



รายงานการวิจัย

โครงสร้างยึดเกาะชนิดแก้วไบโอแอททีฟโดยกระบวนการโซลเจล
สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก
(Bioactive Glass Scaffolds through the Sol-gel Route
for Bone Tissue Engineering)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

โครงสร้างยึดเกาะชนิดแก้วไบโอแอททีฟโดยกระบวนการโซลเจล
สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก
Bioactive Glass Scaffolds through the Sol-gel Route
for Bone Tissue Engineering

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ทับสูงเนิน รัตนจันทร์

สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิธินาถ ศุภกาญจน์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2554-2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เดือนธันวาคม พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยโครงสร้างยึดเกาะชนิดแก้วไบโอแอ็กทีฟโดยกระบวนการโซลเจลสำหรับงาน วิศวกรรม เนื้อเยื่อกระดูก ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจากบุคลากรและหน่วยงานหลายภาคส่วนอันได้แก่

ขอขอบคุณ ดร.นฤกร มนต์มธุรพจน์ และคุณวิฑูรย์ เทพสุวรรณณ์ นักวิจัยจากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ Biomedical Engineering Research Unit ในการให้ความอนุเคราะห์วัสดุโพลีเมตตันแบบและช่วยเหลือในด้านการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการของ Biomaterials Lab.

ขอขอบคุณ นางสาวนวลละออง สระแก้วและนางสาวรติญา เพ็ชรนิล ตลอดจนนักศึกษาในโครงการที่ทุ่มเททำงานวิจัยให้ได้ผลบรรลุตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณ คุณอนุชิต เรืองวิทยานนท์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการการวิเคราะห์ขั้นสูง และเจ้าหน้าที่ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2554-2555 จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

ธันวาคม 2557

บทคัดย่อ

โครงสร้างยึดเกาะแก้วไบโอแอททิฟชนิดอะพาไทต์วอลลาสโตนท์ (Apatite Wollastonite Glass Ceramics, AW-GC) สามารถเตรียมได้โดยกระบวนการโซลเจล และขึ้นรูปโดยการชุบโพลีเมอร์แบบเพื่อใช้เป็นโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับเป็นวัสดุทดแทนกระดูกและวัสดุทางการแพทย์ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการเจือด้วย Zn และ Ag แทนที่ CaO ใน AW-GC ที่ประกอบด้วย $35.46\%SiO_2-49.88\%CaO-7.15\%P_2O_5-7.11\%MgO-0.4\%CaF_2$ (mol%) ด้วยการควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ปริมาณสารเจือ สภาพในการเตรียมเจล สภาพการขึ้นรูป โดยกระบวนการโซลเจลต่อวิฤภาคของแก้วไบโอแอททิฟ จุดโครงสร้างของโครงสร้างยึดเกาะ ความว่องไวทางชีวภาพ และความเป็นพิษต่อเซลล์ จากผลการศึกษาพบว่า การเจือด้วย Zn ในปริมาณ 1, 3 และ 5 mol% ไม่มีผลต่อโครงสร้างรูพรุน แต่อุณหภูมิในการเตรียมเจลเป็นตัวแปรสำคัญในการขึ้นรูปด้วยการชุบโพลีเมอร์ เนื่องจากมีผลต่อความหนืดและความแข็งแรงของโครงสร้างยึดเกาะ จากการวิเคราะห์วิฤภาคของ AW-GC ที่เจือด้วย Zn หรือ Ag จะปรากฏเฟสของ Wollastonite, Hydroxyapatite, Whitlockite และ ZnO หรือ Ag_2O ซึ่งทำให้มีความว่องไวทางชีวภาพดีกว่าแก้ว AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ แต่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้การเจือร่วมของ Zn และ Ag พบเฟสของ Zinc Phosphate ซึ่งทำให้แก้วมีสมบัติด้านความว่องไวทางชีวภาพดีและไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่ทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ การเจือด้วย Zn และ Ag แทนที่ CaO ซึ่งเป็น Glass modifier ในส่วนผสมของแก้วไบโอแอททิฟ จึงส่งผลต่อความแข็งแรงของแก้วเล็กน้อย งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการเตรียมโครงสร้างยึดเกาะชนิด AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn หรือ Ag และเจือร่วมของ Zn และ Ag โดยกระบวนการโซลเจล ที่มีความเหมาะสมในการนำไปเป็นวัสดุทดแทนและวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก

Abstract

Apatite Wollastonite glass ceramic (AW-GC) scaffolds were prepared by the sol-gel process and fabricated by foam dipping for bone substitution and tissue engineering. In this study, the effect of Zn and Ag instead of CaO in 35.46%SiO₂-49.88%CaO-7.15%P₂O₅-7.11%MgO-0.4%CaF₂ (mol%) glass ceramic system on the phase analysis, microstructure, bioactivity and cytotoxicity of scaffolds were investigated. The results found that the Zn concentrations of 1, 3 and 5 mol% doped in AW-GC were not affect significantly to the porosity of scaffolds. Moreover, the temperature of the sol-gel process was an important parameter for the foam dipping fabrication resulting in change of the gel viscosity and mechanical strength of scaffolds. From the phase analysis of Zn and Ag doped AW-GC, it found the phases of Wollastonite, Hydroxyapatite, Whitlockite and ZnO or Ag₂O. Zn and Ag doped AW-GC scaffold showed better bioactivity as compared to undoped AW-GC but it was toxic to cells. Moreover, co-doping of Zn and Ag in AW-GC showed the phase of zinc phosphate which was better for bioactivity and cell proliferation as compared to the undoped one. The substitution of Zn and Ag for CaO as glass modifiers in bioactive glass was no significant effect to the mechanical properties of glass. In this study, Zn or Ag and Zn Ag co-doped AW-GC scaffolds were fabricated successfully by the sol-gel process. This scaffold was a candidate for using as the bone substitution and tissue engineering.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ชนิดของแก้วไบโอแอกทีฟ.....	7
2.2 กระบวนการขึ้นรูปโครงสร้างยึดเกาะที่มีรูพรุนด้วยแก้วไบโอแอกทีฟ...	9
2.3 การเจริญธาตุต่างๆในองค์ประกอบของแก้วไบโอแอกทีฟ.....	10
2.4 การทดสอบโครงสร้างยึดเกาะทางชีวภาพ In vitro.....	12
2.5 การทดสอบโครงสร้างยึดเกาะของแก้วทางชีวภาพ In vivo.....	12

บทที่ 3 การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะแก้วทางชีวภาพชนิดอะพาไทท์วอลลาสโตไนท์ที่เจือด้วยซิงค์	
3.1 บทนำ.....	13
3.2 สารเคมีและขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างแก้วยึดเกาะชนิด AW ที่เจือด้วยซิงค์ (Zn-doped AW glass-ceramic scaffold).....	13
3.3 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของวัสดุ scaffold.....	33
3.4 วิเคราะห์พฤติกรรมทางความร้อนด้วยเทคนิค Differential thermal Analysis (DTA) และ Thermal gravimetric analysis (TGA).....	34
บทที่ 4 การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะ Apatite Wollastonite ที่เจือด้วย Zn และ Ag	
4.1 บทนำ.....	35
4.2 สารเคมีและกระบวนการเตรียม AW scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag.....	35
4.3 ผลการทดลอง.....	49
4.4 สรุปผลการทดลอง.....	65
บทที่ 5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ของโครงสร้างยึดเกาะ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag	
5.1 บทนำ.....	67
5.2 วิธีดำเนินการทดสอบ MTT assay.....	68
5.3 ผลการทดสอบ.....	72
5.4 บทสรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	76
บรรณานุกรม.....	77
ภาคผนวก	

ภาคผนวก ก.....	80
ภาคผนวก ข.....	87
ประวัติผู้วิจัย.....	88



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	7
2.2	9
2.3	11
3.1	13
4.1	35
4.2	36
4.3	38
และ Ag (สำหรับ batch 10 กรัม)	38
4.4	44
4.5	47
5.1	67
5.2	72
5.3	72

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า	
3.1	กราฟอุณหภูมิการเผาตัวอย่างหลังผ่านการชุบเจล AW-GC	15
3.2	แผนผังแสดงขั้นตอนการเตรียม AW-GC scaffold การทดลองตอนที่ 1	16
3.3	แผนผังการเตรียม AW-GC scaffold การทดลองตอนที่ 2	19
3.4	แสดงโฟมที่ผ่านการชุบในการทดลองครั้งที่ 2	20
3.5	แสดงชิ้นงานโฟมที่ชุบสารโซลเจลหลังการอบที่ 37°C 1 วันในการทดลองที่ 2	20
3.6	ชิ้นงานที่ชุบหลังการอบที่ 130°C เป็นเวลา 3 วันในการทดลองที่ 2	21
3.7	ชิ้นงานที่ผ่านการชุบเจล 6 ครั้งและผ่านการอบที่ 37°C เป็นเวลา 1 วัน	22
3.8	ชิ้นงานที่ชุบเจล 6 ครั้ง ผ่านการอบที่ 60°C เป็นเวลา 1 วัน	22
3.9	ชิ้นงานที่ชุบเจล 6 ครั้ง ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 3 วัน	23
3.10	แผนผังการเตรียมเจล 15 กรัมสำหรับ AW-GC scaffold ในการทดลองตอนที่ 4	25
3.11	ชิ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ 37°C เป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	26
3.12	ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol% Zn ผ่านการอบที่ 37°C เป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	27
3.13	ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol% Zn ผ่านการอบที่ 37°C เป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	27
3.14	ชิ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ 60°C เป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	27

3.15	ขึ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol% Zn ผ่านการอบที่ 60°C เป็นเวลา 1 วัน	
	(ก) ผ่านการชุบเจลา AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ขึ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	28
3.16	ขึ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol% Zn ผ่านการอบที่ 60°C เป็นเวลา 1 วัน	
	(ก) ผ่านการชุบเจลา AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ขึ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	28
3.17	ขึ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ 130°C เป็นเวลา 3 วัน	
	(ก) ผ่านการชุบเจลา AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ขึ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	28
3.18	ขึ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol% Zn ผ่านการอบที่ 130°C เป็นเวลา 3 วัน	
	(ก) ผ่านการชุบเจลา AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ขึ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	29
3.19	ขึ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol% Zn ผ่านการอบที่ 130°C เป็นเวลา 3 วัน	
	(ก) ผ่านการชุบเจลา AW จำนวน 5 ครั้ง และ(ข) ขึ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ	29
3.20	ขึ้นงาน AW-GC ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และขึ้นงานหล่อจากเจลา (ขวา)	
	เมื่อผ่านการเผาที่ 900°C	29
3.21	ขึ้นงาน AW-GC เจือ 1 mol% Zn ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และขึ้นงานหล่อจากเจลา (ขวา)	
	เมื่อผ่านการเผาที่ 900°C	30
3.22	ขึ้นงาน AW-GC เจือ 5 mol% Zn ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และขึ้นงานหล่อจากเจลา (ขวา)	
	เมื่อผ่านการเผาที่ 900°C	30
3.23	FT-IR spectra ของ AW-GC และ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn	31
3.24	TGA-DTA ของ AW-GC scaffold	32
3.25	TGA-DTA ของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณ 1 mol%	33
3.26	TGA-DTA ของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณ 5 mol%	33

4.1	แผนภาพการเตรียมสารละลายโพลเจลสำหรับ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag	46
4.2	แสดงชั้นทดลอง AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C	49
4.3	XRD patterns ของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn หรือ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C	50
4.4	XRD patterns ของ AW-GC scaffold ที่เจือร่วมด้วย Zn และ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C	51
4.5	โพลและโครงสร้างของโพลที่ใช้เป็นต้นแบบของ Scaffold	51
4.6	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold รูพรุนเฉลี่ย 370.27±35.86 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	52
4.7	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Zn รูพรุนเฉลี่ย 378.38±136.75 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	52
4.8	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn รูพรุนเฉลี่ย 316.22±51 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	52
4.9	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Ag รูพรุนเฉลี่ย 402.70±43.07 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	53
4.10	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Zn 5mol% Ag รูพรุนเฉลี่ย 300±33.54 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	53
4.11	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn 1 mol% Ag รูพรุนเฉลี่ย 305.4±64.3 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	53
4.12	โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn 5mol% Ag รูพรุนเฉลี่ย 367.57±57.59 μm กำลังขยาย 50 และ 100 เท่า	54
4.13	การเปรียบเทียบขนาดรูพรุนเฉลี่ยของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag	55

4.14	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW scaffold หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	56
4.15	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Zn หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	57
4.16	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	58
4.17	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	59
4.18	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Zn 5 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	60
4.19	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn 1 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	60
4.20	สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือ 5 mol% Zn 5 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37°C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน	61
4.21	ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC scaffold ก่อนแช่ใน SBF (ก) ปราศจากการเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) 3 mol% Zn, (ง) 5 mol% Zn	63
4.22	ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC scaffold หลังแช่ใน SBF เป็นเวลา 1 วัน (ก) ปราศจากการเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) 3 mol% Zn, (ง) 5 mol% Zn	63
4.23	ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC scaffold หลังแช่ใน SBF	

	เป็นเวลา 5 วัน (ก) ปราศจากการเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) 3 mol% Zn,	
	(ง) 5 mol% Zn	64
4.24	ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 ฟิล์มผิวของ AW-GC scaffold หลังแช่ใน SBF	
	เป็นเวลา 7 วัน (ก) ปราศจากการเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) 3 mol% Zn,	
	(ง) 5 mol% Zn	64
5.1	การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบ MTT Assay	70
5.2	การทดสอบ MTT Assay	71
5.3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ HepG2 Cell	71
5.4	อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn, 5Zn และ 1Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay	73
5.5	อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn5Ag, 5Zn1Ag และ 5Zn5Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay	73
5.6	เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตอยู่ของเซลล์ (Cell viability) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn, 5Zn และ 1Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay	75
5.7	เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตอยู่ของเซลล์ (Cell viability) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn5Ag, 5Zn1Ag และ 5Zn5Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay	75

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย

ปัจจุบันความก้าวหน้าทางการแพทย์ทำให้ชีวิตมนุษย์ยืนยาวขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการใช้วัสดุชีวภาพที่ทดแทนหรือซ่อมแซมกระดูก หรือเป็นวัสดุที่ช่วยในการส่งผ่านยาต่างๆ เพื่อใช้ในการรักษาเฉพาะที่ เช่น โรคมะเร็ง หรือยาที่ช่วยในการเสริมสร้างกระดูก รวมทั้งยาที่ต้านทานแบคทีเรีย วัสดุเหล่านี้จึงต้องมีคุณสมบัติพิเศษในการเข้ากับร่างกายมนุษย์ได้ และไม่เป็นพิษ วัสดุเริ่มแรกที่นำมาใช้งานทางด้านการแพทย์จะเป็นวัสดุที่เฉื่อยและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ได้แก่ Titanium, alumina, zirconia อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันพบว่าวัสดุทางชีวภาพควรจะต้องมีความพรุนตัวคล้ายกับกระดูกในธรรมชาติ เพื่อให้เกิดการสร้างและการยึดเกาะของเนื้อเยื่อกระดูกในทางธรรมชาติได้ดี วัสดุประเภทนี้เรียกว่า โครงสร้างยึดเกาะ (scaffolds) ที่มีการออกแบบให้มีโครงสร้างที่มีความพรุนตัว โดยมีขนาดรูพรุนและความพรุนตัวที่ใกล้เคียงหรือคล้ายคลึงกับกระดูกตามธรรมชาติของมนุษย์ โดยสังเคราะห์จากวัสดุที่เข้ากันได้กับร่างกาย ไม่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ และช่วยในการเสริมสร้างการเกิดของกระดูกใหม่ในอนาคตด้วย วัสดุที่นำมาเตรียมเป็น scaffolds มีหลายประเภทได้แก่ เซรามิกหรือ พอลิเมอร์ หรือ วัสดุเชิงประกอบทางชีวภาพที่มีความพรุนตัว ซึ่งจำเป็นต้องมีการจุลโครงสร้างที่เอื้ออำนวยต่อการเกาะและการเติบโตของเซลล์ เซลล์สามารถมีชีวิตและเจริญเติบโต ก่อให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกในอนาคต วัสดุเหล่านี้ได้แก่ organic-inorganic composites, hybrids และ nanocomposites ที่เกิดจากการผสมกันระหว่างสารพอลิเมอร์ที่สามารถละลายตัวได้ในร่างกายและวัสดุเซรามิกในกลุ่มของแคลเซียมฟอสเฟต เช่น Hydroxyapatite, Tricalcium phosphate, Bioactive glasses และ glass-ceramics เพื่อได้ขึ้นงาน scaffolds ที่เหมาะกับการใช้งานในร่างกาย

Bioactive glasses และ glass-ceramics จัดเป็นวัสดุทดแทนกระดูกที่สามารถสร้างการยึดเกาะกับกระดูกธรรมชาติได้ มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการได้แก่

1. มีผิวที่สามารถทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกและเกิดการยึดเกาะได้เร็ว
2. มีอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการอ่อนตัว (softening temperature) ต่ำ ทำให้สามารถช่วยลดอุณหภูมิในการทำให้เกิดการแน่นตัวของวัสดุอื่นๆได้
3. องค์ประกอบทางเคมีสามารถปรับเปลี่ยนได้ง่าย จึงสามารถเลือกใช้งานทางการแพทย์ได้หลากหลาย
4. สามารถควบคุมคุณสมบัติทางเคมีและอัตราการสร้างเนื้อเยื่อได้

ปรกติแล้วในการขึ้นรูปแก้วทางชีวภาพนี้ เหมาะกับการผลิตออกมาเป็นระดับอุตสาหกรรมได้ แต่มีข้อจำกัดในการระเหยของสารประกอบฟอสเฟต (P_2O_5) ที่อุณหภูมิสูง การเตรียมแก้วโดยใช้เทคนิค Sol-gel สามารถแก้ปัญหานี้ได้ นอกจากนี้ยังใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าและได้ส่วนผสมที่มีความสม่ำเสมอกว่าแบบเดิม เทคนิค sol-gel สามารถเติมธาตุอื่นๆเข้าไปในเนื้อแก้ว เช่น แมกนีเซียม ซีเซียม โบรอน สตรอนเตียมและแคลเซียม เพื่อช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติด้านอื่นๆ ได้แก่ ความแข็งแรง สภาพผิว และการต้านทานต่อแบคทีเรีย งานวิจัยที่ผ่านมา มีการศึกษาการเตรียมแก้วชีวภาพโดยการเติมซิงค์ ($(SiO_2-CaO-P_2O_5-ZnO)$) ซึ่งทราบกันดีว่ามีผลต่อการเสริมสร้างกระดูก การเตรียมแก้วชีวภาพที่เติมด้วยสตรอนเตียม (Sr) [1, 2] โดยการขึ้นรูปเป็นโครงสร้างสามมิติด้วยการชุบโฟม (polymer foam replication technique) และเคลือบด้วยเจลาตินเพื่อปรับปรุงสมบัติด้านต่างๆของโครงสร้างยึดเกาะ งานวิจัยที่มีการเตรียมโครงสร้างยึดเกาะที่เจือด้วยคอปเปอร์ (Cu) ที่มีความพรุนตัวระดับ mesoporous และมีรูพรุนขนาดใหญ่หลายร้อยไมครอนที่ต่อเนื่องกัน โดยพบว่า Cu-containing mesoporous bioactive glass (Cu-MBG) scaffolds มีสมบัติทางการแพทย์หลายประการได้แก่ angiogenesis capacity, osteostimulation และ ความต้านทานต่อแบคทีเรีย (antibacterial properties) [3] นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงผลการละลายของแก้วทางชีวภาพชนิดซิลิเกต (silicate bioactive glasses) และ glass-ceramics ที่มีสมบัติทางด้านการสร้างกระดูก (Osteogenesis) และการเกิดหลอดเลือด (angiogenesis) [4]

อย่างไรก็ตามงานวิจัยด้านนี้เป็นที่น่าสนใจและมีการพัฒนาวัสดุชีวภาพ โดยเฉพาะวัสดุไบโอแอททิฟ เพื่อให้มีหน้าที่ สมบัติที่เหมาะสมในการใช้งานทางการแพทย์มากขึ้น ซึ่งงานวิจัยยังไม่แพร่หลายและยังคงต้องการการพัฒนาต่ออย่างต่อเนื่อง งานวิจัยนี้มีความมุ่งหมายในการศึกษาแก้วทางชีวภาพชนิด Apatite/wollastonite glass-ceramics (A/W glass-ceramic) เนื่องจากมีสมบัติทางกลที่ดีกว่าแก้วชีวภาพชนิดอื่นๆ และ A/W glass-ceramic ที่มีการเติมไอออนของธาตุอื่นๆในปริมาณน้อยๆ เช่น ZnO , Ag_2O หรือ MgO โดยวิธีโซล-เจล (sol-gel processing) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้อุณหภูมิต่ำ ราคาถูกและสามารถเตรียม bioactive glass ที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลายได้มาก เพื่อปรับปรุงและการควบคุมสมบัติพื้นผิว รูพรุน องค์ประกอบทางเคมี การสลายตัว ความว่องไวในทางชีวภาพ (Bioactivity) เป็นต้น ในการปรับปรุงความแข็งแรง ความพรุนตัว ลักษณะพื้นผิว สมบัติด้านการสลายตัวหรือการส่งผ่านยา เพื่อให้เหมาะสมกับการใช้งานทางการแพทย์ เช่น scaffolds ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก หรือ วัสดุที่ใช้ในการส่งผ่านยา (Drug delivery)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อได้แก้วทางชีวภาพ (Bioactive glasses) ที่สามารถเตรียมได้ที่อุณหภูมิต่ำ
- 1.2.2 เพื่อได้แก้วทางชีวภาพที่มีความพรุนตัว มีสมบัติในการยึดเกาะกับเซลล์หรือกระดูกได้ดี และเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานทางการแพทย์

- 1.2.3 เพื่อได้รับองค์ความรู้ ในการเตรียม Bioactive glass ที่มีองค์ประกอบทางเคมีหลากหลาย เพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมกับการใช้งานทางการแพทย์
- 1.2.4 เพื่อผลิตบัณฑิต นักวิจัย ที่มีความรู้ความสามารถ เชี่ยวชาญทางด้านวัสดุทางชีวภาพ
- 1.2.5 เพื่อสามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในงานสัมมนาเชิงวิชาการและตีพิมพ์ในวารสารในระดับชาติหรือนานาชาติได้

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ขอบเขตของโครงการวิจัยนี้คือศึกษา ค้นคว้าและทดลองเตรียม Bioactive glasses ที่มีการเติมสารเจือประเภทไอออนของธาตุอื่นๆ เช่น MgO, ZnO, Ag₂O โดยเทคนิค sol-gel ที่สามารถเตรียมได้แก้วที่มีองค์ประกอบทางเคมีสม่ำเสมอและใช้อุณหภูมิต่ำ ในการปรับปรุงสมบัติด้านต่างๆของแก้ว เพื่อเตรียมเป็นแก้วที่มีความพรุนตัวและผิวที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในทางการแพทย์ เช่น scaffolds หรือ drug delivery

1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย

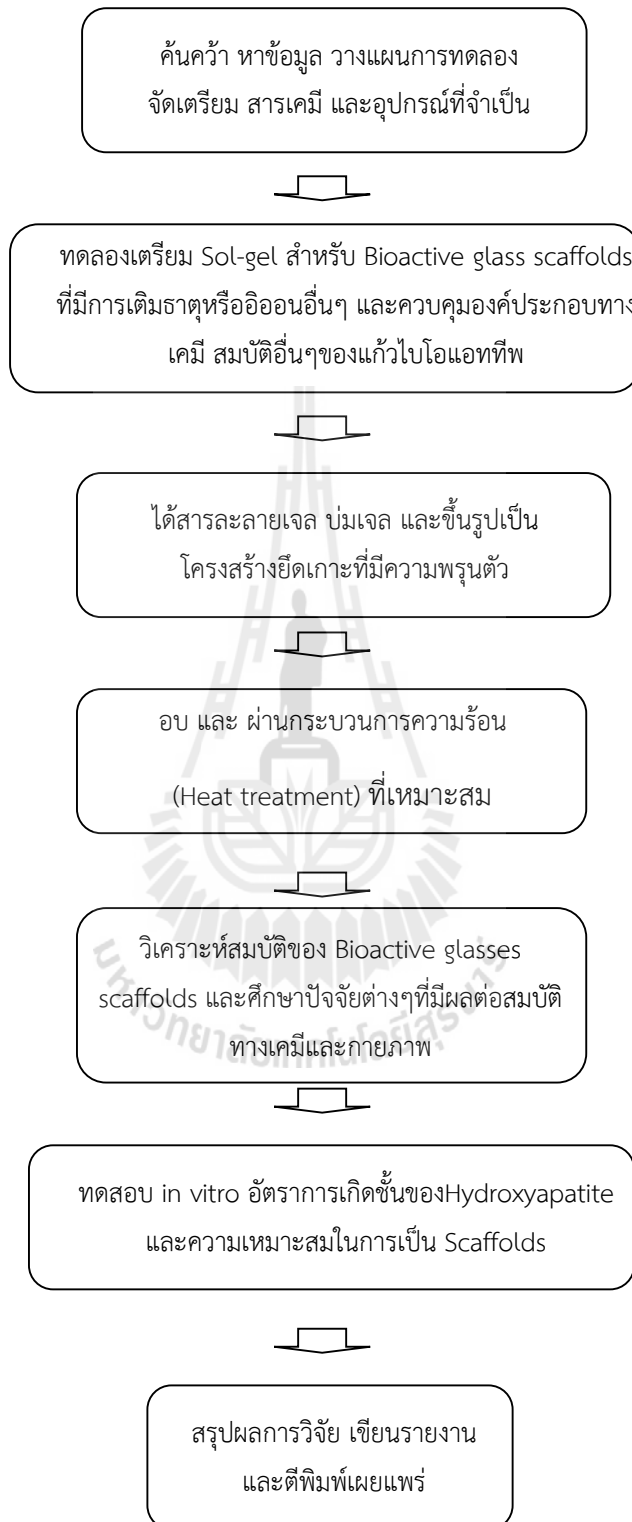
ปีที่ 1

- 1.4.1 ศึกษา ค้นคว้า งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จากบทความ หนังสือ สิทธิบัตร และออกแบบวางแผนการทดลอง
- 1.4.2 จัดหาสารเคมี วัสดุ อุปกรณ์ที่จำเป็น และอุปกรณ์ที่ต้องจัดหาเพิ่ม
- 1.4.3 ดำเนินการศึกษา ทดลองเตรียม bioactive glass ที่มีการเติมธาตุหรือไอออนอื่นๆ โดยเทคนิค sol-gel ได้แก่ ผลของสารตั้งต้น ผลของสารตัวเติม ผลของ pH และอุณหภูมิเป็นต้น

ปีที่ 2

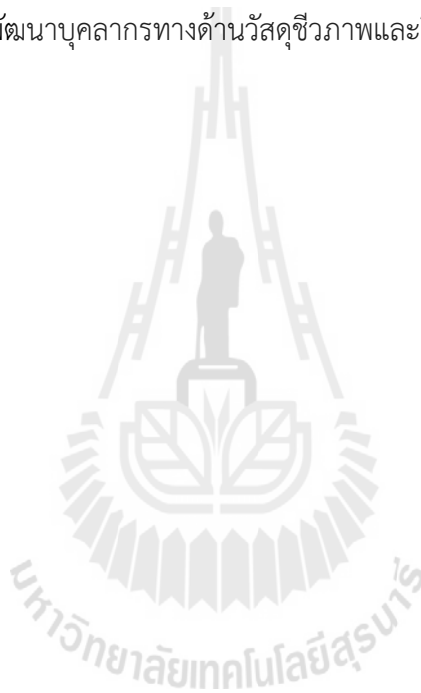
- 1.4.4 ตรวจสอบและวิเคราะห์ สมบัติเฉพาะทางเคมี วิทยาศาสตร์ สภาวะผิวของแก้ว ความพรุนตัว ของ bioactive glass ที่เตรียมได้ พร้อมทั้งปรับปรุงการเตรียม bioactive glass ให้มีสมบัติที่เหมาะสม
- 1.4.5 ทดสอบความเป็นพิษ in vitro และอัตราการเกิดขึ้นของ Hydroxyapatite ที่ผิวของ bioactive glass

แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัยตลอดโครงการ



1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ได้แก่วางชีวภาพที่สามารถเตรียมได้ที่อุณหภูมิต่ำ มีความพรุนตัว มีสมบัติในการยึดเกาะกับเซลล์หรือกระดูกได้ดี และเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานทางการแพทย์ ซึ่งสามารถนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ในอนาคต
- 1.5.2 เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยทางด้านวัสดุทางชีวภาพต่อไป
- 1.5.3 เป็นวัสดุทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อประชากรของประเทศ ผู้ป่วย/บาดเจ็บ และคนสูงอายุ
- 1.5.4 สามารถเผยแพร่วารสาร หรือจดสิทธิบัตรได้
- 1.5.5 ได้นักวิจัยและบัณฑิตเพื่อพัฒนาบุคลากรทางด้านวัสดุชีวภาพและวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก



บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แก้วทางชีวภาพหรือ Bioactive glass เป็นวัสดุที่ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาที่พื้นผิวได้อย่างรวดเร็วเมื่อนำไปฝังในร่างกาย โดยสามารถก่อให้เกิดชั้นของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite, HA) การเกิดชั้นของ HA นี้จะทำให้เกิดการเชื่อมต่อกับเนื้อเยื่อได้ในอนาคต ได้มีการพัฒนาและศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางเพื่อนำไปใช้ในการซ่อมแซมและการเกิดเนื้อเยื่อใหม่ (Tissue regeneration) รวมทั้งการสูญเสียอวัยวะหรือได้รับความเสียหายอันเนื่องมาจากมะเร็ง เชื้อโรค การบาดเจ็บ หรืออายุขัย โดยจากการวิจัยพบว่าแก้วไบโอแอคทีฟสามารถนำมาใช้ในการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อและอวัยวะได้สำเร็จ นอกจากนี้การขึ้นรูปแก้วไบโอแอคทีฟให้มีความพรุนตัวเพื่อใช้เป็นโครงสร้างยึดเกาะของเซลล์ และสามารถก่อให้เกิดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อใหม่ โดยสามารถเร่งให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ได้โดยการใส่ Growth factors หรือโมเลกุลทางชีวภาพอื่นๆที่เหมาะสม ดังนั้นในการออกแบบทางด้านวัสดุให้มีโครงสร้างที่มีความพรุนตัวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งจะช่วยให้เกิดความเหมาะสมต่อเซลล์ในการยึดเกาะ และเกิดการเจริญเติบโตไปเป็นเนื้อเยื่อตามธรรมชาติต่อไป ทางด้านวัสดุศาสตร์นั้นสามารถเตรียมหรือขึ้นรูปวัสดุให้มีรูปร่างหรือโครงสร้างตามต้องการได้ เช่นการขึ้นรูปโดยใช้เทคนิค Electrospinning, solid freeform หรือ rapid prototyping รวมถึงการใช้เทคนิค dry Freezing

โครงสร้างยึดเกาะ (Scaffolds) ที่ดีควรมีสมบัติดังนี้

1. ไม่เป็นพิษ และเข้ากันได้ดีกับร่างกาย ซึ่งเซลล์จะเกาะและเพิ่มจำนวนได้
2. เมื่อนำไปใส่ทดแทนเนื้อเยื่อหรือกระดูก ควรจะมีสมบัติเชิงกลที่ใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อที่กระดูกนั้น
3. มีโครงสร้างที่เป็นรูพรุนสามมิติ รูพรุนที่เชื่อมต่อถึงกัน เพื่อให้เซลล์สามารถเพิ่มจำนวน สารอาหาร และของเหลวสามารถทะลุผ่านได้
4. สามารถสลายตัวได้ในร่างกาย โดยมีอัตราการสลายตัวใกล้เคียงกับอัตราการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ และสารที่สลายตัวไม่เป็นพิษต่อร่างกาย สามารถดูดซึมหรือขับถ่ายออกจากร่างกายได้
5. มีต้นทุนต่ำ สามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์ และขึ้นรูปได้ง่ายเหมาะกับการใช้งานทางแพทย์ นอกจากนี้ควรจะสามารถนำไปฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้ได้โดยไม่เสียสภาพเดิมของวัสดุ

แก้วไบโอแอคทีฟ สามารถแบ่งออกได้เป็น ประเภท ดังนี้

2.1 ชนิดของแก้วไบโอแอคทีฟ

2.1.1 แก้วไบโอแอคทีฟประเภทซิลิเกต (Silicate bioactive glass)

แก้วไบโอแอคทีฟชนิดซิลิเกตได้พัฒนาขึ้นมาเมื่อ 40 ปีก่อน โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า Bioglass® 45S5 โดยมีองค์ประกอบของซิลิกาค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับแก้วซิลิเกตทั่วไป และมีปริมาณ Na_2O และ CaO ค่อนข้างสูง มีสัดส่วนของ $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ สูง ดังแสดงในตารางที่ 2.1 เมื่อ Bioglass® 45S5 สัมผัสกับของเหลวในร่างกายสามารถเกิดขึ้นของผลึก carbonate-substituted hydroxyapatite-like (HCA) บนผิวของแก้วนั้น ผลึกของ HCA นั้นมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับกระดูกตามธรรมชาติ จึงมีแนวโน้มที่จะเชื่อมต่อกับกระดูกหรือเนื้อเยื่อได้ดี [1]

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของแก้วไบโอแอคทีฟชนิดต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมี (wt.%)	45S5	13-93	6P53B	58S	70S30C	13-93B1	13-93B3	P50C35N15
Na_2O	24.5	6.0	10.3	0	0	5.8	5.5	9.3
K_2O	0	12.0	2.8	0	0	11.7	11.1	0
MgO	0	5.0	10.2	0	0	4.9	4.6	0
CaO	24.5	20.0	18	32.6	28.6	19.5	18.5	19.7
SiO_2	45.0	53	52.7	58.2	71.4	34.4	0	0
P_2O_5	6	4.0	6	9.2	0	3.8	3.7	71.0
B_2O_3	0	0	0	0	0	19.9	56.6	0

