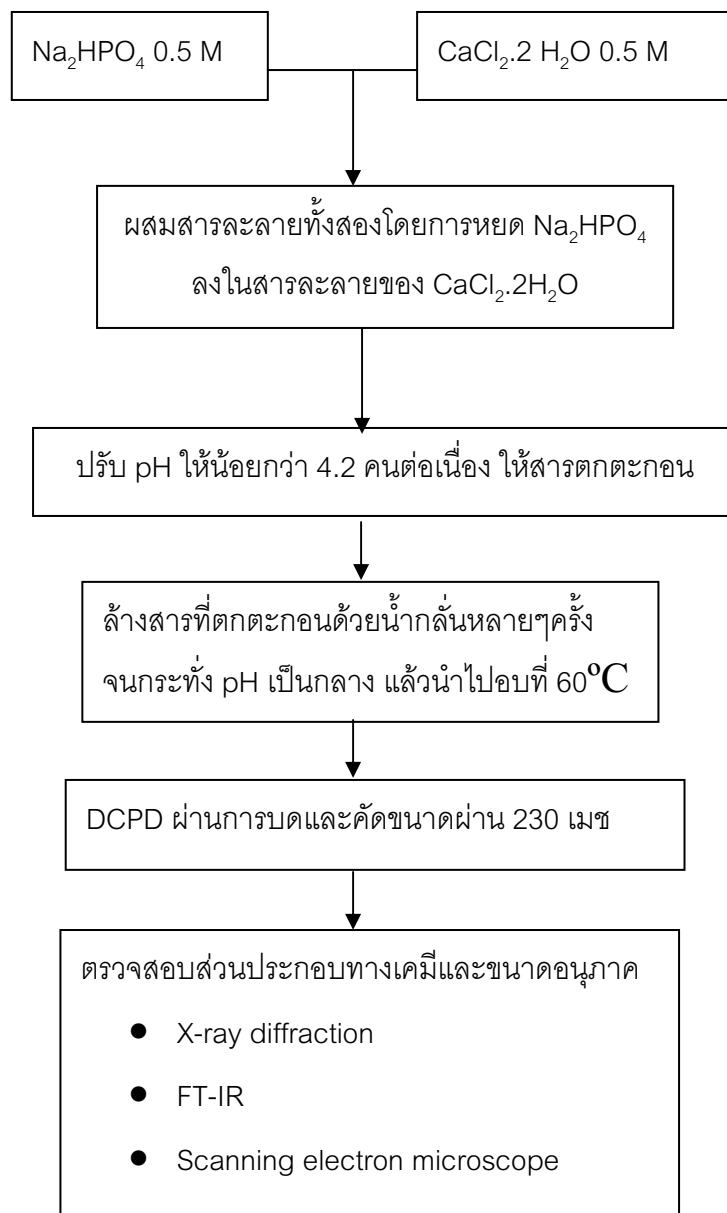
ตารางที่ 3.2 วัสดุและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ประเภทสาร	ชื่อทางการค้า	สูตรเคมี	ชนิด/เกรด	ผู้ผลิต
สารตั้งต้น	Trisodium phosphate (tret) decahydrate	$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	97%	Fluka
	Calcium chloride dihydrate	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	99%	Riedel-de Haën
	Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	99.8%(w/w)	AnalaR [®]
	Ammonia solution	NH_4OH	37%	AnalaR [®]
	Hydrochloric	HCl	37%	AnalaR [®]
สารละลายที่ใช้ หุคปฏิกิริยา	Acetone	CH_3COCH_3	99.8%	MERCK
สารเติมแต่ง	Alpha calcium sulfate semihydrate	$\alpha\text{-CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$	-	Siam molding plaster
	Chitosan powder	Poly[β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose	Medical grade มี degree of deacetylaton	สินอุดมเกษตร ภัณฑ์
สารละลายที่ใช้ เป็นของเหลวใน การเตรียม ซีเมนต์	Deionized water	H_2O	Analytical	ศูนย์เครื่องมือ 1 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
	Disodium hydrogen phosphate anhydrous	Na_2HPO_4	-	Riedel-de Haën
	Citric acid	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	Carlo ERBA REAGENTI
	Chitosan ในสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 3% wt	Poly[β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose in citric solution	Medical grade มี degree of deacetylaton	สินอุดมเกษตร ภัณฑ์

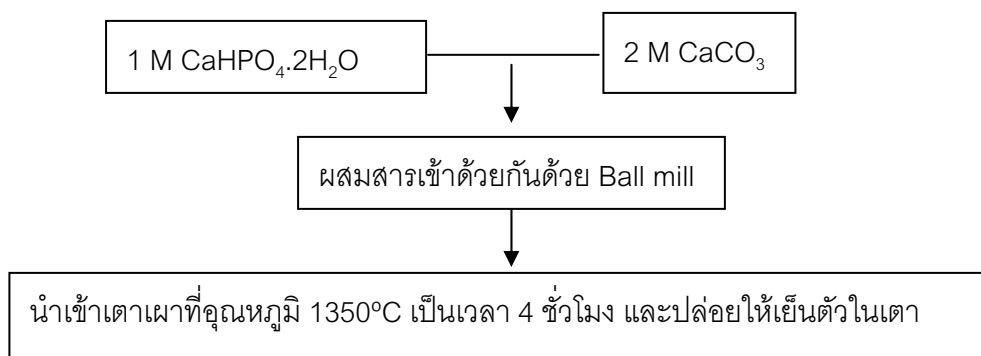
3.3 วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซีเมนต์เชื่อมกระดูก

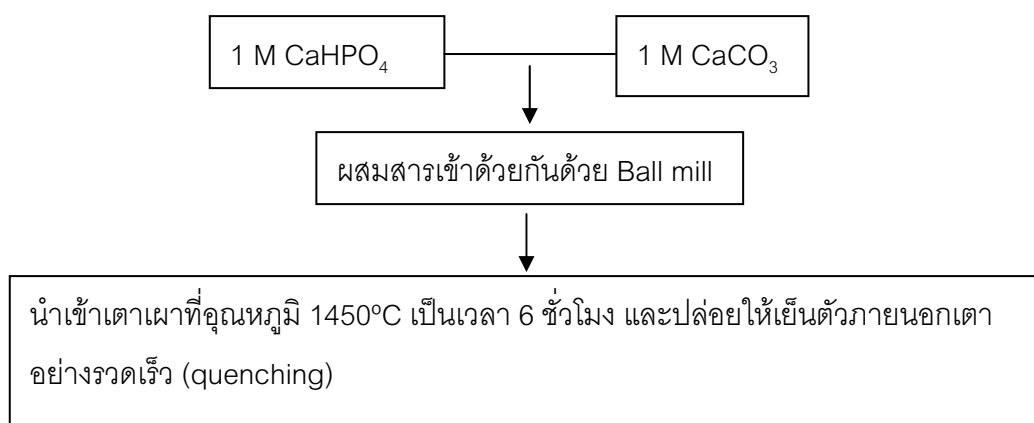
1. การเตรียมสารไดแคลเซียมฟอสเฟต ไดไฮเดรต (Dicalcium Phosphate Dihydrate, DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) สารที่มีสัดส่วนของ $\text{Ca/P} = 1$ [3.1]



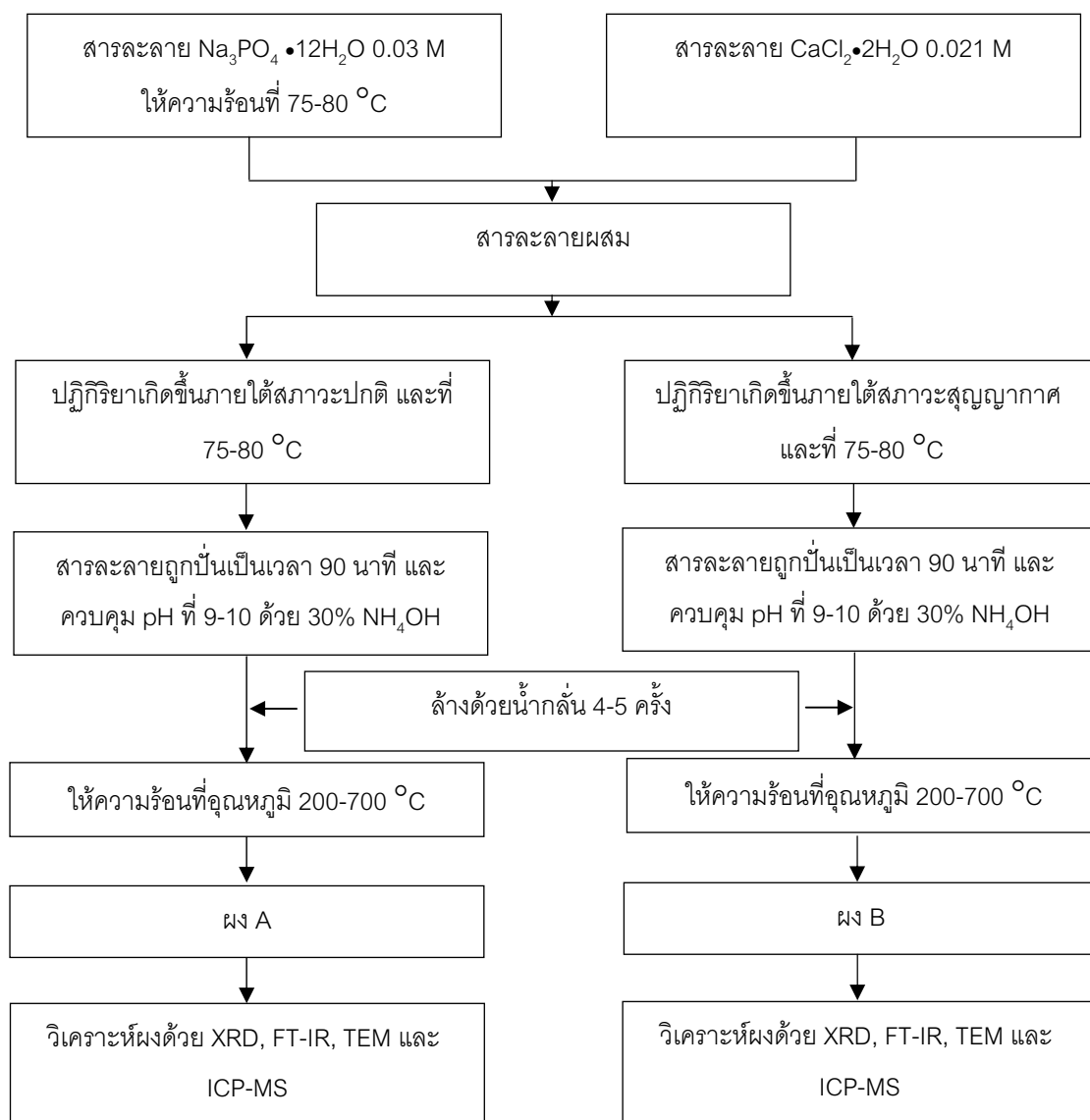
2. การเตรียมสารแอลฟาไตรแคลเซียมฟอสเฟต (α -Tricalcium Phosphate, α -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) มีสัดส่วนของ Ca/P = 1.5



3. การเตรียมสารเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (Tetracalcium Phosphate, TTCP, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$) มีสัดส่วนของ Ca/P = 2.0



4. การสังเคราะห์สารไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธีทางเคมีที่อุณหภูมิต่ำระหว่างสารละลายของ $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนและวิธีการทดลอง

5. การสังเคราะห์สารเชิงประกอบของ ไคโตซาน/ไดแคลเซียมฟอสเฟต ไดไฮเดรต (CS/DCPD) โดยวิธี Co-precipitation

มีขั้นตอนการเตรียมดังต่อไปนี้

1. เตรียมสารละลายของ Chitosan 1 กรัมในสารละลาย $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่มีความเข้มข้น 0.5M ปริมาตร 100 ml
2. เตรียมสารละลาย Na_2HPO_4 ที่มีความเข้มข้น 0.5 M
3. ค่อยๆเติมสารละลาย Na_2HPO_4 ลงในสารละลายของ chitosan ใน $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ โดยมีการกวนสารอย่างสม่ำเสมอ และปรับ pH ของสารผสมให้ได้ 4 โดยการเติมสารละลาย NaOH ที่มีความเข้มข้น 2 M
4. สารละลายจะตกตะกอน ทำการกรองตะกอน และล้างตะกอนหลายๆครั้งด้วยน้ำกลั่น
5. นำตะกอนที่ผ่านการกรองไปอบที่ 60°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
6. บดอีกครั้งและร่อนผ่านตะแกรง 230 เมช

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์สมบัติของผงสารตั้งต้นของซีเมนต์เชื่อมกระดูก

การวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ของผงสารที่สังเคราะห์ได้สามารถแบ่งได้เป็น

1. การวิเคราะห์วัฏภาค (Phase) ของผงที่สังเคราะห์ได้

เอ็กซเรย์ดิฟแฟกชัน (X-ray Diffraction : XRD) นั้นเป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ และระบุองค์ประกอบทางเคมี และโครงสร้างของสารที่มีลักษณะเป็นผลึก (Crystalline) และวัสดุที่มีความเป็นผลึกสูงจะให้ลักษณะของพีค (Peak) ที่สูง และแคบ ในขณะที่วัสดุที่มีความเป็นผลึกต่ำ หรือเป็นอสัณฐาน (Amorphous) นั้นจะให้ลักษณะของพีค (Peak) ที่ต่ำ และกว้าง ซึ่งเทคนิค XRD นั้นสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งผง (Powders) และผลึกเดี่ยว ๆ (Single Crystals)

ในการเตรียมตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ ถ้าเป็นของแข็งตัวอย่างต้องผ่านการบดด้วยโกร่ง (Mortar) หรือลูกบด (Pestle) เพื่อทำให้เป็นผงละเอียดก่อนจะทำการวิเคราะห์ หลังจากนั้นทำการอัดผงตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงในที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง XRD (Siemens D500, Siemens AG, Germany) โดยใช้ Ni เป็นตัวกรองรังสี $\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, $2\theta = 10-60^\circ$ และ scan speeds = 0.5 sec/step และใช้เปรียบเทียบกับ Joint Committee Powder Diffraction Standards (JCPDS)

ตาราง 3.3 การใช้ JCPDS ในการวิเคราะห์สารตั้งต้นต่างๆ

ชื่อสาร	JCPDS Card No.
Dicalcium Phosphate Dihydrate	01-072-1240
Dicalcium Phosphate Anhydrous	01-089-5969
α -Tricalcium Phosphate	00-009-0348
β -Tricalcium Phosphate	00-009-0169
Tetracalcium Phosphate	00-025-1137
Hydroxyapatite	01-74-0565
α -Plaster (calcium sulfate semihydrate)	43-0606
Gypsum (Calcium sulfate dihydrate)	33-0311

2. การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลกรุป (Functional group) ของผงซีเมนต์ที่สังเคราะห์ได้

เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Infrared spectroscopy: IR) เป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ ตรวจสอบ พิสูจน์ และศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร ซึ่งอาจจะอยู่ในสถานะของแข็ง หรือของเหลว หรือแก๊สก็ได้ แต่ในการวิจัยในครั้งนี้จะทำการวิเคราะห์สารที่เป็นของแข็ง

การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ คือ เตรียมให้เป็นแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะบางมาก ๆ ที่หนาประมาณ 0.01-0.1 mm เพื่อให้แสงผ่านได้ มีวิธีการเตรียมโดยใช้โพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ซึ่งเป็นสารพวกอัลคาไลเฮไลด์ โดยใช้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ประมาณ 2.0 mg ผสมกับ KBr ประมาณ 100-200 mg บดให้เข้ากันในโถง จนเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อบดดีแล้วนำไปใส่ในเครื่องอัดซึ่งเรียกว่า die แล้วนำ die ไปเข้าเครื่องอัดไฮดรอลิก (Hydraulic press) โดยใช้แรงดันประมาณ 15 ตัน ใช้เวลาประมาณ 3-4 นาที หลังจากนั้นลดความดัน และปลดเครื่องอัดไฮดรอลิกออกจาก die จะได้ตัวอย่างที่เป็นแผ่นฟิล์มบาง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ต่อไปด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยใช้ช่วงคลื่น $400-4000\text{ cm}^{-1}$

ตารางที่ 3.4 แสดงรายการช่วงคลื่นของฟังก์ชันนัลกรุปที่ดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ HA [3.2]

ช่วงคลื่น (cm^{-1})	ฟังก์ชันนัลกรุปของ HA
2700-3700	OH^- และ NH^+ stretching
1631	OH^- bending
1450-1550	NH^+ bending
1300-1450	CO_3^{2-}
1440-1560	Absorption bands of CO_3^{2-} associated with the symmetric: Stretching mode
870	Out of plane bending mode
1445	B-type CO_3^{2-} substituted on PO_4^{3-} sites
1550	A-type CO_3^{2-} substituted on OH^- sites
1040, 1062 1031	PO_4^{3-} stretching
1027 603, 610 566, 570	PO_4^{3-} bending

ตาราง 3.5 แสดงช่วงคลื่นของฟังก์ชันนัลกรุปที่ดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Chitosan [3.3]

ช่วงคลื่น (cm^{-1})	ฟังก์ชันนัลกรุปของ Chitosan
3450, 3100	Board $-\text{OH}$ stretching absorption
2990, 2850	Diphatic C-H stretching absorption
1220, 1020	Free primary amino ($-\text{NH}_2$) at C_2 in glucosamine
1647	Acetylated amino group in chitosan
1384	$-\text{C}-\text{O}-$ stretching of primary alcoholic ($-\text{CH}_2-\text{OH}$)

3. การวิเคราะห์ขนาดและลักษณะของอนุภาค (Particle size and morphology) ผงสารตั้งต้นที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง Scanning electron microscopy (SEM) และ Transmission electron microscopy (TEM)

การเตรียมตัวอย่างโดยนำผงตัวอย่างประมาณ 0.1 mg ผสมกับ เอทานอลบริสุทธิ์ 50 ml แล้วนำไปเข้าเครื่องอัลตราโซนิก (Ultra sonic) เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ผงกระจายตัวจากนั้นนำดริอปเปอร์ (Dropper) ดูดสารละลายขึ้นนำมาหยดลงในกริด (Grid) ซึ่งเป็นที่ใส่ตัวอย่าง จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วจึงนำไปเข้าเครื่อง TEM (JEOL, Tokyo, Japan)

4. การหาอัตราส่วนระหว่างแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P ratio) ของผงซีเมนต์เชื่อมกระดูก

การหาปริมาณของแคลเซียมและฟอสฟอรัส สามารถหาได้โดยเทคนิคที่เรียกว่า Inductive Couple Plasma – Mass Spectroscopy (ICP-OES) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถหาปริมาณที่มีน้อยมาก ๆ ได้ โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณสารที่หาได้จากเครื่องกับสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน และตัวอย่างที่ใช้สำหรับเทคนิค ICP-OES ต้องเป็นสารละลาย

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ca และ P ที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 ppm สามารถทำได้การเตรียมสารละลายมาตรฐานแบบผสม โดยทำการปิเปตสารละลายมาตรฐาน Ca ที่มีความเข้มข้น 1000 ppm มา 10.0 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml จากนั้นปรับปริมาตรจนได้ 100 ml จะได้สารละลาย Ca ที่มีความเข้มข้น 100 ppm ทำเช่นเดียวกันในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน P

จากนั้น ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Ca และ P ที่มีความเข้มข้น 100 ppm อย่างละ 2, 4, 6, 8 และ 10 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml จากนั้นทำการปรับปริมาตรจนได้ 100 ml โดยที่แต่ละขวดจะมีความเข้มข้นของ Ca และ P เท่ากับ 10, 20 และ 40 ppm ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES เพื่อทำเป็นกราฟมาตรฐานของ Ca และ P ที่พล็อตระหว่างความเข้มข้น และค่าความเข้มแสงที่วัดได้ (Corrected Intensity) โดยความยาวคลื่นแสงที่ใช้ตรวจวัดความเข้มแสงของ Ca = 412 nm และ P = 213 nm

การเตรียมตัวอย่าง ชั่งผงซีเมนต์เชื่อมกระดูก ที่สังเคราะห์ได้มา 0.005 g ทำการละลายในกรดไนตริก ความเข้มข้น 5% w/w ในน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml หลังจากที่ยัง HA ละลายหมดแล้ว ให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 ml

เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES เพื่อหาปริมาณของ Ca และ P โดยนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Ca และ P เพื่อหาค่าที่แน่นอนต่อไป

ตอนที่ 3 การเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก

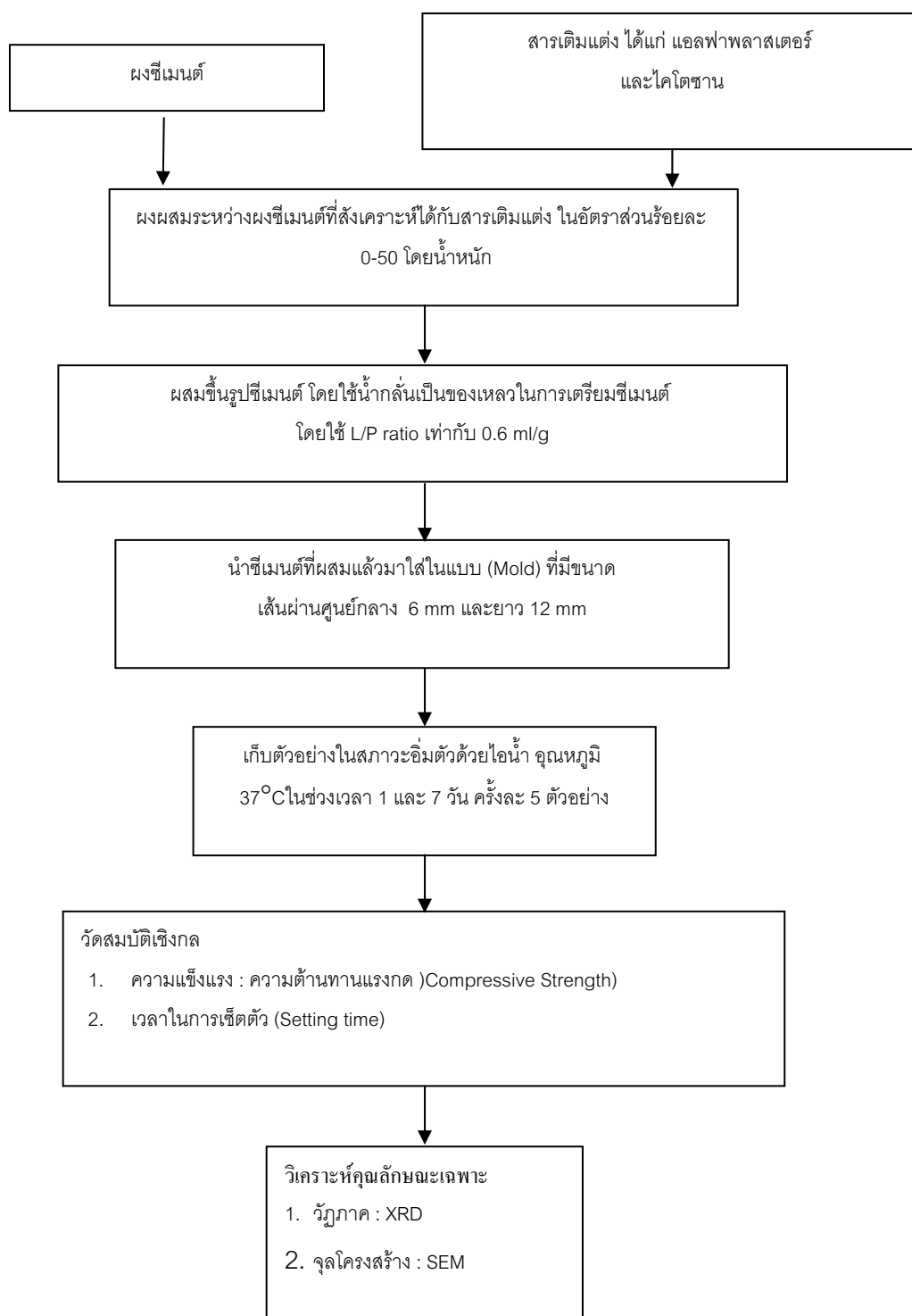
แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ส่วน

1. ศึกษาและเปรียบเทียบผลของสารเติมแต่ง (Additive) 2 ชนิด ได้แก่

ผงแอลฟาพลาสเตอร์ (Alpha-plaster) และผงไคโตซาน (Chitosan powders) ที่มีผลต่อสมบัติเชิงกล และเวลาในการเซตตัว (Setting time) โดยเติมปริมาณสารเติมแต่ง (Additive) อยู่ในช่วง ร้อยละ 0-50 โดยน้ำหนัก และใช้น้ำกลั่นเป็นของเหลวในการเตรียมซีเมนต์ โดยใช้อัตราส่วนของเหลวกับผงซีเมนต์แห้ง) L/P ratio) เท่ากับ 0.6 ml/g โดยมีขั้นตอนและวิธีการทดลองแสดงในรูปที่ 3.2

ตาราง 3.6 ส่วนผสมของผงซีเมนต์ที่ใช้ในการศึกษา

สูตร	ส่วนผสมของผงซีเมนต์
TTCP+DCPD	71% wt TTCP + 29%wt DCPD
90TCP+10DCPD	90% wt α -TCP + 10%wt DCPD
95TCP+5DCPD	95% wt α -TCP + 5%wt DCPD
Single component	HA



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนและวิธีการทดลองตอนที่ 3

2. ศึกษาอิทธิพลของสารละลายที่ใช้เป็นของเหลวในการเตรียมซีเมนต์ ได้แก่ กรดซิตริก สารละลายไคโตซานในกรดซิตริก ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก และสารละลายไคแคลเซียมไฮเจนฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก โดยเลือกใช้อัตราส่วนของซีเมนต์กับสารเติมแต่งจากการทดลองที่ 1 และใช้อัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์แห้ง (L/P ratio) เท่ากับ 0.6 ml/g เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงกล (Compressive strength) เวลาในการเซตตัว (Setting time) และวัฏภาค (Phase) ของซีเมนต์หลังเซตตัว

3. ศึกษาอิทธิพลของ L/P ratio ได้แก่ 0.6, 0.5 0.4 และ 0.3 ml/g ต่อค่าความต้านทานแรงกด (Compressive strength) และเวลาในการเซตตัว (Setting time) ที่อยู่ในช่วงเวลาในการเซตตัวเริ่มต้น (Initial setting time : I) ประมาณ 5-15 นาที และเวลาในการเซตตัวสมบูรณ์ (Final setting time : F) ประมาณ 15-30 นาที โดยใช้สารละลายที่เลือกจากการทดลองที่ 2

จากการทดลองที่ 1-3 จะสามารถทราบถึงอัตราส่วนของสารเติมแต่งและผงซีเมนต์ที่สังเคราะห์ได้ ตลอดจนถึงสารละลายที่ใช้สำหรับการเตรียมซีเมนต์ และอัตราส่วน L/P ที่ใช้สำหรับการเตรียมซีเมนต์ที่ให้ค่าความต้านทานแรงกด (Compressive strength) และเวลาในการเซตตัว (Setting time) ที่เหมาะสมสำหรับซีเมนต์เชื่อมกระดูก จากนั้นนำซีเมนต์ที่เตรียมได้จากอัตราส่วนที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1-3 มาศึกษาต่อในการทดลองที่ 4

4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของวัฏภาค และความต้านทานแรงกดของวัสดุ เมื่อแช่ซีเมนต์ในสารละลายที่คล้ายของเหลวในร่างกาย (Simulated Body Fluid: SBF) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1, 7, 14 , 21 และ 28 วัน

SBF คือ สารละลายที่มีธาตุเข้มข้น ใกล้เคียงกับน้ำเลือด (Blood plasma) ในร่างกาย ซึ่งประกอบไปด้วยธาตุโซเดียม (Na^+) โพแทสเซียม (K^+) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) คลอไรด์ (Cl^-) ไฮโดรคาร์บอริก (HCO_3^-) ไฮโดรฟอสฟอริก (HPO_4^{2-}) และซัลเฟต (SO_4^{2-})

ตารางที่ 3.7 แสดงปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารเคมีที่ใช้เตรียม SBF ต่อสารละลาย 1000 ml (Ayako O. et al. 2002)

สารเคมี	ความบริสุทธิ์/%	ปริมาณของสารเคมี
NaCl	>99.5	8.036 g
NaHCO ₃	>99.5	0.352 g
KCl	>99.5	0.225 g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	>99.0	0.230 g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	>98.0	0.311 g
1.0 M HCl	-	40 ml
CaCl ₂	>95.0	0.293 g
Na ₂ SO ₄	>99.0	0.072 g
TRIS ^c	>99.9	6.063 g
1.0 M HCl ปรับ pH เท่ากับ 7.4	-	= 0.2 ml

ตารางที่ 3.8 แสดงความเข้มข้นของสารละลายที่คล้ายร่างกาย โดยเปรียบเทียบกับน้ำเลือด (Blood Plasma) ในร่างกายมนุษย์ (Ayako O. et al. 2002)

ไอออนของธาตุ	ความเข้มข้น/มิลลิโมล (mM)	
	น้ำเลือด (Blood Plasma)	สารละลายคล้ายร่างกาย (SBF)
Na ⁺	142.0	142.0
K ⁺	5.0	5.0
Mg ⁺	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5
Cl ⁻	103.0	147.8
HCO ₃ ⁻	27.0	4.2
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0
SO ₄ ²⁻	0.5	0.5