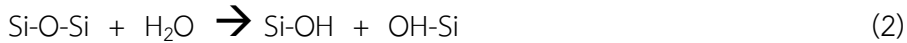
ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อผิวของแก้วไบโอแอคทีฟสัมผัสกับของเหลวในร่างกาย

ขั้นที่ 1 เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง Na^+ , Ca^{2+} ที่ผิวของแก้วกับ H^+ หรือ H_3O^+ ในสารละลาย ทำให้เกิดกลุ่มของ Silanol (Si-OH) บนผิวแก้วขึ้นดังสมการ



ดังนั้นค่า pH ของสารละลายจะสูงขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาของ H^+

ขั้นที่ 2 ค่า pH เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการละลายของซิลิกา และกลายเป็น Silicic acid ($\text{Si}(\text{OH})_2$) ทำให้เกิด Si-OH groups บนผิวแก้ว ดังสมการ



ชั้นที่ 3 เกิดการควบแน่น (Condensation) และต่อกันเป็นสายยาว (Polymerization) ของชั้นซิลิกา (Amorphous SiO₂-rich layer) ที่มีความหนาประมาณ 1-2 ไมครอนบนผิวของแก้ว

ชั้นที่ 4 เกิดการละลายต่อไปและเกิดการเคลื่อนย้ายไอออน Ca²⁺ และ (PO₄)³⁻ ทำให้เกิดชั้นของ แคลเซียมฟอสเฟต (Amorphous Calcium Phosphate (ACP) layer) บนชั้นของซิลิกา

ชั้นที่ 5 เกิดการละลายต่อไป และ ชั้น ACP รวมกับ (OH)⁻ และ (CO₃)²⁻ ในสารละลายทำให้เกิดชั้นของไฮดรอกซีอะปาทิต (HCA)

ดังนั้นเมื่อเกิดชั้นของ HCA จะให้เกิดการเชื่อมต่อนองกระดูก เกิดการเกาะ และการเพิ่มจำนวนของ เซลล์ เกิดการยึดเกาะของเนื้อเยื่อกระดูกและในขณะเดียวกันก็เกิดการสลายตัวของแก้วด้วย แก้ว 45S5 ได้รับความสนใจมากแต่มีข้อเสียคือการขึ้นรูปให้เป็นโครงสร้างรูพรุนทำได้ยาก และมีการสลายตัวช้าทำให้อัตราการสลายตัวของแก้วไม่เหมาะสมกับอัตราการเกิดเนื้อเยื่อกระดูกตามธรรมชาติ ส่วนแก้ว 13-93 มีการขึ้นรูปเป็นโครงสร้างรูพรุนได้ง่ายกว่า แต่ยังมีอัตราการสลายตัวช้ากว่า 45S5

2.1.2 แก้วไบโอแอคทีฟประเภทแก้วโบเรท (Borate Bioactive Glass)

จากตารางที่ 1 แก้วโบเรทจะมีความว่องไวทางชีวภาพดีกว่าแก้วซิลิเกต โดยสามารถสลายตัวได้ดีกว่าแก้วซิลิเกต จึงทำให้เกิดชั้น HCA ได้เร็วกว่า แต่จากการวิจัยพบว่าแก้วโบเรทมีความเป็นพิษ เมื่อเกิดการสลายตัว จากการนำไปทดสอบกับเซลล์ MLO-A5 osteogenic cells ใน in vitro พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่จากการทดสอบโดยการฝังในขาของหนูพบว่าไม่เป็นพิษ โดยปริมาณความเข้มข้นของโบรอนในเลือดอยู่ในระดับที่ต่ำ ดังนั้นจึงได้มีการวิจัยโดยการแทนที่ SiO₂ ด้วย B₂O₃ ในแก้วซิลิเกตเพื่อควบคุมอัตราการสลายตัวและระดับของความเป็นพิษต่อเซลล์และในสิ่งมีชีวิต

2.1.3 แก้วไบโอแอคทีฟประเภทแก้วฟอสเฟต (Phosphate Bioactive Glass)

แก้วประเภทนี้มีออกไซด์ของโครงสร้างแก้วเป็น P₂O₅ และมี CaO, Na₂O เป็นออกไซด์ที่ปรับปรุงโครงสร้างแก้ว ดังแสดงองค์ประกอบทางเคมีในตารางที่ 1 แก้วประเภทนี้มีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายกับกระดูกตามธรรมชาติ ดังนั้นการสลายตัวของแก้วจึงสามารถควบคุมได้ด้วยการปรับเปลี่ยนองค์ประกอบทางเคมี และจัดเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่สามารถสลายตัวได้ดี

2.2 กระบวนการขึ้นรูปโครงสร้างยึดเกาะที่มีรูพรุนด้วยแก้วไบโอแอคทีฟ (Bioactive glass scaffolds for bone regeneration)

2.2.1 กระบวนการหลอม (Melt-derived bioactive glass scaffolds)

ตารางที่ 2.2 ได้รวบรวมกระบวนการขึ้นรูปโครงสร้างยึดเกาะที่มีความพรุนตัว รวมทั้งสมบัติเฉพาะของโครงสร้างที่ได้

ตาราง 2.2 เปรียบเทียบกระบวนการเตรียมและลักษณะเฉพาะของ Scaffold

กระบวนการ	ชนิดแก้ว	ความพรุนตัว (%)	ขนาดรูพรุน (ไมครอน)	ความแข็งแรง (MPa)	อ้างอิง
Thermal bonding of particles	13-93	40-45	100-300	22±1	[2]
Thermal bonding of short fibers	13-93	45-50	>100	5	[3]
Polymer foam replication	45S5	89-92	510-720	0.4±0.1	[4]
	13-93	75-85	100-500	11±1	[5]
	13-93B3	80-85	100-500	5±0.5	[6]
Sol-gel foam	70S30C	82	500	2.4	[7]
Unidirectional freezing of suspensions	13-93	53-57	90-110	25±3	[8]
	13-93	50-55	60-120	27±8	[9]
Solid freeform fabrication					
-Selective laser sintering	13-93	58-60	700-1000	15±1	[10]
-Freeze extrusion fabrication	13-93	50	300	140±70	
-Robocasting	6P53B	60	500	136±22	

ในการเตรียมวัสดุโดยใช้เทคนิค sol-gel ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก (Wen Jin, 2002) เนื่องจากสามารถเตรียมวัสดุที่เก็บกักโปรตีน เอนไซม์ และสารแอนติบอดีได้ โดยการผสมชีวโมเลกุลและสารอินทรีย์ สารอินทรีย์หรือสารประกอบเชิงซ้อนไฮบริดนาโน (hybrid nanocomposites) โดยที่ชีวโมเลกุลไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือเสียหายไป ทำให้วัสดุทางชีวภาพนี้มีสมบัติที่เหมาะสมและนำไปใช้งานทางการแพทย์ที่หลากหลาย เทคนิค sol-gel ยังสามารถพัฒนาไปเพื่อการเคลือบผิวสำหรับงานทางไฟฟ้าเคมีเพื่อใช้เป็นตัวตรวจจับทางชีวภาพ (electrochemical biosensors) ได้ ซึ่งเทคนิคนี้จำเป็นต้องเลือกสารตั้งต้นและสารตัวเติมที่เหมาะสมเพื่อการออกแบบวัสดุให้เหมาะสมกับการใช้งานทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น ใช้ในการส่งผ่านยาต้านมะเร็ง ด้านเชื้อแบคทีเรีย หรือเป็น scaffolds เป็นต้น โดยขั้นตอนในการใส่ชีวโมเลกุลลงในวัสดุ โดยผ่านกระบวนการ sol-gel ทำได้โดย สารตั้งต้นและสารตัวเติมในรูปของสารละลาย จะต้องเข้ากันได้กับชีวโมเลกุลและไม่ทำให้สารชีวโมเลกุลเสียหาย ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันต้องเกิดใน pH ที่

เหมาะสม ซึ่งกระบวนการต้องเกิดในสภาวะที่หรือใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง เพื่อรักษาสภาพของชีวโมเลกุล วัสดุจะต้องมีขนาดของรูพรุนที่เหมาะสมในการให้ชีวโมเลกุลผ่านได้ นอกจากนี้ในกรณีที่จะพัฒนาวัสดุเพื่อเป็นตัวตรวจจับทางชีวภาพนั้น วัสดุควรจะมีโปร่งแสงหรือนำไฟฟ้าได้เพื่อทำการตรวจวัดโดย spectroscopic หรือ electrochemical ได้

งานวิจัยของ Balamurugan A. และคณะ (2008) ได้เตรียม bioglass ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$) ที่มีการเติมซิลเวอร์ ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Ag}_2\text{O}$) โดยวิธี sol-gel เพื่อให้แก้วสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งพบว่าการเติม silver เข้าไปในเจลแก้วนี้ ทำให้เกิดเป็นแก้วที่มีความพรุนตัวซึ่งสามารถส่งผ่านยาและต้านเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเหมาะกับการใช้งานทางทันตกรรมที่มีการติดเชื่อได้ง่าย

งานวิจัยของ Jenny Andersson และคณะ (2005) ได้ศึกษาสารประกอบเชิงซ้อนของ silica/apatite โดยเทคนิค sol-gel ที่มีความสามารถในการสลายตัวในร่างกายได้และมีความพรุนตัว วัสดุไฮบริดนี้ช่วยเร่งการเกิดของแคลเซียมฟอสเฟตภายในสภาวะการทดลอง in vitro และมีประสิทธิภาพดีในการส่งผ่านยาได้

งานวิจัยของ Anbalagan B. และคณะ (2007) ได้เตรียม $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-ZnO}$ bioglass โดยเทคนิค sol-gel ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์กระตุ้นของ Osteoblasts cell ได้ดี

งานวิจัยของ Xudong Li. และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลของ pH ต่อสมบัติของผิวและการการละลายของ phosphate bioglass-ceramics ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-SrO-ZnO}$) โดยเทคนิค sol-gel ซึ่งพบว่าการแช่ในสารละลายที่ pH ต่างๆ มีผลต่อสมบัติที่ผิวและวัฏภาคของสารบนแก้ว bioactive glass-ceramic และพบว่าผิวที่ขรุขระจะทำให้เกิดชั้นใหม่ และก่อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์และกระดูกได้ดี

2.3 การเจือธาตุต่างๆ ในองค์ประกอบของแก้วไบโอแอพาทิต

เนื่องจากกลไกการสร้างกระดูกในร่างกายมนุษย์มีความเกี่ยวข้องกับธาตุหรือไอออน เช่น Ca, P, Si, Sr, Zn, B, V, Co และ Mg จึงได้มีการค้นคว้าการนำธาตุหรือไอออนเหล่านี้มาเจือลงในวัสดุทางชีวภาพเพื่อศึกษาผลของการละลายไอออนหรือธาตุต่อ angiogenesis, growth และ mineralization ของเนื้อเยื่อกระดูก ตารางที่ 3 รวบรวมการตอบสนองทางชีวภาพต่อไอออนต่างๆ

แคลเซียม (Ca) เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการสร้างเสริมกระดูก ซึ่งมีผลต่อ Osteoblastic cells ในการทดสอบใน in vitro โดย Maeno และคณะ [11] พบว่าแคลเซียมในปริมาณ 2-4 mmol และ 6-8 mmol จะมีความเหมาะสมต่อ osteoblast proliferation, differentiation and extracellular matrix (ECM)

mineralization ในขณะที่หากมีปริมาณ มากกว่า 10 mmol จะก่อให้เกิดความเป็นพิษ นอกจากนี้แคลเซียมยังเป็น Ca-sensing receptor ต่อ osteoblastic cells

ตาราง 2.3 การเจือธาตุต่างๆในแก้วไบโอแอททีฟที่ส่งผลต่อการตอบสนองทางชีวภาพ [12]

ชนิดของไอออน	การตอบสนองทางชีวภาพใน in vitro และ in vivo
Si	<ul style="list-style-type: none"> - จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอริซึม การเกิดเนื้อเยื่อกระดูก - เพิ่ม Bone mineral density (BMD) - ช่วยให้เกิด HA - Si(OH)_4 กระตุ้นให้เกิด collagen I and osteoblastic differentiation
Ca	<ul style="list-style-type: none"> - ส่งเสริม Osteoblast proliferation, differentiation and extracellular matrix mineralization - กระตุ้น Ca-sensing receptor ใน osteoblast cells และเพิ่ม growth factor IGF-I or IGF-II
P	<ul style="list-style-type: none"> - กระตุ้น expression of matrix la protein (MGP) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการสร้างกระดูก
Zn	<ul style="list-style-type: none"> - มีผลต่อต้านการอักเสบและกระตุ้นการสร้างกระดูกใน In vivo โดยกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนใน osteoblast - เพิ่มการทำงานของ ATPase activity, regulates transcription of osteoblastic differentiation genes e.g. collagen I, ALP, osteopontin and osteocalcin.
Mg	<ul style="list-style-type: none"> - กระตุ้นการสร้างกระดูกใหม่ - เพิ่มการยึดเกาะของเซลล์กระดูก
Sr	<ul style="list-style-type: none"> - ส่งผลดีต่อเซลล์กระดูกและการเกิดกระดูกใหม่ใน in vivo
Cu	<ul style="list-style-type: none"> - สนับสนุนในการทำงานร่วมกันในการสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) ด้วยการทำงานร่วมกับ angiogenic growth factor FGF-2
B	<ul style="list-style-type: none"> - กระตุ้นการสังเคราะห์ RNA ใน fibroblast cells - ควบคุมกระบวนการเกิดกระดูกใหม่

2.4 การทดสอบโครงสร้างยึดเกาะของแก้วทางชีวภาพ In vitro

สมบัติทางชีวภาพในการทดสอบ In vitro ได้แก่ อัตราการสลายตัวของแก้ว (degradation rate) การเปลี่ยนเป็นสารไฮดรอกซีอะพาไทต์, การตอบสนองทางกลและการตอบสนองต่อเซลล์ ซึ่งสมบัติเหล่านี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของแก้วและโครงสร้างของวัสดุยึดเกาะ สมบัติด้านการสลายตัวของแก้วสามารถทดสอบได้ด้วยการนำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบมาแช่ในสารละลายของเหลวที่คล้ายของเหลวในร่างกายมนุษย์ (SBF) ที่อุณหภูมิ 37°C และนำมาชั่งน้ำหนักที่หายไปเป็นฟังก์ชันกับเวลาที่แช่ การสลายตัวของแก้วทางชีวภาพขึ้นอยู่กับ การละลายของไอออน เช่น Na^+ , $(\text{BO}_3)^{3-}$ และ $\text{Si}(\text{OH})_4$ ที่มีอยู่ในองค์ประกอบของแก้วนั้นๆ ดังนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย SBF

2.5 การทดสอบโครงสร้างยึดเกาะของแก้วทางชีวภาพ In vivo

Chidambaram และคณะ (ปี 2014) ได้ศึกษาการนำส่งยาด้วย bioactive glass ที่มีความพรุนตัวด้วยโครงสร้างรูพรุน โดยการใช้แก้วที่มีองค์ประกอบ $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-ZnO}$, $\text{CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ ผลการทดลองพบว่า bioactive glass ด้วยความพรุนตัว 63-66% และขนาดรูพรุน 5-50 μm สามารถส่งผ่านยาได้ 43 วัน

Hui-Suk Yun และคณะ (ปี 2011) ได้เตรียม Bioactive glass ที่มีความพรุนตัวสูงโดยกระบวนการ polymer templating โดยได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างความพรุนตัวและความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) โดยใช้ MC3T3-E1 pre-osteoblast cells และการศึกษา in vivo ในกระต่ายเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หลังจาก implantation พบว่า bioactive glass ball จะมีรูพรุนในระดับนาโนถึงไมครอน จะส่งผลต่อการเกาะได้ดีทั้งในการทดสอบ in vitro และ in vivo และพบว่าไม่มีความเป็นพิษ แต่พบว่าหากมีรูพรุนที่มีขนาดใหญ่หลายไมครอน จะส่งผลต่ออัตราการสลายตัว และทำให้ผล in vitro และ in vivo ไม่ดี ดังนั้นโครงสร้างรูพรุนจึงมีอิทธิพลต่อความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

บทที่ 3

การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะแก้วทางชีวภาพชนิดอะพาไทต์ วอลลาสโตไนท์ ที่เจือด้วยซิงค์

(Preparation of ZnO-doped Apatite Wollastonite Glass-Ceramic (AW-GC) Scaffolds)

3.1 บทนำ

ในบทนี้จะกล่าวถึงกระบวนการในการเตรียมโครงสร้างยึดเกาะของแก้วทางชีวภาพชนิดอะพาไทต์ วอลลาสโตไนท์ที่เจือด้วยซิงค์ โดยกระบวนการโซลเจล พร้อมทั้งวิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางเคมีของโครงสร้างยึดเกาะเพื่อปรับปรุงกระบวนการเตรียมโครงสร้างยึดเกาะต่อไป

3.2 สารเคมีและขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างแก้วยึดเกาะชนิด AW-GC ที่เจือด้วยซิงค์ (Zn-doped AW glass-ceramic scaffold)

ตาราง 3.1 สารเคมีที่ใช้การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะทางชีวภาพชนิด AW-GC ที่เจือด้วยซิงค์

ลำดับ	ชื่อทั่วไป	สูตรทางเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1	Magnesium nitrate (MN)	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Ajax Finechem
2	Calcium nitrate tetrahydrate (CN)	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	Ajax Finechem
3	Methanol	CH_3OH	Merck KGaA
4	Tetraethyl orthosilicate (TEOS)	$Si(OC_2H_5)_4$	Aldrich
5	Calcium fluoride	CaF_2	CARLO ERBA REAGENTI
6	Orthophosphoric acid	H_3PO_4	Ajax Finechem
7	Hydrochloric acid (37%)	HCl	Merck KGaA
8	Deionized water (DI)	H_2O	-
9	Zinc nitrate	$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Ajax Finechem

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ปีกเกอร์ (beaker)

2. ช้อนตักสาร (spatula)
3. เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. Oven
5. Electrical furnace
6. โฟม (Polyethylene foam)
7. Dropper
8. Pipette

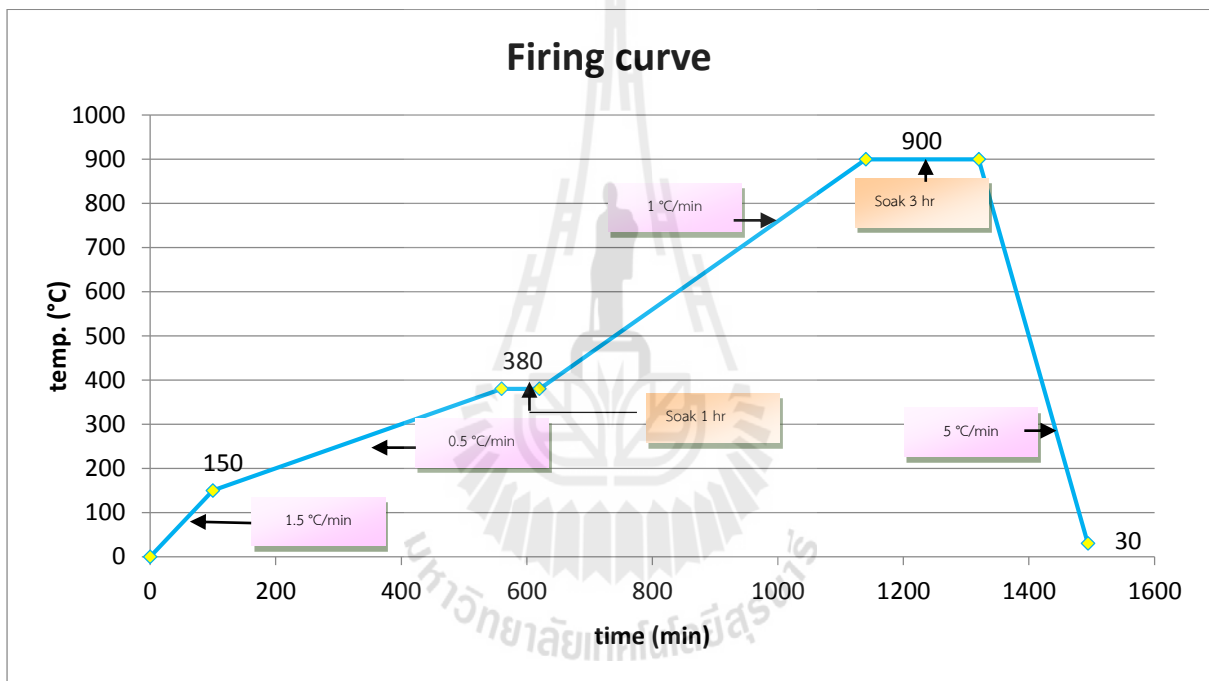
การทดลองที่ 1 การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ (Undope สำหรับ batch 10 กรัม)

1. เตรียมสารละลาย Ionic ดังนี้ เตรียม Calcium Nitrate Tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 18.8143 กรัม ละลายในน้ำ DI 12.5 มิลลิลิตร และ Magnesium Nitrate Hexahydrate ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 2.9118 กรัม ละลายในน้ำ DI 2.9 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ตามลำดับ แล้วผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกันด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ด้วยอัตราการคนคงที่ (Speed 2) เป็นเวลา 20 นาที โดยการค่อยๆหยด Magnesium Nitrate Hexahydrate ลงใน Calcium Nitrate Tetrahydrate
2. การเตรียมสาร Organic ดังนี้ เตรียม Methanol 6 มิลลิลิตร กับ Tetraethyl orthosilicate (TEOS) 12.9 มิลลิลิตร ผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกันด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ด้วยอัตราการคนคงที่ (speed 3) เป็นเวลา 20 นาที
3. จากนั้น เติม CaF_2 0.0498 กรัม ลงในสาร Organic ข้อ 2 โดยค่อยๆหยดผสมกัน จากนั้นก็ใช้เวลาในการคนสารอีก 20 นาทีบน Magnetic stirrer
4. นำสารข้อ 1 เติมลงในบีกเกอร์ของสาร Organic (ข้อ 2) โดยค่อยๆหยดและคนสารอย่างต่อเนื่อง ในอัตราการคน speed 2 ใช้เวลา 20 นาที
5. ค่อยๆ เติม H_3PO_4 ปริมาณ 1.6 มิลลิลิตร คนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 20 นาที

6. แล้วค่อยๆ เติม HCl ปริมาณ 2 มิลลิลิตร คนสารอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปที่ 35 °C, 45°C และ 60°C โดยในการขึ้นอุณหภูมิจะคนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน step ละ 20 นาที

7. ทิ้งไว้ให้สารเย็นลงแล้วค่อยๆ นำโฟมที่เตรียมไว้ลงชุบ ในการชุบแต่ละครั้งจะทิ้งให้โฟมแห้งเป็นเวลา 10 นาทีจึงนำกลับมาชุบใหม่ ทำการชุบทั้งหมด 6 ครั้ง

8. นำชิ้นงานหลังจากชุบครบ 6 ครั้ง ไปอบที่อุณหภูมิ 37 , 60 และ 130 °C เป็นเวลา 1, 1 และ 3 วัน ตามลำดับ จากนั้นก็นำชิ้นงานไปเผาที่อุณหภูมิ 900°C โดยมีกราฟการเผาดังรูป 3.1



รูปที่ 3.1 กราฟอุณหภูมิการเผาตัวอย่างหลังผ่านการชุบเจล AW-GC

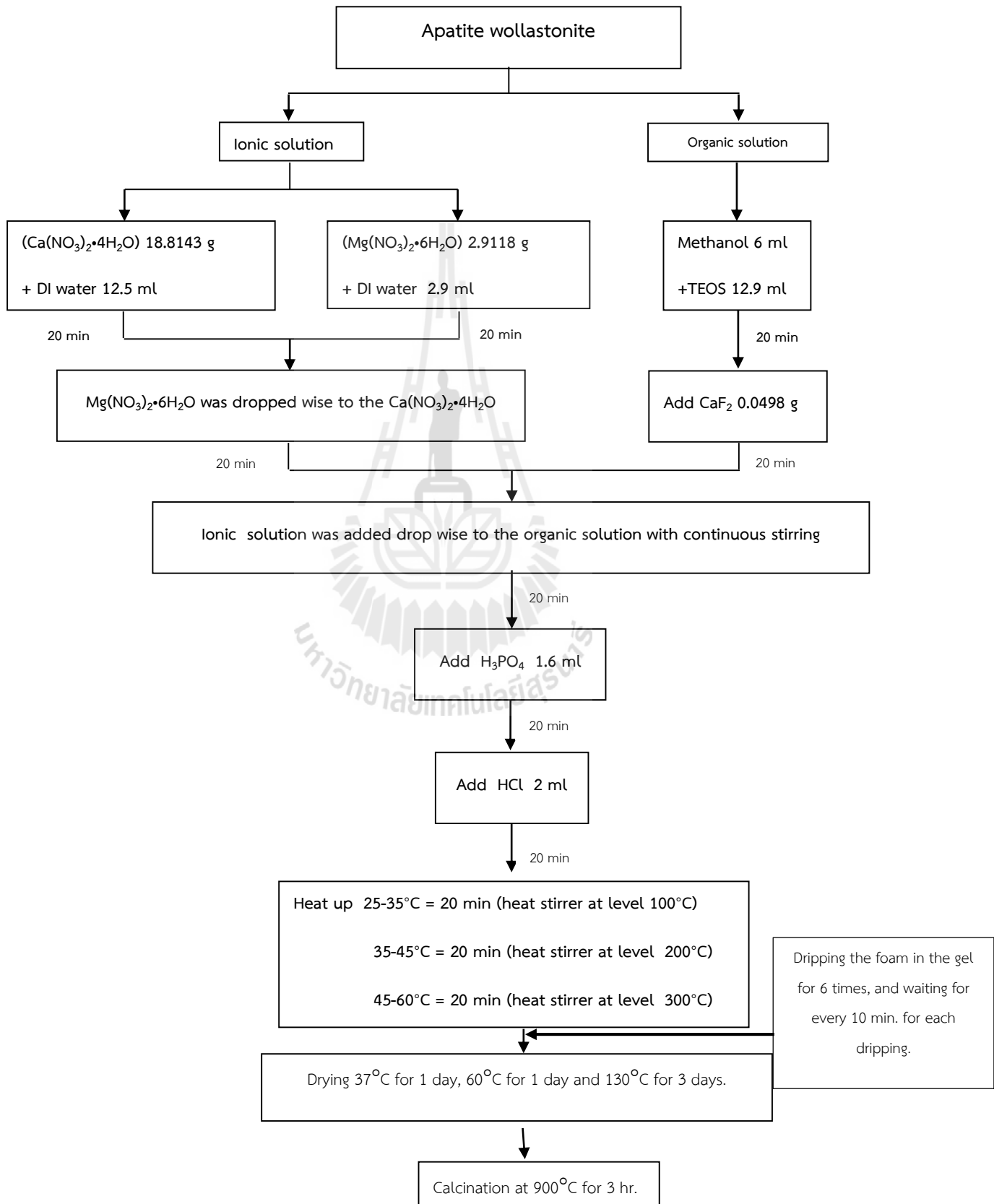
จากรูปที่ 3.1 สามารถอธิบายช่วงการเผาได้ดังต่อไปนี้

ช่วงที่ 1 ที่อุณหภูมิเริ่มจากอุณหภูมิห้องถึง 150°C เผาเพื่อไล่ solvent ออกจากชิ้นงาน AW โดยใช้ rate 1.5°C / min

ช่วงที่ 2 ที่อุณหภูมิ 150- 380 °C เผาเพื่อไล่โฟมที่ใช้ชุบ AW ออก ซึ่งจะทำให้เกิดรูพรุนขึ้น โดยใช้ rate 0.5°C / min และเผาแช่ที่ 380°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ช่วงที่ 3 ที่อุณหภูมิ 380-900 °C เผาเพื่อไล่คาร์บอน (C) ออกจากชิ้นงาน AW โดยใช้ rate 1°C / min และเผาแช่ที่ 900°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ขั้นตอนการเตรียมโครงสร้างยึดเกาะ AW ที่ปราศจากสารเจือ แสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการเตรียม AW-GC scaffold การทดลองตอนที่ 1

ผลการทดลองครั้งที่ 1

จากการเตรียมสารข้างต้น ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิขณะเตรียมสาร พบว่า ขณะคนสารเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปที่ 35 °C เนื้อสารยังคงเป็นของเหลวที่ไม่มีความหนืด เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 35 °C ไปที่ 45 °C เนื้อสารเริ่มมีความหนืดขึ้นไปจนถึงหนืดคล้ายน้ำเชื่อม และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 45 °C ไปจนถึง 60 °C ซึ่งยังคนสารไม่ถึง 20 นาที เนื้อสารก็เกิดเป็นเจลเสมือนวุ้น ซึ่งลองนำโฟมที่เตรียมไว้มาชุป พบว่าโฟมไม่คืนรูปทรงเดิม และยังมีเนื้อสารเคลือบอยู่ตามขอบและด้านของเนื้อโฟมด้วย ดังนั้นจึงได้เอาเจลนั้นไปหล่อเป็นแท่งโดยใช้ท่อสายยางเป็นแบบ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.57 cm และสูง 1.2 cm จากนั้นนำไปอบและเผา พบว่าชิ้นทดลองมีการหดตัวและมีรูพรุนอยู่ภายในเนื่องจากเจลมีความหนืดสูงเมื่อนำไปเทลงแบบ ทำให้มีฟองอากาศที่เก็บกักอยู่ภายใน

การทดลองที่ 2 (Undope ปริมาณ batch 10 กรัม ลดอุณหภูมิในการเตรียมเจลลงที่ 45 °C)

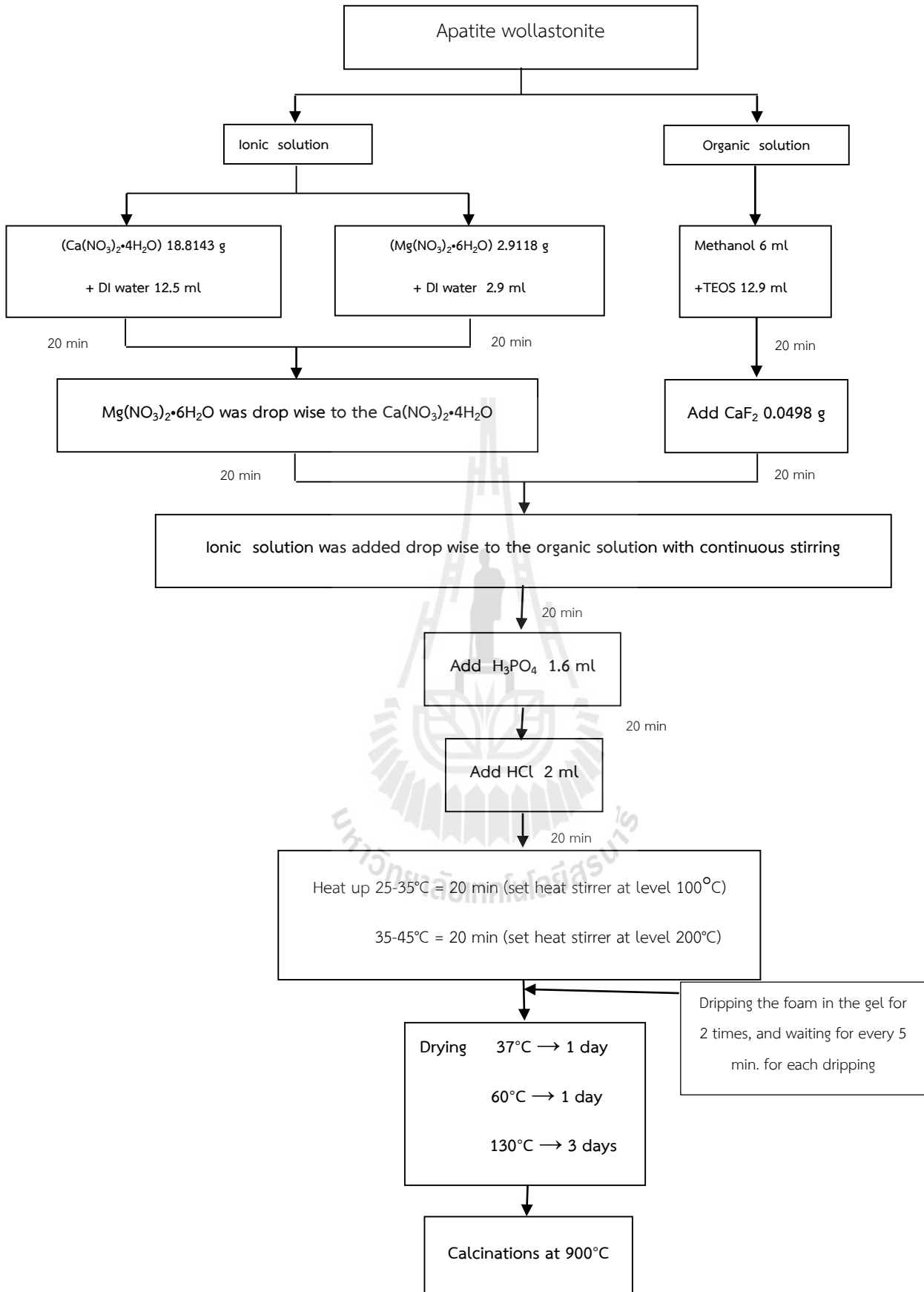
เนื่องจากการทดลองเตรียมเจลในการทดลองตอนที่ 1 พบว่าเจลมีความหนืดสูงและแข็งตัวเร็ว จึงทำให้ไม่สามารถชุบโฟมได้ดี จึงลดอุณหภูมิในการเตรียมเจลลงที่ 45 °C