การเตรียมสารละลายที่คล้ายร่างกาย ทำได้โดยชั่งสารเคมี ดังตารางที่ 3.7 จากนั้นทำการละลายด้วยน้ำกลั่น 700 ml ทำการผสมสารเคมีทั้งหมดและน้ำกลั่นในบีกเกอร์โพลีโพรไพลีน (Polypropylene beaker) ที่ 36.5°C หลังจากทีสารเคมีทั้งหมดละลายเข้ากันแล้วให้ปรับสารละลายเป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น

ในการแช่ตัวอย่างลงในสารละลายคล้ายร่างกาย มีการกำหนดอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวสัมผัสของตัวอย่าง ต่อสารละลายคล้ายของเหลว เท่ากับ 0.1 (Geasee et al. 1993) โดยมีการคำนวณพื้นที่ผิวสัมผัสของแท่งทรงกระบอกด้วยสมการ

$$\text{พื้นที่ผิวสัมผัส} = 2\pi r^2 + 2\pi rh \quad (3.1)$$

โดยที่ $\pi = 22/7$ หรือ 3.1428

r = รัศมีของแท่งตัวอย่าง (เซนติเมตร: cm)

h = ความยาว หรือความหนาของแท่งตัวอย่าง (เซนติเมตร: cm)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับแช่ในสารละลาย SBF (In vitro)

1. การทดสอบคุณสมบัติทางด้านการเกิด HA (Bioactive) ของซีเมนต์หลังการเซ็ตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบ Bioactive แท่งตัวอย่างสามารถเตรียมได้จากการผสมผงซีเมนต์แห้งกับของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์ในอัตราส่วนที่ต้องการ จากนั้นนำซีเมนต์ที่ผสมได้อัดลงไปแม่แบบ (Mould) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงเท่ากับ 0.6 cm และ 1.2 cm ตามลำดับ หลังจากทีปล่อยให้ซีเมนต์เซ็ตัวอย่างใน Mould แล้วประมาณ 5 นาที ก็ทำการถอดแท่งซีเมนต์ออกจาก Mould ทิ้งให้แห้งประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วนำแท่งตัวอย่างแช่ในสารละลาย SBF อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยเปลี่ยนสารละลาย SBF ทุก ๆ 3 วัน จากนั้นนำแท่งตัวอย่างไปทดสอบด้วยเครื่อง Universal testing machine รุ่น Instron 5565 ด้วยอัตราการกดที่ 1.0 mm·min⁻¹ จากนั้นนำไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD เพื่อศึกษาวัฏภาคของตัวอย่าง หลังแช่ในสารละลาย SBF ที่เวลาต่าง ๆ

เตรียมตัวอย่างโดยการผสมผงซีเมนต์แห้งกับของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์ในอัตราส่วนที่ต้องการ จากนั้นนำไปขึ้นรูปที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.6 cm และมีความหนาเท่ากับ 0.4 cm ทิ้งให้แห้งประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วนำแท่งตัวอย่างแช่ในสารละลาย SBF อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยเปลี่ยนสารละลาย SBF ทุก ๆ 3 วัน จากนั้นนำไปส่องด้วยเครื่อง SEM เพื่อศึกษาพฤติกรรมการตกผลึกของ HA ที่พื้นที่ผิวหน้าของแผ่นตัวอย่าง หลังแช่ในสารละลาย SBF ที่เวลาต่าง ๆ

2. การทดสอบการสลาย (Bioresorbable) ของซีเมนต์หลังการเซตตัว

เตรียมตัวอย่างโดยการผสมผงซีเมนต์แห้งกับของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์ในอัตราส่วนที่ต้องการ จากนั้นนำไปขึ้นรูปที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.6 cm และมีความหนาเท่ากับ 0.4 cm ทิ้งให้แห้งประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วนำแท่งตัวอย่างแช่ในสารละลาย SBF อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน จากนั้นนำสารละลายที่เวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ pH และปริมาณของ Ca และ P ที่เปลี่ยนแปลงของสารละลาย SBF หลังแช่ในสารละลาย SBF ที่เวลาต่าง ๆ ด้วยเครื่อง ICP-OES

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์สมบัติของซีเมนต์หลังจากการเซตตัว

ในการวิเคราะห์สมบัติของซีเมนต์ที่ได้หลังจากการผสมด้วยของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์แล้ว สามารถแบ่งได้ดังนี้

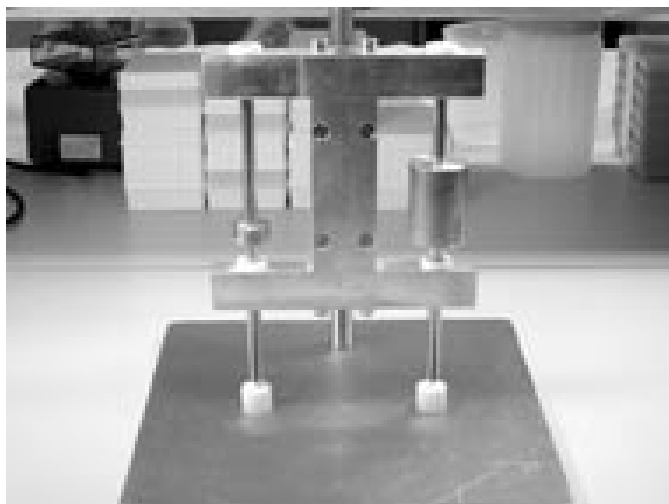
1. การวิเคราะห์ค่าความต้านทานแรงกด (Compressive strength)

ในการวิเคราะห์ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์เชื่อมกระดูกจะทำการทดสอบตามมาตรฐานของ American Standard Test Methods (ASTM F451-9a) (ASTM 1999) ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบจะมีรูปร่างเป็นแท่งทรงกระบอก (Cylindrical) ที่มีขนาดความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (Height/diameter ratio) เท่ากับ 2 หรือ สูงสุดเท่ากับ 2.5 และได้ระนาบการเตรียมแท่งตัวอย่าง สามารถเตรียมได้จากการผสมผงซีเมนต์แห้งกับของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์ในอัตราส่วนที่ต้องการ จากนั้นนำซีเมนต์ที่ผสมได้อัดลงไปแม่แบบ (Mould) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงเท่ากับ 0.6 cm และ 1.2 cm ตามลำดับ หลังจากทีป้อนให้ซีเมนต์เซตตัวใน Mould แล้วประมาณ 5 นาที ก็ทำการถอดแท่งซีเมนต์ออกจาก Mould ทิ้งให้แห้งประมาณ 2 ชั่วโมง และนำแท่งตัวอย่างไปเก็บไว้ที่สภาวะต่าง ๆ ได้แก่ ในสภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำ และในสารละลาย SBF ที่เวลาต่าง ๆ จากนั้นนำแท่งตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบดังกล่าว มาแช่ด้วยสารละลายอะซิโตน (Acetone solution) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อหยุดปฏิกิริยา หลังจากแช่แท่งตัวอย่างด้วยสารละลาย Acetone แล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C จากนั้นนำแท่งตัวอย่างไปทดสอบด้วยเครื่อง Universal testing machine รุ่น Instron 5565 ด้วยอัตราการกดที่ 1.0 mm·min⁻¹ โดยจำนวนตัวอย่าง 5 ชิ้นต่อ 1 ชุดตัวอย่าง และคำนวณค่าความต้านทานแรงกด ดังสมการ

$$\text{ความต้านทานแรงกด} = \frac{\text{แรง (N)}}{\text{พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่าง (cm}^2\text{)}} \quad (3.2)$$

2. การทดสอบเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ (Setting time)

ในการวิเคราะห์ และทดสอบเวลาในการเซตตัว (Setting time) ของซีเมนต์ที่ได้ หลังจากการผสมด้วยของเหลวที่ใช้เตรียมซีเมนต์แล้ว ด้วยเทคนิค Gillmore Needles โดยทั่วไปแล้วจะทำการทดสอบตามมาตรฐานของ American Standard Test Methods (ASTM C266-89) (ASTM 1993b) ซึ่งวิธีการนี้จะใช้วัดเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ (รูปที่ 3.3)



รูปที่ 3.3 เครื่อง Gillmore Needles สำหรับวัดเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์
(H-3150, HUMBOLDT MFG Co.)

Gillmore Needles เป็นเครื่องมือที่ประกอบด้วยเข็มที่มีน้ำหนักต่างกัน 2 อัน คือ เข็มที่มีน้ำหนัก 113 ± 0.5 g, เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2.12 ± 0.05 mm ซึ่งจะมีความดันเท่ากับ 0.3 MPa จะใช้สำหรับวัดเวลาในการเซตตัวช่วงแรก (Initial setting time: I) และเข็มที่มีเข็มที่มีน้ำหนัก 453.6 ± 0.5 g, เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 1.06 ± 0.05 mm ซึ่งจะมีความดันเท่ากับ 5.0 MPa จะใช้สำหรับวัดเวลาในการเซตตัวอย่างสมบูรณ์ (Final setting time: F)

การวัดเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ ทำได้โดยบรรจุซีเมนต์ที่ผสมกับของเหลวที่ใช้ในการเตรียมซีเมนต์ในท่อทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 10 mm และสูง 5 mm เวลาในการเซตตัวในช่วงแรกจะบันทึกเมื่อวางเข็มหนัก 113 ± 0.5 กรัม ลงบนซีเมนต์แล้วไม่เกิดรอยบนพื้นที่ผิวหน้าของซีเมนต์ นั่นคือเวลาในการเซตตัวช่วงแรก (I) และเมื่อวางเข็มหนัก 453.6 ± 0.5 กรัมลงบนซีเมนต์แล้วไม่เกิดรอยบนพื้นที่ผิวหน้าของซีเมนต์ นั่นคือเวลาในการเซตตัวสมบูรณ์ (F) โดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง

3. การวิเคราะห์วัฏภาค (Phase) ของซีเมนต์หลังการเซตตัว

ในการวิเคราะห์วัฏภาคของซีเมนต์หลังการเซตตัว ทำการทดสอบนำแท่งตัวอย่างโดยเก็บไว้ที่สภาวะต่าง ๆ ได้แก่ ในสภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำ และในสารละลาย SBF ที่เวลาต่าง ๆ จากนั้นนำแท่งตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบดังกล่าว มาแช่ด้วยสารละลายอะซิโตน (Acetone solution) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อหยุดปฏิกิริยา หลังจากแช่แท่งตัวอย่างด้วยสารละลาย Acetone แล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C และผ่านการทดสอบค่าความต้านทานแรงกด โดยการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ผงซีเมนต์

แต่การเตรียมตัวอย่างนั้น ต้องนำแท่งซีเมนต์มาบดด้วยด้วยโกร่ง (Mortar) หรือลูกบด (Pestle) เพื่อทำให้เป็นผงละเอียดก่อนจะทำการวิเคราะห์ หลังจากนั้นทำการอัดผงตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงในที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (Siemens D500, Siemens AG, Germany) โดยใช้ Ni เป็นตัวกรองรังสี $\text{CuK}\alpha$ และใช้เปรียบเทียบกับ Joint Committee Powder Diffraction Standards (JCPDS) ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (JCPDS No. 74-0565) แอลฟาพลาสเตอร์ (JCPDS No. 43-0606) และยิปซัม (JCPDS No. 33-0311) โดยมุม 2θ ระหว่าง 10-60° ความเร็วในการวัด 0.5 step/sec

4. การวิเคราะห์ขนาดและลักษณะ (Particle size and Morphology) จุลโครงสร้างของซีเมนต์หลังเซตตัว

การหาขนาดและลักษณะจุลโครงสร้างได้โดยใช้เทคนิค กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy: SEM) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถแสดงภาพที่กำลังขยายสูงได้

การเตรียมตัวอย่างโดยแท่งซีเมนต์ที่ผ่านการทดสอบความต้านทานแรงกด โดยเลือกชิ้นที่มีพื้นที่ผิวหน้ารอยแตกเรียบ จากนั้นนำชิ้นซีเมนต์ที่เลือกแล้วติดที่สับทองเหลือง โดยใช้ Silver paint เป็นของเหลวที่ใช้ติดชิ้นตัวอย่างกับสับ จากนั้นนำสับที่มีชิ้นตัวอย่างพียงให้แห้ง แล้วค่อยนำเคลือบด้วยทองด้วยเครื่องเคลือบผิวตัวอย่างด้วยไอออน (Ion Sputtering Device) รุ่น JEOL (JFC-1100E) โดยใช้กระแสไฟฟ้า เท่ากับ 10 mA เป็นเวลา 8 นาที จากนั้นนำสับที่เคลือบทองแล้วเข้าเครื่อง SEM รุ่น JEOL (JSM-6400) ในสภาวะ 20 กิโลโวลต์ (kV) ถ่ายที่กำลังขยายที่ 500 และ 1000

5. การทดสอบความเป็นพิษของสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นงานทดสอบ (Test on Extracts) โดยใช้เซลล์ออสทีโอเบลาสต์ของมนุษย์ ตามมาตรฐาน ISO 10993-5: 1999 (E)

การทดสอบความเป็นพิษของสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นทดสอบ เป็นการประเมินการตอบสนองของเซลล์มนุษย์ต่อสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างที่ทดสอบโดยพิจารณาจากการถูกทำลายของเซลล์ จากลักษณะรูปร่าง (Morphology) ของเซลล์

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์/ทดสอบ:

กล้องจุลทรรศน์แบบแสง ชนิด Phase contrast (Leica DMIL, MPS 60)

กรรมวิธีการฆ่าเชื้อ:

Gamma irradiation dose 21.5 kGy หลังการผ่านการฆ่าเชื้อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (รูป 3.4)

สภาวะในการทดสอบ:

1. เครื่องแก้วทั้งหมดผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีหนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งระบบอัตโนมัติ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ก่อนการใช้งาน กระทำภายใต้สภาวะปลอดเชื้อใน Microbiological safety cabinet และรักษาค่า pH ไว้ที่ 7.2-7.4
2. ขั้นตอนการบ่มเพาะ (incubation) ดำเนินการด้วยเครื่อง CO_2 incubator ที่อุณหภูมิ $37.0 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 5.0% CO_2 , ความชื้นสัมพัทธ์ $95 \pm 5\%$ ในการทดสอบเซลล์ออสทีโอเบลาสต์มนุษย์ จำนวนเซลล์เริ่มต้นที่ใช้ต่อชุดทดสอบ 6.8×10^4 cells/ml โดยประมาณ
3. Extraction vehicle ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM complete medium ที่มี fetal bovine serum (FBS) และ antibiotics การทำ extraction ดำเนินการโดยใช้ extraction ratio (surface area of test article to volume of vehicle) ที่เหมาะสม โดย extraction ratio ที่ใช้สำหรับชิ้นงานคือ $1.25 \text{ cm}^2/\text{ml}$ ทำการ extraction ด้วยเครื่อง Roller mixers ที่อุณหภูมิ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 72 ± 2 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบ โดยมีอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ปราศจากตัวอย่างที่ทดสอบ (Blank cultured media) จะใช้เป็นตัวแทนควบคุม วัสดุ Thermanox (Nunc) cover slips จะใช้เป็นชุดควบคุม

negative control material และวัสดุ Portex positive plastic strip จะใช้เป็นชุดควบคุม positive control material โดยทำการเตรียมภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับข้างต้น ทั้งนี้สิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นงานทดสอบ และชุดควบคุมทั้งหมดนำมาใช้ทดสอบโดยไม่ได้ทำการเปลี่ยนแปลง