1. เตรียมสารละลาย Ionic จากการเตรียมสารละลาย Calcium Nitrate Tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 18.8143 กรัมในน้ำ DI 12.5 มิลลิลิตร และ Magnesium Nitrate Hexahydrate ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 2.9118 กรัมในน้ำ DI 2.9 ml ในบีกเกอร์ตามลำดับ โดยการค่อยๆเติมสารละลาย Magnesium Nitrate Hexahydrate ลงในสารละลาย Calcium Nitrate Tetrahydrate ใช้ speed 2 ในการคนสาร Ionic เป็นเวลา 20 นาที
2. การเตรียมสาร Organic ได้จากการเตรียมสารละลายผสมระหว่าง Methanol 6 มิลลิลิตร กับ Tetraethyl orthosilicate (TEOS) 12.9 มิลลิลิตร ใช้ speed 3 ในการคนสาร Organic โดยใช้เวลา 20 นาทีจนสารละลายเข้ากันดี
3. เติม CaF_2 0.0498 กรัม ลงในสาร Organic โดยค่อยๆหยดผสมกัน จากนั้นก็ใช้เวลาในการคนสารอีก 20 นาทีบน Magnetic stirrer
4. นำสาร Ionic (สารข้อ 1) ที่ได้ค่อยๆหยดลงในบีกเกอร์ของสาร Organic (สารข้อ 2) โดยใช้ speed 2 ในการคนสาร 20 นาที
5. เติม H_3PO_4 1.6 มิลลิลิตร คนสาร 20 นาที

6. แล้วเติม HCl 2 มิลลิลิตร คนสารอีก 20 นาที จากนั้นค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปที่ 35 °C โดยใช้เวลาคนสาร 20 นาที และจาก 35°C ไปที่ 45°C คนสาร 20 นาที

7. รอให้สารเย็นลงแล้วค่อยนำโพลีที่เตรียมไว้ลงชุบ ทำการชุบทั้งหมด 1 และ 2 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 5 นาที ในการชุบแต่ละครั้ง จากนั้นก็นำชิ้นงานที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 37 , 60 และ 130 °C เป็นเวลา 1, 1 และ 2-3 วัน ตามลำดับ จนชิ้นตัวอย่างแห้งสนิท จากนั้นก็นำชิ้นงานไปเผาที่อุณหภูมิ 900°C โดยมีกราฟการเผาเหมือนกับการทดลองตอนที่ 1 ดังแสดงในรูปที่ 3.3





รูปที่ 3.3 แผนผังการเตรียม AW-GC scaffold การทดลองตอนที่ 2

ผลการทดลองครั้งที่ 2

เนื่องจากการทดลองที่ 1 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิถึง 60 °C เนื้อสารได้เกิดเป็นเจลเหมือนวุ้น ซึ่งไม่สามารถชุปชิ้นงานได้ จึงลดอุณหภูมิลงที่ 35-45 °C เพื่อให้สามารถนำโพลลงไปชุปกับเนื้อสารได้ เมื่อให้อุณหภูมิกับเนื้อสารถึง 45 °C จากนั้นนำสารออกจาก stirrer รอให้สารเย็นลง โดยการชุปโพลครั้งนี้ ทำการชุปชิ้นงาน 1 และ 2 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 5 นาทีในแต่ละรอบของการชุป ซึ่งเนื้อสารเริ่มเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมงตั้งแต่เริ่มชุปชิ้นงานรอบแรก จากนั้นนำชิ้นงานไปอบที่ 37 , 60 และ 130 °C เป็นเวลา 1 , 1 และ 2-3 วัน ดังรูป 3.4-3.6



รูปที่ 3.4 แสดงโพลที่ผ่านการชุปในการทดลองครั้งที่ 2



รูปที่ 3.5 แสดงชิ้นงานโพลที่ชุปสารโซล-เจลหลังผ่านการอบที่ 37 องศาเซลเซียส 1 วันในการทดลองที่ 2



รูปที่ 3.6 ชิ้นงานที่ซุบหลังผ่านการอบที่ 130 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันในการทดลองที่ 2

จากการอบชิ้นงานจะเห็นได้ว่า ชิ้นงานที่ซุบ 2 ครั้ง (รูป 3.4 และ 3.5) จะแตกมากกว่าชิ้นงานที่ซุบ 1 ครั้ง เนื่องจากสารที่ซุบโพนั่นไหลลงลงมาอยู่ที่ฐานของชิ้นงานเยอะ จึงมีผลต่อการอบแห้งและการเผาด้วย ทำให้ชิ้นงานที่เผาออกมามักจะแตกตามผิวที่มีเนื้อสารเกาะอยู่เยอะ

จากการทดลองอบแห้งชิ้นทดลองที่ผ่านการซุบ 1 และ 2 ครั้ง โดยอบแห้งเป็นเวลา 2 และ 3 วัน พบว่าภายหลังการเผา ที่ 900°C ตัวอย่างที่อบแห้ง 2 วัน และ 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจากการทดลองนี้การอบแห้ง 2 วัน เพียงพอจะทำให้ชิ้นงานแห้งและเมื่อผ่านการเผาที่ 900°C จะไม่เกิดการแตก

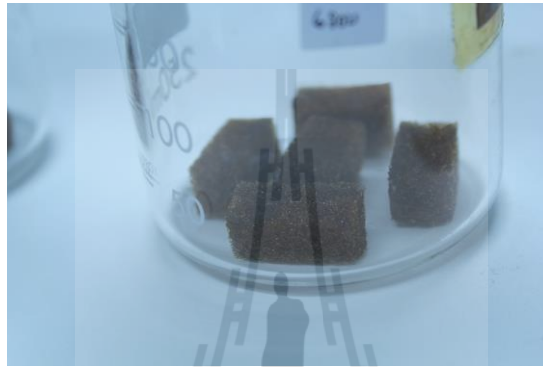
การทดลองที่ 3 (Undope batch 10 กรัม ลดอุณหภูมิในการเตรียมเจลที่ 35°C)

1. ขั้นตอนการเตรียมสารละลายเจลเหมือนกับการทดลองตอนที่ 1 และ 2
2. แล้วเติม HCl 2 มิลลิลิตร คนสารอีก 20 นาที จากนั้นค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปที่ 35°C โดยใช้เวลาคนสาร 20 นาที
3. รอให้สารเย็นลงแล้วค่อยนำโพนี่เตรียมไว้ลงซุบ ทำการซุบทั้งหมด 6 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 10 นาที ในการซุบแต่ละครั้ง จากนั้นก็นำชิ้นงานที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 37 , 60 และ 130°C เป็นเวลา 1, 1 และ 3 วัน ตามลำดับ จากนั้นก็นำชิ้นงานไปเผาที่อุณหภูมิ 900°C

ผลการทดลองครั้งที่ 3

จากการการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าความหนืดของสารยังมาก ซึ่งมีผลต่อการซุบโพนี่ ในการทดลองครั้งที่ 3 จึงให้อุณหภูมิกับสารที่ $25-35^{\circ}\text{C}$ เพื่อให้สารไม่เป็นเจลเร็วจนเกินไป และสามารถซุบโพนี่ได้หลายครั้งด้วย และปรับการซุบโพนี่ต้องซุบให้สม่ำเสมอรวมถึงการบีบโพนี่เพื่อให้สารเกาะที่โครงสร้างของโพนี่มีความสม่ำเสมอเช่นกัน

เมื่อทำตามกระบวนการเตรียมสารแล้ว เมื่อให้อุณหภูมิกับเนื้อสารถึง 35 °C จากนั้นนำสารออกจาก stirrer รอให้สารเย็นลงเป็นเวลา 10 นาที จึงนำโฟมมาชุบลงในเจล โดยการชุบโฟมครั้งนี้ ทำการชุบชิ้นงาน 6 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 10 นาทีในแต่ละรอบของการชุบ ซึ่งเนื้อสารเริ่มเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง 30 นาที ตั้งแต่เริ่มชุบชิ้นงานรอบแรก จากนั้นนำชิ้นงานไปอบที่ 37 , 60 และ 130 °C เป็นเวลา 1 , 1 และ 3 วันตามลำดับ ดังรูป 3.7, 3.8 และ 3.9 ตามลำดับ จากรูป 3.9 ชิ้นทดสอบที่ผ่านการอบที่ 130°C เป็นเวลา 3 วันมีลักษณะโฟมที่ชุบเจลกลายเป็นสีน้ำตาลและแห้งสนิท



รูปที่ 3.7 ชิ้นงานที่ผ่านการชุบเจล 6 ครั้ง และผ่านการอบที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน



รูปที่ 3.8 ชิ้นงานที่ชุบเจล 6 ครั้ง ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน



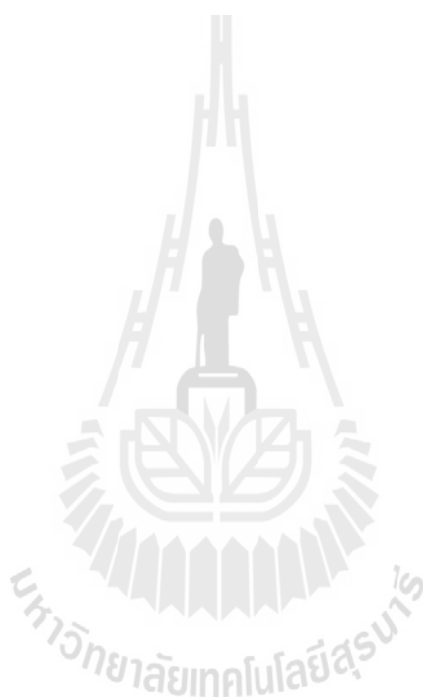
รูปที่ 3.9 ชิ้นงานที่ชุบเจล 6 ครั้ง ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน

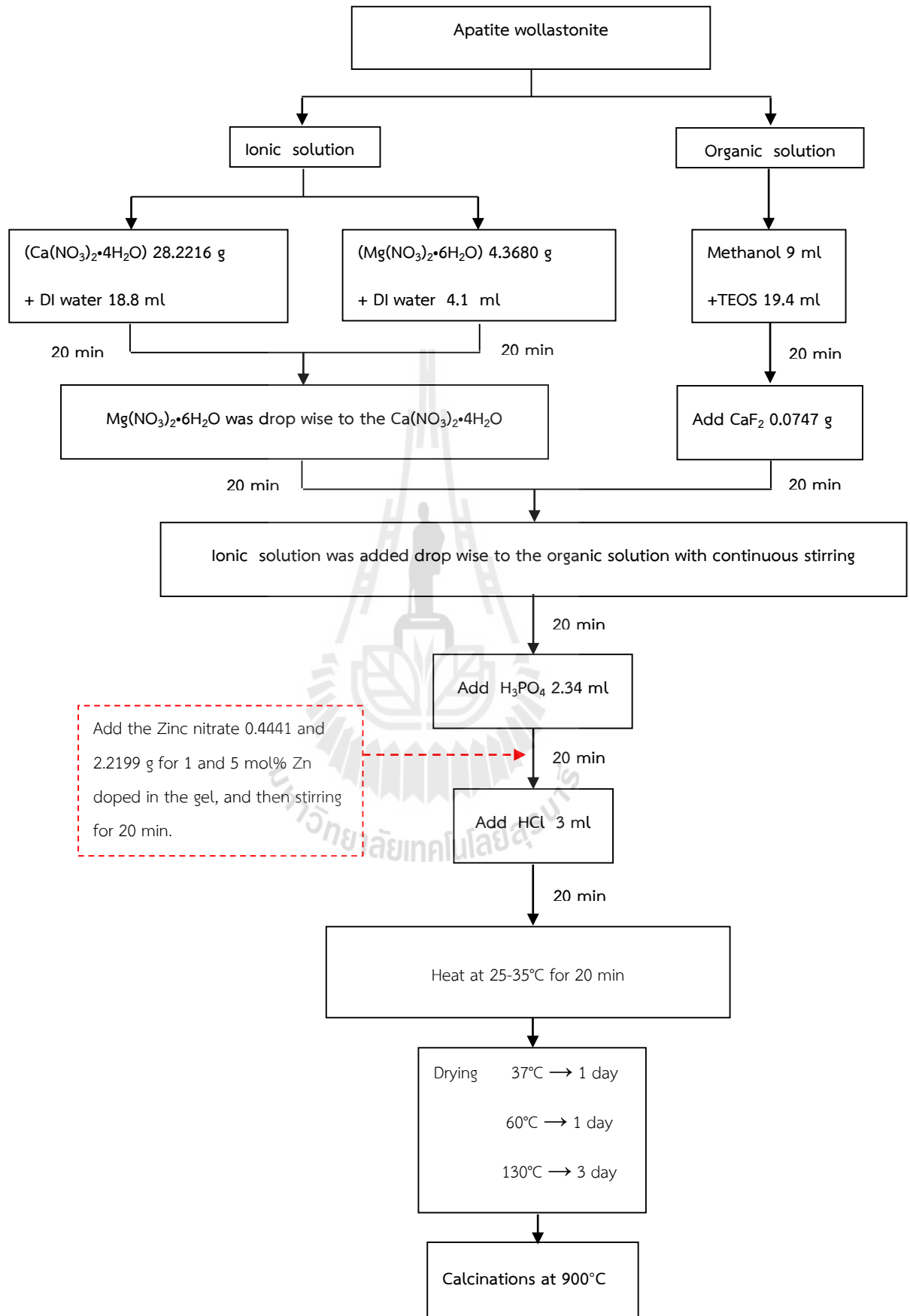
การทดลองที่ 4 (Undope หรือ Zn-doped AW-GC สำหรับ batch 15 กรัม เตรียมเจลที่ 35 °C)

จากการทดลองที่ 3 พบว่าการลดอุณหภูมิเตรียมเจลลงมาที่ 35°C จะทำให้สามารถชุบโฟมได้อย่างทั่วถึงในรอบการชุบที่ 6 จึงเลือกสภาวะในการเตรียมจากการทดลองที่ 3 สำหรับเตรียมเจล AW-GC ที่เจือด้วย Zn ต่อไป

- เตรียมสารละลาย Ionic จากการเตรียม Calcium Nitrate Tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 28.2216 กรัมละลายในน้ำ DI ปริมาตร 18.8 มิลลิลิตร และ Magnesium Nitrate Hexahydrate ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 4.3680 กรัมละลายในน้ำ DI 4.1 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ตามลำดับ จากนั้นเติม Magnesium Nitrate Hexahydrate ลงใน Calcium Nitrate Tetrahydrate ที่ได้จากการเตรียม ซึ่งจะกลายเป็นสาร Ionic ใช้ speed 2 ในการคนสาร Ionic เป็นเวลา 20 นาที
- การเตรียมสาร Organic ได้จากการ เตรียม Methanol 9 มิลลิลิตร กับ Tetraethyl orthosilicate (TEOS) 19.4 มิลลิลิตร ใช้ speed 3 ในการคนสาร Organic โดยใช้เวลา 20 นาที จนสารละลายเข้ากันดี
- และเติม CaF_2 0.0747 กรัม ลงในสาร Organic โดยค่อยๆหยดผสมกัน จากนั้นก็ใช้เวลาในการคนสารอีก 20 นาทีบน Magnetic stirrer
- นำสาร Ionic ที่ได้ค่อยๆหยดลงในบีกเกอร์ของสาร Organic โดยใช้ speed 2 ในการคนสาร 20 นาที
- เติม H_3PO_4 2.34 ml คนสาร 20 นาที
- เติม Zinc nitrate 0.4441 และ 2.2199 กรัม สำหรับการเจือด้วย 1 และ 5 mol% Zn ตามลำดับ
- เติม HCl 3 ml คนสารอีก 20 นาที จากนั้นค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปที่ 35 °C โดยใช้เวลาคคนสาร 20 นาที

- รอให้สารเย็นลงแล้วค่อยนำโพลีเมอร์ที่เตรียมไว้ลงชุบ ทำการชุบทั้งหมด 5 ครั้ง ในการชุบแต่ละครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 10 นาที ในการทดลองนี้ได้ทดลองนำเจลที่เหลื่อไปหล่อในแบบรูปทรงกระบอกด้วย จากนั้นก็นำชิ้นงานที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 37 , 60 และ 130 °C เป็นเวลา 1, 1 และ 3 วัน ตามลำดับ จากนั้นก็นำชิ้นงานไปเผาที่อุณหภูมิ 900°C ดังแผนผังการเตรียม AW scaffold ที่เติมสารเจือ Zn ในรูปที่ 3.10





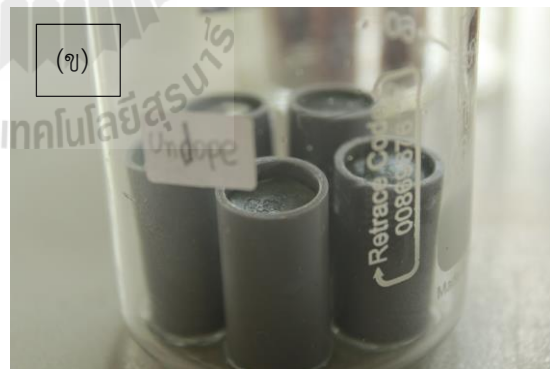
รูปที่ 3.10 แผนผังการเตรียมเจล 15 กรัมสำหรับ AW-GC scaffold ในการทดลองตอนที่ 4

ผลการทดลองครั้งที่ 4

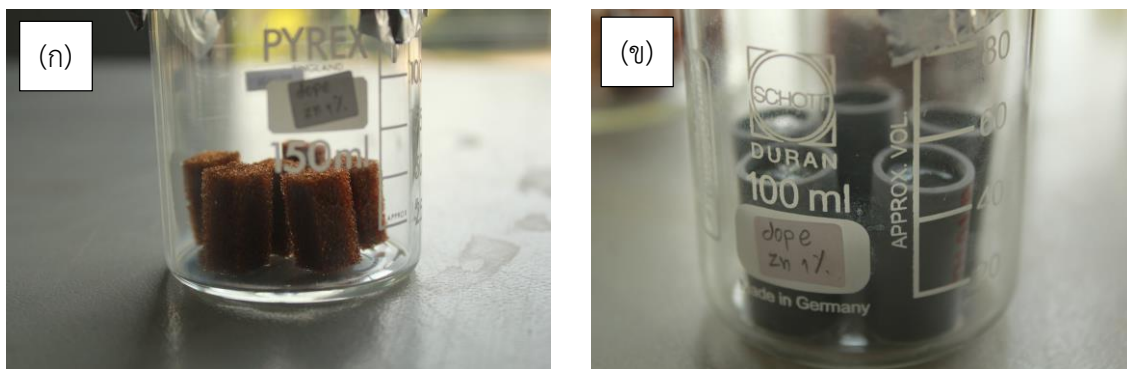
จากการทดลองครั้งที่ 3 พบว่าเนื้อสารที่ผ่านการเผาแล้วมีลักษณะคล้ายโฟมที่ซุบ แต่ยังมีสารที่เกาะตามขอบและด้านของชิ้นงาน จึงลดจำนวนการซุบจาก 6 ครั้ง เหลือเพียง 5 ครั้ง เพื่อให้เนื้อสารมีความสม่ำเสมอในเนื้อโฟมมากยิ่งขึ้น

เมื่อทำตามกระบวนการเตรียมสารแล้ว เมื่อให้อุณหภูมิกับเนื้อสารถึง $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ จากนั้นนำสารออกจาก stirrer รอให้สารเย็นลงเป็นเวลา 10 นาที และนำโฟมลงไปซุบในเจล โดยการซุบโฟมครั้งนี้ ทำการซุบชิ้นงาน 5 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาห่างกัน 10 นาทีในแต่ละรอบของการซุบ

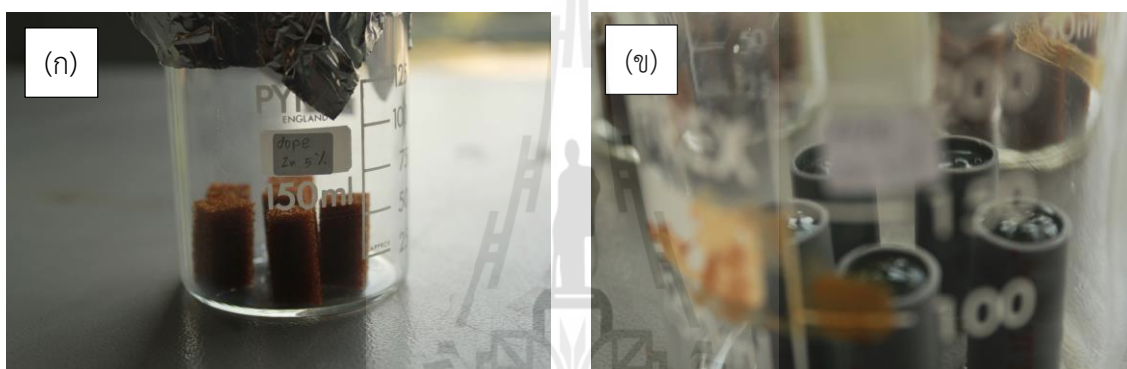
พบว่า สาร Undope เริ่มเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง 25 นาที แต่เมื่อเจือด้วย Zn สารละลายเจลมีการเปลี่ยนแปลงเริ่มเป็นเจลเร็วขึ้น โดยเมื่อ dope 1mol% Zn เนื้อสารจะเริ่มเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง 35 นาที และ dope 5 mol% Zn เนื้อสารจะเริ่มเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง 30 นาที ตั้งแต่เริ่มซุบชิ้นงานรอบแรก จากนั้นนำชิ้นงานไปอบที่ $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ และ $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 1, 1 และ 3 วันตามลำดับ จากการทดลองนี้ได้นำเจลที่เหลือจากการซุบโฟมมาเทหล่อในแบบรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร และสูง 2 เซนติเมตร ชิ้นงานที่ได้จากการซุบเจลซึ่งค้่ออกไซด์ปราศจากสารเจือจำนวน 5 ครั้ง และชิ้นงานที่ได้จากการเทหล่อ ภายหลังการอบที่อุณหภูมิ $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังรูป 3.11-3.13 พบว่าเจลค่อนข้างแห้ง แต่ไม่แห้งสนิท และโฟมเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลดังรูปที่ 3.11



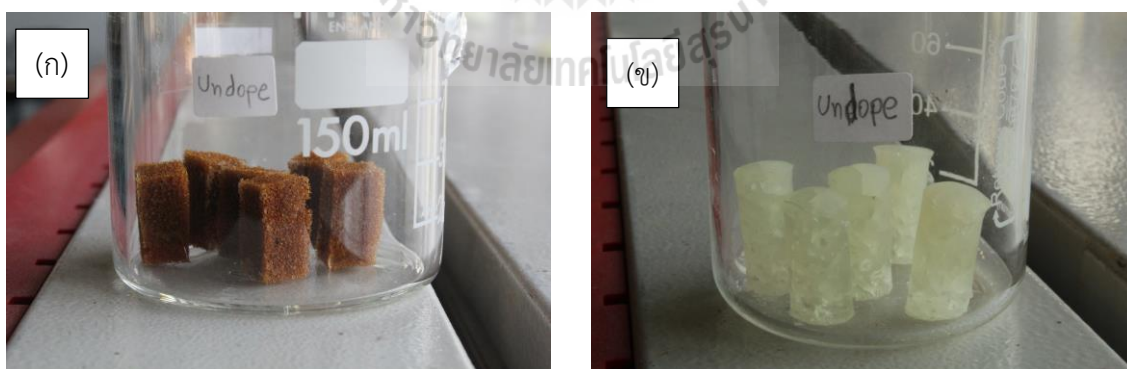
รูปที่ 3.11 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการซุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



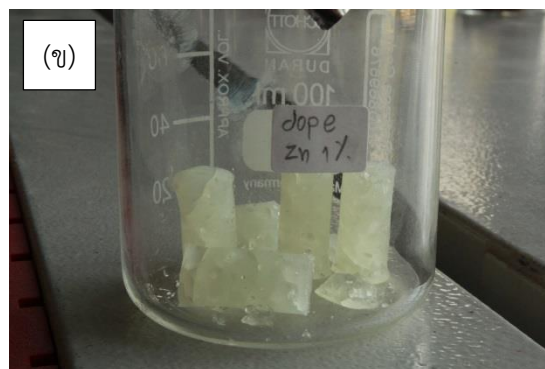
รูปที่ 3.12 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol%Zn ผ่านการอบที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



รูปที่ 3.13 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol%Zn ผ่านการอบที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



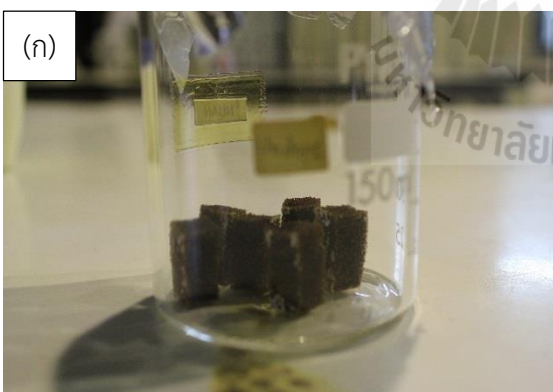
รูปที่ 3.14 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



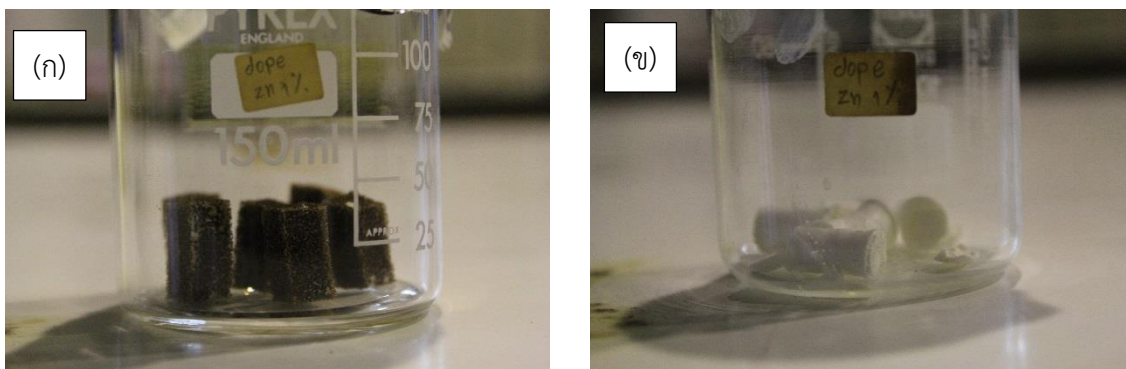
รูปที่ 3.15 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol%Zn ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



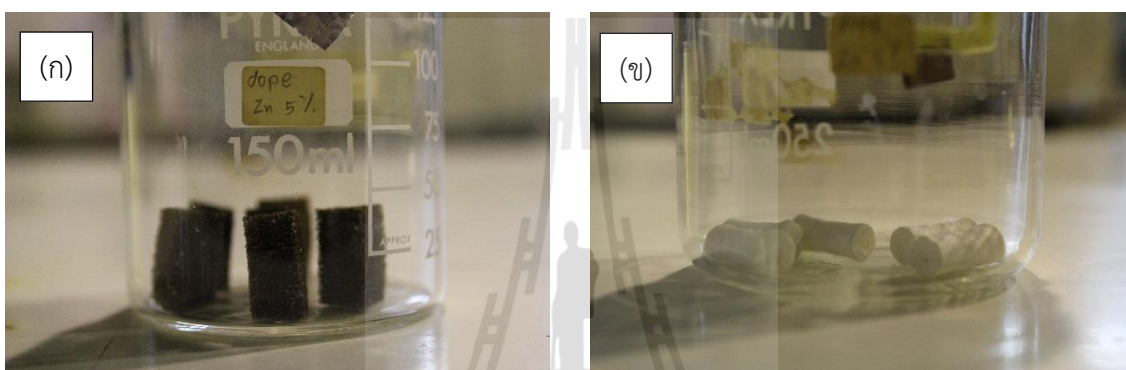
รูปที่ 3.16 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol%Zn ผ่านการอบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



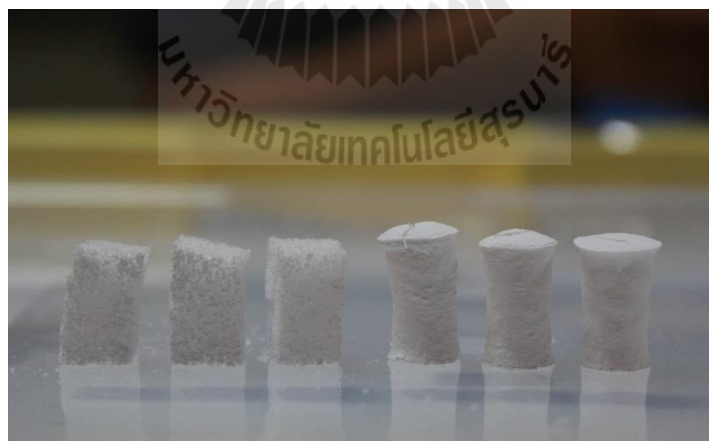
รูปที่ 3.17 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC ผ่านการอบที่ 130 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



รูปที่ 3.18 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 1 mol%Zn ผ่านการอบที่ 130 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ



รูปที่ 3.19 ชิ้นตัวอย่าง AW-GC เจือ 5 mol%Zn ผ่านการอบที่ 130 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน (ก) ผ่านการชุบเจล จำนวน 5 ครั้ง และ (ข) ชิ้นตัวอย่างจากการเทแบบหล่อ

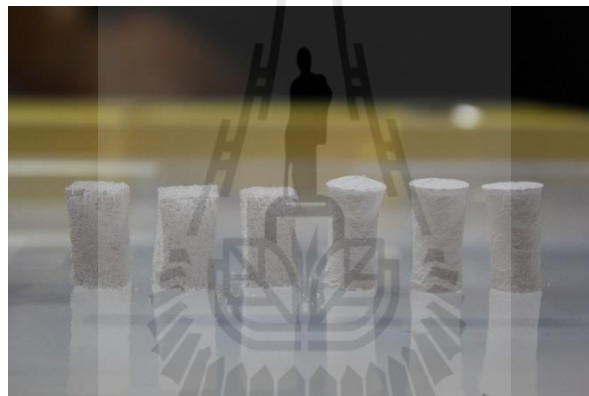


รูปที่ 3.20 ชิ้นงาน AW-GC ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และชิ้นงานหล่อจากเจล (ขวา) เมื่อผ่านการเผาที่ 900 °C



รูปที่ 3.21 ชิ้นงาน AW-GC เจือ 1 mol%Zn ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และชิ้นงานหล่อ (ขวา) เมื่อผ่านการเผาที่

900°C



รูปที่ 3.22 ชิ้นงาน AW-GC เจือ 5 mol%Zn ชุบ 5 ครั้ง (ซ้าย) และชิ้นงานหล่อ (ขวา) เมื่อผ่านการเผาที่

900°C

จากรูป 3.14-3.16 แสดงชิ้นตัวอย่างที่ผ่านการชุบเจือ AW-GC ปราศจากสารเจือ และ AW-GC ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณ 1 และ 5 mol% ตามลำดับ ภายหลังจากการอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 วัน พบว่าเจือเริ่มแห้งสนิท และชิ้นตัวอย่างที่ได้จากการเทแบบสามารถถอดออกจากแบบได้ แต่พบว่าชิ้นตัวอย่างส่วนใหญ่มีรอยแตกร้าวมาก เนื่องจากการหดตัวมากในช่วงการอบที่อุณหภูมิ 60°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สารละลายต่างๆระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว

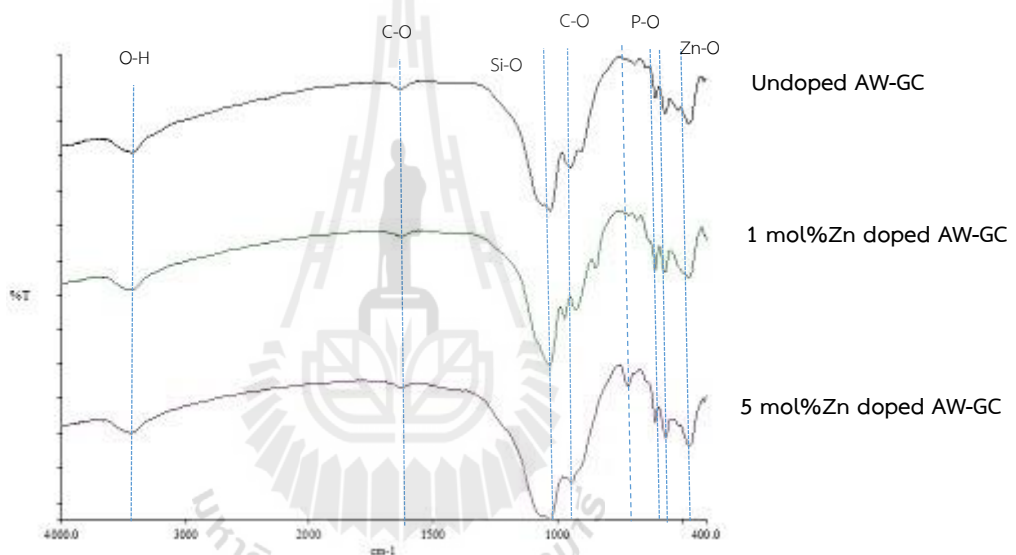
จากรูป 3.17-3.19 แสดงชิ้นตัวอย่าง AW-GC ที่ปราศจากการเติมสารเจือและเติมสารเจือ Zn ในปริมาณ 1 และ 5 mol% ภายหลังจากการอบที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 3 วัน พบว่าชิ้นตัวอย่างที่ผ่านการชุบโฟมมีสีเปลี่ยนไปจากสีน้ำตาลเป็นสีดำ เนื่องจากเกิดการไหม้ของวัสดุโฟมที่ใช้เป็นโครงสร้างในการชุบเจือ

ส่วนขึ้นตัวอย่างที่ได้จากการเทหล่อ มีขนาดเปลี่ยนแปลงอย่างมากโดยมีการหดตัวเกือบ 50% และมีลักษณะแห้งสนิท

ภายหลังจากการเผาที่อุณหภูมิ 900°C ขึ้นตัวอย่างที่ได้จากการชุบโพลีเมอร์มีขนาดเปลี่ยนแปลงไป โดยมีขนาดเล็กลง และมีโครงสร้างพรุนตัว มีความเปราะบางมาก แต่สามารถจับโดยไม่แตกได้ ส่วนขึ้นตัวอย่างที่ได้จากการเทหล่อ มีรูปร่างไม่เป็นทรงกระบอก เนื่องจากเกิดการหดตัวที่ส่วนตรงกลางมาก ดังรูปที่ 3.20-3.22

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของวัสดุโครงสร้าง AW-GC scaffold

- วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง FTIR spectroscopy

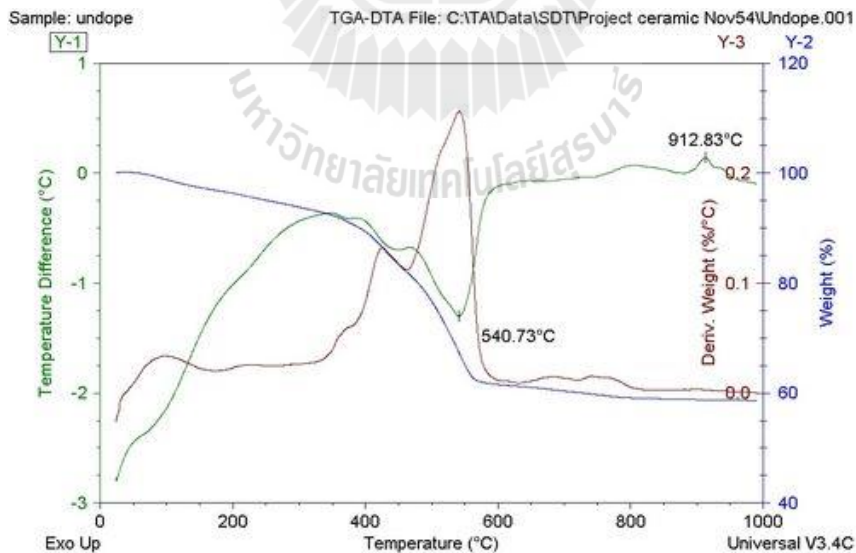


รูปที่ 3.23 FT-IR spectra ของ AW-GC และ AW-GC Scaffold ที่เจือด้วย Zn

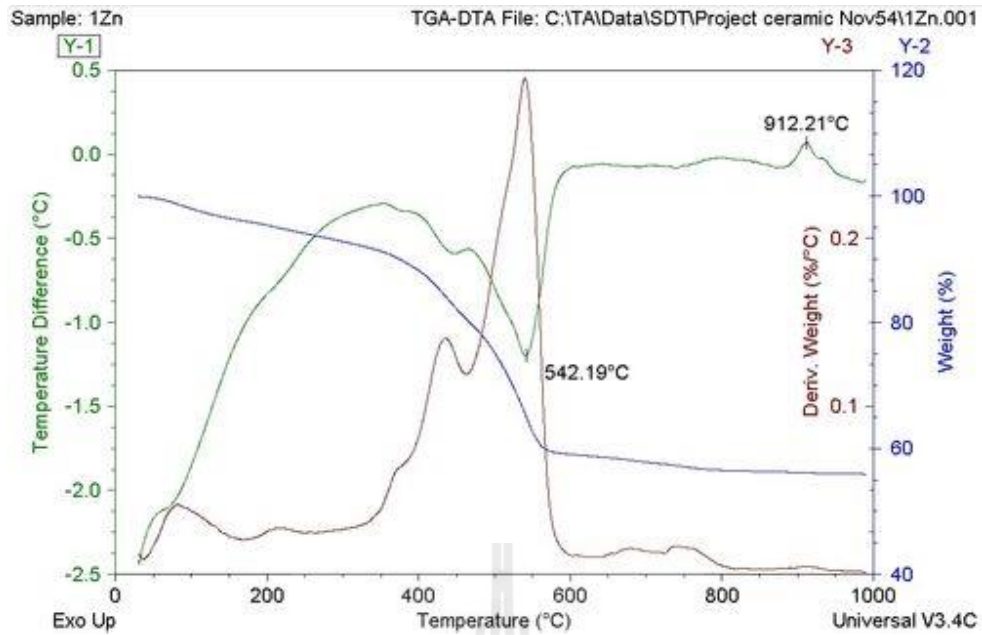
จากรูป 3.23 แสดงสเปกตรัม FT-IR ของขึ้นทดลอง AW scaffold ที่ปราศจากสารเจือ และขึ้นทดลองที่เจือด้วย 1 และ 5 mol% Zn พบ peak ที่ 1110-1000 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับ Si-O, peak ของ O-H ที่ 3900-3400 cm^{-1} , peak ของ C-O ใน CO_3^{2-} ที่ 1510-1410 cm^{-1} , peak ของ PO_4^{3-} ที่ 560-610 cm^{-1} , peak ของ CO_3^{2-} ที่ 800-880 cm^{-1} , peak ของ Mg-O ที่ 750-800 cm^{-1} และ peak ของ Zn-O ที่ 400-450 cm^{-1} (Shah, Brauer et al. 2015) แสดงให้เห็นว่า AW-GC scaffold มีโครงสร้างที่เป็นแก้ว ที่เป็น Apatite-wollastonite และเมื่อเติมสารเจือ Zn ทำให้เกิดเฟสของ phosphate มากขึ้น โดยที่พีทของ PO_4^{3-} ที่ 560-610 cm^{-1} ปรากฏมีความเข้มของพีทสูง เมื่อเติมสารเจือ Zn ในปริมาณ 5 mol%

- วิเคราะห์พฤติกรรมทางความร้อนด้วยเทคนิค Differential Thermal Analysis (DTA) และ Thermal gravimetric analysis (TGA)

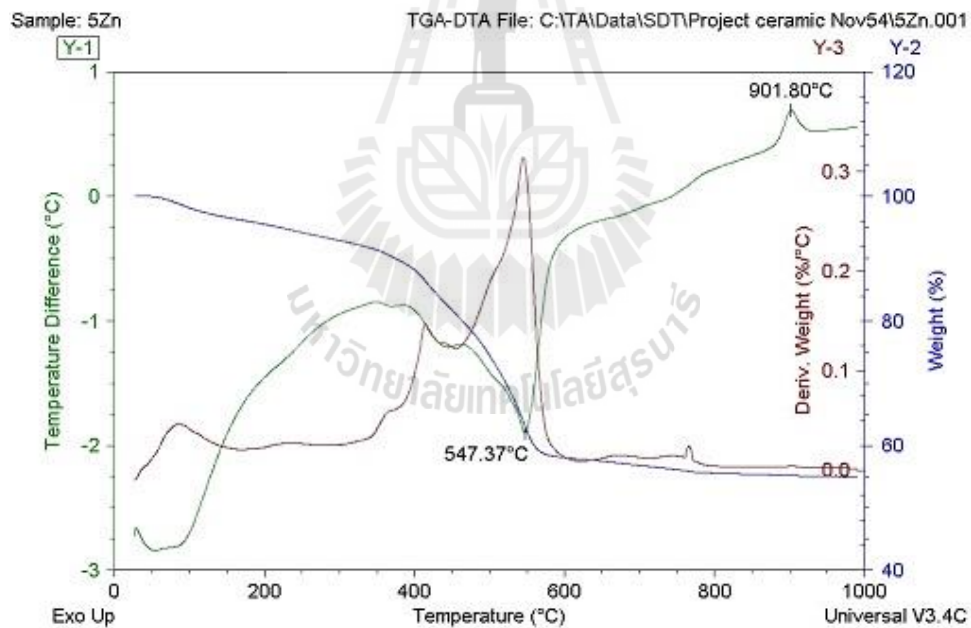
จากผลการวิเคราะห์พฤติกรรมทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA-DTA ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักและการเกิดผลึกของ glass-ceramic แสดงดังรูป 3.24-3.26 ชั้นทดลอง AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือ จะมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 350-550°C ซึ่งแสดงถึงการเกิดช่วงอุณหภูมิที่การสลายตัวของโพลีเมอร์แบบ ในขณะที่เกิดการคายพลังงานที่ 540.73°C และดูดพลังงานที่ 912.83°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่มีการสลายตัวของโพลีเมอร์แบบและเกิดผลึกของ AW-GC (รูป 3.24) สำหรับชั้นทดลอง AW scaffold ที่เจือด้วย 1 mol% Zn และ 5 mol% Zn ในรูปที่ 3.25 และ 3.26 ตามลำดับ โดยพีทของ TG แสดงการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักอย่างรวดเร็วในช่วงอุณหภูมิ 350-550°C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เกิดการสลายตัวของ โพลีเมอร์แบบ เช่นเดียวกับตัวอย่างที่ปราศจากสารเจือ แต่สำหรับชั้นตัวอย่างที่เจือด้วย 5 mol% Zn ปรากฏ peak การดูดพลังงานที่อุณหภูมิต่ำลงที่ 901.80°C แสดงให้เห็นว่าการเจือด้วย Zn ทำให้เกิดผลึกที่เสถียรขึ้น ดังนั้นช่วงอุณหภูมิ 350-550°C จึงเป็นช่วงอุณหภูมิที่ต้องค่อยๆให้ความร้อนเพื่อให้โพลีเมอร์แบบได้สลายตัวออกไปอย่างช้าๆ และสมบูรณ์



รูปที่ 3.24 TGA-DTA ของ AW-GC scaffold



รูปที่ 3.25 TGA-DTA ของ AW-GC scaffold ที่เติมสารเจือ Zn ในปริมาณ 1 mol%



รูปที่ 3.26 TGA-DTA ของ AW-GC scaffold ที่เติมสารเจือ Zn ในปริมาณ 5 mol%

สรุป

จากการศึกษาและทดลองเตรียม AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือ และเติมสารเจือ Zn ในปริมาณความเข้มข้น 1 และ 5 mol% โดยวิธีการเตรียมด้วยกระบวนการโซลเจล และขึ้นรูปเป็นโครงสร้างยึดเกาะ (scaffold) ด้วยการชุบโพลีเมอร์ต้นแบบและการเทหล่อ ซึ่งในการทดลองนี้ได้พัฒนาการทดลอง 4 การทดลอง โดยหาสถานะในการเตรียมเจลให้มีความเหมาะสมในการขึ้นรูปโดยการชุบโพลีเมอร์ จากการทดลองพบว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการปรับปรุงความหนืดและการเกิดเจลของสารโซลเจล โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมเจลคือ ที่ 35 °C และมีเงื่อนไขในการชุบโพลีเมอร์นั้น ควรชุบโพลีเมอร์โดยจุ่มแช่โพลีเมอร์ต้นแบบไว้ในเจลให้นานพอ เพื่อให้เจลเข้าอุดซึบโพลีเมอร์ต้นแบบอย่างสมบูรณ์ หลังจากนั้นบีบเจลที่เหลือออก แล้วนำไปตากที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ก่อนจะเริ่มชุบโพลีเมอร์ซ้ำใหม่ จำนวนการชุบซ้ำมีผลต่อความแข็งแรงของชิ้นตัวอย่างหลังเผา จากการตรวจสอบด้วยหยิบจับชิ้นตัวอย่าง พบว่าชิ้นตัวอย่างที่ผ่านการชุบซ้ำมากขึ้น จะมีความแข็งแรงทนทานต่อการหยิบจับ และเคลื่อนย้าย ซึ่งจากสถานะการเตรียมเจลและการขึ้นรูปนี้ จะนำไปใช้ในการศึกษาและทดลองในบทที่ 4 ต่อไป

บทที่ 4

การเตรียมโครงสร้างยึดเกาะ Apatite Wollastonite Glass-Ceramic ที่เจือด้วย Zn และ Ag

4.1 บทนำ

บทนี้จะกล่าวถึงการศึกษาและการทดลองเตรียมโครงสร้างยึดเกาะ AW-GC scaffold ที่มีการเจือด้วย Zn และ Silver (Ag) และการเติมสารเจือร่วมของ Zn และ Ag ด้วย 1 mol% Zn 5 mol% Ag, 5 mol% Zn 1 mol% Ag, 5 mol% Zn 5 mol% Ag โดยใช้สภาวะการเตรียมเจลจากบทที่ 3 จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค FT-IR และ SEM ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ทดสอบสมบัติ Bioactivity โดยการนำ scaffold แช่ในสารละลายของเหลวที่คล้ายของเหลวในร่างกายมนุษย์ (SBF) เป็นเวลา 1, 7 และ 14 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 37 °C ในการทดลองนี้ได้อภิปรายผลของการเติมสารเจือ Ag และ Zn ต่อองค์ประกอบทางเคมีโครงสร้างรูพรุน และสมบัติด้าน Bioactivity ด้วย

4.2 สารเคมีและกระบวนการเตรียม AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag

ตารางที่ 4.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag

สารเคมี	ชื่อสูตรเคมี	ความบริสุทธิ์
น้ำ Deionization	H ₂ O	100
Calcium Nitrate Tetrahydrate	(Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O)	99.00
Magnesium Nitrate Hexahydrate	(Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O)	98.00
Methanol	CH ₃ OH	99.00
Tetra Ethoxy Orthosilane (TEOS)	Si(OC ₂ H ₅) ₄	98.00
Phosphoric	H ₃ PO ₄	99.50
Calcium Fluoride	CaF ₂	99.50
Zinc nitrate hexahydrate	(Zn(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O)	99.00
Silver nitrate pure P.A.	(AgNO ₃)	99.50

ตารางที่ 4. 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของ AW-GC Scaffold

Compound	SiO ₂ (%wt)	CaO (%wt)	P ₂ O ₅ (%wt)	MgO (%wt)	CaF ₂ (%wt)	ZnO (%wt)	Ag ₂ O (%wt)
Undope	34.2%	44.9%	16.3%	4.6%	0.5%	-	-
Zn 1 mol	34.06%	43.82%	16.23%	4.58%	0.49%	1.30%	-
Zn 5 mol	33.52%	39.60%	15.98%	4.51%	0.49%	6.40%	-
Ag 1 mol	33.83%	43.53%	16.13%	4.55%	0.49%	-	1.97%
Zn1Ag5 mol	33.17%	38.31%	15.81%	4.46%	0.48%	6.34%	1.93%
Zn5Ag1 mol	32.32%	37.33%	15.40%	4.35%	0.47%	1.23%	9.39%
Zn5Ag5 mol	31.83%	33.41%	15.17%	4.28%	0.47%	6.08%	9.25%

ตัวอย่างการคำนวณ Composition of AW-GC powder ที่ปราศจากการเจือ (Undoped)

ถ้าต้องการ AW-GC 10 กรัม ต้องมี

SiO₂ = 3.4029 กรัม, CaO = 4.4677 กรัม, P₂O₅ = 1.6218 กรัม, MgO = 0.4577 กรัม, CaF₂ = 0.0498 กรัม

- CaO มีน้ำหนักโมเลกุล = 56.077 g/mol จาก Ca(NO₃)₂·4H₂O มีน้ำหนักโมเลกุล = 236.15 g/mol

ถ้า CaO 4.4677 กรัม จะต้องใช้ Ca(NO₃)₂·4H₂O = $\frac{236.15 \text{g} \times 4.4677 \text{g}}{56.077 \text{g}} = 18.8143$ กรัม

- MgO มีน้ำหนักโมเลกุล = 40.3044 g/mol จาก Mg(NO₃)₂·6H₂O มีน้ำหนักโมเลกุล = 256.41 g/mol

ถ้า MgO 0.4577g จะต้องใช้ Mg(NO₃)₂·6H₂O = $\frac{256.41 \text{g} \times 0.4577 \text{g}}{40.3044 \text{g}} = 2.9118$ กรัม

- P₂O₅ มีน้ำหนักโมเลกุล = 70.97225 g/mol จาก H₃PO₄ มีน้ำหนักโมเลกุล = 98.00 g/mol

ถ้า P₂O₅ 1.6218g จะต้องใช้ H₃PO₄ = $\frac{98.00 \text{g} \times 1.6218 \text{g}}{70.97225 \text{g}} = 2.2394$ กรัม

70.97225g

H_3PO_4 มีความหนาแน่น (D) = 1.69g/ml, น้ำหนักโมเลกุล = 98.00 g/mol, 85% w/w

H_3PO_4 85 g ในสารละลาย 100 g

$$\text{ถ้า } \text{H}_3\text{PO}_4 \text{ 2.2394 g ต้องมีสารละลาย} = \frac{100\text{g} \times 2.2394\text{g}}{85\text{g}} = 2.6346 \text{ กรัม}$$

$$V = 2.6346 \text{ g} / 1.69 \text{ (g/ml)} = \mathbf{1.5589 \text{ ml}}$$

- SiO_2 มีน้ำหนักโมเลกุล = 60.09g/mol จาก TEOS มีน้ำหนักโมเลกุล = 208.33 g/mol

$$\text{ถ้า } \text{SiO}_2 \text{ 3.4029g จะต้องใช้ TEOS} = \frac{208.33 \text{ g} \times 3.4029\text{g}}{60.09\text{g}} = 11.7977 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นจะใช้ TEOS เป็นปริมาตร $V = 11.7977\text{g} / 0.933(\text{g/ml}) = 12.64 \text{ ml}$

$$\text{จาก TEOS มีความบริสุทธิ์ 98\% ดังนั้นจะใช้ TEOS} = \frac{100 \times 12.64}{98} = \mathbf{12.898 \text{ ml}}$$

สำหรับ TEOS 32.39 ml ใช้ methanol = 15 ml

$$\text{ถ้า TEOS 12.898 ml จะต้องใช้ methanol} = \frac{15 \text{ ml} \times 12.898\text{ml}}{32.39\text{ml}} = \mathbf{5.97 \text{ ml}}$$

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 48.3 \text{ g}$ ละลายในน้ำ DI = 32 ml

$$\text{ถ้า } \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \text{ 18.8143 g จะต้องละลายในน้ำ DI} = \frac{32 \text{ ml} \times 18.8143\text{g}}{48.3\text{g}} = 12.46 \text{ ml}$$

สำหรับ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 7.39 \text{ g}$ ละลายในน้ำ DI = 7 ml

$$\text{ถ้า } \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \text{ 2.9118 g จะต้องละลายในน้ำ DI} = \frac{7 \text{ ml} \times 2.9118 \text{ g}}{7.39\text{g}} = 2.758 \text{ ml}$$

สำหรับ AW-GC = 25 g ใช้ HCl = 5ml

ถ้า AW-GC 10 g จะต้องใช้ HCl = $5 \text{ ml} \times 10 \text{ g} = 2 \text{ ml}$

25

กรณีที่ AW-GC scaffold มีการเจือด้วย Zn และ Ag มีอัตราส่วนผสมทางเคมีในการเตรียมสารละลายโซล-เจล ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4. 3 อัตราส่วนผสมทางเคมีในการเตรียม AW-GC scaffold ที่เจือ Zn และ Ag

(สำหรับ batch 10 กรัม)

สูตร	TEOS	Ca(NO ₃) ₂ • 4H ₂ O	H ₃ PO ₄	Mg(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	CaF ₂	CH ₃ OH	HCl	Zn(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	AgNO ₃
Undope	12.89 ml	18.814 g	1.56 ml	2.912 g	0.049 g	6 ml	2 ml	-	-
Zn 1 mol	12.85 ml	18.363 g	1.55 ml	2.900 g	0.050 g	6 ml	2 ml	0.4733 g	-
Zn 5 mol	12.65 ml	16.593 g	1.53 ml	2.854 g	0.049 g	5.9 ml	2 ml	2.327 g	-
Ag 1 mol	12.76 ml	18.239 g	1.54 ml	2.881 g	0.049 g	5.9 ml	2 ml	-	1.753 g
Zn1Ag5 mol	12.52 ml	16.053 g	1.51 ml	2.824 g	0.048 g	5.8 ml	2 ml	2.869 g	0.605 g
Zn5Ag1 mol	12.19 ml	15.641 g	1.47 ml	2.752 g	0.047 g	5.6 ml	2 ml	0.557 g	2.942 g
Zn5Ag5 mol	12.01 ml	14.001 g	1.45 ml	2.710 g	0.046 g	5.6 ml	2 ml	2.752 g	2.897 g

ตัวอย่างการคำนวณส่วนผสมของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 1 และ 5 mol% Zn สำหรับ Batch 10 กรัม

AW-GC ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณ 1 mol% โดยการแทนที่ CaO ด้วย ZnO

จาก Zinc nitrate hexahydrate ((Zn(NO₃)₂•6H₂O) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 297.47 g/mol

$2\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{ZnO} + 4\text{NO}_2 + \text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ (น้ำหนักโมเลกุลของ ZnO = 81.39 g.mol)

$2\text{ZnO} \rightarrow 2\text{Zn} + \text{O}_2$ (น้ำหนักโมเลกุลของ Zn = 65.39 g/mol)

ถ้า AW-GC 100.5 g มี ZnO 1.301 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี ZnO $\frac{1.301 \times 10 \text{ g}}{100.5 \text{ g}} = 0.1295 \text{ g}$

ถ้า ZnO 81.39 g มี $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.1295 g มี $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $\frac{297.47 \times 0.1295 \text{ g}}{81.39 \text{ g}} = 0.4733 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Zn 1 mol% ต้องใช้ $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0.4733 \text{ กรัม}$

AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn

จาก Zinc nitrate hexahydrate ($\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 297.47 g/mol

$2\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{ZnO} + 4\text{NO}_2 + 4\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ (น้ำหนักโมเลกุลของ ZnO = 81.39 g/mol)

$2\text{ZnO} \rightarrow 2\text{Zn} + \text{O}_2$ (น้ำหนักโมเลกุลของ Zn = 65.39 g/mol)

ถ้า AW 100.5 g มี ZnO 6.40 g (ตาราง 4.2)

ดังนั้น AW 10 g มี ZnO $(6.40 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 0.6368 \text{ g}$

ถ้า ZnO 81.39 g มี $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.6368 g มี $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(297.47 \times 0.6368 \text{ g}) / (81.39 \text{ g}) = 2.327 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Zn 5 mol% ต้องใช้ $\text{Zn(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 2.327 \text{ กรัม}$

AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Ag

จาก Silver nitrate (AgNO_3) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 169.87 g/mol

$2\text{AgNO}_3 \rightarrow \text{Ag}_2\text{O} + 2\text{NO}_2 + \frac{1}{2}\text{O}_2$ (น้ำหนักโมเลกุลของ $\text{Ag}_2\text{O} = 231.74 \text{ g/mol}$)

(น้ำหนักโมเลกุลของ Ag = 107.87 g/mol)

ถ้า AW-GC 100.5 g มี Ag_2O 1.97 g (ตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Ag_2O $(1.97 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 1.1960 \text{ g}$

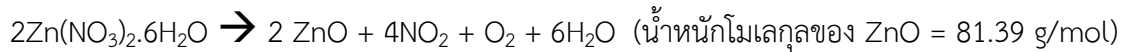
ถ้า Ag_2O 231.74 g มี 2AgNO_3 $2 \times 169.87 = 339.74 \text{ g}$

ดังนั้น Ag_2O 1.1960 g มี $2\text{AgNO}_3 = (339.74 \times 1.1960)/231.74 = 1.753$ g

ดังนั้นการเจือด้วย Ag 1 mol% ต้องใช้ $\text{AgNO}_3 = 1.753$ กรัม

AW-GC ที่เจือร่วมระหว่าง 1mol% Zn 5 mol% Ag (1Zn5Ag)

จาก Zinc nitrate hexahydrate ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งน้ำหนักโมเลกุล 297.47 g/mol



ถ้า AW-GC 100.5 g มี Zn 6.34 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Zn $\frac{6.34 \times 10 \text{ g}}{100.5 \text{ g}} = 0.6308 \text{ g}$

ถ้า Zn 65.39 g มี ZnO 81.39 g

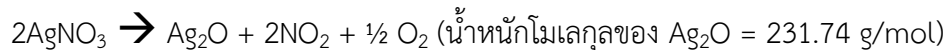
ดังนั้น Zn 0.6308 g มี ZnO $\frac{81.39 \times 0.6308 \text{ g}}{65.39 \text{ g}} = 0.7851 \text{ g}$

ถ้า ZnO 81.39 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.7851 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $\frac{297.47 \times 0.7851 \text{ g}}{81.39 \text{ g}} = 2.869 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Zn 1 mol% ต้องใช้ $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 2.869$ กรัม

จาก Silver nitrate (AgNO_3) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 169.87 g/mol



ถ้า AW-GC 100.5 g มี Ag 1.93 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Ag $(1.93 \times 10 \text{ g})/(100.5 \text{ g}) = 0.1920 \text{ g}$

ถ้า Ag 107.87 g มี Ag_2O 231.74 g

ดังนั้น Ag 0.1920 g มี Ag_2O $(231.74 \times 0.1920 \text{ g}) / (107.87 \text{ g}) = 0.4125 \text{ g}$

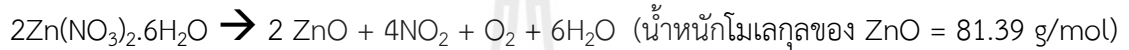
ถ้า Ag_2O 231.74 g มี 2AgNO_3 $2 \times 169.87 = 339.74 \text{ g}$

ดังนั้น Ag_2O 0.4125 g มี $2\text{AgNO}_3 = (339.74 \times 0.4125) / 231.74 = 0.605 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Ag 5 mol% ต้องใช้ $\text{AgNO}_3 = 0.605$ กรัม

AW-GC ที่เจือรวม 5 mol% Zn 1 mol% Ag (5Zn1Ag)

จาก Zinc nitrate hexahydrate ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งน้ำหนักโมเลกุล 297.47 g/mol



ถ้า AW-GC 100.5 g มี Zn 1.23 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Zn $(1.23 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 0.1224 \text{ g}$

ถ้า Zn 65.39 g มี ZnO 81.39 g

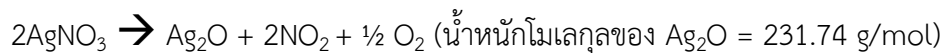
ดังนั้น Zn 0.1224 g มี ZnO $(81.39 \times 0.1224 \text{ g}) / (65.39 \text{ g}) = 0.1523 \text{ g}$

ถ้า ZnO 81.39 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.1523 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(297.47 \times 0.1523 \text{ g}) / (81.39 \text{ g}) = 0.557 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Zn 5 mol% ต้องใช้ $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0.557$ กรัม

จาก Silver nitrate (AgNO_3) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 169.87 g/mol



ถ้า AW-GC 100.5 g มี Ag 9.39 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Ag $(9.39 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 0.934 \text{ g}$

ถ้า Ag 107.87 g มี Ag₂O 231.74 g

ดังนั้น Ag 0.934 g มี Ag₂O $(231.74 \times 0.934 \text{ g}) / (107.87 \text{ g}) = 2.007 \text{ g}$

ถ้า Ag₂O 231.74 g มี 2AgNO₃ $2 \times 169.87 = 339.74 \text{ g}$

ดังนั้น Ag₂O 2.007 g มี 2AgNO₃ $= (339.74 \times 2.007) / 231.74 = 2.942 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Ag 1 mol% ต้องใช้ AgNO₃ = 2.942 กรัม

AW-GC ที่เจือรวม 5 mol% Zn และ 5 mol% Ag (5Zn5Ag)

จาก Zinc nitrate hexahydrate ((Zn(NO₃)₂·6H₂O) ซึ่งน้ำหนักโมเลกุล 297.47 g/mol



ถ้า AW-GC 100.5 g มี Zn 6.08 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Zn $(6.08 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 0.605 \text{ g}$

ถ้า Zn 65.39 g มี ZnO 81.39 g

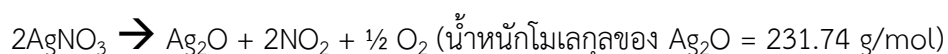
ดังนั้น Zn 0.605 g มี ZnO $(81.39 \times 0.605 \text{ g}) / (65.39 \text{ g}) = 0.753 \text{ g}$

ถ้า ZnO 81.39 g มี Zn(NO₃)₂·6 H₂O 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.753 g มี Zn(NO₃)₂·6 H₂O $(297.47 \times 0.753 \text{ g}) / (81.39 \text{ g}) = 2.752 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Zn 5 mol% ต้องใช้ Zn(NO₃)₂·6H₂O = 2.752 กรัม

จาก Silver nitrate (AgNO₃) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 169.87 g/mol



(น้ำหนักโมเลกุลของ Ag = 107.87 g/mol)

ถ้า AW-GC 100.5 g มี Ag 9.25 g (จากตาราง 4.2)

ดังนั้น AW-GC 10 g มี Ag $(9.25 \times 10 \text{ g}) / (100.5 \text{ g}) = 0.920 \text{ g}$

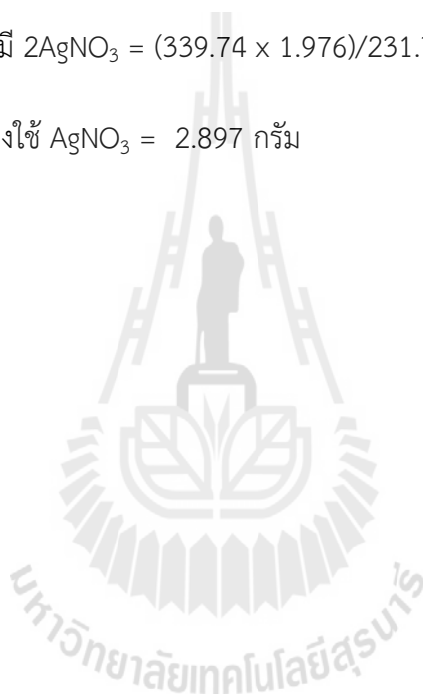
ถ้า Ag 107.87 g มี Ag₂O 231.74 g

ดังนั้น Ag 0.920 g มี Ag₂O $(231.74 \times 0.920 \text{ g}) / (107.87 \text{ g}) = 1.976 \text{ g}$

ถ้า Ag₂O 231.74 g มี 2AgNO₃ $2 \times 169.87 = 339.74 \text{ g}$

ดังนั้น Ag₂O 1.976 g มี 2AgNO₃ $= (339.74 \times 1.976) / 231.74 = 2.897 \text{ g}$

ดังนั้นการเจือด้วย Ag 5 mol% ต้องใช้ AgNO₃ = 2.897 กรัม

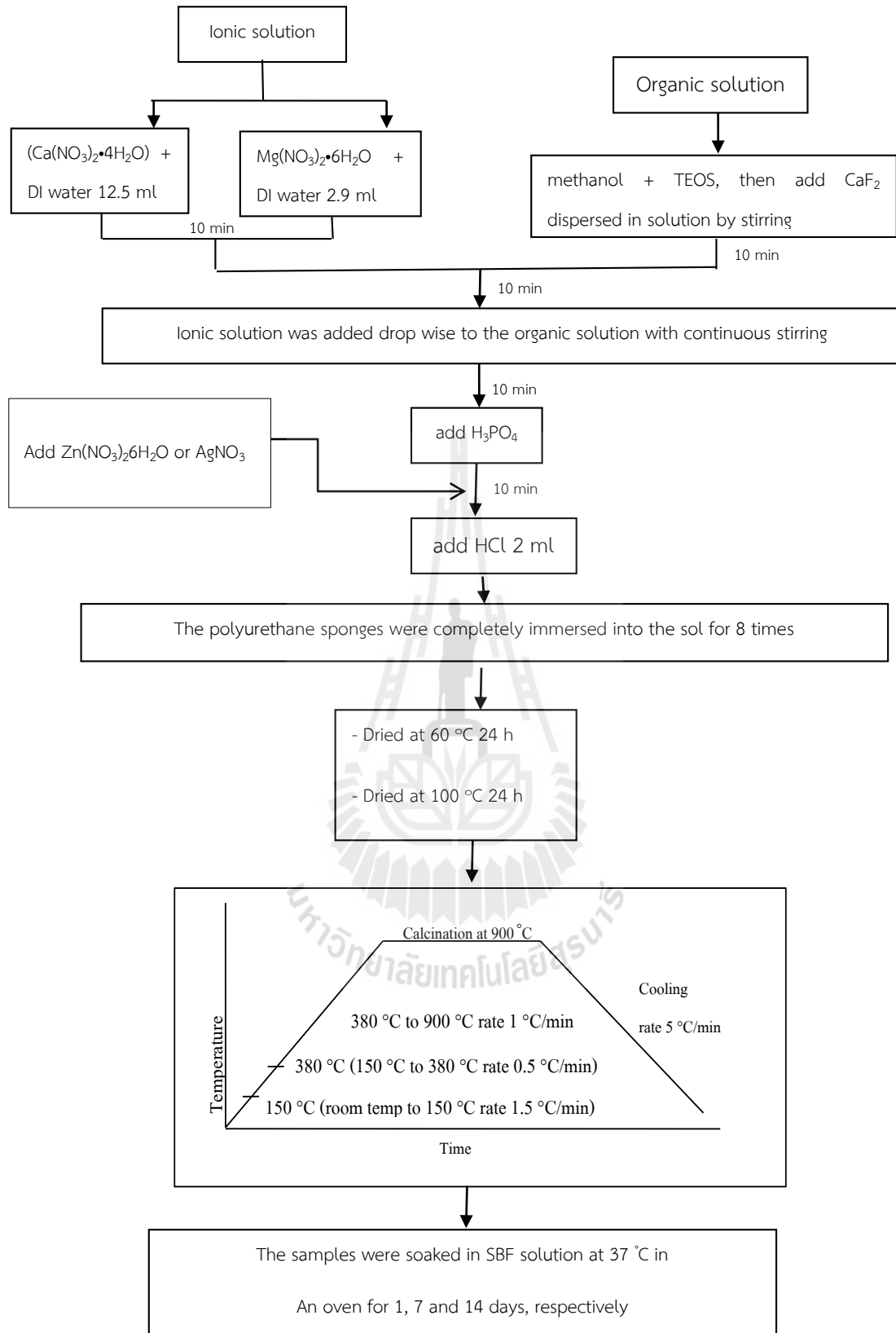


ตารางที่ 4. 4 การเปรียบเทียบส่วนผสมของ Bioactive glass ระหว่าง mol% และ wt%

	SiO ₂	CaO	P ₂ O ₅	MgO	CaF ₂	ZnO	AgO	Total
wt%	34.200	44.900	16.300	4.600	0.500			100.500
M.W.	60.090	56.077	141.945	40.304	78.077	81.380	123.870	
mole	0.569	0.801	0.115	0.114	0.006			1.605
mol%	35.456	49.881	7.154	7.110	0.399			100.000
1Z (mol)	35.456	48.881	7.154	7.110	0.399	1.000		100.000
1Z(wt)	2130.551	2741.100	1015.450	286.569	31.149	81.380		6286.198
1Z(wt%)	34.062	43.823	16.234	4.581	0.498	1.301		100.500
5Z (mol)	35.456	44.881	7.154	7.110	0.399	5.000		100.000
5Z(wt)	2130.551	2516.774	1015.451	286.569	31.149	406.900		6387.394
5Z(wt%)	33.522	39.599	15.977	4.509	0.490	6.402		100.500
1Ag (mol)	35.456	48.881	7.154	7.110	0.399		1.000	100.000
1Ag (wt)	2130.551	2741.082	1015.455	286.570	31.149	0.000	123.870	6328.677
1Ag (wt%)	33.833	43.529	16.126	4.551	0.495	0.000	1.967	100.500
5Z1Ag (mol)	35.456	43.881	7.154	7.110	0.399	5.000	1.000	100.000
5Z1Ag(wt)	2130.551	2460.715	1015.471	286.564	31.153	406.900	123.870	6455.224
5Z1Ag(wt%)	33.170	38.310	15.810	4.461	0.485	6.335	1.929	100.500
1Z5Ag(mol)	35.456	43.881	7.154	7.110	0.399	1.000	5.000	100.000
1Z5Ag(wt)	2130.551	2460.715	1015.471	286.564	31.153	81.380	619.350	6625.184
1Z5Ag(wt%)	32.319	37.328	15.404	4.347	0.473	1.234	9.395	100.500
5Z5Ag(mol)	35.456	39.881	7.154	7.110	0.399	5.000	5.000	100.000
5Z5Ag(wt)	2130.551	2236.407	1015.471	286.564	31.153	406.900	619.350	6726.396
5Z5Ag(wt%)	31.833	33.414	15.172	4.282	0.465	6.080	9.254	100.500

ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย Sol-gel และการขึ้นรูป Scaffold

1. จากตารางที่ 4.3 สูตรที่ทำการทดลองมีทั้งหมด 7 สูตร โดยแสดงขั้นตอนการเตรียมดังแผนภาพในรูปที่ 4.1 มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้ เตรียมสารละลาย Ionic solution ระหว่าง $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ และสารละลาย Organic solution จาก TEOS ผสมกับ Methanol คนผสมเป็นเวลา 10 นาที
2. นำ CaF_2 มาเติมใน Organic solution พร้อมกับคนเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำ Ionic solution มาหยดลงใน Organic solution คนผสมเป็นเวลา 10 นาที
3. เติม H_3PO_4 พร้อมทั้งคนผสมเป็นเวลา 10 นาที
4. เติม ซิลเวอร์ไนเตรด หรือซิงค์ไนเตรด สำหรับเจลที่เจือด้วยซิลเวอร์และซิงค์ตามลำดับ โดยเติมในปริมาณความเข้มข้นของสารเจือต่างๆ
5. เติม HCl ปริมาณ 2 ml และคนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที
6. นำฟองน้ำที่ตัดสำหรับขึ้นรูปขึ้นทดลอง มาชุบเจลสูตรละ 12 ชั้น โดยชุบทั้งหมด 8 ครั้ง จะชุบใน Gel แล้วปล่อยให้แห้งใน Gel 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบ 10 นาที จึงยกฟองน้ำขึ้นและบีบ Gel ส่วนเกินออก จากนั้นจึงตากที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำจนครบทั้งหมด 8 ครั้ง
7. นำชิ้นงานที่ชุบ Gel มาอบที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส โดยหลังจากที่ปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือ 1 วัน
8. นำชิ้นงานมาเผาที่อุณหภูมิ 900 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่โดยมีอัตราการให้ความร้อน จากอุณหภูมิห้องจนถึง 150 องศาเซลเซียส (1.5 องศาต่อนาที), 150 ถึง 380 °C (0.5 องศาต่อนาที) และ 380 ถึง 900°C (1 องศาต่อนาที) แล้วปล่อยให้เย็นด้วยจนถึงอุณหภูมิห้องโดย cooling rate 5 องศาต่อนาที นำชิ้นตัวอย่างไปตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR, XRD และ SEM
9. นำชิ้นงานไปทดสอบโดยการแช่ในสารละลาย SBF ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1, 7 และ 14 วัน ตามลำดับ และนำชิ้นงานไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM และ FTIR



รูปที่ 4.1 แผนภาพการเตรียมสารละลายโซลเจลสำหรับ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag

สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลาย SBF

1. Sodium chloride (NaCl, concentration 99.5%)
2. Sodium hydrogencarbonate (NaHCO₃, conc. 99.5%)
3. Potassium chloride (KCl, conc. 99.5%)
4. Di-potassium hydrogen phosphate trihydrate (K₂HPO₄·3H₂O, Conc. 99.0%)
5. Magnesium chloride hexahydrate (MgCl₂·6H₂O, Conc. 98%)
6. Calcium chloride (CaCl₂, conc. 95.0%)
7. Sodium sulphate (Na₂SO₄, conc. 99.0%)
8. Tris-hydroxymethyl aminomethane (Tris: (HOCH₂)₃CNH₂, conc. 99.0%)
9. 1 M hydrochloride acid
10. pH standard solutions (pH 4, 7 and 9)

ตารางที่ 4. 5 ส่วนผสมของสารละลาย SBF ปริมาณ 1 ลิตร

ลำดับ	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)	ความบริสุทธิ์	น้ำหนักโมเลกุล
1	NaCl	8.035	99.5	58.4430
2	NaHCO ₃	0.355	99.5	84.0068
3	KCl	0.225	99.5	74.5515
4	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.231	99.0	228.2220
5	MgC ₁₂ ·6H ₂ O	0.311	98.0	203.3034
6	1.0 M HCl	39 ml	-	-
7	CaCl ₂	0.292	95.0	110.9840
8	Na ₂ SO ₄	0.072	99.0	142.0428
9	Tris	6.118	99.0	121.1356
10	1.0 M-HCl	0 ถึง 5 ml	-	-

วิธีการเตรียมสารละลาย SBF

ในการเตรียมสารละลาย SBF ต้องระวังการตกตะกอนของสาร apatite ซึ่งจะเป็นตะกอนขาวขุ่นเกิดขึ้น ถ้าเกิดตะกอนขาวขุ่นให้เททิ้งทันทีแล้วเตรียมใหม่ ไม่นำเอามาใช้อีก สารละลายที่เตรียมได้ต้องไม่มีสี ใส และไม่มีตะกอนใดๆ ในการเตรียมสารละลาย SBF 1000 ml ดำเนินการดังนี้

1. นำ ion-exchanged distilled water 700 ml ใส่ในปิกเกอร์พลาสติกขนาด 1000 ml และใส่ stirring bar ลงไป ให้ตั้งบนภาชนะใส่น้ำ ซึ่งวางบน magnetic stirrer และปิดด้วยกระดาษฟิวหรือ plastic wrap โดยขณะผสมต้องทำการผสมที่ 36.5 ± 1.5 °C และคนตลอดเวลา ค่อยๆ ละลายสารเคมีทีละตัว โดยให้สารเคมีละลายหมดก่อน จึงใส่สารละลายตัวต่อไปได้ ใช้ภาชนะพลาสติกเท่านั้นและต้องมีผิวเรียบ ไม่มีรอยขีดข่วนใดๆ เพราะจะทำให้เกิดผลึกและตะกอนของ apatite ง่าย
2. สาร CaCl_2 มีผลต่อการตกตะกอนมาก ในการใส่ให้ละลายช้าๆ ให้ละลายให้หมดก่อนจะใส่สารต่อไป
3. กระจกบอกรวบรวมสำหรับตรวจ กรด HCl ต้องล้างด้วยกรด HCl ก่อน
4. ในการชั่งสาร KCl , $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , Na_2SO_4 ต้องทำอย่างรวดเร็ว เพราะสารดูดความชื้นเร็วมาก ต้องปิดภาชนะและช้อนตักสารต้องสะอาดและแห้งเท่านั้น และปิดภาชนะให้แน่นสนิทก่อนเก็บในตู้ดูดความชื้น
5. ก่อนละลาย Tris ลงในสารละลาย ค่า pH ควรอยู่ที่ประมาณ 2.0 ± 1.0
6. อุณหภูมิของสารละลายต้องไม่สูงกว่า 38°C
7. ถ้าปริมาณของสารละลายน้อยกว่า 900 ml ให้เติม ion-exchanged distilled water จนได้ 900 ml
8. ค่อยๆ เติม Tris ให้ละลายช้าๆ ต้องระวังค่า pH เปลี่ยน โดยให้ใส่ทีละน้อยและหยุดรอเพื่อให้สารละลายหมดก่อน และค่า pH คงที่แล้ว จึงค่อยเติมต่อไปจนหมด เพราะการเติมอย่างรวดเร็วทำให้เกิดการตกตะกอน ต้องเช็คดูว่าอุณหภูมิยังคงประมาณ 36°C เพราะถ้าอุณหภูมิสูง ค่า pH จะลดลงซึ่ง pH ไม่ควรเกิน 7.45
9. ถ้า pH สูงกว่า 7.45 ให้หยุดละลาย tris และให้ค่อยๆ หยด 1 M HCl ใช้หลอดฉีดยา ลงไปเพื่อปรับให้ pH ต่ำลง 7.42 แต่อย่าให้ต่ำกว่า 7.40 เมื่อ pH ลดลงแล้วจึงค่อยๆ เติม Tris ที่เหลือลงละลายช้าๆ จนได้ pH 7.45 ให้ดูค่า pH และปรับไปเรื่อยๆ โดยเติมกรด HCl สลับกับ Tris โดยให้ pH อยู่ระหว่าง 7.42-7.45

10. หลังจากเติม Tris หมดแล้ว ให้ค่อยๆ ปรับ pH โดยการเติมกรด HCl เพื่อให้ pH เป็น 7.40 ที่ 36°C เมื่อปรับ pH ได้แล้ว ให้เอา electrode ออก ล้างด้วยน้ำ DI
11. เทสารละลายจากปิกเกอร์ลงในขวดปริมาตร โดยล้างด้วยน้ำ DI ให้หมด
12. ทิ้งให้สารละลายเย็นลง แล้ว เติมน้ำ DI ให้ถึงคอขวด และปิดจุก และปิดด้วย พลาสติกอีกทีให้แน่น
13. การเก็บสารละลาย SBF ทำได้โดยเก็บในขวดพลาสติกที่ปิดฝาแน่น และเก็บที่ความเย็น 5-10 องศา สามารถใช้สารละลาย SBF ได้ภายใน 30 วันหลังจากที่เตรียม

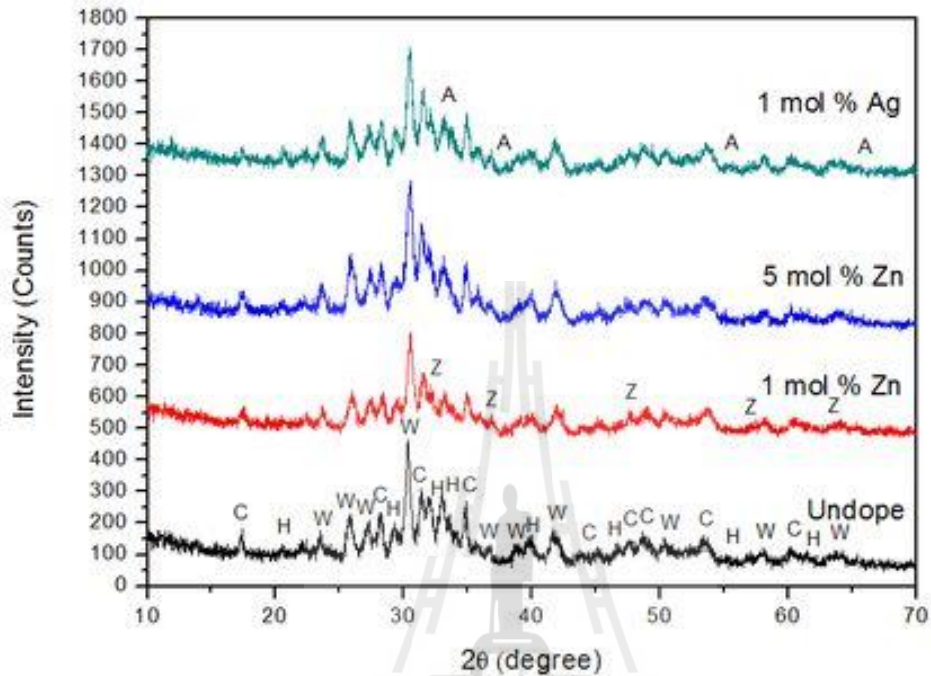
4.3 ผลการทดลอง

ตัวอย่าง AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือ และ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag ภายหลังจากการเผาที่ 900°C ดังแสดงในรูป 4.2 ชั้นทดลองมีรูปร่างเหมือนกับโฟมต้นแบบที่นำมาชุบ และมีความพรุนตัว มีความแข็งแรงเพียงพอในการจับและเคลื่อนย้ายได้ ชั้นทดลองที่มีการเจือด้วย Ag จะมีสีออกดำ และมีสีเข้มขึ้นเมื่อปริมาณสารเจือ Ag มากขึ้น



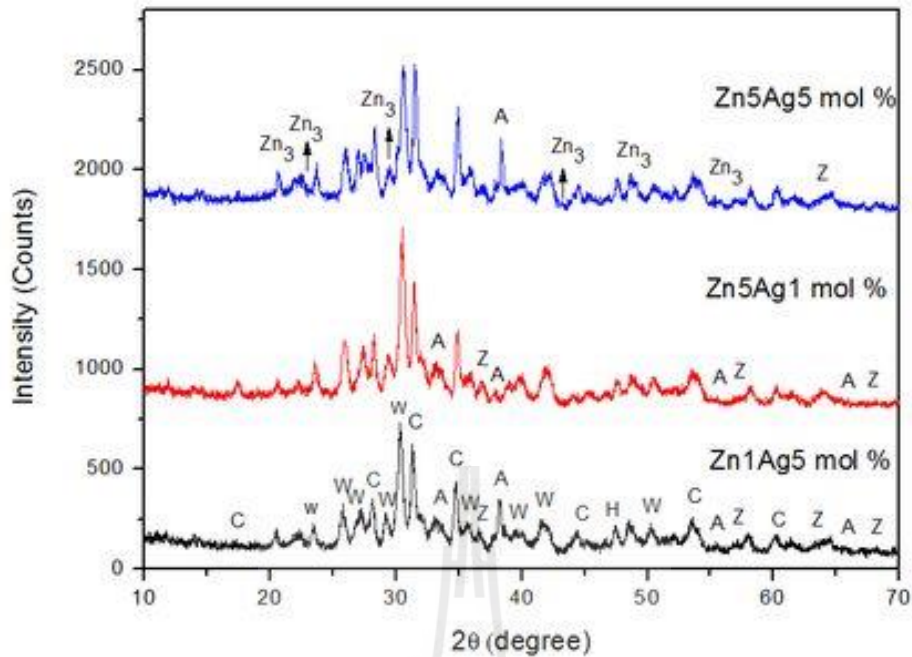
รูปที่ 4.2 แสดงชั้นทดลอง AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C

ผลการทดลองวิเคราะห์ทางเคมีของ AW-GC scaffold ด้วยเทคนิค XRD



รูปที่ 4.3 XRD patterns ของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn หรือ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C กำหนดให้ H: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, W: CaSiO_3 , C: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Z: ZnO , A: Ag_2O

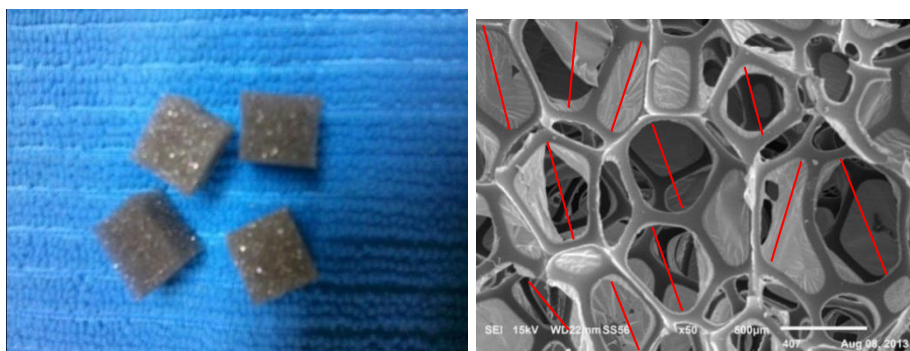
จากรูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของ AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือและที่เจือด้วย Zn และ Ag พบว่าตัวอย่างที่ปราศจากการเจือ (Undope) ปรากฏเฟสของ wollastonite (CaSiO_3), Hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) และ Whitlockite ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ส่วนตัวอย่างที่เจือด้วย 1 mol% Zn และ 5 mol% Zn จะปรากฏเฟส wollastonite (CaSiO_3), Hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) , Whitlockite ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และ Zincite (ZnO) โดยมีปริมาณมากขึ้นเมื่อมีการเจือด้วย Zn มาก ส่วนตัวอย่างที่เจือด้วย 1 mol% Ag พบว่ามีเฟสของ wollastonite (CaSiO_3), Hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), Whitlockite ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และ Silver Oxide (Ag_2O) เกิดขึ้นมาเล็กน้อย



รูปที่ 4.4 XRD patterns สำหรับ AW-GC Scaffold ที่เจือร่วมด้วย Zn และ Ag ผ่านการเผาที่ 900°C กำหนดให้ H: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, W: CaSiO_3 , C: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Z: ZnO , A: Ag_2O , Zn_3 : $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$

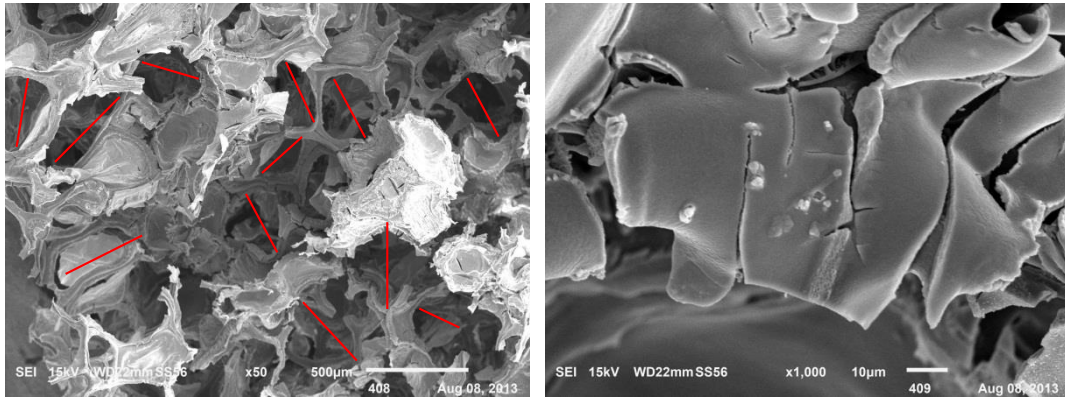
จากรูปที่ 4.4 แสดงสเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn1Ag5, Zn5Ag1 และ Zn5Ag5 ตามลำดับ พบว่าตัวอย่าง Zn1Ag5 (mol%) และ Zn5Ag1 (mol%) มีเฟสของ Wollastonite (CaSiO_3), Hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), Whitlockite ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), Zincite (ZnO) และ Silver Oxide (Ag_2O) ส่วนตัวอย่าง Zn5Ag5 (mol%) พบว่ามีเฟสของ Zinc Phosphate ($\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$) เพิ่มขึ้น

ผลการวิเคราะห์จุลโครงสร้างของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag ด้วยเทคนิค SEM

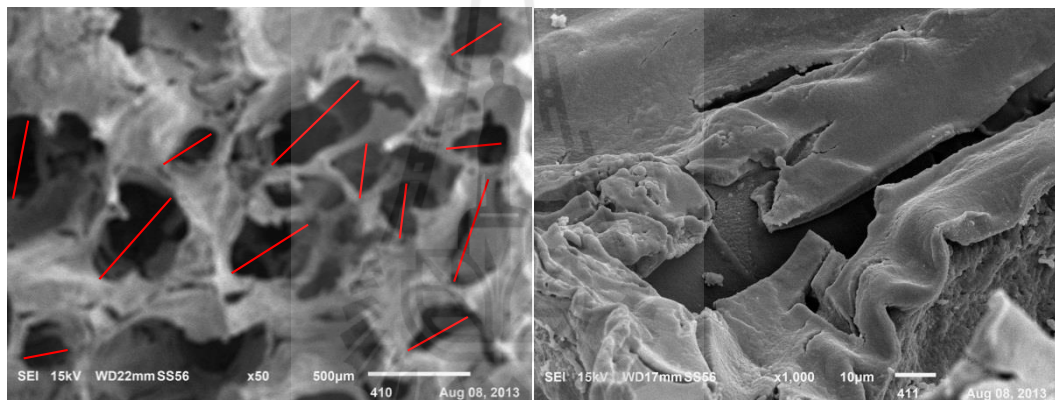


รูปที่ 4.5 โฟมและโครงสร้างของโฟมที่ใช้เป็นต้นแบบของ scaffold

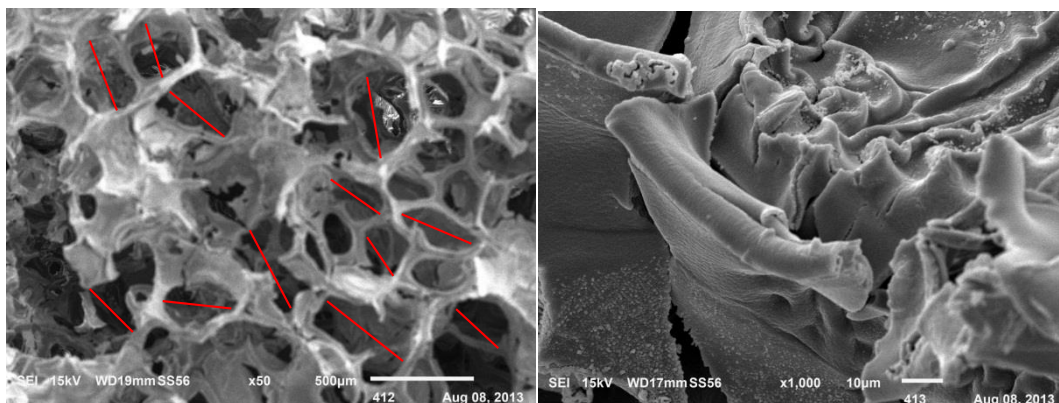
โครงสร้างจุลภาคของฟองน้ำ ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $567.57 \pm 93.24 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x



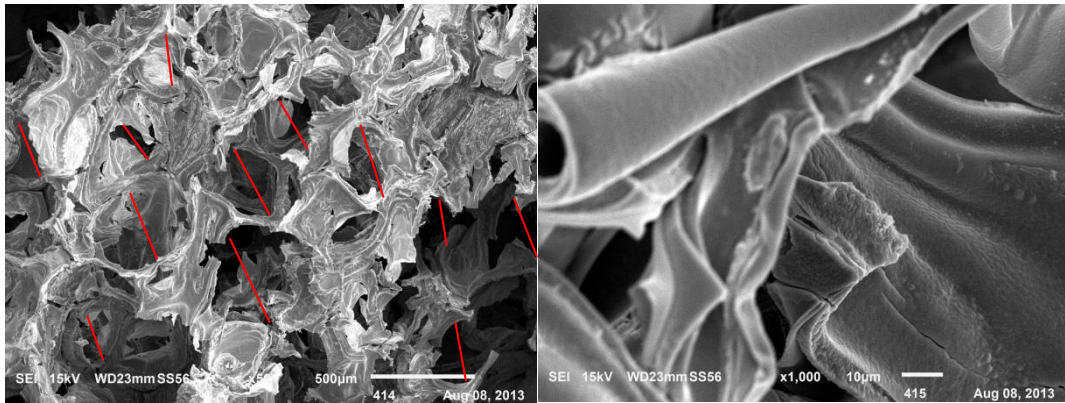
รูปที่ 4.6 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold $370.27 \pm 35.86 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



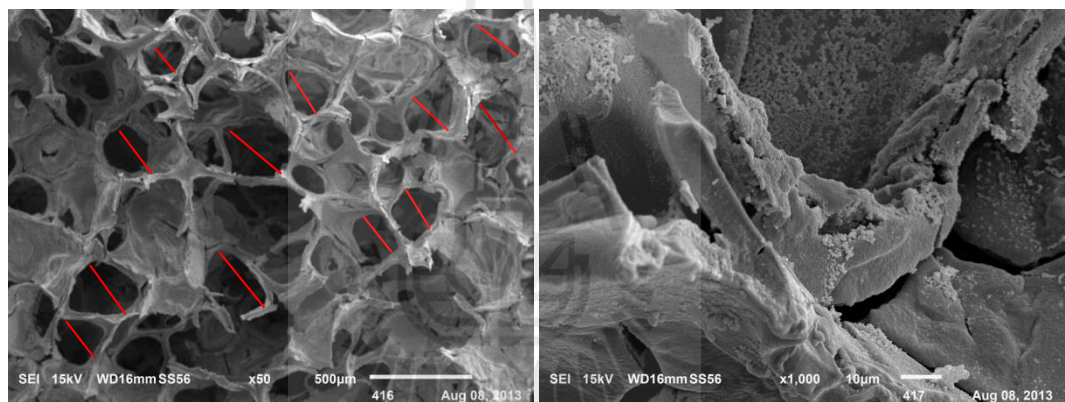
รูปที่ 4.7 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือ 1 mol% Zn ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $378.38 \pm 136.75 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



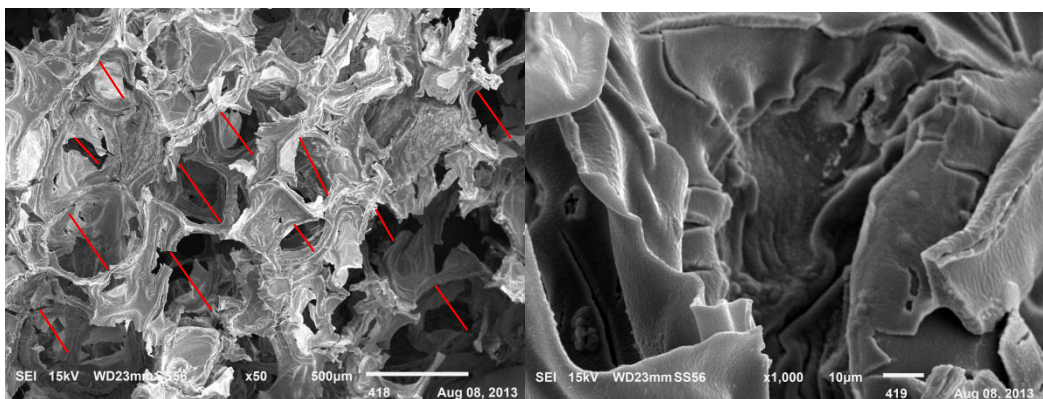
รูปที่ 4.8 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol% Zn ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $316.22 \pm 51 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



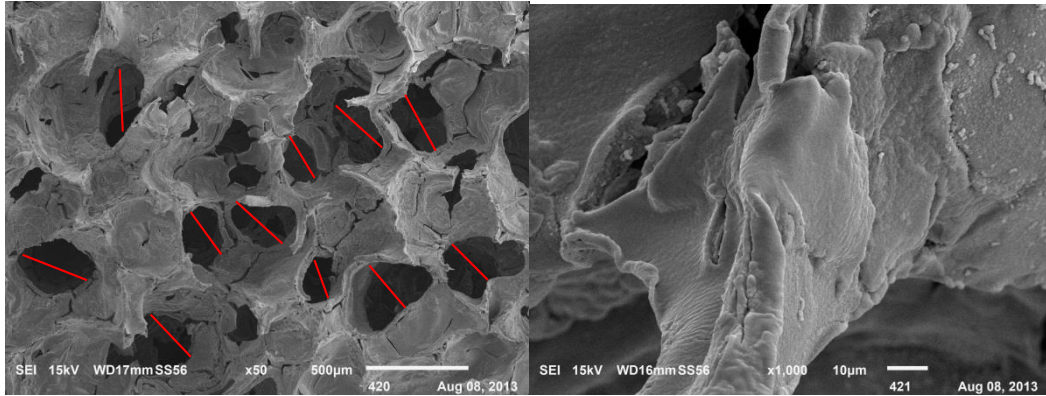
รูปที่ 4.9 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 1 mol%Ag ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $402.70 \pm 43.07 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



รูปที่ 4.10 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 1 mol% Zn 5 mol% Ag ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $300 \pm 33.54 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



รูปที่ 4.11 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5mol%Zn 1 mol%Ag ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $305.4 \pm 64.3 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x



รูปที่ 4.12 โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol%Zn 5 mol% Ag ขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ย $367.57 \pm 57.59 \mu\text{m}$ จากกำลังขยาย 50x และโครงสร้างพื้นผิว กำลังขยาย 1000x

โครงสร้างจุลภาคของโฟมต้นแบบที่จะนำมาใช้ในการทดลอง พบว่าขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ยคือ $567.57 \pm 93.24 \mu\text{m}$ ดังรูป 4.5 ซึ่งมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่ต้องการ เพราะรูพรุนที่ต้องการจะอยู่ในช่วง $100-500 \mu\text{m}$ เมื่อนำชิ้นงานมาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM เพื่อศึกษาโครงสร้างจุลภาคโดยใช้กำลังขยายที่ 50 และ 1000 เท่า ผลปรากฏว่า

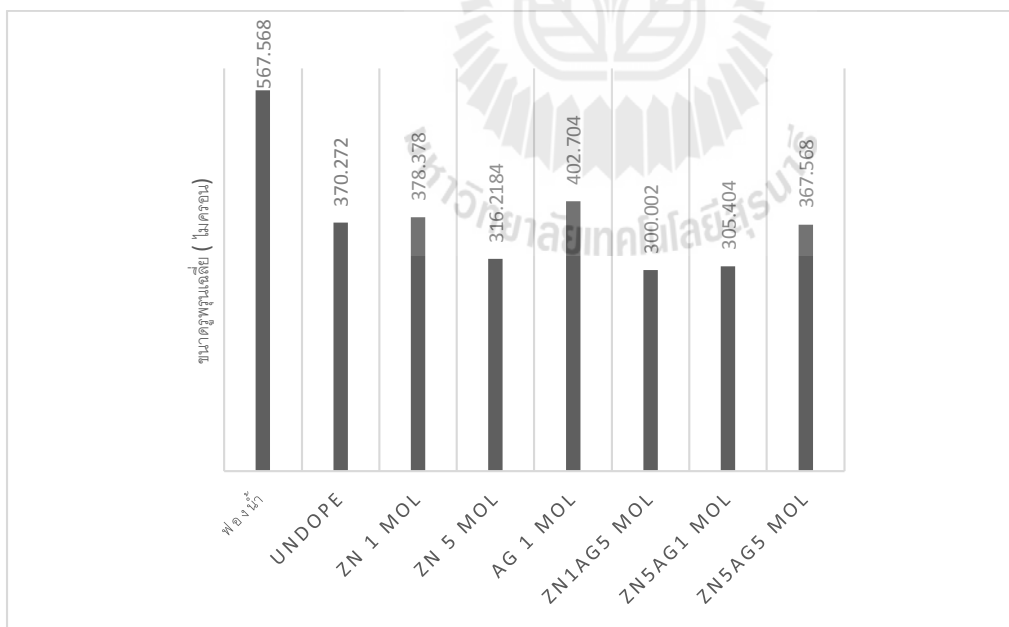
โครงสร้างจุลภาคของ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ พบว่าชิ้นงานมีขนาดรูพรุนโดยเฉลี่ยคือ $370.27 \pm 35.86 \mu\text{m}$ ซึ่งรูพรุนที่ได้มีขนาดลดลง เมื่อเทียบกับโครงสร้างรูพรุนของโฟมต้นแบบ ซึ่งรูพรุนนี้เกิดจากเจลเคลือบบนผนังของรูพรุนในโฟมต้นแบบโดยการชุบซ้ำ จึงทำให้เกิดความหนาของเจล และส่งผลต่อขนาดของโครงสร้างรูพรุน แต่เกิดการแตกหักไม่ยึดเกาะเป็นร่างแห ที่พื้นผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆ ดังรูป 4.6

รูปที่ 4.7 และ 4.8 แสดงโครงสร้างจุลภาคของ AW-GC เจือด้วย Zn 1 mol% และ AW-GC เจือด้วย Zn 5 mol% พบว่าขนาดรูพรุนโดยเฉลี่ยคือ $378.38 \pm 136.75 \mu\text{m}$ และ $316.22 \pm 51 \mu\text{m}$ ตามลำดับ ขนาดของรูพรุนทั้งสองตัวอย่างมีขนาดที่ลดลงเมื่อเทียบกับโครงสร้างรูพรุนของโฟมต้นแบบเช่นกัน การยึดเกาะของรูพรุนค่อนข้างดี ทำให้โครงสร้างรูพรุนมีความแข็งแรงขึ้น และที่ผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆ แต่มีในปริมาณที่น้อยกว่า เมื่อเทียบกับตัวอย่าง AW-GC ที่ปราศจากการเจือ

รูปที่ 4.9 แสดงโครงสร้างจุลภาคของ AW-GC ที่เจือด้วย Ag 1 mol% พบว่าขนาดรูพรุนโดยเฉลี่ยคือ $402.70 \pm 43.07 \mu\text{m}$ ขนาดของรูพรุนมีขนาดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับรูพรุนของโพนต้นแบบ แต่รูพรุนที่เกิดการแตกหัก ไม่ยึดเกาะทำให้โครงสร้างไม่แข็งแรง และที่ผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆ