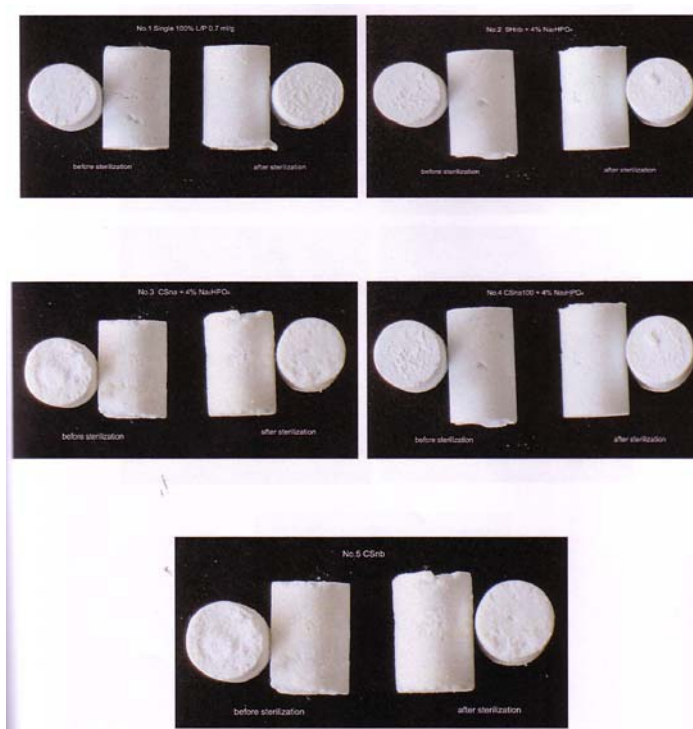
4. ภายหลังการ Extraction พบว่าตัวอย่างทั้ง 5 ตัวอย่าง เกิดการแตกตัว และแขวนลอยใน extraction vehicle ซึ่งมีผลต่อการวิเคราะห์ผลด้วยกล้อง LM จึงทำการกรองตัวอย่างด้วย กระดาษกรองขนาด $0.45\ \mu\text{m}$ และ $0.2\ \mu\text{m}$ ตามลำดับ ก่อนนำไปทดสอบ (ดังรูปที่ 3.5)
5. ภายหลังติดตามการทดสอบที่เวลา 4 วัน นำชุดทดสอบทั้งหมด มาทำการย้อมสีด้วย neutral red เพื่อยืนยันการมีชีวิตของเซลล์โดยวิเคราะห์ผลด้วยกล้อง LM
6. จานเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ TCC, 6-well plate และเพื่อการยืนยันผลได้ทำการทดสอบสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นทดสอบ จำนวนตัวอย่างละ 6 ชุดทดสอบ

เกณฑ์ในการตัดสิน:

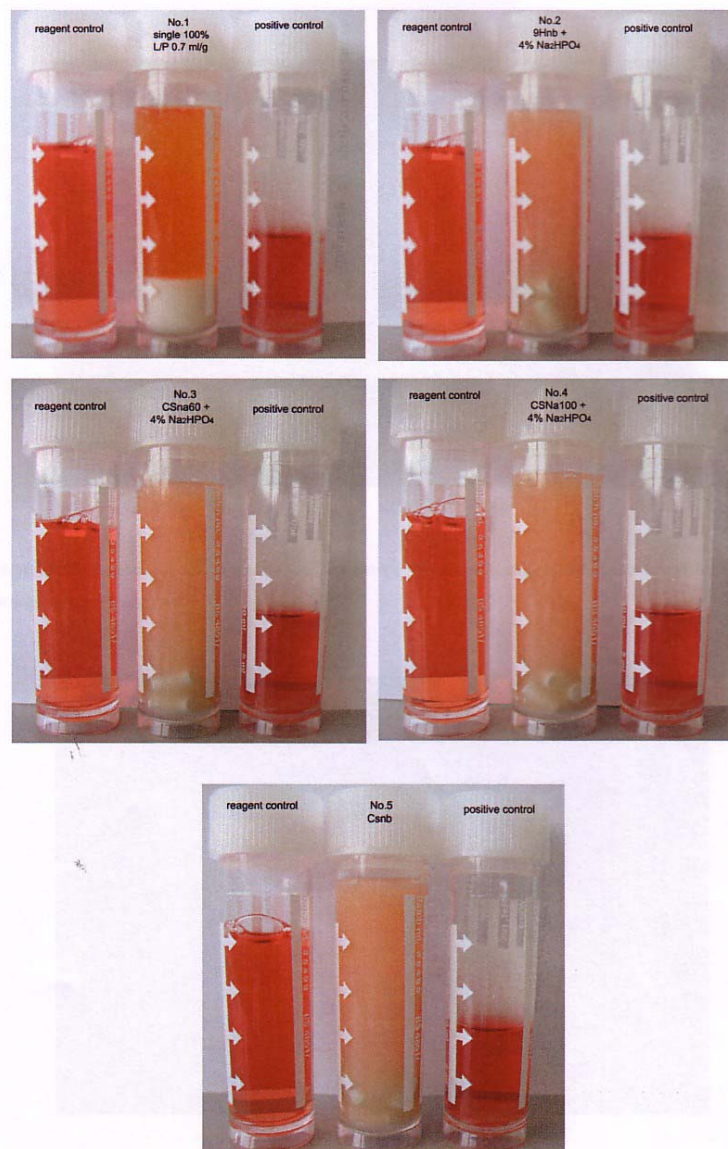
สิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นทดสอบ ได้นำมาดำเนินการทดสอบความเป็นพิษแบบ Indirect assessment อ้างอิงมาตรฐานของ ISO 10993-5:1999 (E) โดยมีการเปลี่ยนแปลงบางส่วน เพื่อประเมินผลการตอบสนองต่อเซลล์ของสปีชีส์ของมนุษย์ ว่าสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างทดสอบก่อให้เกิดความเป็นพิษทาง cytotoxicity หรือไม่ วิธีการทดสอบ Test on Extracts จึงเป็นวิธีที่เลือกนำมาใช้ในการทดสอบนี้ซึ่งประเมินด้วยการพิจารณาการถูกทำลายของเซลล์จากลักษณะ Morphology ของเซลล์

ในการทดสอบได้ดำเนินการติดตามเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะ Morphology ของเซลล์ที่เป็นผลจากการทดสอบด้วยสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างชิ้นทดสอบ กับผลของชุดควบคุม negative control, reagent control และ positive control โดยใช้การวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง LM ติดตามผลภายหลังการทดสอบที่ระยะเวลา 2 และ 4 วันตามลำดับ เกณฑ์ในการตัดสินเพื่อสรุปว่าตัวอย่างชิ้นทดสอบให้ผลที่เป็นพิษต่อเซลล์ได้แก่ กรณีที่เซลล์ที่ทดสอบถูกทำลายไปมากกว่า 70% โดย monolayer ของเซลล์มีลักษณะเป็น Rounded cells และ/หรือ ไม่สมบูรณ์โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปจาก morphology ของเซลล์ปกติ และตัวอย่างที่ทดสอบสามารถให้ผลที่เป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อผลของ monolayer ของเซลล์ที่ใช้ทดสอบทั้ง 6 ชุดแสดงผลต่ำกว่า 50% แสดงลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ โดยมีการเปลี่ยนแปลง

ไปจากลักษณะ morphology ของเซลล์ที่ปกติ และเพื่อยืนยันผลการทดสอบ จะเปรียบเทียบผลกับชุดควบคุม ได้แก่ negative control และ reagent control ซึ่งจะไม่แสดงผลใดๆ ของการทำลายเซลล์ และ positive control ซึ่งจะแสดงผลของการถูกทำลายของเซลล์อย่างชัดเจน



รูป 3.4 ลักษณะชิ้นงานที่ปรากฏก่อนและหลัง Sterilization



รูป 3.5 ลักษณะของขึ้นงานภายหลังการ Extraction

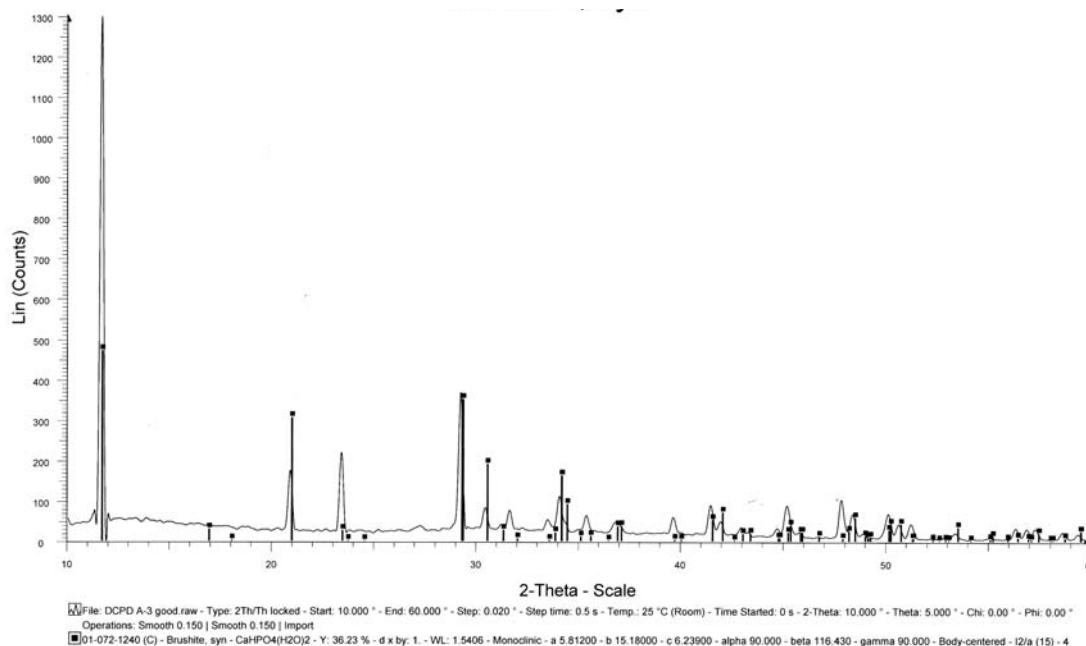
บทที่ 4

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสังเคราะห์สารตั้งต้นในการเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก

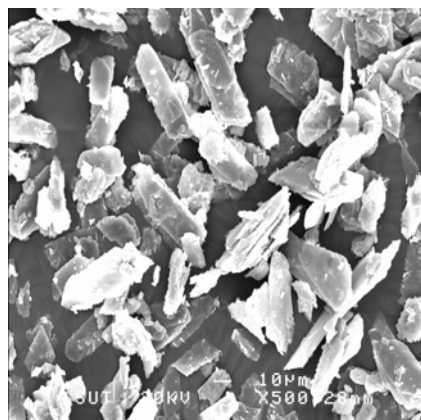
1.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะของ สารไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD)

จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD พบว่าได้สาร DCPD ที่มีความบริสุทธิ์ เมื่อผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 °C (ดังรูป 4.1)

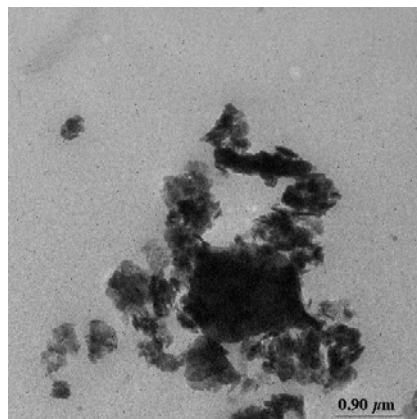


รูป 4.1 XRD pattern ของผง Brushite (Dicalcium phosphate dehydrate, DCPD)

จากการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยกล้อง Scanning electron microscope พบว่าลักษณะของผง DCPD ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 1-2 μm ซึ่งมีการเกาะกันเป็นก้อนขนาดต่างๆ กัน (ดังรูป 4.2a) และจากการวิเคราะห์ด้วยกำลังขยายที่สูงขึ้นด้วยกล้อง Transmission electron microscope พบว่าอนุภาคมีขนาดเล็กกว่า 0.9 μm และมีการเกาะกันเป็นก้อนแบบหลวมๆ (ดังรูป 4.2b) ผงที่ได้จากการกระบวนการตกตะกอนจะได้ผงที่มีขนาดอนุภาคเล็กและมักจะมีแนวโน้มที่จะเกาะกันเป็นก้อนหลวมๆ



(a)

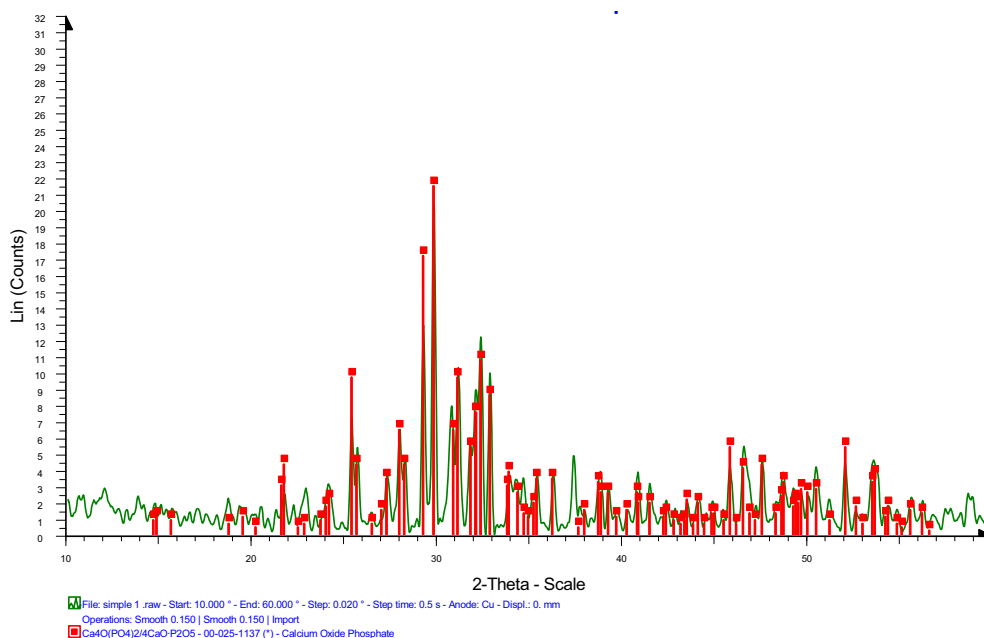


(b)

รูป 4.2 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ของผง Brushite (Dicalcium phosphate dihydrate, DCPD) (a) SEM micrograph and (b) TEM micrograph

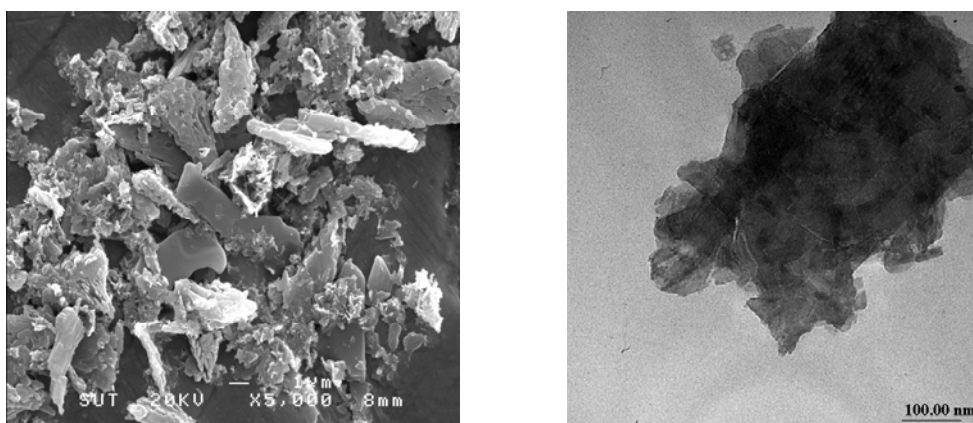
1.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะของสารเตตระแคลเซียม ฟอสเฟต (TTCP)

จากการวิเคราะห์ห้วงภาคของผง TTCP ที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีเฟส TTCP ที่มีความบริสุทธิ์สูง ดังรูป 4.3



รูป 4.3 XRD pattern ของผงเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (TTCP) ที่สังเคราะห์ได้

จากการถ่ายภาพอนุภาคของ TTCP ที่สังเคราะห์ได้ด้วยกล้อง SEM พบว่า อนุภาคมีลักษณะเป็นผงที่มีรูปร่างไม่แน่นอนและเกาะกันเป็นก้อนที่มีขนาดประมาณ 4-8 μm (ดังรูป 4.4a) และเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยกล้อง TEM ที่มีกำลังขยายสูงขึ้น พบว่าอนุภาคเกาะกันและประกอบด้วยอนุภาคเล็กๆ ประมาณ 80-100 nm (ดังรูป 4.4b) ซึ่งกระบวนการในการสังเคราะห์ผง TTCP เป็นกระบวนการ Solid state ที่เกิดที่อุณหภูมิสูง ทำให้อนุภาคที่ได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่ อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำไปผสมเพื่อเป็นซีเมนต์ จะต้องนำผงนี้ไปผ่านการบดและร่อนผ่านตะแกรง 230 เมช อีกครั้ง

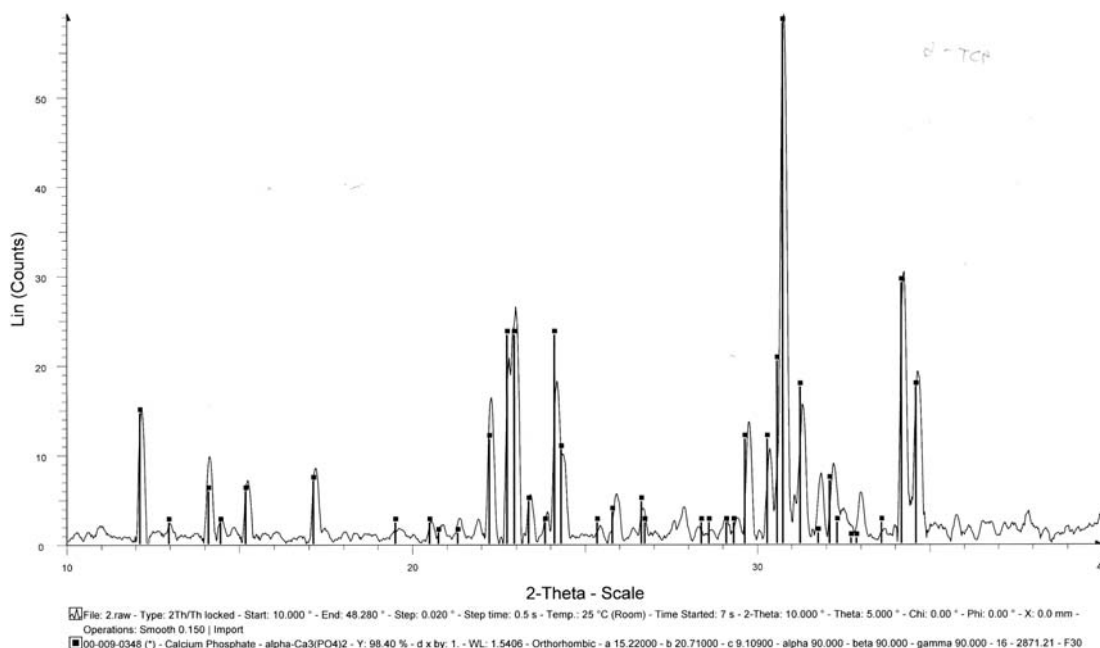


รูป 4.4 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ของผงเตตระแคลเซียมฟอสเฟต (TTCP)

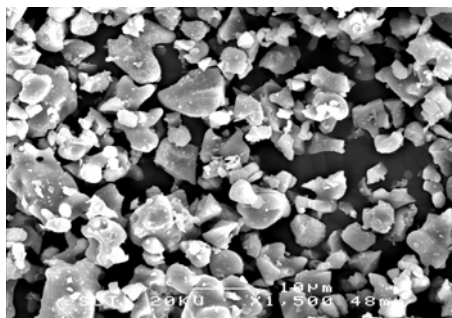
(a) SEM micrograph and (b) TEM micrograph

1.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะของสาร แอลฟาไตรแคลเซียม ฟอสเฟต (α -TCP)

จากการวิเคราะห์วัฏภาคของผงแอลฟาไตรแคลเซียม ฟอสเฟต พบว่าได้เฟสของ α -TCP ที่มีความบริสุทธิ์ (ดังรูป 4.5) และอนุภาคมีลักษณะค่อนข้างมน มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 3-5 ไมครอน (รูป 4.6)

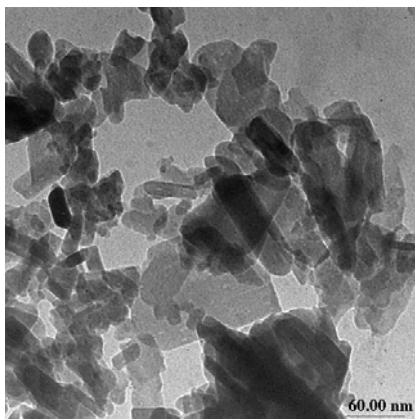


รูป 4.5 XRD pattern ของผง แอลฟาไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่สังเคราะห์ได้



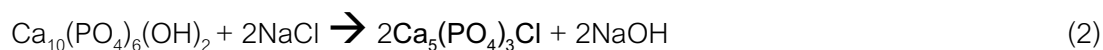
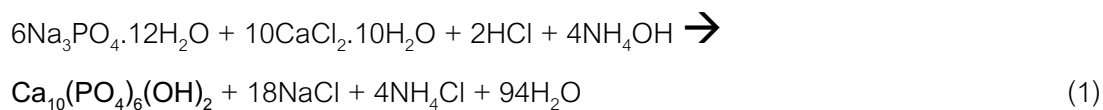
รูป 4.6 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM ของผงแอลฟาไตรแคลเซียมฟอสเฟต
กำลังขยาย 1500 เท่า

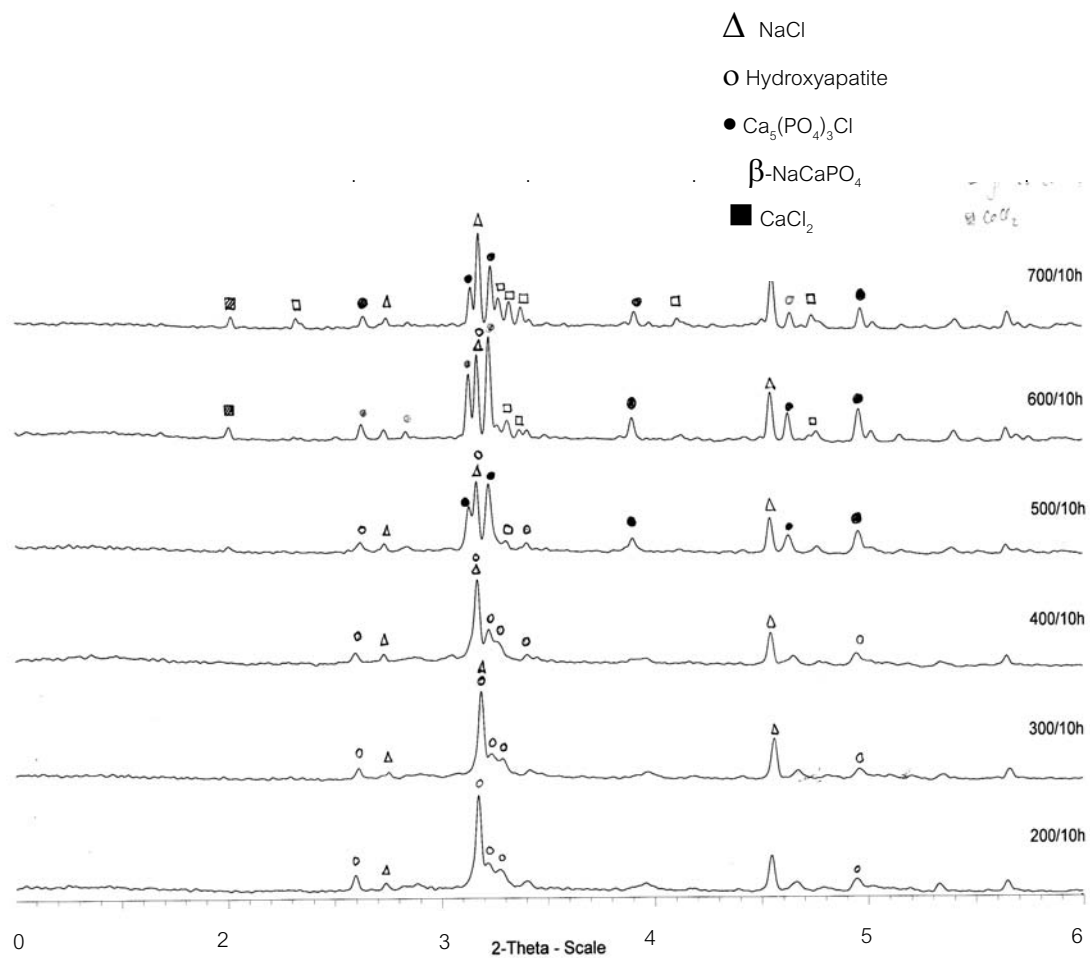
- 1.4 จากการทดลองสังเคราะห์สารตั้งต้นสำหรับใช้เตรียมเป็นซีเมนต์เชื่อมกระดูกได้แก่ Dicalcium phosphate (DCPD), α -tricalcium phosphate (α -TCP), tetracalcium phosphate (TTCP) ที่มีความบริสุทธิ์สูงและ Hydroxyapatite (HA) ที่ได้เป็นสารที่มีความบริสุทธิ์สูงและสามารถสังเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิต่ำโดยการผ่านการอบที่ 300°C ผงสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้มีขนาดอนุภาคเล็กขนาด 10-50 นาโนเมตรดังรูป 4.7



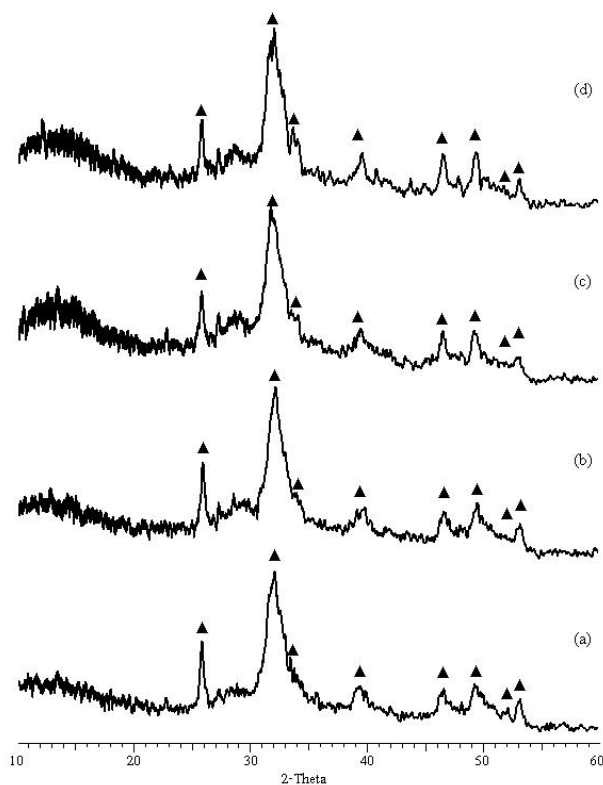
รูป 4.7 Transmission electron micrograph ของสารไฮดรอกไซด์อะปาไทต์ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 300°C

1.5 จากการทดลองศึกษาพฤติกรรมทางความร้อนของผงสารไฮดรอกไซด์อะปาไทต์ โดยการอบผงสารที่อุณหภูมิระหว่าง 200-700°C และได้นำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเฟส ด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD) และ FT-IR spectrophotometer พบว่าเมื่อให้อุณหภูมิสูงกว่า 300°C เกิดการเปลี่ยนแปลงเฟสของผงสารไฮดรอกไซด์อะปาไทต์เนื่องจากการทำปฏิกิริยากับโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by product) จากการสังเคราะห์สารดังปฏิกิริยา (1) และทำให้เกิดเฟส $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ และ NaCaPO_4 ดังปฏิกิริยา (2) และ (3) ตามลำดับ ซึ่งจะปรากฏเมื่ออบผงสารที่สังเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิมากกว่า 300°C ขึ้นไปดังผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (รูป 4.8) ทั้งนี้จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องล้างโซเดียมคลอไรด์ก่อนจะนำไปใช้เตรียมเป็นซีเมนต์หรือก่อนไปผ่านกระบวนการซินเตอร์ริง (sintering)