รูปที่ 4.10 แสดงโครงสร้างจุลภาคของ AW-GC ที่เจือด้วย Zn 1 mol% and Ag 5 mol% พบว่าขนาดรูพรุนโดยเฉลี่ยคือ $300 \pm 33.54 \mu\text{m}$ ขึ้นตัวอย่างสุทธรมีขนาดรูพรุนที่เล็กกว่าสูตรอื่นๆและการยึดเกาะของรูพรุนค่อนข้างดีและมีในปริมาณที่มาก โครงสร้างรูพรุนค่อนข้างสมบูรณ์มีความแข็งแรง และที่ผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆในปริมาณที่น้อยกว่าสูตรอื่นๆ

รูปที่ 4.11 และ 4.12 แสดงโครงสร้างจุลภาคของ AW-GC ที่เจือด้วย Zn 5 mol% and Ag 1 mol% และ AW-GC ที่เจือด้วย Zn 5 mol% and Ag 5 mol% พบว่าขนาดรูพรุนโดยเฉลี่ยทั้ง 2 ตัวอย่างคือ $305.40 \pm 64.30 \mu\text{m}$ และ $367.57 \pm 57.59 \mu\text{m}$ ตามลำดับ รูพรุนที่เกิดการแตกหักไม่ยึดเกาะกัน และที่ผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆ โดยเฉพาะรูปที่ 4.11 มีการหลุดร่อนในปริมาณที่มาก อย่างไรก็ตาม โครงสร้างรูพรุนของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 5 mol% Ag มีการยึดเกาะที่ขอบของรูพรุนค่อนข้างแข็งแรง จึงควรมานำมาศึกษาต่อเพื่อทดสอบความแข็งแรงเชิงกล

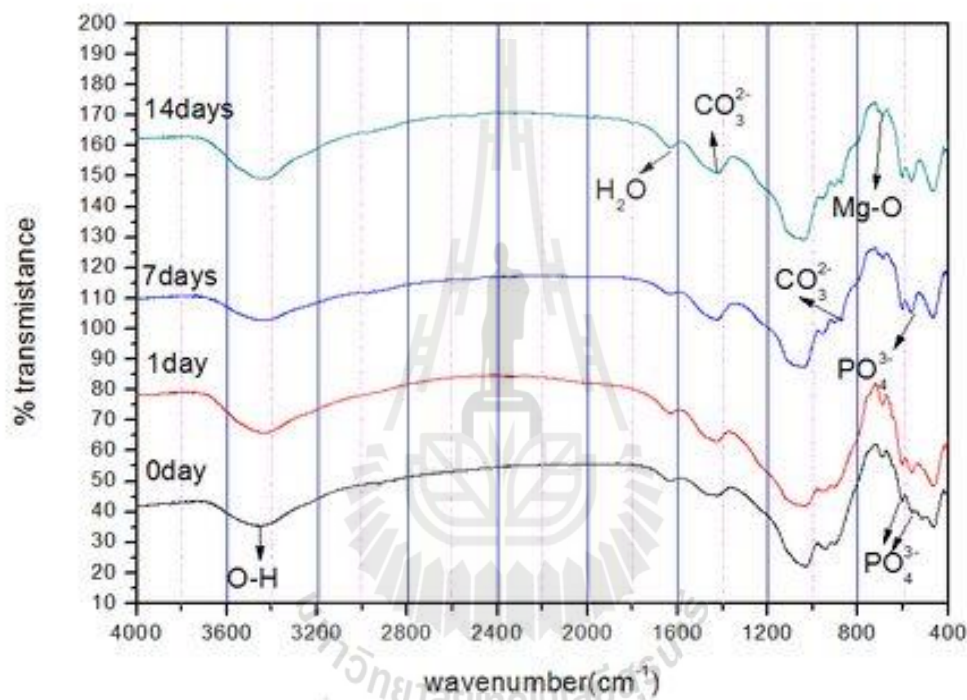


รูปที่ 4. 13 การเปรียบเทียบขนาดรูพรุนเฉลี่ยของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn และ Ag

จากรูปที่ 4.13 แสดงการเปรียบเทียบขนาดรูพรุนเฉลี่ยของชิ้นทดลอง AW-GC scaffold ที่ปราศจากการเจือ ตัวอย่างที่เจือด้วย Zn, Ag และเจือร่วมของ Ag และ Zn เมื่อเปรียบเทียบขนาดของรูพรุนโพนต้นแบบ

พบว่า ชั้นทดลองที่เตรียมได้โดย Foam replication มีขนาดของรูพรุนเล็กกลางและอยู่ในช่วง 300-400 ไมครอน ซึ่งเหมาะสมเพียงพอสำหรับการนำมาใช้งานเป็นโครงร่างยึดเกาะ (scaffold) โดยการเจือด้วย Zn และ Ag มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดรูพรุนเพียงเล็กน้อย

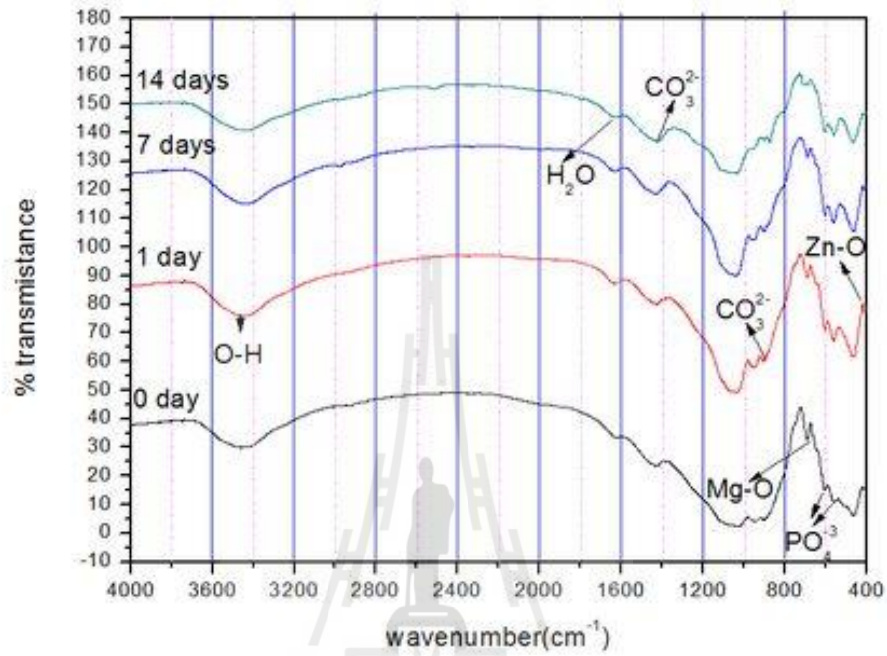
ผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy



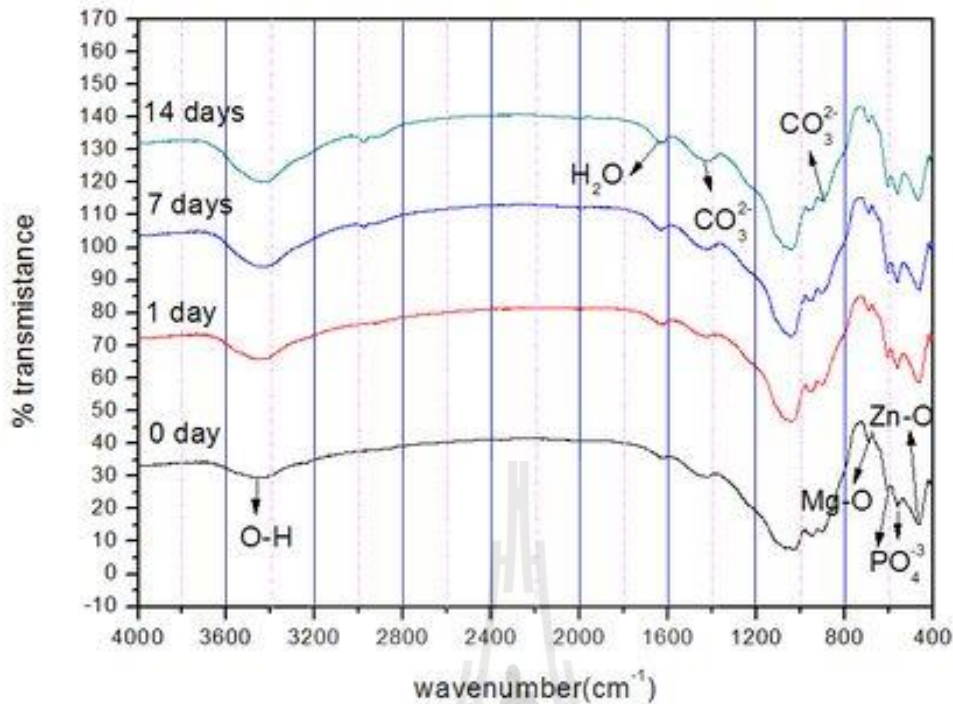
รูปที่ 4. 14 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ที่ 37 °C ในระยะเวลา 1, 7 และ 14 วัน

จากรูปที่ 4.14 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ หลังจากแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 1, 7 และ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชั้นทดสอบก่อนแช่ พบว่าเกิด peak PO_4^{3-} ที่ wavenumber 560-610 (cm^{-1}), พบ peak ของ CO_3^{2-} ที่ wavenumber 800-880 cm^{-1} และ 1400-1500 cm^{-1} อยู่ในโครงสร้าง และพบ peak Mg-O ที่ wavenumber 750-800 cm^{-1} หลังจากแช่ SBF ที่ 7 และ 14 วัน พบว่าความเข้มของ peak ของ PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} เพิ่มขึ้น และความเข้มของ peak ของ Mg-O ลดลง

ซึ่งแสดงให้เห็นว่า AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือมีสมบัติความว่องไวทางชีวภาพ (Bioactivity) ภายในเวลา 7 วัน

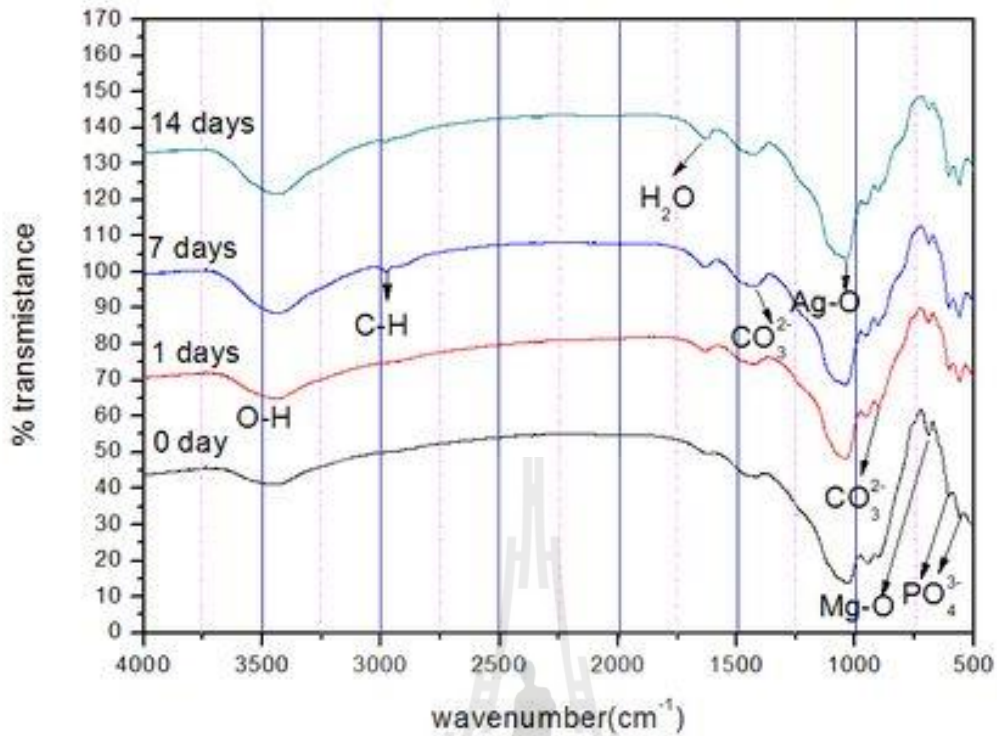


รูปที่ 4. 15 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 1 mol% Zn หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ



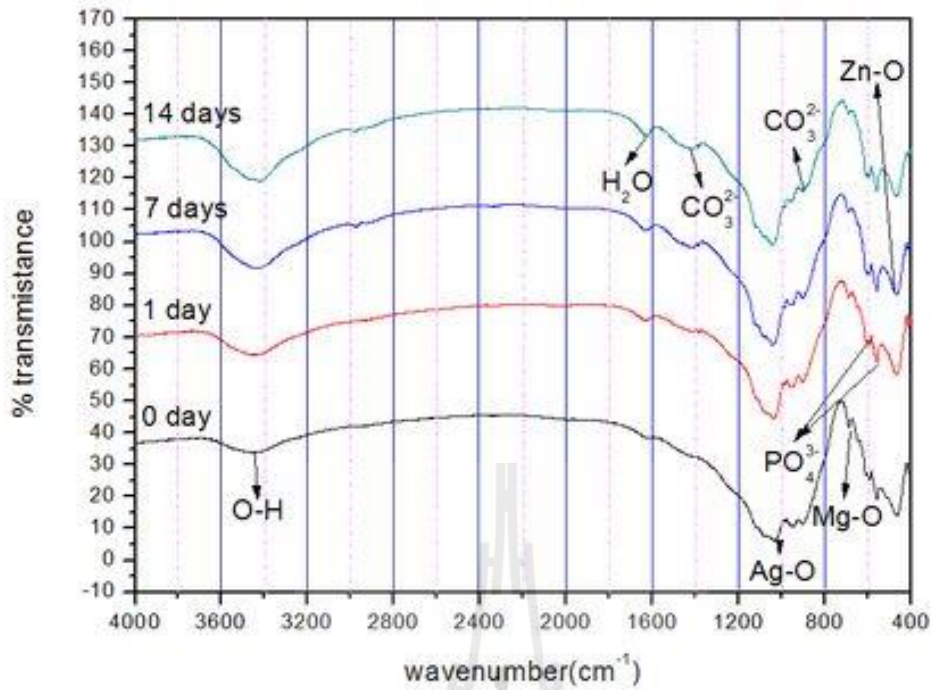
รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol% Zn หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.15 และ 4.16 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC ที่เติมด้วย 1 mol% Zn และ AW-GC ที่เติมด้วย 5 mol% Zn ตามลำดับ หลังจากแช่ในสารละลาย SBF 1, 7 และ 14 วัน พบว่าเกิด peak PO_4^{3-} ที่ wavenumber 560-610 (cm^{-1}), พบ peak ของ CO_3^{2-} ที่ wavenumber 800-880 cm^{-1} และ 1400-1500 cm^{-1} , พบ peak ของ Mg-O อยู่ในช่วง ที่ wavenumber 750-800 cm^{-1} และพบ peak ของ ZnO ที่ wavenumber 400-450 cm^{-1} อยู่ในโครงสร้าง จากการทดสอบหลังจากแช่สารละลาย SBF ที่เวลา 1, 7 และ 14 วัน พบว่าความเข้มของ peak PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} เพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองนี้แสดงว่า AW-GC ที่เติมด้วย 1 mol% Zn และ AW-GC ที่เติมด้วย 5 mol% Zn มีความว่องไวทางชีวภาพภายใน 1 วัน และสามารถเกิดขึ้นของ apatite ได้และมีความว่องไวทางชีวภาพดีกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ

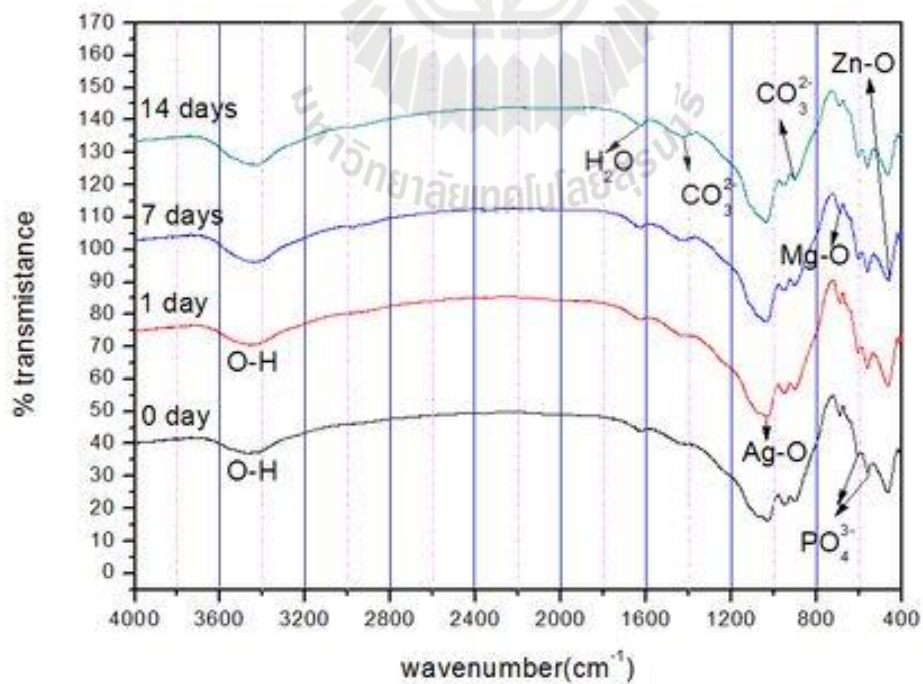


รูปที่ 4.17 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 1 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ

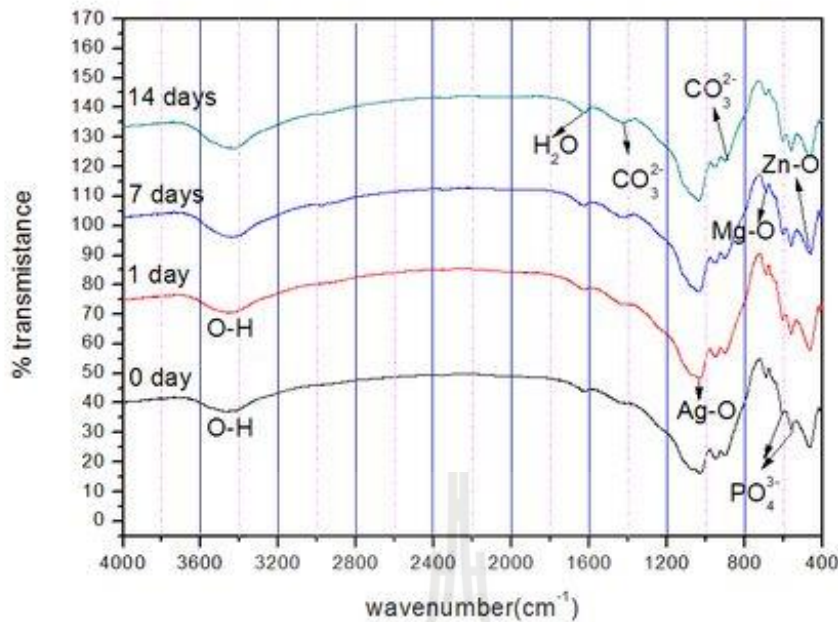
จากรูปที่ 4.17 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Ag พบว่าเกิด peak ของ PO_4^{3-} ที่ wavenumber 560-610 (cm^{-1}), พบ peak ของ CO_3^{2-} ที่ wavenumber 800-880 cm^{-1} และ 1400-1500 cm^{-1} , พบ peak ของ Ag-O ที่ wavenumber 1015-1084 cm^{-1} เมื่อทำการแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 1, 7 และ 14 วัน พบว่าความเข้มของ peak PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} มีเพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Ag มีความว่องไวทางชีวภาพ สามารถเกิดขึ้นของ Apatite ได้ภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF 1 วัน ซึ่งมีความว่องไวทางชีวภาพมากกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ



รูปที่ 4.18 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เติมด้วย 1 mol% Zn and 5 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.19 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol% Zn และ 1 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.20 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC scaffold ที่เจือด้วย 5 mol% Zn และ 5 mol% Ag หลังจากแช่ในสารละลาย SBF ในระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.18, 4.19 และ 4.20 สเปกตรัมการเลี้ยวเบนรังสีอินฟราเรดของ AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Zn และ 5 mol% Ag , AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 1 mol% Ag และ ของ AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 5 mol% Ag ตามลำดับ พบว่าเกิดพีทที่ 1035 และ 442 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีทของ Si-O-Si asymmetric stretch และ peak ของ PO_4^{3-} ที่ wavenumber $560-610$ cm^{-1} , พบ peak ของ CO_3^{2-} ที่ wavenumber $800-880$ cm^{-1} และ $1400-1500$ cm^{-1} ,พบ peak ของ Ag-O ที่ wavenumber $1015-1084$ (cm^{-1}) และพบ peak ของ ZnO ที่ wavenumber $400-450$ (cm^{-1}) (Shah, Brauer et al. 2015) อยู่ในโครงสร้าง และหลังจากแช่สารละลาย SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน พบว่าความเข้มของ peak PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} มีปริมาณเพิ่มขึ้น และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Zn และ 5 mol% Ag , AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 1 mol% Ag และ ของ AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 5 mol% Ag ซึ่งเป็นการเจือร่วมของ Ag และ Zn มีความว่องไวทางชีวภาพ สามารถเกิดขึ้นของ Apatite ได้ภายใน 1 วัน หลังจากแช่ในสารละลาย SBF และมีความว่องไวมากกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ

ผลการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาความว่องไวทางชีวภาพ

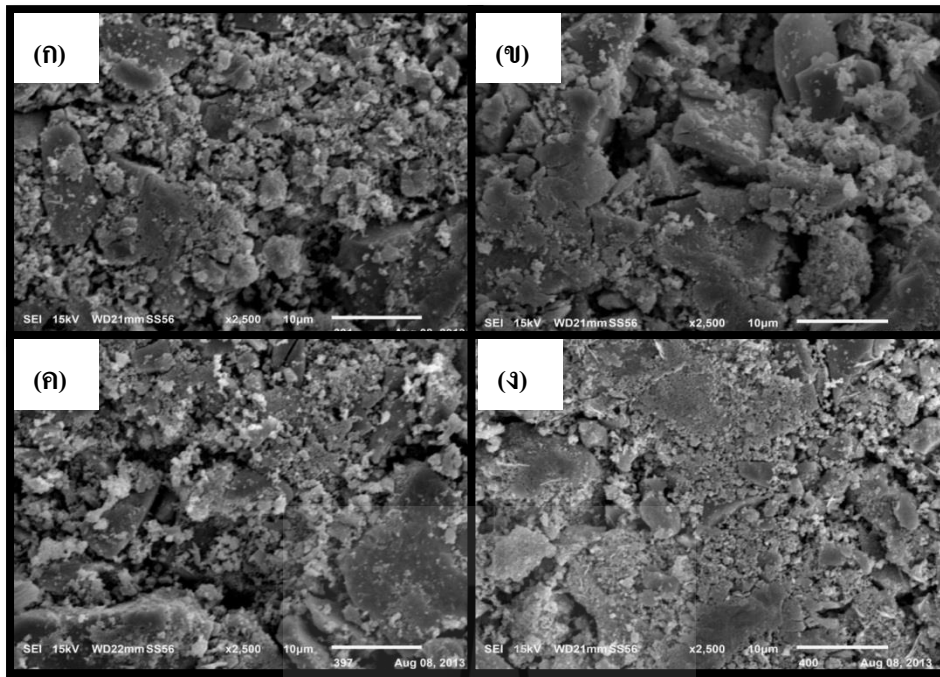
จากการศึกษาพฤติกรรมในหลอดแก้วของชิ้นงานทดลองในสารละลาย SBF ในช่วงเวลาต่าง ๆ ได้ผลการศึกษาโครงสร้างจุลภาคดังนี้

ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของ AW-GC ที่มีความแตกต่างของปริมาณการเจือซิงค์ก่อนแช่ในสารละลาย SBF มีลักษณะดังรูปที่ 4.21 พื้นผิวของชิ้นทดลองมีลักษณะเหมือนกัน

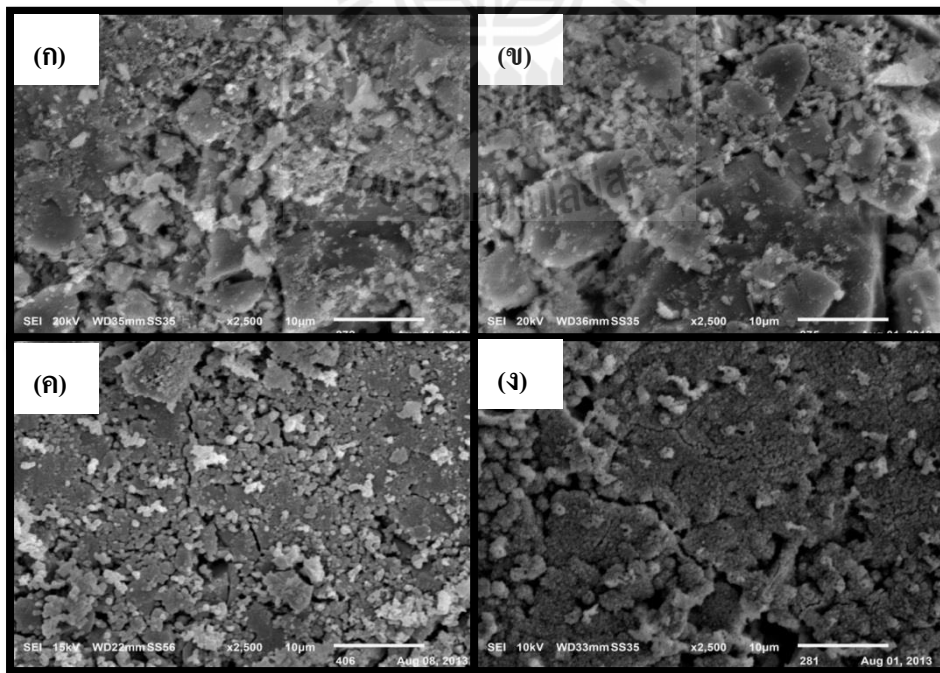
รูปที่ 4.22 เป็นผิวหน้าของชิ้นตัวอย่าง AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณต่างๆ ภายหลังจากแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 1 วัน จะเห็นว่าผิวหน้าของชิ้นตัวอย่างที่ปราศจากสารเจือ และตัวอย่างที่เจือด้วย 1 และ 3 mol% Zn ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ แต่ตัวอย่างที่การเจือด้วยซิงค์ 5 mol% เกิดการตกผลึกของ apatite ขนาดเล็กซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR (รูปที่ 4.22 ค และ ง)

รูปที่ 4.23 เป็นผิวหน้าของชิ้นงาน AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณต่างๆ ภายหลังจากแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 5 วัน จะเห็นว่าผิวหน้าของชิ้นงานทดลองที่ไม่มีการเจือซิงค์ และเจือด้วยซิงค์ 1 mol% ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก แต่เมื่อเจือด้วยซิงค์ 3 mol% ผิวหน้าของชิ้นงานทดลองการตกผลึกของชิ้น apatite อย่างชัดเจน (รูปที่ 4.23 ค) เช่นเดียวกับชิ้นงานทดลองที่เจือซิงค์ 5 mol% (รูปที่ 4.23 ง)

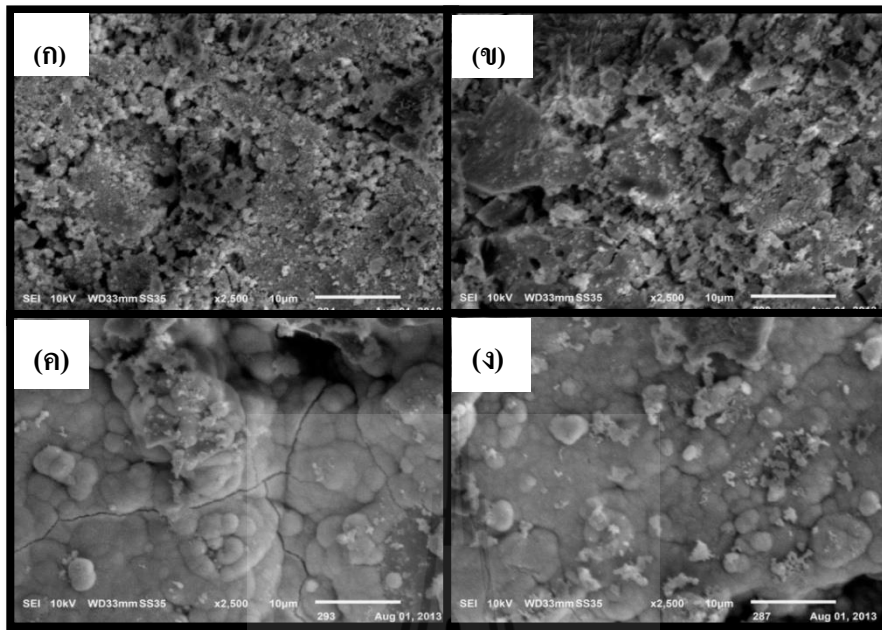
รูปที่ 4.24 เป็นผิวหน้าของชิ้นงาน AW-GC scaffold ที่เจือด้วย Zn ในปริมาณต่างๆ ภายหลังจากแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 7 วัน จะเห็นว่าผิวหน้าของชิ้นงานทดลองที่ไม่มีการเจือซิงค์ ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ชิ้นงานทดลองที่เจือซิงค์ 1 mol% บริเวณผิวหน้าของชิ้นงานมีผลึกของ apatite เกิดขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 4.24 ข.) เช่นเดียวกับชิ้นงานที่มีการเจือซิงค์ 3 และ 5 mol% ผิวหน้าชิ้นงานเกิดผลึกของ apatite อย่างหนาแน่น



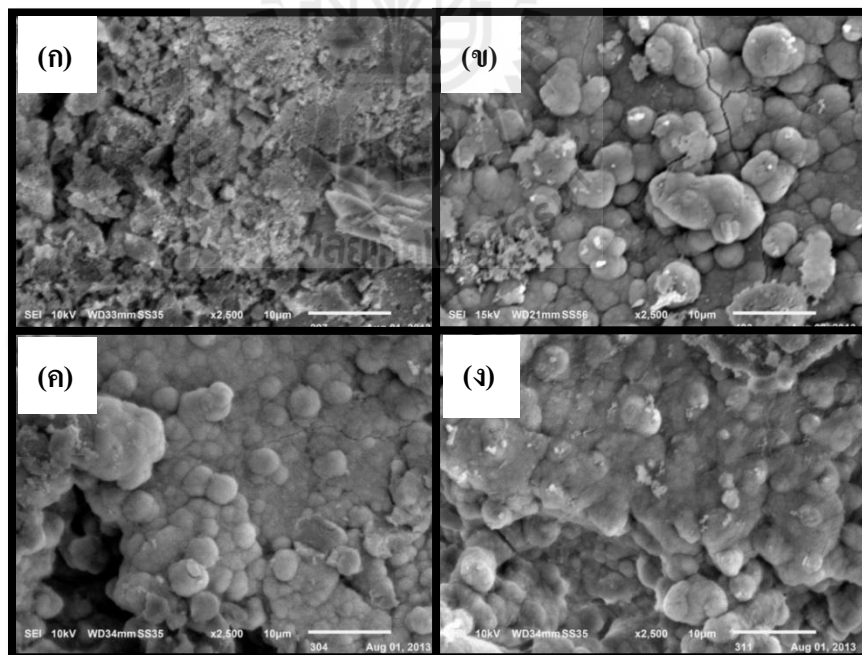
รูปที่ 4.21 ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC ก่อนแช่ SBF (ก) ปราศจากสารเจือ, (ข) เจือ 1 mol % Zn, (ค) เจือ 3 mol% Zn, (ง) เจือ 5 mol% Zn



รูปที่ 4.22 ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC ที่ผ่านการแช่ SBF เป็นเวลา 1 วัน (ก) ปราศจากสารเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) เจือ 3 mol% Zn, (ง) เจือ 5 mol% Zn



รูปที่ 4.23 ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC ที่ผ่านการแช่ SBF เป็นเวลา 5 วัน (ก) ปราศจากสารเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) เจือ 3 mol% Zn, (ง) เจือ 5 mol% Zn



รูปที่ 4.24 ภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยาย 2500 พื้นผิวของ AW-GC ที่ผ่านการแช่ SBF เป็นเวลา 7 วัน (ก) ปราศจากสารเจือ, (ข) เจือ 1 mol% Zn, (ค) เจือ 3 mol% Zn, (ง) เจือ 5 mol% Zn

4.4 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลกระทบของการเจือด้วยซิงค์และซิลเวอร์ใน apatite wollastonite glass ceramic โดยการเตรียมด้วยวิธีโซล-เจล และการนำเจลไปชุบโฟมต้นแบบ เมื่อนำชิ้นงานไปเผาที่อุณหภูมิ 900°C พบว่า ชิ้นทดลองมีรูปร่างเหมือนโฟมต้นแบบ แต่มีขนาดของรูพรุนเล็กกว่าโฟมต้นแบบ โดยมีขนาดรูพรุนอยู่ในช่วง 300-400 ไมครอน นอกจากนี้ชิ้นทดลอง 2 สูตรคือ สูตร Zn1Ag5 mol% และ Zn5Ag5 mol% มีสีดำเนื่องจาก มีการเจือด้วยซิลเวอร์ในปริมาณมากถึง 5 mol% จากการทดลองนำมาแช่ในสารละลาย SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน เมื่อนำชิ้นตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD, SEM และ FTIR พบว่า