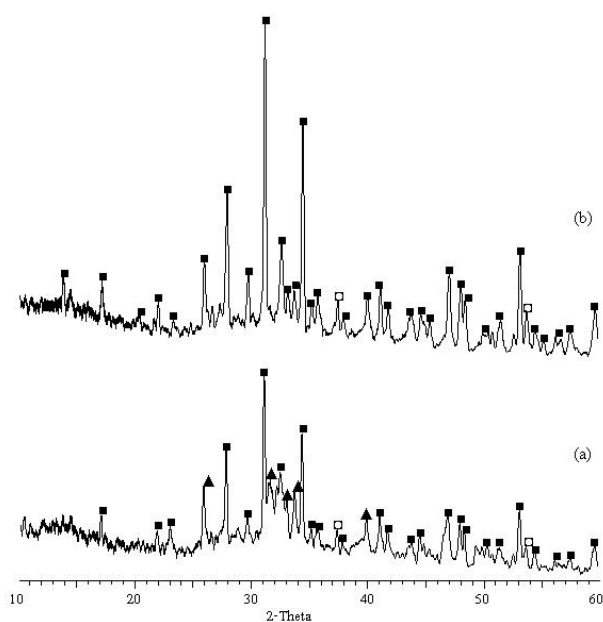




รูป 4.8 XRD patterns ของผงสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมในสภาวะต่างๆ

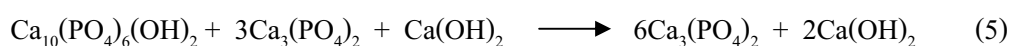
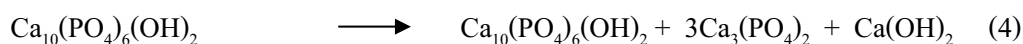


รูป 4.9 XRD patterns ของผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิ 75-80°C ในบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิการเผาเท่ากับ (a) 200°C, (b) 300°C, (c) 400 °C และ (d) 500°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ (▲ = HA)

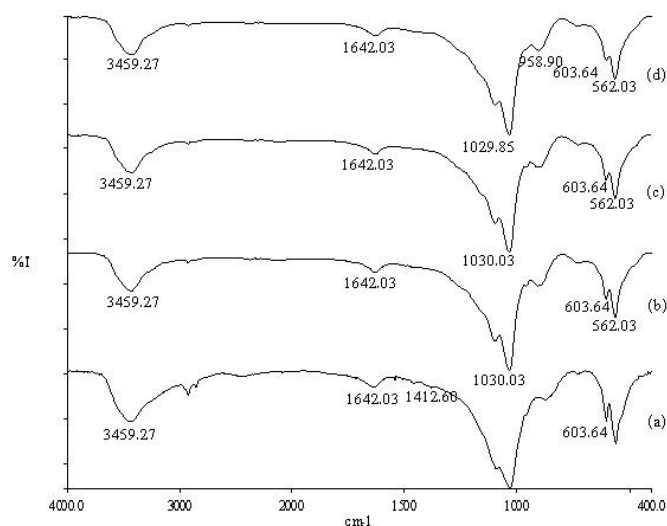


รูป 4.10 XRD patterns ของผง HA ที่สังเคราะห์ได้ที่ ที่อุณหภูมิ 75-80°C ในบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิการเผา (a) 600°C และ (b) 700°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ (▲ = HA, ■ = TCP และ □ = Ca(OH)_2)

จากรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่า เมื่อนำผง HA ที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 75-80°C ที่บรรยากาศปกติ ที่มีการควบคุม pH ในช่วง 9-10 พบว่าลักษณะของ HA เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่า NaCl ถูกล้างออกจากผง HA สังเคราะห์ได้ทั้งหมด และไม่มีเฟสอื่นเกิดขึ้นเมื่อผ่านความร้อนถึง 500 °C และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 600 และ 700°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.10 พบเฟสของ TCP และ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ มากขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้สามารถแสดงได้ตามสมการที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

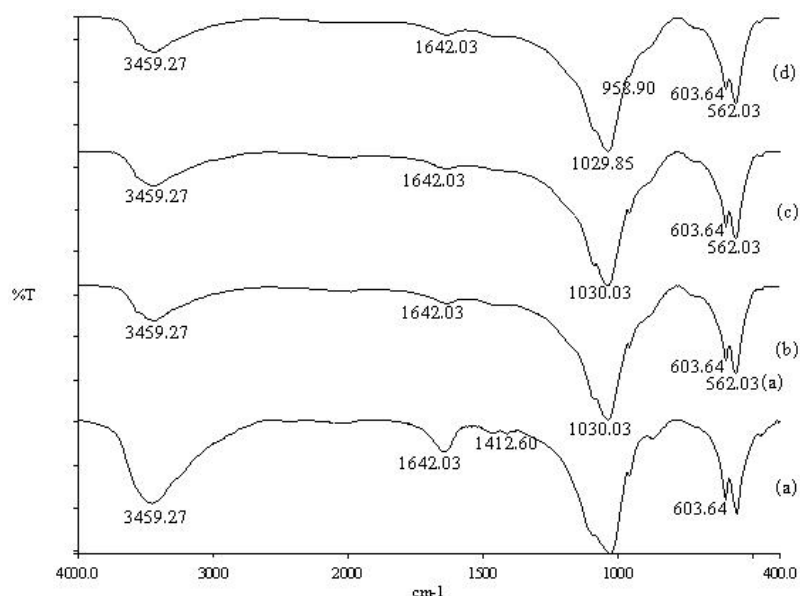


จากการวิเคราะห์ผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง ในสุญญากาศ ควบคุม pH 9-10 ด้วยเครื่อง FT-IR (รูป 4.11) พบว่าที่ 200-500°C เกิดพีคของไฮดรอกไซด์ (OH^-) ที่ 3459.27 และ 1642.03 cm^{-1} พีคที่ 1430.01 และ 1412.60 cm^{-1} ที่สามารถเป็นได้ทั้งของแอมโมเนีย (NH_4^+) และคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และพีคที่ 1090.41, 1029.85, 958.90, 603.64 และ 562.03 cm^{-1} ของหมู่ฟังก์ชันัลกรุปของ PO_4^{3-} เหมือนกันทุกอุณหภูมิการเผา แตกต่างกันที่พีคที่ 1430.01 และ 1412.60 cm^{-1} หายไปที่ 300-500°C ดังนั้นจึงสามารถสรุปพีคที่เกิดขึ้นที่ 1430.01 และ 1412.60 cm^{-1} เป็นของหมู่ฟังก์ชันัลกรุปของ NH_4^+ เนื่องจาก NH_4^+ จะเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ 150-260°C (Anee T.K. et al. 2003)



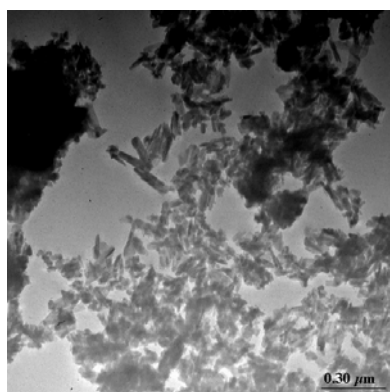
รูปที่ 4.11 แสดงกราฟ FT-IR ของผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง ในสุญญากาศ ควบคุม pH 9-10 ที่อุณหภูมิห้อง และผ่านความร้อนที่ (a) 200°C, (b) 300°C, (c) 400°C และ (d) 500°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 75-80°C ในบรรยากาศปกติ ควบคุม pH 9-10 ด้วยเครื่อง FT-IR (รูป 4.12) พบว่าที่ 200-500°C เกิดพีคของไฮดรอกไซด์ (OH⁻) ที่ 3459.27 และ 1642.03 cm⁻¹ พีคที่ 1430.01 และ 1412.60 cm⁻¹ ที่สามารถเป็นได้ทั้งของแอมโมเนีย (NH₄⁺) และคาร์บอเนต (CO₃²⁻) และพีคที่ 1090.41, 1029.85, 958.90, 603.64 และ 562.03 cm⁻¹ ของหมู่ฟังก์ชันัลกรุปของ PO₄³⁻ เหมือนกันทุกอุณหภูมิการเผา แตกต่างกันที่พีค 1430.01 และ 1412.60 cm⁻¹ หายไปที่อุณหภูมิการเผา 300-500°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ดังนั้นจึงสามารถสรุปพีคที่เกิดขึ้นที่ 1430.01 และ 1412.60 cm⁻¹ เป็นของหมู่ฟังก์ชันัลกรุปของ NH₄⁺ เนื่องจาก NH₄⁺ จะเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ 150-260°C (Anee T.K. et al. 2003) เช่นเดียวกันกับผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ในสุญญากาศ ควบคุม pH 9-10 ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4.12 แสดงกราฟ FT-IR ของผง HA ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 75-80°C ในบรรยากาศปกติ เมื่อผ่านความร้อนที่ (a) 200°C, (b) 300°C, (c) 400 °C และ (d) 500 °C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์เพื่อศึกษาขนาดอนุภาคด้วย Transmission electron microscope พบว่าผงสารที่เตรียมในบรรยากาศปกติและผ่านการอบที่ 300°C ได้ผงสารที่มีขนาดเล็กประมาณ 10-50 ไมครอนดังรูป 4.13 (a) และจากการทดลองนำผงที่สังเคราะห์ได้ผสมกับน้ำกลั่นเพื่อเตรียมเป็นซีเมนต์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (ดังรูป 4.14 b) พบว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นโดยมีการเจริญของเกรนออกในแนวยาวและมีการเกาะตัวกันมากขึ้น ในขณะที่เฟสของสารเป็นผลึกของไฮดรอกซีอะพาไทต์มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าผงสารที่เตรียมได้สามารถนำมาเตรียมเป็นซีเมนต์ได้โดยมีการเชื่อมต่อตัวเหมือนกับปูนปลาสเตอร์ที่สามารถเชื่อมต่อตัวเองจากสารตั้งต้นเพียงชนิดเดียว ดังนั้นสภาวะการเตรียมสารตั้งต้น Hydroxyapatite สำหรับเป็นซีเมนต์เชื่อมกระดูกที่ดีที่สุดคือ การเตรียมในบรรยากาศปกติ โดยการควบคุมอุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยาที่ 80°C และผ่านการอบที่ 300°C



(a)



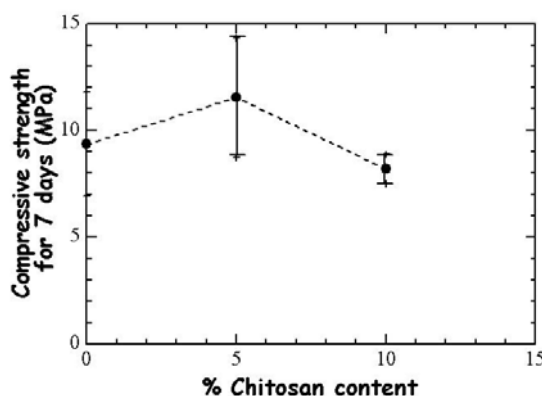
(b)

รูป 4.13 Transmission electron micrographs ของผงสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ ที่เตรียมในบรรยากาศปกติและผ่านการอบที่ 300°C (a) as-prepared powder, (b) after mixing with water for 7 days

ตอนที่ 2 ผลการทดลองเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูก

ผลการทดลองนำสารตั้งต้นที่สังเคราะห์ขึ้นมาเตรียมซีเมนต์เชื่อมกระดูกเชิงประกอบ โดยศึกษาผลของปริมาณโคโคซานเพื่อให้เตรียมเป็นซีเมนต์เชิงประกอบ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของการเติมสารตัวเติมในสารตั้งต้นซีเมนต์เพียงชนิดเดียว เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางกลของซีเมนต์ ได้แก่ สาร Calcium sulfate hemihydrate (ซึ่งจะใช้ตัวย่อว่า CSH) หรือ Plaster ($\text{CaSO}_4 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$) และศึกษาผลของสารตัวเติมเพื่อเร่งการตกผลึกของสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ ได้แก่ ผลึกของสารไฮดรอกซีอะพาไทต์ (HA Seed) และโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) ต่อความต้านทานแรงกด เวลาในการเชื่อมต่อและเฟสของซีเมนต์ที่ได้หลังจากผ่านการบ่ม

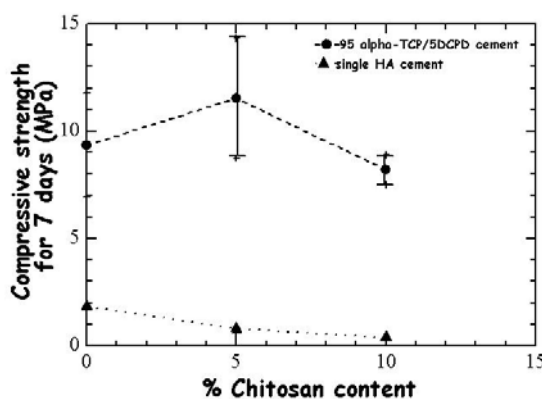
ผลการทดลองเตรียมซีเมนต์เชิงประกอบจาก DCPD + α -TCP และไคโตซาน (รูป 4.14) พบว่าไคโตซานสามารถเพิ่มความต้านทานต่อแรงกดของซีเมนต์ได้เมื่อเติมในปริมาณ 5% chitosan และการเพิ่มปริมาณมากขึ้นจะทำให้ความต้านทานต่อแรงกดต่ำลง นอกจากนี้ไคโตซานยังทำให้เวลาในการเซ็ตตัวของซีเมนต์เริ่มต้น (Initial setting time) เร็วขึ้น แต่ไม่สามารถทำให้เซ็ตตัวสมบูรณ์ในเวลาที่ต้องการได้



รูป 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานแรงกด (7 วัน) ของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย 95wt%

α -TCP + 5 DCPD และปริมาณของไคโตซานในของเหลว

ที่อัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์แห้ง 0.3 ml/g



รูป 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานแรงกด (7 วัน) ของซีเมนต์ 95 α -

TCP+5DCPD และ Single HA กับปริมาณของไคโตซานในของเหลว

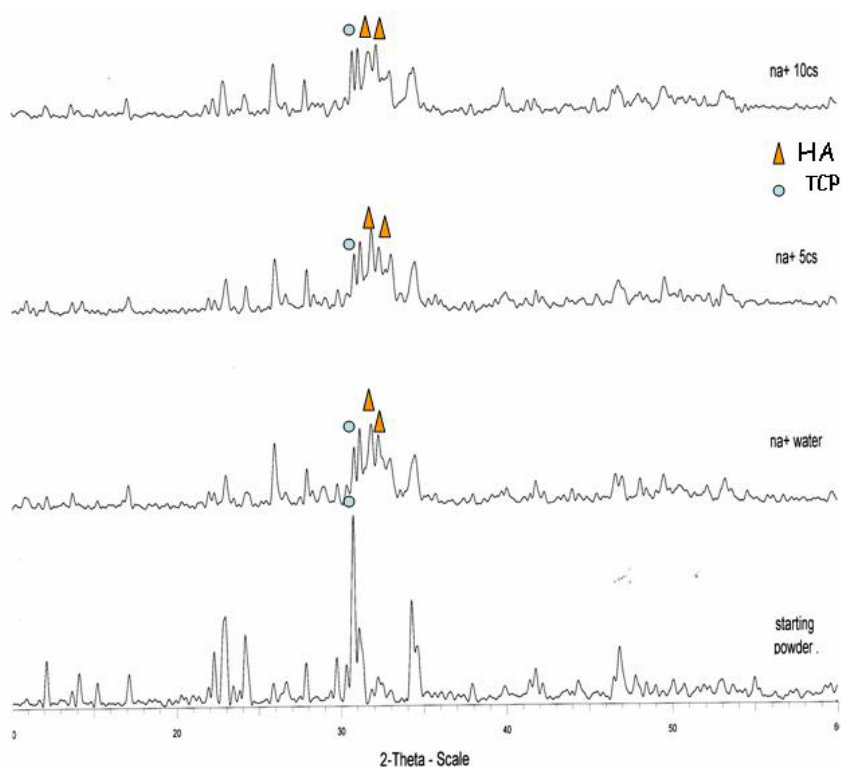
ที่อัตราส่วนของเหลวต่อผงซีเมนต์แห้ง 0.3 ml/g

จากผลการเติมไคโตซานด้วยอัตราส่วนต่างๆกันในกรดซิตริกเข้มข้น 10% โดยน้ำหนัก (รูป 4.15) พบว่า ซีเมนต์ที่ประกอบด้วย 95 α -TCP+5DCPD และ 5 wt% ของไคโตซานทำให้ซีเมนต์มี

ความต้านทานแรงกดเพิ่มขึ้นประมาณ 12 MPa แต่การเติมไคโตซานลงในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย single HA ทำให้ความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ลดลง พบว่าไคโตซานปริมาณ 5 และ 10 wt% จะทำให้ความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ต่ำลง และปริมาณไคโตซานที่เหมาะสมคือ 3%wt นอกจากนี้การเติมไคโตซานในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย TTCP+DCPD ทำให้เวลาในการเซ็ตตัวของซีเมนต์เร็วขึ้น แต่การเติมไคโตซานในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย α -TCP + DCPD ทำให้เวลาในการเซ็ตตัวของซีเมนต์นานขึ้น ดังตาราง 4.1

ตาราง 4.1 ผลของไคโตซานต่อเวลาในการเซ็ตตัวของซีเมนต์ที่มีส่วนผสมของ DCPD+TTCP และ DCPD + α -TCP

No.	Composition of cement powder (wt %)	Composition of cement liquid	L/P ratio (ml/g)	Setting time (min)	
				I.T.	F.T.
nc	29 DCPD+ 71 TTCP	H ₂ O	0.36	20	60
5cnc		5%chitosan	0.36	6	>60
5cnc1		5% chitosan+1M Na ₂ HPO ₄	0.66	7	>60
na	95 α -TCP+ 5DCPD	H ₂ O	0.3	18	>60
5cna		5%chitosan	0.3	26	49
10cna		10%chitosan	0.3	ไม่เซ็ต	ไม่เซ็ต
nb	90 α -TCP + 10DCPD	H ₂ O	0.3	19	>60
5cnb		5%chitosan	0.3	27	50
10cnb		10%chitosan	0.3	ไม่เซ็ต	ไม่เซ็ต



รูป 4.15 XRD pattern ของผง 95TCP + 5DCPD ด้วยปริมาณของไคโตซานต่างๆในของเหลว

จากผลการวิเคราะห์เฟสของซีเมนต์ 95TCP + 5DCPD หลังจากผสมน้ำ, 5wt% และ 10wt% ของไคโตซาน และผ่านการบ่มที่ 100% ความชื้น อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน (รูป 4.15) พบว่าซีเมนต์ที่ได้หลังจากการบ่มเกิดเป็นเฟส HA และยังคงเหลือปริมาณ TCP อยู่ ซึ่งพบว่าการผสม 10wt% ของไคโตซานจะทำให้การเปลี่ยนเฟสไปเป็น HA ได้น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ที่บ่ม 7 วัน พบว่า การผสม 10wt ของไคโตซานทำให้ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ การผสมด้วย 5wt% ของไคโตซาน

การเติมไคโตซานลงในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย Single HA เพื่อเตรียมเป็นซีเมนต์เชิงประกอบ พบว่าการเติมไคโตซานทำให้ซีเมนต์มีการเซ็ตตัวช้าลง โดยจะมีเวลาในการเซ็ตตัวสมบูรณ์มากกว่า 1 ชั่วโมง ซึ่งใช้เวลาในการเซ็ตตัวนานเกินไปในการนำไปใช้งานทางการแพทย์

ตาราง 4.2 ผลการทดลองศึกษาผลของไคโตซานต่อคุณสมบัติของซีเมนต์ที่เตรียมจาก Single HA

No.	Composition of cement powder (wt %)	Composition of cement liquid	L/P ratio (ml/g)	Setting time (min)	
				I.T.	F.T.
S	Single HA	H ₂ O	0.3	4	>60
5cs		5%chitosan	0.3	6	>60
10cs		10%chitosan	0.3	10	>60

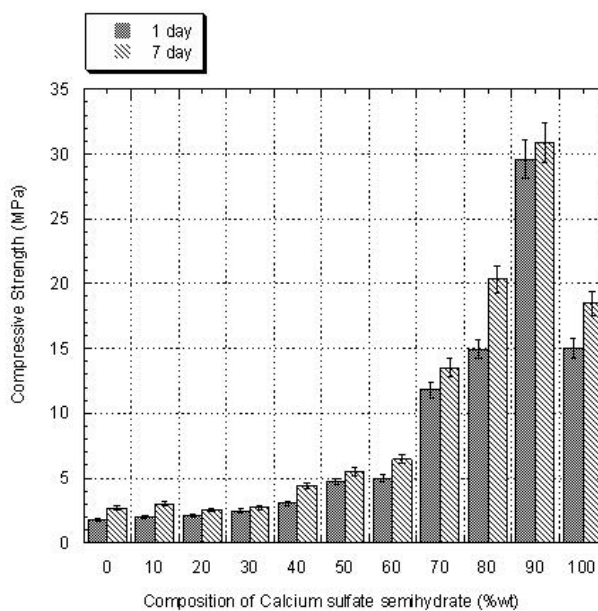
ผลการทดลอง (ตาราง 4.3) เพื่อศึกษาผลของตัวเร่ง Na_2HPO_4 ต่อสมบัติของซีเมนต์เชิงประกอบที่เตรียมจากสารไฮดรอกซีอะพาไทต์และไคโตซาน เมื่อมีการเติมผลึกตัวเร่งด้วย 3, 5, 10% wt ตามลำดับ พบว่า Na_2HPO_4 ทำให้การเซ็ตตัวเริ่มต้นของซีเมนต์เชิงประกอบเร็วขึ้น แต่ไม่สามารถทำให้เซ็ตตัวได้อย่างสมบูรณ์ในเวลาที่ต้องการได้

ตาราง 4.3 ผลการทดลองศึกษาผลของผลึกตัวเร่งและตัวเร่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่มีต่อสมบัติของซีเมนต์ที่เตรียมจาก HA เพียงชนิดเดียว (single component)

No.	Composition of cement powder (wt %)	Composition of cement liquid	L/P ratio (ml/g)	Setting time (min)		Compressive strength For 7 days (MPa)
				I.T.	F.T.	
97s	Single HA + 3% HA seed	H_2O	0.3	4	>60	1.61 ± 0.02
95s	Single HA + 5% HA seed		0.3	6	>60	1.60 ± 0.03
90s	Single HA + 10% HA seed		0.3	10	>60	1.19 ± 0.05
97s3c	Single HA + 3% HA seed	3wt% chitosan	0.3	7.4	28	1.64 ± 0.01
95s3c	Single HA + 5% HA seed		0.3	10.5	35	1.36 ± 0.03
90s3c	Single HA + 10% HA seed		0.3	15	33	0.66 ± 0.08
97s3c1	Single HA + 3% HA seed	3wt % chitosan +1M Na_2HPO_4	0.6	5.5	50.55	1.50 ± 0.03
95s3c1	Single HA + 5% HA seed		0.6	6	>60	1.37 ± 0.08
90s3c1	Single HA + 10% HA seed		0.6	6	>60	0.63 ± 0.1

การศึกษาผลของสารตัวเติม Calcium sulfate hemihydrate (CSH) ต่อสมบัติทางกลของซีเมนต์จาก single HA

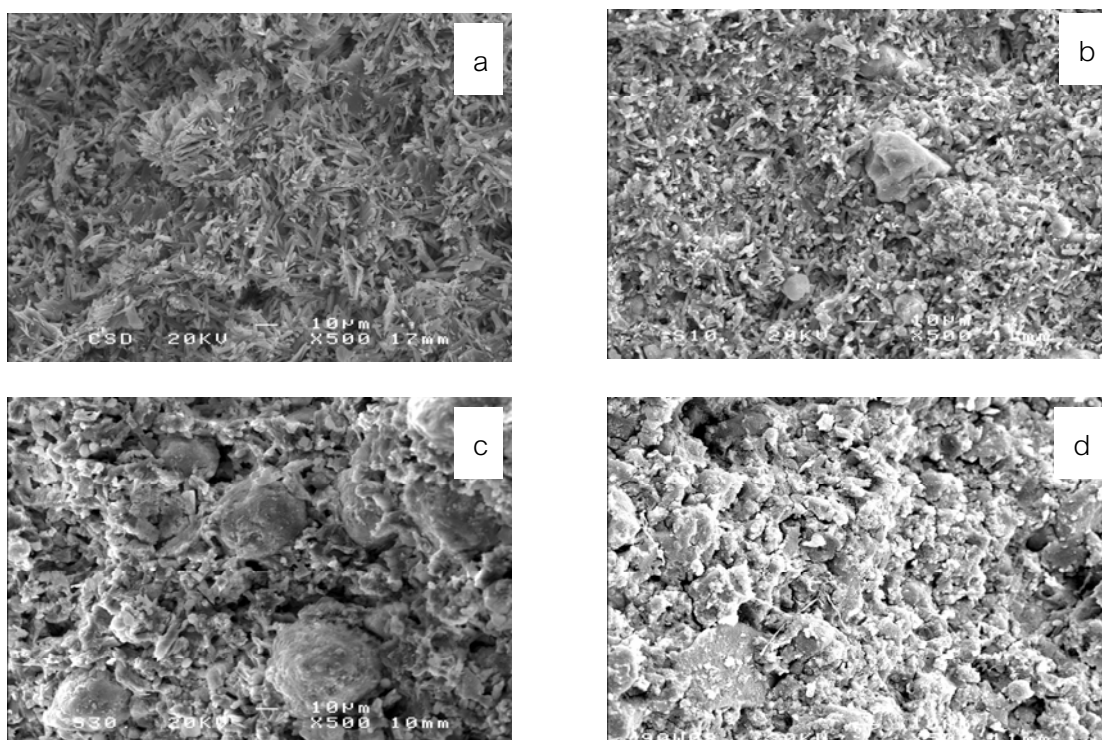
จากการทดลองเตรียมซีเมนต์ที่ประกอบด้วย Single HA และเติมสารเพิ่มความแข็งแรงคือ CSH ด้วยอัตราส่วนระหว่าง 0-100 wt % พบว่า การเติม CSH มากขึ้นจนถึง 90wt% ซีเมนต์จะมีความต้านทานแรงกดหลังจากเซ็ตตัวได้ 7 วันสูงขึ้นถึง 30 MPa



รูป 4.16 แสดงค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ HA โดยผสม CSH 0-100 %wt โดยใช้
น้ำกลั่นต่อผงแห้งในอัตราส่วน 0.6 ml/g และเก็บที่สภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 37°C
ที่ 1 และ 7 วัน

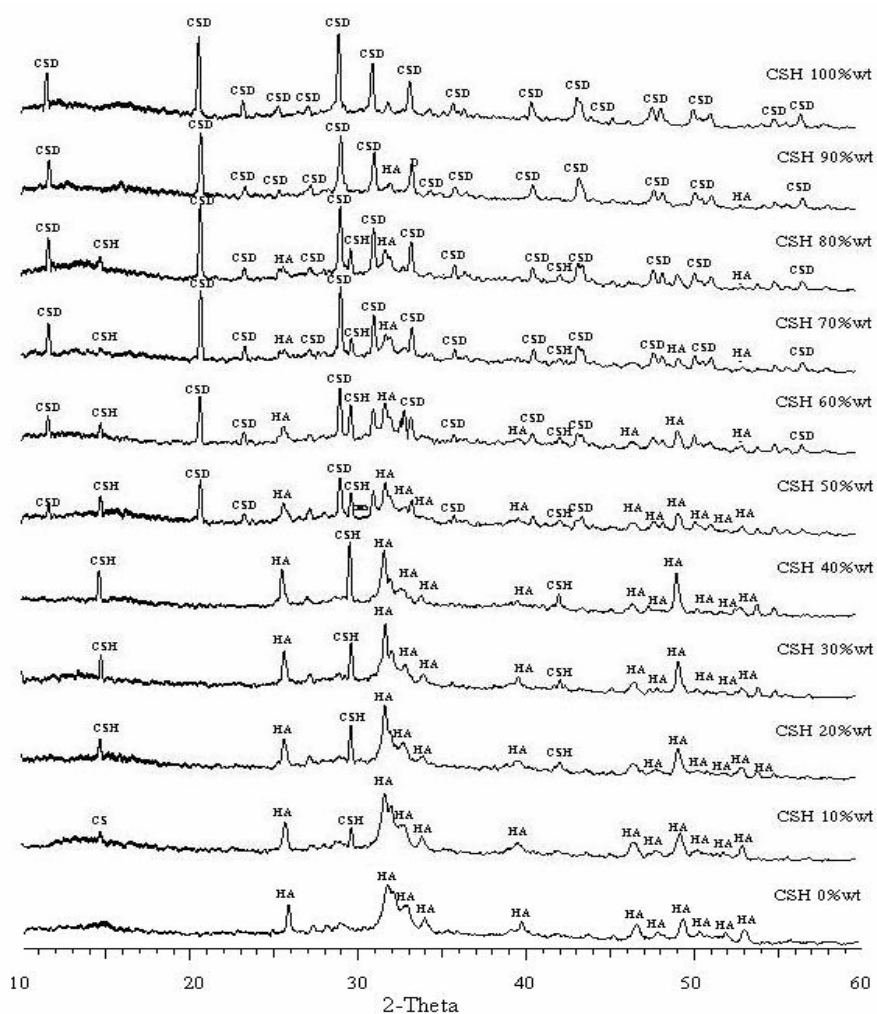
ตารางที่ 4.4 แสดงเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย Single HA และ CSH ด้วย
อัตราส่วนต่างๆ