1. ชิ้นตัวอย่าง Undope จากการวิเคราะห์ XRD พบว่า มีเฟสของ wollastonite(CaSiO_3), Hydroxyapatite($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) และ Whitlockite($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) จากการวิเคราะห์ด้วย SEM พบว่า ชิ้นตัวอย่างมีรูพรุนที่มีขนาดลดลงและเกิดการแตกหักไม่ยึดเกาะเป็นร่างแห ที่พื้นผิวของชิ้นงานเกิดการหลุดร่อนเป็นแผ่นบางๆ และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR พบว่าหลังจากในสารละลาย SBF 1, 7 และ 14 วัน พบว่าเกิด peak PO_4^{3-} ที่ wavenumber 560-610 (cm^{-1}), พบ peak ของ CO_3^{2-} ที่ wavenumber 800-880 cm^{-1} และ 1400-1500 cm^{-1} อยู่ในโครงสร้าง และพบ peak Mg-O ที่ wavenumber 750-800 cm^{-1} หลังจากแช่ SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน พบว่าความเข้มของ peak PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} มีเพิ่มมากขึ้น สามารถเกิดขึ้นของ Apatite ได้ภายใน 7 วัน
2. ชิ้นตัวอย่างเติม 1 mol% Zn และ 5 mol% Zn จากการวิเคราะห์ด้วย XRD พบว่าสูตร 1 mol% Zn และ 5 mol% Zn ปรากฏเฟสของ Zincite (ZnO) เพิ่มขึ้นมา ซึ่ง 1 mol% Zn จะมีเฟสของ Zincite(ZnO) เพียงเล็กน้อย จากการวิเคราะห์ด้วย SEM พบว่า ที่เติมด้วยซิงค์จะได้ขนาดรูพรุนและการยึดเกาะที่ดีกว่าเติมด้วยซิลเวอร์ และจากการวิเคราะห์ด้วย FTIR พบว่าหลังจากที่แช่สารละลาย SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน จะเกิด peak ของซิงค์ ที่ wavenumber 400-550 cm^{-1} และ 5 mol% Zn จะมีการสมบัติของ Bioactive glass ceramic มากกว่า 1 mol% Zn
3. ชิ้นตัวอย่างเจือด้วย 1 mol% Ag จากการวิเคราะห์ด้วย XRD พบว่ามีเฟสของ Silver Oxide (Ag_2O) เกิดขึ้นมา เพียงเล็กน้อย จากการวิเคราะห์ด้วย SEM พบว่าการเจือด้วยซิลเวอร์ ทำให้ชิ้นตัวอย่างมีขนาดรูพรุนที่เล็กลงเมื่อเทียบกับขนาดรูพรุนของโฟมต้นแบบ มีการยึดเกาะกันน้อยกว่าตัวอย่าง 1 mol% Zn จึงทำให้เปราะแตกหักง่ายมาก และจากการวิเคราะห์ด้วย FTIR พบว่าหลังจากที่แช่สารละลาย SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน จะเกิด peak ของซิลเวอร์ ที่ wavenumber 1000-1084 cm^{-1} และเกิดความเข้มของ peak PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} มากขึ้นตามระยะเวลาในการแช่ในสารละลาย SBF

แสดงให้เห็นว่า AW-GC ที่เจือด้วย 1mol% Ag มีสมบัติ Bioactivity ดีกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ

4. ขึ้นตัวอย่างเดิม 1 mol% Zn and 5 mol% Ag , 5 mol% Zn and 1 mol% Ag , และตัวอย่าง 5 mol% Zn and 5 mol% Ag เมื่อวิเคราะห์ด้วย XRD พบว่า มี Zincite (ZnO) และ Silver Oxide (Ag_2O) และสูตร 5mol%Zn 5mol%Ag พบว่ามีเฟสของ Zinc Phosphate($Zn_3(PO_4)_2$) เพิ่มขึ้นมา โดยขึ้นตัวอย่างทุกสูตรจะพบเฟสของ wollastonite ($CaSiO_3$), Hydroxyapatite($Ca_5(PO_4)_3(OH)$) เป็นจำนวนมาก จากการวิเคราะห์ด้วย SEM พบว่า เมื่อทำการเจือซึ่งคร้ร่วมกับซิลเวอร์ลงไปพบว่า ขนาดรูพรุนเล็กลง การยึดเกาะดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ Undope และจากการวิเคราะห์ด้วย FTIR พบว่าหลังจากที่แช่สารละลาย SBF ที่ 1, 7 และ 14 วัน scaffold มีคุณสมบัติด้าน Bioactivity โดยจะเห็น peak ของ PO_4^{3-} และ CO_3^{2-} เด่นชัดมากขึ้นตามระยะเวลาการแช่ในสารละลาย SBF ซึ่ง wavenumber ของ PO_4^{3-} อยู่ในช่วง $560-610\text{ cm}^{-1}$ และ wavenumber ของ CO_3^{2-} อยู่ในช่วง $800-880\text{ cm}^{-1}$ และ $1400-1500\text{ cm}^{-1}$ เด่นชัดขึ้น ซึ่งแสดงว่า AW-GC ที่เจือรวม Ag และ Zn มีสมบัติด้านความว่องไวทางชีวภาพดีกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ

บทที่ 5

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ของโครงยัดเกาะ AW-GC

ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag

5.1 บทนำ

จากผลการทดลองในบทที่ 3-4 โครงยัดเกาะ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag สามารถเตรียมได้โดยกระบวนการ Sol-gel ในบทนี้จะเป็นการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ด้วยวิธี MTT assay โดยเลือกเซลล์ HepG2 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งมาทดสอบความเป็นพิษในงานวิจัยนี้ เนื่องจากเซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่เพาะเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตได้เร็ว และใช้เวลาในการศึกษาสั้น นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดด้วยเรื่องงบประมาณและระยะเวลาในการทดสอบ อย่างไรก็ตามการทดสอบด้วยเซลล์มะเร็งยังสามารถใช้ทดสอบผลของการกำจัดหรือการทำลายเซลล์มะเร็งสำหรับตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย Ag ได้อีกด้วย ในการทดสอบความเป็นพิษนี้มีตัวอย่างที่ทดสอบ 7 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 องค์ประกอบทางเคมีของโครงยัดเกาะเซลล์ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag

Compound	SiO ₂ (%wt)	CaO (%wt)	P ₂ O ₅ (%wt)	MgO (%wt)	CaF ₂ (%wt)	ZnO (%wt)	Ag ₂ O (%wt)
Undope	34.2%	44.9%	16.3%	4.6%	0.5%	-	-
1Zn	34.06%	43.82%	16.23%	4.58%	0.49%	1.30%	-
5Zn	33.52%	39.60%	15.98%	4.51%	0.49%	6.40%	-
1Ag	33.83%	43.53%	16.13%	4.55%	0.49%	-	1.97%
1Zn5Ag	33.17%	38.31%	15.81%	4.46%	0.48%	6.34%	1.93%
5Zn1Ag	32.32%	37.33%	15.40%	4.35%	0.47%	1.23%	9.39%
5Zn5Ag	31.83%	33.41%	15.17%	4.28%	0.47%	6.08%	9.25%

เมื่อ Undope คือ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ

1 Zn คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn ปริมาณ 1 mol%

5 Zn คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn ปริมาณ 5 mol%

1 Ag คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Ag ปริมาณ 1 mol%

1Zn5Ag คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn ปริมาณ 1 mol% และ Ag ปริมาณ 5 mol%

5Zn1Ag คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn ปริมาณ 5 mol% และ Ag 1 mol%

5Zn5Ag คือ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn ปริมาณ 5 mol% และ Ag 5 mol%

5.2 วิธีดำเนินการทดสอบ MTT assay [Nezafati N. et al, 2013]

สารเคมีและสารละลายที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์

1. Dulbecco modified Eagle medium⁹ (DMEM; Gibco-BRL, life Technologies, Grand Island, NY)
2. Fetal bovine serum (FBS)
3. Penicillin-streptomycin
4. MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2yl]-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) assay
5. Dimethylsulfoxide (DMSO)
6. Phosphate buffered saline (PBS)

HepG2 cell culture ได้นำมาเลี้ยงใน 6-well plate ด้วยสาร medium ที่ประกอบด้วย 98% Dulbecco's modified Eagle Medium (DMEM), 10% Fetal Bovine Serum (FSB), 1% Penicillin streptomycin และ 1% L-glutamine การเลี้ยงเซลล์จะทำในตู้บ่มที่มี 5% CO₂ ที่ 37 °C สาร medium นี้จะเปลี่ยนทุกๆ 48-72 ชั่วโมง

ขั้นตอน HepG2 cell passage

1. หลังจากเลี้ยงเซลล์ใน 5% CO₂ ที่ 37°C แล้วถ่าย Medium ออกและล้าง monolayer ด้วย 750µl 1x Phosphate Buffer Saline (PBS) ที่ pH 7.4

2. ถ่าย PBS ออกแล้วเติม 750 μl ของ 0.25% trypsin EDTA solution และเลี้ยงที่ 37°C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อกำจัดเซลล์ออกจากผิว
3. หลังจากนั้นเติม 750 μl ของ Complete medium เพื่อ inactivated trypsin นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในหลอด centrifuge
4. นำส่วนผสมไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 1200 rpm เป็นเวลา 5 นาที
5. หลังจากเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ถ่ายสารละลายออก เติม complete medium อีกครั้ง และทำให้เซลล์กระจายตัวโดยการใช้ปิเปตดูดเข้าออก
6. เติมเซลล์ลงใน well และเลี้ยงต่อไป ใน 5% CO₂ ที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การทดสอบการมีชีวิตของเซลล์วิเคราะห์ด้วย MTT (3-{4,5-dimethylthiazol-2-yl}-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) assay เป็นเวลา 3 วัน

1. เตรียมสารละลาย MTT solution 0.5 mg/ml ด้วยผง MTT ใน PBS ที่อุณหภูมิ 37°C
2. เตรียมตัวอย่างโดยการนำมาบดเป็นผงละเอียดและร่อนผ่าน 325 เมช
3. นำตัวอย่างมาผ่านการฆ่าเชื้อโรคใน Autoclave ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที
4. นำตัวอย่างใส่ใน medium โดยใช้สัดส่วนผงตัวอย่างต่อ medium เท่ากับ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 mg/ml และเก็บที่ 37°C ในบรรยากาศ 5% CO₂ และ 95% air เป็นเวลา 3 วัน
5. หลังจากครบ 3 วัน นำออกจาก incubation และนำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกเอาตัวอย่างออกจากสารที่สกัดได้ ดังรูปที่ 6.1
6. เติมเซลล์ 1 x 10⁴ cells/well และเลี้ยงใน 96- well และเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ครบ 24 ชั่วโมง ดูด medium ออกและเติมสารสกัดปริมาณ 100 μl แทน จากนั้นเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 37 °C ในบรรยากาศ 5% CO₂
8. เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เปลี่ยนถ่าย medium ออกแล้วเติม 100 μl 0.5 mg/ml MTT solution และเลี้ยงต่อไปอีก 4 ชั่วโมงที่ 37°C
9. เมื่อครบ 4 ชม. เปลี่ยนถ่าย medium MTT solution และแทนที่ด้วย 100 μl of DMSO ที่ทิ้งไว้ 5 นาที ดังรูปที่ 6.2

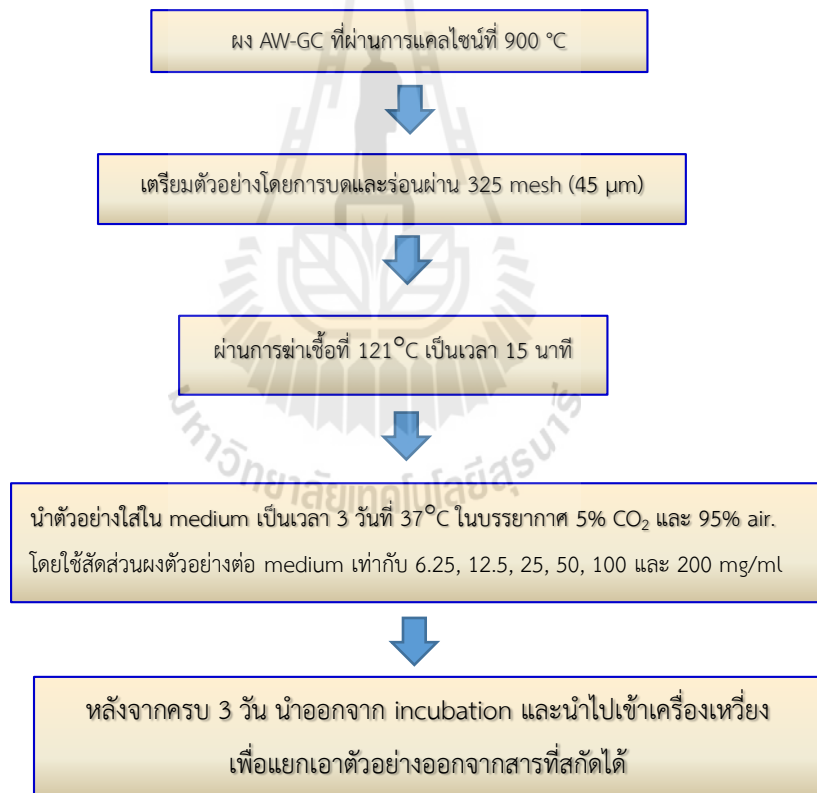
10. นำไปวัดค่า optical density (OD) ที่ 590 nm ด้วย microplate reader รุ่น Benchmark plus ยี่ห้อ Bio Rad
11. คำนวณหา The percentage of viable cells ดังสมการข้างล่างนี้

$$\% \text{ Cell Inhibition} = \frac{\text{O.D.value (Control cell)} - \text{O.D.value (treated cells)}}{\text{O.D.value (Control cell)}} \times 100 \quad (1)$$

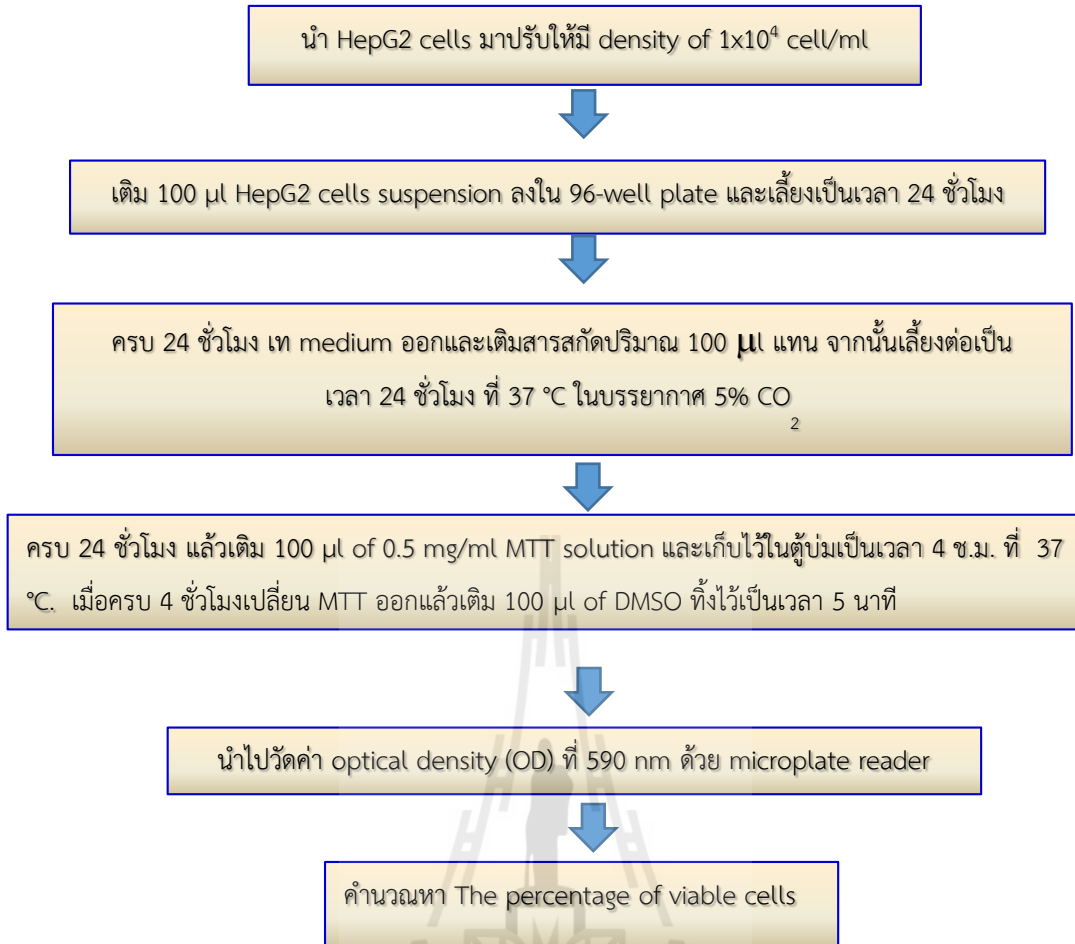
$$\% \text{ Cell viability} = 100 - \% \text{ Cell Inhibition} \quad (2)$$

เมื่อ O.D. Value (Control cell) คือ ค่า optical density ของ เซลล์ control

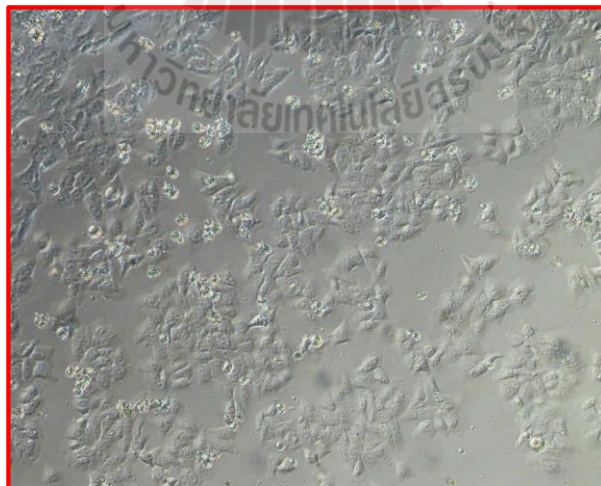
O.D. value (treated cells) คือ ค่า optical density ของเซลล์ที่มีตัวอย่าง



รูปที่ 5.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบ MTT Assay



รูป 5.2 การทดสอบ MTT assay



รูป 5.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ HepG2 cell

5.3 ผลการทดสอบ

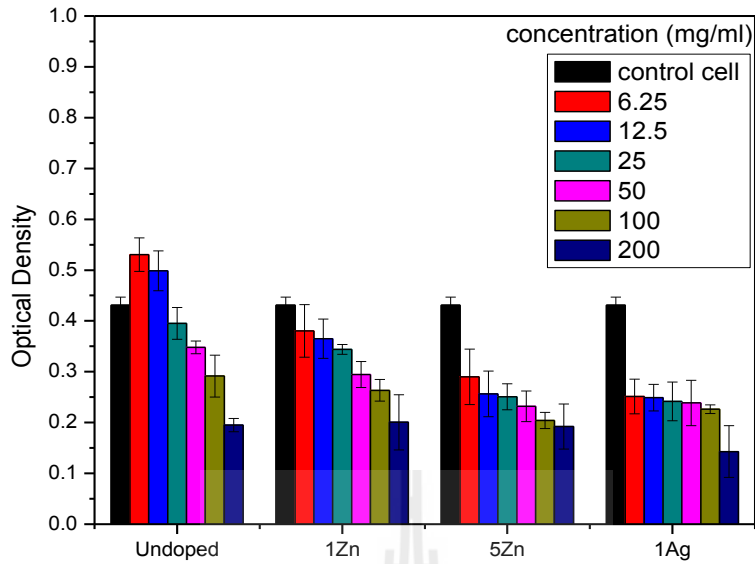
ผลการทดสอบพบว่าเมื่อวัดค่า O.D. และคำนวณค่า cell inhibition และ Cell viability ของตัวอย่างพบว่าเมื่อความเข้มข้นของผงตัวอย่างต่อสารละลาย medium สูงขึ้น ค่าความเป็นพิษจะมีค่าสูงขึ้น ดังตาราง 5.2 แสดงค่าดัชนีสำหรับการวิเคราะห์ Cytotoxicity test โดยดูจากค่า Confluency ซึ่งเป็นค่าที่บอก % cell viability และจากค่า % cell viability สามารถเทียบเป็นค่าทดสอบความเป็นพิษได้ดังตารางที่ 5.3

ตาราง 5.2 มาตรฐานผลการทดสอบ cytotoxicity [Gomes M.E. et al, 2001]

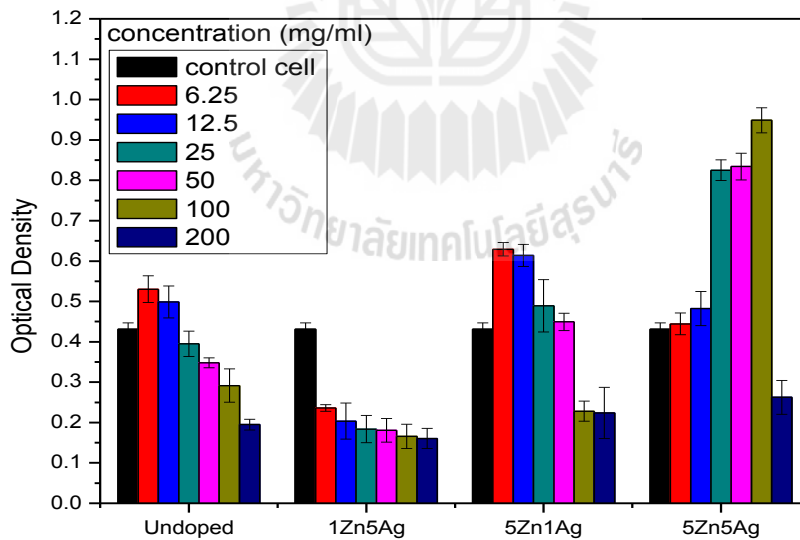
Score	Confluency	Floating cells	Change of cellular morphology	Inhibition of cell growth
0	100%	0%	No changes during test period	0-10%
1	90-100%	0-5%	Slight changes, few cells affected	10-30%
2	60-90%	5-10%	Mild changes, some cells round/spindle shaped	30-50%
3	30-60%	10-20%	Moderate changes, many cells round/spindle shaped	50-70%
4	0-30%	> 20%	Severe changes, about all cells show morphological changes	70-100%

ตาราง 5.3 ค่า Cytotoxicity index [Gomes M.E. et al, 2001]

Cytotoxicity index	Reactivity
0-1	none
1-3	slightly toxic
3-5	mildly toxic
5-7	moderately toxic
7-8	severely toxic



รูปที่ 5.4 อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn, 5Zn และ 1Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay



รูปที่ 5.5 อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn5Ag, 5Zn1Ag และ 5Zn5Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay

จากรูป 5.4 แสดงค่า O.D. ของตัวอย่างเปรียบเทียบกับ Control cell พบว่าตัวอย่าง AW-GC ที่ปราศจากสารเจือมีการเกิดเซลล์เพิ่มจำนวนขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 6.25 และ 12.5 mg/ml และเมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 12.5 mg/ml เริ่มแสดงความเป็นพิษ อย่างไรก็ตามค่า O.D. ของตัวอย่างที่เจือ 1 mol% Zn, 5 mol% Zn และ 1 mol% Ag แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเซลล์มีจำนวนลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม

จากรูป 5.5 แสดงค่า O.D. ของตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Zn 5 mol% Ag, 5 mol% Zn 1 mol% Ag และ 5 mol% Zn 5 mol% Ag เปรียบเทียบกับ control ซึ่งพบว่าตัวอย่าง AW-GC เจือด้วย 1 mol% Zn 5 mol% Ag มีการลดจำนวนของเซลล์ แต่ผลการทดลองของตัวอย่าง 5 mol% Zn 1 mol% Ag และ 5 mol% Zn 5 mol% Ag พบว่าเซลล์มีจำนวนมากขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือและตัว Control อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นสูงถึง 200 mg/ml จะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ได้

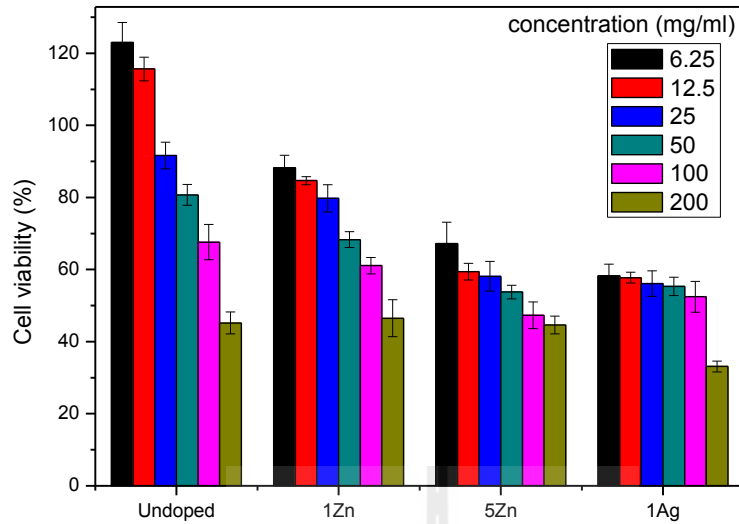
ในการทดสอบ Cytotoxicity พบว่า ตัวอย่าง AW-GC ที่ไม่เติมสารเจือ ไม่มีความเป็นพิษในระดับความเข้มข้น 6.25 และ 12.5 mg/ml และพบว่าเซลล์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Cell proliferation) แต่เมื่อระดับความเข้มข้นสูงขึ้นไป จะเริ่มมีความเป็นพิษระดับ 2 และ 3 จัดได้ว่าเป็นพิษเล็กน้อยถึงปานกลาง ดังรูป 5.6

ตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย 1 mol% Zn พบว่ามีความเป็นพิษในระดับ 2 ด้วยระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 6.25 mg/ml จัดได้ว่ามีความเป็นพิษเล็กน้อย (รูป 5.6)

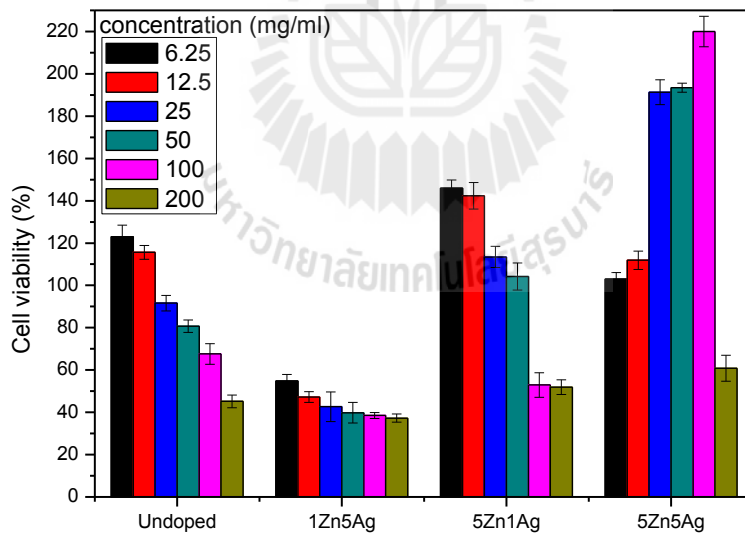
ตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn และ 1 mol% Ag พบว่า มีความเป็นพิษในระดับ 3 จัดได้ว่ามีความเป็นพิษปานกลางในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 6.25 mg/ml ทั้งนี้จากผลการวิเคราะห์ด้วย XRD ในบทที่ 4 พบว่ามีการเกิดเฟสของ ZnO และ Silver oxide ซึ่งอาจทำให้มีการสลายตัวของ Zn และ Ag ions ในระดับที่สูงและเป็นพิษต่อเซลล์ (รูป 5.6)

ตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 1 mol% Ag พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์และ Cell proliferation ที่ระดับความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25 และ 50 mg/ml แต่เริ่มพบความเป็นพิษระดับ 2 ในระดับความเข้มข้นของสาร 100 และ 200 mg/ml ดังรูป 5.7

ตัวอย่าง AW-GC ที่เจือด้วย 5 mol% Zn 5 mol% Ag พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์และ Cell proliferation ซึ่งเซลล์มีการเจริญและเพิ่มจำนวนมาก แต่เมื่อความเข้มข้นสูงถึง 200 mg/ml พบว่าเริ่มมีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังรูป 5.7



รูปที่ 5.6 เปอร์เซนต์การมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn, 5Zn และ 1Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay



รูปที่ 5.7 เปอร์เซนต์การมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability) ของ AW-GC และ AW-GC ที่เจือด้วย 1Zn5Ag, 5Zn1Ag และ 5Zn5Ag โดย HepG2 cell ด้วยวิธี MTT assay

จากผลการทดสอบนี้สามารถบ่งบอกว่า การเจือด้วย Zn หรือ Ag ใน AW-GC ในปริมาณ 1 mol% ขึ้นไป จะพบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังงานวิจัย V. Aina และคณะ ปี 2007 รายงานว่าการเติม Zn ใน 45S5

ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ MG-63 osteoblasts แต่เมื่อเติมสารเจือร่วมระหว่าง Zn และ Ag ใน AW-GC พบว่ามีเฟสที่ปรากฏคือ $Zn_3(PO_4)_2$ หรือ Zinc phosphate ซึ่งเป็นวัสดุที่ใช้ในการทำซีเมนต์สำหรับงานทันตกรรม และมีผลการวิจัยที่พบว่าไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์และมีสมบัติด้าน bioactivity ที่ดีกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ ดังที่ได้อธิบายไว้ในบทที่ 4

5.4 บทสรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาและทดลองเตรียม AW-GC scaffold ที่ปราศจากสารเจือ และเติมสารเจือ Zn และ Ag ในปริมาณความเข้มข้น 1 และ 5 mol% นอกจากนี้ยังเจือร่วมระหว่าง Zn และ Ag โดยวิธีการเตรียมด้วยกระบวนการโซลเจล และขึ้นรูปเป็นโครงสร้างยึดเกาะ (scaffold) ด้วยการชุบโพลีเมอร์ต้นแบบและการเทหล่อ ซึ่งในการทดลองนี้ได้พัฒนาการทดลอง 4 การทดลอง โดยหาสภาวะในการเตรียมเจลให้มีความเหมาะสมในการขึ้นรูปโดยการชุบโพลีเมอร์ จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการปรับปรุงความหนืดและการเกิดเจลของสารโซลเจล โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมเจลคือ ที่ $35^{\circ}C$ และควรชุบโพลีเมอร์โดยจุ่มแช่โพลีเมอร์ต้นแบบไว้ในเจลให้นานพอ เพื่อให้เจลเข้าติดกับโพลีเมอร์ต้นแบบอย่างสมบูรณ์ หลังจากนั้นบีบเจลที่เหลือออกแล้วนำไปตากที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ก่อนจะเริ่มชุบโพลีเมอร์ซ้ำใหม่ จำนวนการชุบซ้ำมีผลต่อความแข็งแรงของชิ้นตัวอย่างหลังเผา จากผลการทดสอบสมบัติด้านชีวภาพของ AW-GC ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag พบว่า Zn ส่งผลต่อความว่องไวทางชีวภาพได้ดีกว่า Ag นอกจากนี้การเติมสารเจือร่วมระหว่าง Zn และ Ag จะส่งผลต่อความว่องไวทางชีวภาพได้ดีที่สุดคือ 5Zn1Ag, 5Zn5Ag จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่า การเติมสารเจือ Zn หรือ Ag ใน AW-GC จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มาก เมื่อเปรียบเทียบกับ AW-GC ที่ปราศจากสารเจือ อย่างไรก็ตาม AW-GC ที่เจือร่วมระหว่าง Zn และ Ag ในตัวอย่าง 5Zn1Ag และ 5Zn5Ag จะไม่ส่งผลที่เป็นพิษต่อเซลล์ แต่กลับทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนได้มากกว่า AW-GC ที่ปราศจากสารเจืออีกด้วย

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยนี้ คือ การพัฒนาต่อยอดโดยการศึกษาเพิ่มเติมในการสลายตัว (Biodegradation) ของ AW-GC scaffold ที่เติมสารเจือ Zn และ Ag และการเจือร่วมระหว่าง Zn และ Ag และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์อื่นๆ เช่น Osteoblast cell, เซลล์หนู หรือ Stem cells เพื่อต่อยอดในการนำไปทดสอบ in vivo ต่อไป

บรรณานุกรม

- นิตยา จันทร์พวง. 2550. พฤติกรรมในหลอดแก้วของกลาสเซรามิกที่มีเบตาแคลเซียมไฟโรฟอสเฟต. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต.สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- A. Hoppe, N. S. Güldal, and A. R. Boccaccini (2011) A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics, *Biomaterials*. 32. pp. 2757-2774.
- A. Hoppe, N. S. Güldal, and A. R. Boccaccini (2011) A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics, *Biomaterials*. 32. pp. 2757-2774.
- C. Soundrapandian, A. Mahato, B. Kundu, S. Datta, B. Sa, and D. Basu (2014) Development and effect of different bioactive silicate glass scaffolds: In vitro evaluation for use as a bone drug delivery system, *J Mech Behav Biomed Mater*. 17. pp. 1-12.
- C. Wu, Y. Zhou, C. Lin, J. Chang, and Y. Xiao (2012) Strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with improved osteogenic/cementogenic differentiation of periodontal ligament cells for periodontal tissue engineering, *Acta Biomaterialia*. 8. pp. 3805-3815.
- C. Wu, Y. Zhou, M. Xu, P. Han, L. Chen, J. Chang, and Y. Xiao (2013) Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity, *Biomaterials*. 34. pp. 422-433.
- Cannillo, V., Pierli, F., Sampath, S., & Siligardi, C. (2009). Thermal and physical characterisation of apatite/wollastonite bioactive glass-ceramics. *Journal of the European Ceramic Society*, 29(4), pp. 611-619.
- Deepak K, P. (2009). Apatite wollastonite–poly methyl methacrylate bio-composites. *Materials Science and Engineering: C*, 29(5), pp. 1709-1714. doi: 10.1016/j.msec.2009.01.019

- F. A. Shah et al. (2015) Apatite formation of bioactive glasses is enhanced by low additions of fluoride but delayed in the presence of serum proteins, *Materials Letters* 153(0): 143-147.
- H.-S. Yun, J.-W. Park, S.-H. Kim, Y.-J. Kim, and J.-H. Jang (2011) Effect of the pore structure of bioactive glass balls on biocompatibility in vitro and in vivo, *Acta Biomaterialia*. 7. pp. 2651-2660.
- J. R. Jones, L. M. Ehrenfried, and L. L. Hench (2006) Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*. 27. pp. 964-973.
- K. Annapurna, P. Maumita Das, R. N. Kundu, S. Dwivedi, Buddhudu (2005). *J. Mol. Struct.* 741 53.
- L. L. Hench (1991) Bioceramics: From Concept to Clinic, *Journal of the American Ceramic Society*. 74. pp. 1487-1510.
- M. E. Gomes, R. L. Reis, A. M. Cunha, C. A. Blitterswijk, and J. D. de Bruijn (2001) Cytocompatibility and response of osteoblastic-like cells to starch-based polymers: effect of several additives and processing conditions, *Biomaterials*. 22. pp. 1911-1917.
- M. Erol, A. Özyüğüran, Ö. Özarpat, and S. Küçükbayrak (2012) 3D Composite scaffolds using strontium containing bioactive glasses, *Journal of the European Ceramic Society* 32. pp. 2747-2755.
- M. N. Rahaman, D. E. Day, R. F. Brown, Q. Fu, and S. B. Jung, *Nanostructured Bioactive Glass Scaffolds for Bone Repair*, in *Advances in Bioceramics and Porous Ceramics: Ceramic Engineering and Science Proceedings, Volume 29, Issue 7 2009*, John Wiley & Sons, Inc. p. 211-225.
- M. S. Gaafar, N. S. Abd El-Aal., O. W. Gerges, G. El-Amir (2009). Elastic properties and structural studies on some Zinc glasses derived from ultrasonic, FT-IR and X-ray techniques. *Journal of Alloys and Compounds*, 475. pp. 535-542.
- Minjig Gao., Lei Sun., Zhiqiang Wang., Yanbao Zhao, (2013). Controlled synthesis of Ag nanoparticles with different morphologies and their antibacterial properties. *Material Science and Engineering .C* 33. pp. 397-404
- N. Nezafati, F. Moztafzadeh, S. Hesaraki, Z. Moztafzadeh and M. Mozafari (2013) Biological response of a recently developed nanocomposite based on calcium phosphate

cement and sol-gel derived bioactive glass fibers as substitution of bone tissues, *Ceramics International* 39, pp. 289-297.