%wt of CSH	Initial setting time : I (min)	Final setting time : F (min)
0	4	10
10	5	12
20	5	15
30	6	20
40	7	25
50	10	35
60	18	45
70	20.45	55
80	มากกว่า 30	มากกว่า 60
90	มากกว่า 30	มากกว่า 60
100	มากกว่า 30	มากกว่า 60

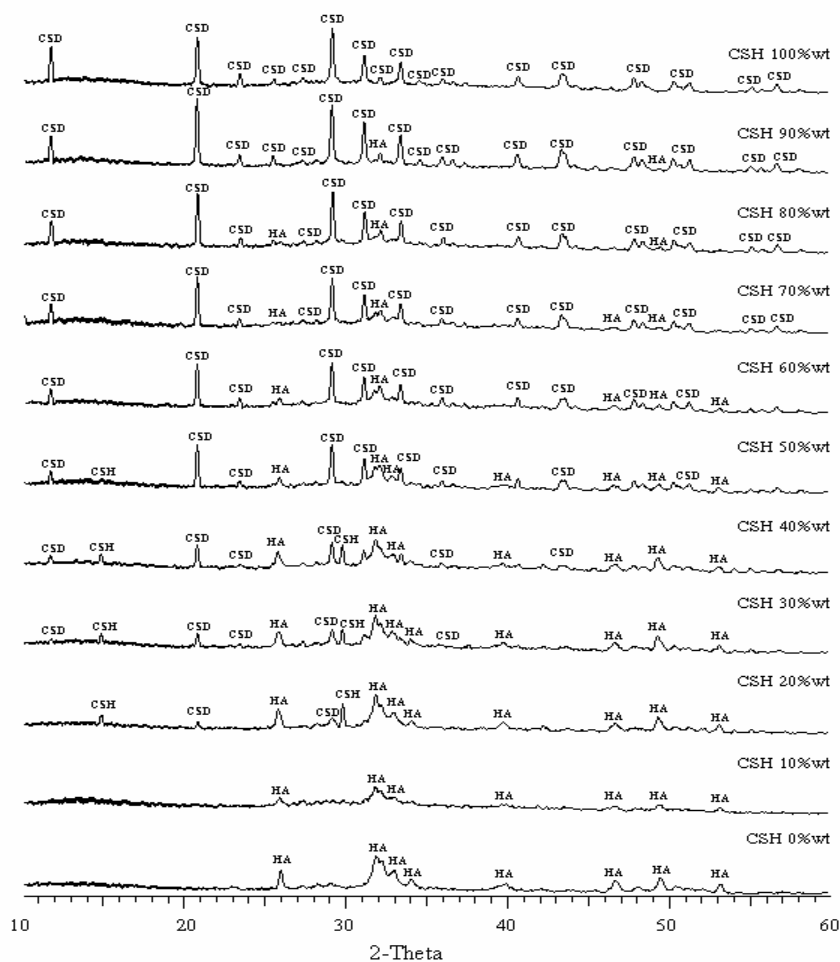


รูป 4.17 ภาพถ่าย SEM ของซีเมนต์ HA และ Calcium sulfate hemihydrate (CSH) โดยมีอัตราส่วนน้ำกลั่นต่อผงแห้งเท่ากับ 0.6 ml/g และเก็บที่สภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน (a) 100 wt% CSH, (b) 20 wt% CSH, (c) 50 wt% CSH, (d) 100 wt% single HA

จากการทดสอบเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ single HA ที่เติม CSH ในอัตราส่วนต่างๆ พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของ CSH มากขึ้น ทำให้เวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ช้าลง และเมื่อเพิ่มปริมาณ CSH มากถึง 80 wt% พบว่าเวลาในการเซตตัวไม่เหมาะสมในการใช้งานทางการแพทย์ จากผลการวิเคราะห์จุลโครงสร้างของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย CSH (ดังรูป 4.17) พบว่าจุลโครงสร้างของ CSD เป็นผลึกรูปเข็มทำให้เพิ่มความแข็งแรงของซีเมนต์ได้ เมื่อเพิ่มปริมาณ CSH ในซีเมนต์ (รูป 4.17 b) พบว่าจุลโครงสร้างมีเนื้อแน่นขึ้น และมีผลึกรูปเข็มของ CSD ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับซีเมนต์ และจากการวิเคราะห์เฟสของซีเมนต์หลังการเซตตัว 1 วัน พบเฟสของ CSH ในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย 10-40wt% CSH และพบเฟสของ calcium sulfate dihydrate ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CSD) ปรากฏขึ้นในซีเมนต์ที่ประกอบด้วย CSH ตั้งแต่ 50 wt% ขึ้นไป (ดังรูป 4.18) และหลังจากบ่มซีเมนต์เป็นเวลา 7 วัน พบว่าซีเมนต์มีความแข็งแรงมากขึ้น เนื่องจากเฟส CSH เกิดเป็นเฟส CSD มากขึ้น (ดังรูป 4.19) ดังนั้นความแข็งแรงของซีเมนต์จึงเพิ่มขึ้นเมื่อ CSH ทำปฏิกิริยากับน้ำและเกิดเป็นเฟส CSD มากขึ้น

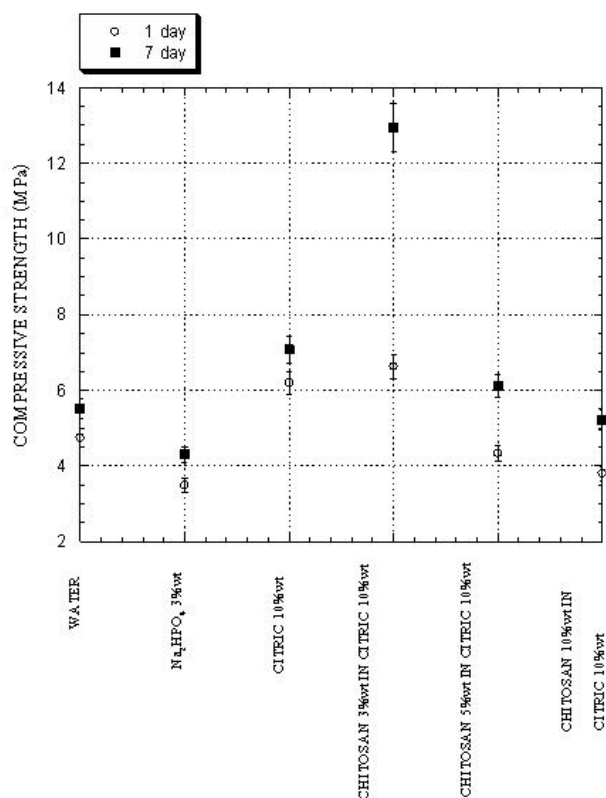


รูป 4.18 XRD patterns ของซีเมนต์ HA และ 0-100 %wt CSH โดยมีอัตราส่วนน้ำก่ลั่นต่อผงแห้งเท่ากับ 0.6 ml/g และเก็บที่สภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 37°C ที่ 1 วัน
(ไม่มีสัญลักษณ์ = HA, $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ = CS, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = CSD)



รูป 4.19 XRD patterns ของซีเมนต์ HA และ 0-100 wt% CSH โดยมีอัตราส่วนน้ำกลั่นต่อผงแห้งเท่ากับ 0.6 ml/g และเก็บที่สภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน

(ไม่มีสัญลักษณ์ = HA, $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ = CS, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = CSD)



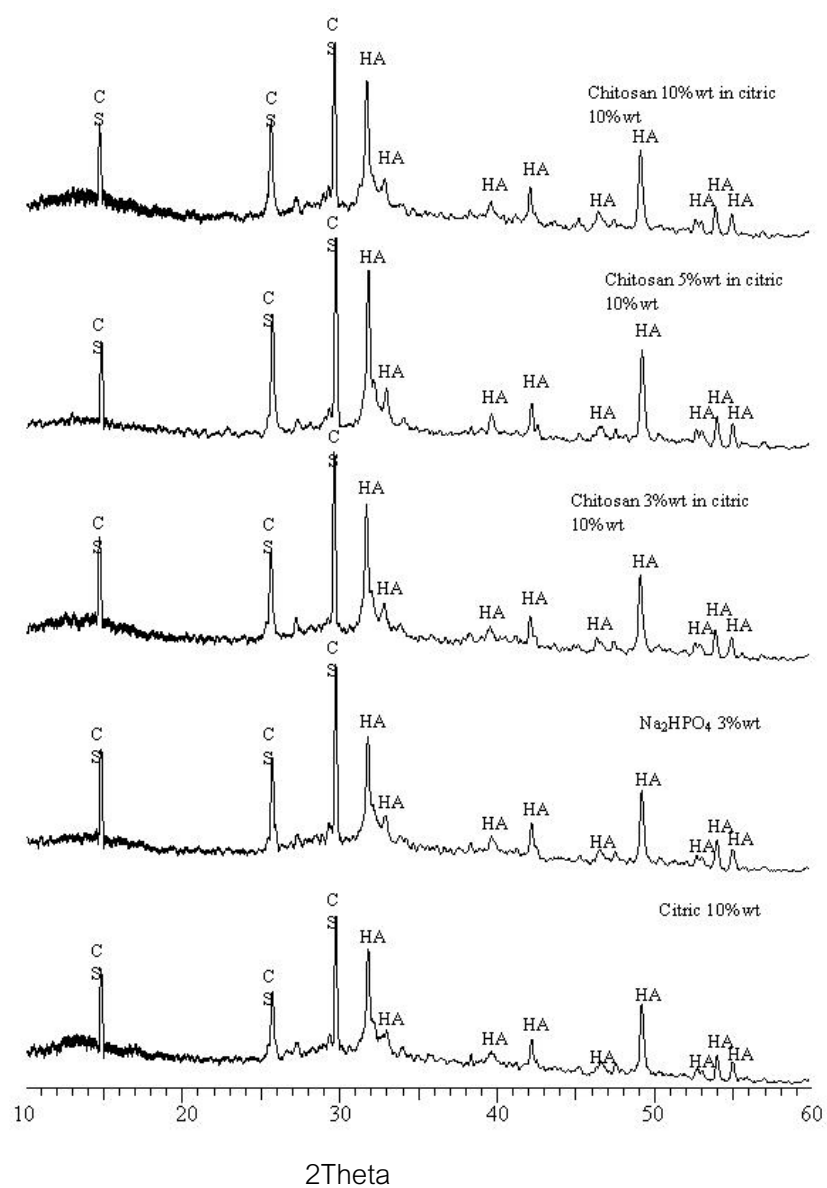
รูปที่ 4.20 ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์(Single HA : CSH = 50:50) ที่ผสมด้วยสารละลายต่าง ๆ และเก็บที่สภาวะอิมมัวด้วยไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 และ 7 วัน
L/P ratio เท่ากับ 0.6 ml/g

ตาราง 4.5 เวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ HA 50 wt % และ CSH 50 wt % เมื่อผสมด้วยสารละลายต่าง ๆ ด้วยอัตราส่วน L/P ratio เท่ากับ 0.6 m/g

สารละลาย	Initial setting time : I (min) ± 30 (sec)	Final setting time : F (min) ± 30 (sec)
water	10.00	35.00
Na ₂ HPO ₄	7.10	30.30
Citric acid 10%wt	10.15	35.00
Chitosan 3%wt in citric 10%wt	6.00	30.00
Chitosan 5%wt in citric 10%wt	5.30	28.00
Chitosan 10%wt in citric 10%wt	3.45	24.00

จากรูปที่ 4.20 พบว่าสารละลายที่ทำให้ค่าความต้านทานแรงกดที่สูงที่สุด คือ สารละลาย ไคโตซาน ความเข้มข้น 3 % w/w ที่ละลายด้วยสารละลายกรดซิตริก เข้มข้น 10 % w/w โดย ซีเมนต์ที่ผสมด้วยสารละลายนี้ให้ค่าความแข็งแรง (Compressive Strength) เท่ากับ 6.63 และ 13MPa ที่ 1 และ 7 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้การผสมซีเมนต์ single HA ด้วยสารละลายอื่นๆ ก็ทำให้ค่าความต้านทานแรงกดของซีเมนต์ไม่แตกต่างจากการผสมด้วยน้ำกลั่น และจากผลการ ทดสอบเวลาในการเซตตัวของซีเมนต์ที่ประกอบด้วย single HA: CSH = 50:50 ผสมด้วย สารละลายต่างๆ พบว่าการผสมซีเมนต์ด้วยปริมาณไคโตซานในกรดซิตริกมากขึ้น จะทำให้ซีเมนต์ เซตตัวเร็วขึ้น (ตาราง 4.5)

จากการวิเคราะห์เฟสของซีเมนต์หลังจากการเซตตัว พบว่า หลังจากซีเมนต์ของทุก ตัวอย่างเซตตัวได้ 1 วัน ยังคงปรากฏเฟสของ CSH (รูป 4.21) และเมื่อเซตตัวได้ 7 วัน ปรากฏเฟส ของ CSD มากขึ้นตามลำดับ (รูป 4.22) จากการทดลองสรุปได้ว่าความต้านทานแรงกดของ ซีเมนต์เพิ่มขึ้นเมื่อผสมสารไคโตซานเพื่อเตรียมเป็นซีเมนต์ประกอบเชิงซ้อน ทำให้ความแข็งแรง ของซีเมนต์เพิ่มขึ้นและเวลาในการเซตตัวเหมาะสมกับใช้ในงานทางการแพทย์ ดังนั้นจากการ ทดลองเบื้องต้น ซีเมนต์ที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้งานทางการแพทย์คือ ซีเมนต์ที่ ประกอบด้วย 50wt%CSH ผสมด้วย 3%w/w chitosan ในสารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 10%w/w ซึ่งมีค่าความต้านทานแรงกดที่ 1 และ 7 วันคือ 6.63 และ 13 MPa ตามลำดับและมีเวลาในการ เซตตัว 6-30 นาที อย่างไรก็ตามค่าความต้านทานแรงกดยังขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของเหลวต่อผง ซีเมนต์แห้งด้วย ในการทดลองต่อไปจะศึกษาผลของอัตราส่วนของเหลวต่อซีเมนต์แห้งต่อสมบัติ ทางกลของซีเมนต์ที่มีส่วนผสมดังกล่าว



รูป 4.21 XRD patterns ของซีเมนต์ (Single HA : CSH = 50:50) ที่ผสมด้วยสารละลายต่าง ๆ และเก็บที่สภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 วัน และ L/P ratio เท่ากับ 0.6 ml/g