- Q. Fu, M. N. Rahaman, B. S. Bal, and R. F. Brown (2010) Preparation and in vitro evaluation of bioactive glass (13–93) scaffolds with oriented microstructures for repair and regeneration of load-bearing bones, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 93A. pp. 1380-1390.
- Q. Fu, M. N. Rahaman, B. S. Bal, W. Huang, and D. E. Day (2007) Preparation and bioactive characteristics of a porous 13–93 glass, and fabrication into the articulating surface of a proximal tibia, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 82A. pp. 222-229.
- Q. Fu, M. N. Rahaman, B. Sonny Bal, R. F. Brown, and D. E. Day (2008) Mechanical and in vitro performance of 13–93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique, *Acta Biomaterialia*. 4. pp. 1854-1864.
- Q. Fu, M. N. Rahaman, H. Fu, and X. Liu (2010) Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. I. Preparation and in vitro degradation, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 95A. pp. 164-171.
- Q. Z. Chen, I. D. Thompson, and A. R. Boccaccini (2006) 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*. 27. pp. 2414-2425.
- S. E. Fu. Q (2011) Bio-inspired highly porous and strong glass scaffolds, *Adv. Funct. Mater.* 21. pp. 1058-63.
- S. Maeno, Y. Niki, H. Matsumoto, H. Morioka, T. Yatabe, A. Funayama, Y. Toyama, T. Taguchi, and J. Tanaka (2005) The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture, *Biomaterials*. 26. pp. 4847-4855.
- V. Aina, A. Perardi, L. Bergandi, G. Malavasi, L. Menabue, C. Morterra, and D. Ghigo (2007) Cytotoxicity of zinc-containing bioactive glasses in contact with human osteoblasts, *Chemico-Biological Interactions*. 167. pp. 207-218.
- X. Liu, M. N. Rahaman, and Q. Fu (2011) Oriented bioactive glass (13-93) scaffolds with controllable pore size by unidirectional freezing of camphene-based suspensions: Microstructure and mechanical response, *Acta Biomaterialia*. 7. pp. 406-416.

ภาคผนวก ก

การคำนวณส่วนประกอบของ Apatite Wollastonite (AW) glass ceramic 15 กรัม

Compounds	SiO ₂	CaO	P ₂ O ₅	MgO	CaF ₂
Composition (wt%)	34.2	44.9	16.3	4.6	0.5
Composition (mol%)	35.4579	49.8816	7.1526	7.1090	0.3987

ถ้าต้องการ AW จำนวน 15 g จะต้องมีส่วนประกอบ ดังนี้

Compounds	น้ำหนัก (g)	
	Batch AW 10 g	Batch AW 15 g
SiO ₂	3.4029	5.1044
CaO	4.4677	6.7012
P ₂ O ₅	1.6218	2.4327
MgO	0.4577	0.6866
CaF ₂	0.0498	0.0747

1. วิธีคำนวณหา SiO₂



ซึ่งส่วนประกอบมี ค่า MW ดังนี้

Compounds	MW (g/mol)
Si(OC ₂ H ₅) ₄	208.30
2H ₂ O	36.00
SiO ₂	60.09
4C ₂ H ₂ OH	184.28

จาก SiO₂ 60.09 g มี TEOS อยู่ 208.33 g

ถ้า SiO₂ 5.1044 g จะมี TEOS เป็น $\frac{208.33 \times 5.1044}{60.09} \text{ g} = 17.6978 \text{ g}$

จาก $D = \frac{M}{V}$ เมื่อ TEOS มีค่า ความหนาแน่น (D) = 0.933 g/ml และมี 98 % w/w

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณ(V) ของ TEOS} &= \frac{M}{D} \\ &= \frac{17.6978}{0.933} = 18.9676 \text{ ml} \end{aligned}$$

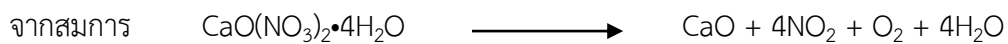
ถ้าต้องการ TEOS จำนวน 18.9676 ml

จาก TEOS 98 ml ในสารละลาย 100 ml

จะได้ TEOS 18.9676 ml ในสารละลายเป็น $\frac{100 \times 18.9676}{98} = 19.3558 \text{ ml}$

∴ ต้องใช้ TEOS เป็นจำนวน 19.3558 ml#

2. วิธีคำนวณหา CaO



ซึ่งส่วนประกอบมี ค่า MW ดังนี้

Compounds	MW (g/mol)
$\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236.150
$4\text{H}_2\text{O}$	72.000
CaO	56.077
4NO_2	76.073
O_2	32.000

จาก CaO 56.077 g มี $\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ อยู่ 236.15 g

ถ้า CaO 6.7016 g จะมี $\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เป็น $\frac{236.15 \times 6.7016}{56.077} = 28.2216 \text{ g}$

∴ ต้องใช้ $\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เป็นจำนวน 28.2216 g#

3. วิธีคำนวณหา MgO

จากสมการ $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2\text{MgO} + 4\text{NO}_2 + \text{O}_2$

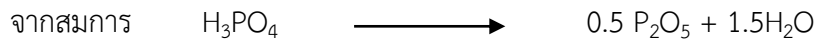
ซึ่งส่วนประกอบมี ค่า MW ดังนี้

Compounds	MW (g/mol)
$2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	256.3000
2MgO	49.3044
4NO_2	76.0730
O_2	32.0000

จาก MgO 40.3044 g มี $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ อยู่ 256.41 g

ถ้า MgO 0.6866 g จะมี $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็น $\frac{256.41 \times 0.6866}{40.3044} = 4.3680 \text{ g}$

∴ ต้องใช้ $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นจำนวน 4.3680 g#

4. วิธีคำนวณหา P_2O_5 เตรียม P_2O_5 16.3 % จาก H_3PO_4 

ซึ่งส่วนประกอบมี ค่า MW ดังนี้

Compounds	MW (g/mol)
H_3PO_4	98.00000
0.5 P_2O_5	70.97225
1.5 H_2O	27.00000

จาก P_2O_5 70.97225 g มี H_3PO_4 อยู่ 98.00 gถ้า P_2O_5 2.4327 g จะมี H_3PO_4 เป็น $\frac{98.00 \times 2.4327}{70.9722} = 3.3591$ gเมื่อ H_3PO_4 มีค่า ความหนาแน่น (D) = 1.69 g/ml และมี 85 % w/wดังนั้น H_3PO_4 85 g ในสารละลาย 100 gถ้า H_3PO_4 3.3591 g ดังนั้น จึงมีสารละลายเป็น $\frac{100 \times 3.3591}{85} = 3.9519$ gจาก $D = \frac{M}{V}$ ใช้หาปริมาตรของสารจะได้ว่า $V = \frac{M}{D}$ ดังนั้น ปริมาตร(V)ของ $H_3PO_4 = \frac{3.9519}{1.69} = 2.34$ ml∴ ต้องใช้ H_3PO_4 เป็นจำนวน 2.34 ml#

5. วิธีคำนวณหา Methanol

จาก TEOS 32.39 ml ใช้ Methanol 15 ml

ถ้า TEOS 19.347 ml จะต้องใช้ Methanol เป็น $\frac{15 \times 19.347}{32.39} = 8.9597$ ml ≈ 9 ml

∴ ต้องใช้ Methanol จำนวน 9 ml#

6. วิธีคำนวณหา น้ำ DI

จาก $\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 48.3 g ใช้ น้ำ DI 32 ml

ถ้า $\text{CaO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 28.347 ml ต้องใช้ น้ำ DI เป็น $\frac{32 \times 28.347}{48.3} = 18.78 \text{ ml}$

∴ ต้องใช้ น้ำ DI จำนวน 18.8 ml#

7. วิธีคำนวณหา น้ำ DI

จาก $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 7.39 g น้ำ DI 7 ml

ถ้า $2\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 4.3677 g ต้องใช้ น้ำ DI เป็น $\frac{7 \times 4.3677}{7.39} = 4.1372 \text{ ml}$

∴ ต้องใช้ น้ำ DI จำนวน 4.1 ml#

8. วิธีคำนวณหา HCl

จาก AW glass 25 g ใช้ HCl 5 ml

ถ้า AW glass 15 g ต้องใช้ HCl เป็น $\frac{5 \times 15}{25} = 3 \text{ ml}$

∴ ต้องใช้ HCl จำนวน 3 ml#

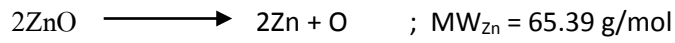
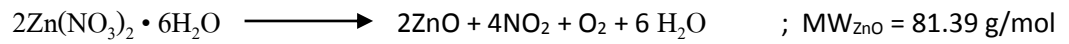
การคำนวณปริมาณ 1 mole% และ 5 mole% ของซิงค์ (Zn) ที่ใช้เจือใน AW 15 กรัม

Composition of AW glass ceramic

Compounds	SiO_2	CaO	P_2O_5	MgO	CaF_2
Composition (wt%)	34.2	44.9	16.3	4.6	0.5
Composition (mol%)	35.4579	49.8816	7.1526	7.1090	0.3987

AW Doped Zn 1 mole%

จาก Zinc Nitrate ($2\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งมี MW = 297.47 g/mol



Zn 1 mole% = 0.01 mole

m (มวลเป็นกรัม) = n (จำนวนโมล) × MW (มวลโมเลกุล)

$$= 0.01 \text{ mole} \times 65.39 \text{ g/mol}$$

$$= 0.6539 \text{ g}$$

ถ้า AW 100.5 g มี Zn 0.6539 g

ดังนั้น AW 15 g มี Zn $\frac{0.6539\text{g} \times 15\text{g}}{100.5\text{g}} = 0.0976 \text{ g}$

ถ้า Zn 65.39 g มี ZnO 81.39 g

ดังนั้น Zn 0.0976 g มี ZnO $\frac{81.39\text{g} \times 0.0976\text{g}}{65.39\text{g}} = 0.1215 \text{ g}$

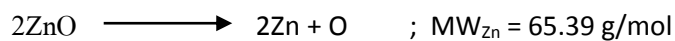
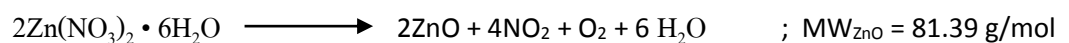
ถ้า ZnO 81.39 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 297.47 g

ดังนั้น ZnO 0.1215 g มี $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $\frac{297.47\text{g} \times 0.1215\text{g}}{81.39\text{g}} = 0.4441 \text{ g}$

ดังนั้น การ Dope Zn 1 mole% ต้องใช้ Zinc Nitrate ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) เท่ากับ 0.4441 กรัม

AW Doped Zn 5 mole%

จาก Zinc Nitrate ($2\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งมี MW = 297.47 g/mol



$$\text{Zn 5 mole\%} = 0.05 \text{ mole}$$

$$m \text{ (มวลเป็นกรัม)} = n \text{ (จำนวนโมล)} \times MW \text{ (มวลโมเลกุล)}$$

$$= 0.05 \text{ mole} \times 65.39 \text{ g/mol}$$

$$= 3.2695 \text{ g}$$

ถ้า	AW	100.5 g	มี	Zn	3.2695 g
-----	----	---------	----	----	----------

ดังนั้น	AW	15 g	มี	Zn	$\frac{3.2695g \times 15g}{100.5g}$	=	0.4879 g
---------	----	------	----	----	-------------------------------------	---	----------

ถ้า	Zn	65.39 g	มี	ZnO	81.39 g
-----	----	---------	----	-----	---------

ดังนั้น	Zn	0.4879 g	มี	ZnO	$\frac{81.39g \times 0.4879g}{65.39g}$	=	0.6073 g
---------	----	----------	----	-----	--	---	----------

ถ้า	ZnO	81.39 g	มี	Zn(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	297.47 g
-----	-----	---------	----	---	----------

ดังนั้น	ZnO	0.6073 g	มี	2Zn(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	$\frac{297.47g \times 0.6073g}{81.39g}$	=	2.2199 g
---------	-----	----------	----	--	---	---	----------

ดังนั้น การ Dope Zn 5 mole% ต้องใช้ Zinc Nitrate (2Zn(NO₃)₂ • 6H₂O) เท่ากับ 2.2199 กรัม

ภาคผนวก ข

บทความที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. Sirirat T. Rattanachan, Nuan La-ong Srakaew, Ratiya Pethnin and Nitinat Suppakarn, Effect of Zn Addition on Sol-gel Derived Apatite/Wollastonite Glass-Ceramics Scaffolds, J. Metals, Materials and Minerals (2012), Vol. 22(2), pp. 61-65.



ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย): นางศิริรัตน์ ทับสูงเนิน รัตนจันทร์

(ภาษาอังกฤษ): Mrs. Sirirat Tubsungnoen Rattanachan

2. ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำสาขาวิศวกรรมเซรามิก

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

สาขาวิชาวิศวกรรมเซรามิก สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 22-4475 โทรสาร (044) 22-4612

E-mail: sirirat.b@g.sut.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2546

Dr. of Engineering in Materials Science and Engineering

Nagaoka University of Technology, Japan

พ.ศ. 2540

วท.ม. (วัสดุศาสตร์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

วท.บ. (เคมีอุตสาหกรรม) เทคโนโลยีซิลิเกต

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- วัสดุทางการแพทย์: การสังเคราะห์สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตและไฮดรอกซีอะพาไทต์ สำหรับกระดูกเทียม, ซีเมนต์กระดูกแคลเซียมฟอสเฟตชนิดเซ็ตตัวได้เอง, Bioactive glass and glass-ceramics

- วัสดุเชิงประกอบและ Smart materials: Piezoelectric, Ferroelectric

- คุณสมบัติทางกลของวัสดุเซรามิก: วิเคราะห์ความเสียหาย รอยแตกร้าวของวัสดุ และศึกษาสมบัติด้านความล้าของวัสดุเซรามิก

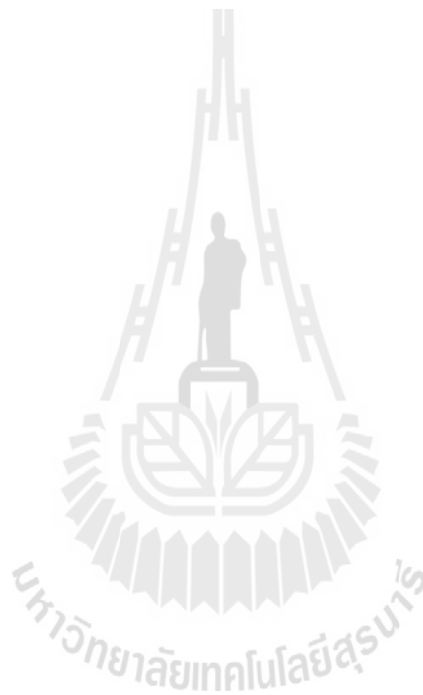
6. ประสพการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ:

1. หัวหน้าโครงการวิจัย:

งานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้วเสร็จ

ชื่อโครงการ	แหล่งทุน	ปีที่รับทุน	สถานะ
การศึกษาคุณสมบัติของดินในจังหวัดนครราชสีมา เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมเซรามิก (Characterization of Nakron-Ratchasima Clay for Ceramic Application)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	2542-2543	หัวหน้าโครงการ
การศึกษาเบื้องต้นในการเตรียมมวลรวมน้ำหนักเบา จากดินในท้องถิ่น (The Preliminary Study of Preparation of Lightweight Concrete Aggregates Produced from Local Clay)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	2542-2543	หัวหน้าโครงการ
การพัฒนาและปรับปรุงความแข็งแรงของเนื้อผลิตภัณฑ์ลูกถ้วยไฟฟ้า (The Development of mechanical properties for Electrical Insulator body)	ม.เทคโนโลยีสุรนารี- บ.พาวเวอร์ อินซูเลเตอร์ จำกัด (ทุนวิจัยร่วม)	2548-2549	หัวหน้าโครงการ
การพัฒนาซีเมนต์เชื่อมกระดูกแคลเซียมฟอสเฟตเชิงประกอบชนิดเซตตัวได้เองเพื่อใช้งานทางการแพทย์ (The Development of the Self-setting Calcium Phosphate Composite used as Bone Cement for Surgical Application)	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)	2548-2550	หัวหน้าโครงการ
การพัฒนาซีเมนต์ไฮดรอกซีอะปาไทต์แบบฉีดยา สำหรับซ่อมแซมการแตกหักและทดแทนกระดูก	ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ	2550-2552 (ขอขยายเวลา ถึง 2553)	หัวหน้าโครงการ
การวิจัยและพัฒนาส่วนผสมและเคลือบอนุกรมิต่ำ สำหรับอุตสาหกรรมสโตนแวร์	ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ	2551-2552	หัวหน้าโครงการ
การสังเคราะห์และขึ้นรูปไบฟาสิคแคลเซียมฟอสเฟตที่มีความพรุนตัว Development of synthesizing and forming porous biphasic calcium phosphate	ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ	2551-2553	ผู้ร่วมวิจัย
ฟิล์มบางด้วยผลึกนาโนของซิงค์ออกไซด์ที่เติมสารเจือโดยวิธีการเคลือบผิวด้วยแรงเหวี่ยงสำหรับเซลล์แสงอาทิตย์	ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ	2552-2554 (ขยายเวลา) ถึงส.ค. 2555	หัวหน้าโครงการ

(Doped ZnO nanoparticles Thin Film by Sol-gel Spin Coating for Solar Cell Applications)			
Development of Bi-doped ZnO thin film by spin coating for solar cell applications, Mr. Phanuwat Krongaaron	ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา สำนักงาน คณะกรรมการวิจัย แห่งชาติ	2554	อาจารย์ที่ ปรึกษาของ บัณฑิตผู้ได้รับ ทุน
Bioactive glass scaffolds through the sol-gel route for bone tissue engineering	สำนักงาน คณะกรรมการวิจัย แห่งชาติ	2554-2555	หัวหน้าโครงการ



งานวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ

ชื่อโครงการ	แหล่งทุน	ปีที่รับทุน	สถานะ
วัสดุโครงร่างชนิดเซ็ทตัวได้จากคอมโพสิตของพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายทางชีวภาพ/แคลเซียมฟอสเฟตสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก	ทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก	มี.ย.2552-พ.ค.2557 ดำเนินการ 99%	อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้รับทุน คปก. รุ่นที่ 11
การพัฒนาวัสดุโครงร่างพรุนตัวของวัสดุเชิงประกอบพอลิเมอร์/ไบโอแอคทีฟกลาสสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก	ทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก	มี.ย.2553-พ.ค.2558 ดำเนินการ 88%	อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้รับทุน คปก. รุ่นที่ 12
Composite of Chitosan/Biphasic Calcium Phosphate for Self-setting Bone Cement	National Research Council of Thailand (Head of Project)	2557-2558 (2 ปี)	Head of Project
Improvement of the characteristics of Bi-doped Zinc Oxide thin films with using additional surfactant for solar cell and optoelectronic applications	National Research Council of Thailand	2558	Head of Project

ผลงานวิจัยที่ดำเนินการเสร็จแล้ว (เลือกเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย)

1. Rattanchan, S., Lorpayoon, C, Bunphyun, P., Chitosan-crystallized apatite composites for bone cements: Mechanical strength and setting behavior, Key Engineering Materials, Vol. 330-332 II (2007), 839-842
2. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorpayoon and Piyanan Bunpayun, Synthesis of Chitosan/brushite Powders for Bone Cement Composites, Journal of Ceramic Society of Japan, 116[1] 2008, p.36-41
3. Sirirat Rattanachan, Piyanan Boonphayak and Charussri Lorpayoon, Development of chitosan/nanosized apatite composites for bone cements, Asian Biomedicine, Vol. 5, No. 4 (2011), 499-506
4. N. Srakaew and S. T. Rattanchan, Effect of Apatite Wollastonite Glass Ceramic Addition on Brushite Bone Cement Containing Chitosan, Advanced Materials Research Vol. 506 (2012), p.106-109
5. Piyanan Bunpayun and Sirirat Rattanachan, Low temperature synthesis of crystallized apatite nanoparticles, Asia Bioceramic Symposium 2006, November 7-10,2006

6. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorprayoon and Piyanan Bunpayun, Chitosan-crystallized Apatite Composites for Bone Cements: Mechanical Strength and Setting Behavior, Bioceramics 19, China, Oct. 10-13, 2006.
7. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorprayoon and Piyanan Bunpayun, Chitosan-calcium phosphate cement composites for bone substitutes, Asian symposium on materials and processing 2006, Bangkok November 9-10, 2006.
8. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorprayoon and Piyanan Bunpayun, Synthesis of Chitosan/brushite powders for Bone Cement Composites, 7th Asian BioCeramics Symposium 2007, September 25-28, 2007, Osaka, Japan
9. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorprayoon and Piyanan Bunpayun, Preparation of Chitosan/apatite nanocomposite by co-precipitation with potential bone cement, Second International Conference on Mechanics of Biomaterials & Tissue, December 9-13, 2007, Lihue, Hawaii, USA
10. Sirirat Rattanachan, Charussri Lorprayoon and Piyanan Bunpayun, [Development of Apatite Composite for Bone Cement](#), The Joint Symposium Between National Science and Technology Center and Nagaoka University of Technology, 22 May 2009, NSTDA Thailand
11. N. Srakaew and S.T. Rattanachan, Effect of apatite-wollastonite glass ceramic addition on brushite bone cement containing chitosan, Chiang Mai International Conference on Biomaterials & Applications 2011, Chiang Mai, Thailand, 9-10 August 2011
12. S. Rattanachan, N. Srakaew, R. Pethnin and N. Suppakarn, Effect of Zn addition on Sol-gel derived Apatite/Wollastonite Glass-Ceramics Scaffolds, 7th International Conference on Materials Science and Technology, June 7-8, 2012, Swissotel Le Concorde, Bangkok, Thailand
13. Sirirat T. Rattanachan and Nuan La-ong Srakaew, Effect of pH on the properties of biphasic calcium phosphate for bone cement, European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes, September 8-13, 2013, Sevilla, Spain.
14. Kaewphoka, J., Fangsuwannarak T. and Rattanachan S.T. (2014). Synthesis of Surfactant-assisted nanostructured Bi-doped Zinc oxide for photo-sensing application. 11th International conference on Electrical Engineering/ Electronic, Computer, Telecommunications and Information Technology, ECTI-CON 2014, 14-17 May 2014 Nakhon Ratchasima, Thailand

15. T.Rattanachan, S., Kaewphoka, J. and Fangsuwannarak T. (2014). Annealing atmosphere of bismuth doped Zinc oxide thin films prepared by CTAB-assisted sol-gel method. In the Grand Renewable Energy 2014 (GRE2014) International Conference. 27 July – 1 August 2014, Tokyo, Japan
16. Ratiya Phetnin and Sirirat T. Rattanachan, Bio-hybrid Composite Scaffold from silk fibroin/chitosan/mesoporous bioactive glass microspheres for tissue engineering applications, Nano Thailand 2014 the 4th Thailand International Nanotechnology Conference 2014, 26-28 Nov., 2014, Bangkok Thailand.
17. Sirirat T. Rattanachan, Phanuwat Krongarrom and Thipwan Fangsuwannarak, Influence of annealing temperature on characteristics of Bismuth doped Zinc Oxide films, American Journal of Applied Sciences (2013), Vol. 10(11), p. 1427-1438.
18. Nuan La-ong Srakaew and Sirirat Tubsungnoen Rattanachan, The pH-dependent properties of the Biphasic Calcium Phosphate for Bone Cements, Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering (2014), V. 21, pp. 3-16
19. Ratiya Phetnin and Sirirat T. Rattanachan, Preparation and antibacterial property on silver incorporated mesoporous bioactive glass microspheres, J. sol-gel Science and Technology (2015), DOI 10.1007/s10971-015-3697-1.

นักวิจัยร่วม

1. ชื่อ (ภาษาไทย): นางสาวนิตินาท ศุภกาญจน์
(ภาษาอังกฤษ): Miss Nitinat Suppakarn
2. ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำสาขาวิศวกรรมพอลิเมอร์
สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
3. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร
สาขาวิชาวิศวกรรมพอลิเมอร์ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ (044) 22-4439 โทรสาร (044) 22-4605
E-mail: nitinat@sut.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

2542 Ph.D. (Macromolecular Science and Engineering), Case Western Reserve University, USA

2538 วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พอลิเมอร์) วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2536 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- Polymer Characterization
- Polymer Composites

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ:

6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

1. การเตรียมไฮดรอกซีอะปาไทต์จากกระดูกสัตว์และการนำไปใช้ในพอลิแลกติกคอมโพสิต (Preparation of Cattle Bone Based Hydroxyapatite and Its Application in Poly(lactic acid) Composites) แหล่งทุนสนับสนุน: แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ
2. การศึกษาเบื้องต้นของการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตัวเติม เพื่อผลิตเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายตัวได้ (Preliminary Study for Using Starch as Filler for Biodegradable Polymer) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ
3. การผลิตพอลิโพรพิลีนคอมโพสิตโดยใช้ไฮดรอกซีอะปาไทต์จากกระดูกสัตว์เป็นสารตัวเติมเพื่อใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก (Production of Polypropylene Composites with Cattle Bone Based-Hydroxyapatite as a Filler: a Possible Bone Replacement Material) แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
4. ผลของขนาดผงไฮดรอกซีอะปาไทต์และผลของการใช้สารประสานต่อสมบัติเชิงกลของพอลิโพรพิลีนคอมโพสิต (Effect of Hydroxyapatite Particle Size and Effect of Coupling Agents on Mechanical Properties of Polypropylene Composite) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ
5. การพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์คอมโพสิตเชิงพาณิชย์โดยใช้เส้นใยธรรมชาติในประเทศไทย (Development of Commercialized Polymer Composites Using Natural Fiber in Thailand) แหล่งทุนสนับสนุน: National Metal and Materials Technology Center, MTEC (สถานภาพในการทำวิจัย: หัวหน้าโครงการย่อย)

6.2 งานวิจัยที่ดำเนินการเสร็จแล้ว

1. Characterization and Thermal Study of Propargylamine Based Benzoxazine, (สถานภาพในการทำวิจัย: ผู้ร่วมวิจัย)
2. Phase Distribution within the Organic Constituents of Ceramic Green Organic Constituents of ceramic green tape (สถานภาพในการทำวิจัย: ผู้ร่วมวิจัย)

3. การศึกษาเบื้องต้นของการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตัวเติม เพื่อผลิตเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายตัวได้ (Preliminary Study for Using Starch as Filler for Biodegradable Polymer) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพในการทำวิจัย: หัวหน้าโครงการ)
4. โครงการการผลิตผลิตภัณฑ์จากพอลิเมอร์คอมโพสิทระหว่างหญ้าแฝกกับพอลิพรพีลีน (Manufacture of Product from Polymer Composite between Vetiver Grass and Polypropylene) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพในการทำวิจัย: ผู้ร่วมวิจัย)
5. การพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์คอมโพสิทเชิงพาณิชย์โดยใช้เส้นใยธรรมชาติในประเทศไทย (Development of Commercialized Polymer Composites Using Natural Fiber in Thailand) แหล่งทุนสนับสนุน: National Metal and Materials Technology Center, MTEC (สถานภาพในการทำวิจัย: หัวหน้าโครงการย่อย)
6. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ประกอบแต่งทนการติดไฟจากพอลิเบนซอกซาซีนอัลลอยด์และผงไม้ (Development of Fire Resistant Wood-substituted Composites from Polybenzoxazine Alloys and Hevea brasiliensis Wood Flour) แหล่งทุนสนับสนุน: ศูนย์เชี่ยวชาญทางด้านเทคโนโลยีอนุภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (สถานภาพ :ผู้ร่วมวิจัย)
7. การผลิตพอลิพรพีลีนคอมโพสิตโดยใช้ไฮดรอกซีอะปาไทต์จากกระดูกสัตว์เป็น สารตัวเติมเพื่อใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูก (Production of Polypropylene Composites with Cattle Bone Based-Hydroxyapatite as a Filler: a Possible Bone Replacement Material) แหล่งทุนสนับสนุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สถานภาพ : หัวหน้าโครงการ)
8. การเตรียมไฮดรอกซีอะปาไทต์จากกระดูกสัตว์และการนำไปใช้ในพอลิแลคติกคอมโพสิท (Preparation of Cattle Bone Based Hydroxyapatite and Its Application in Poly(lactic acid) Composites) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ : หัวหน้าโครงการ)

6.3 งานวิจัยอยู่ระหว่างดำเนินการ

1. ผลของการปรับเปลี่ยนพื้นผิวเคลย์ต่อสมบัติทางกายภาพของนาโนคอมโพสิทจากยางธรรมชาติ (Effect of Clay Surface Modification on Physical Properties of Natural Rubber Nanocomposites) แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ : หัวหน้าโครงการ)
2. การเตรียมพอลิเมอร์คอมโพสิทจากเปลือกไข่ไก่ แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ(สถานภาพ : ผู้ร่วมวิจัย)
3. การศึกษาการใช้เส้นไหมแบบต่อเนื่องสำหรับเสริมแรงวัสดุเชิงประกอบอีพอกซี แหล่งทุนสนับสนุน: สภาวิจัยแห่งชาติ (สถานภาพ : ผู้ร่วมวิจัย)

7.ผลงานทางวิชาการ (คัดเลือกเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย)

1. C. Keawkumay, K. Jarukumjorn, J. Wittayakun, and N. Suppakarn, "Influences of surfactant content and type on physical properties of natural rubber/organoclay nanocomposites" *J Polym Res*, **19(7)**, 2012, **in press**.
2. S. Rakmae, Y. Ruksakulpiwat, W. Sutapun and N. Suppakarn, "Effect of silane coupling agent treated bovine bone based carbonated hydroxyapatite on in vitro degradation behavior and bioactivity of PLA composites" *Mater Sci Eng C*, **32**, 1428-1436, 2012.
3. S. Rakmae, Y. Ruksakulpiwat, W. Sutapun and N. Suppakarn, "Effect of mixing technique and filler content on physical properties of bovine bone based HA/PLA composites" *J Appl Polym Sci*, **122(4)**, 2433-2441, 2011.
4. S. Rakmae, Y. Ruksakulpiwat, W. Sutapun and N. Suppakarn, "Physical properties and cytotoxicity of surface-modified bovine bone-based hydroxyapatite/poly(lactic acid) composites" *J Comp Mater*, **45(12)**, 1259-1269, 2011.
5. N. Suppakarn, S. Sanmaung, Y. Ruksakulpiwat, W. Sutapun, C. Lorprayoon, and S. Ekgasit, "*Mechanical Properties of Natural Hydroxyapatite/PP Composites*" **Annual Technical Conference 2006**, the Society of Plastics Engineers, Charlotte, North Carolina USA, p. 325, 2006.
6. N. Suppakarn, M. Baru, S. Sanmuang, C. Lorprayoon, and S. Ekgasit, "*Effect of Filler Content on Mechanical Properties of Cattle Bone Based Hydroxyapatite-Polypropylene Composite*," **The 31st Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakhon Ratchasima, Thailand, p.242, 2005.
7. N. Suppakarn, J. Rittita, Y. Ruksakulpiwat, W. Sutapun, and C. Lorprayoon, "*Effect of Filler Particle size on Mechanical Properties of Cattle Bone Based Hydroxyapatite-PolyPropylene Composite*," **The 31st Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakhon Ratchasima, Thailand, p.242, 2005.
8. การศึกษาเบื้องต้นของการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสารตัวเติมเพื่อผลิตเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลาย
รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 2546

8. รางวัลที่ได้รับ

- Certificates of Excellence for the King of Thailand Vetiver Awards 2006/ An investigation of using vetiver grass in polypropylene composites (รางวัลด้านงานวิจัยหญ้าแฝกดีเด่น ประเภทผลงานนอกภาคเกษตรกรรมจากมูลนิธิชัยพัฒนา ปี 2549)