

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2546

การสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปาทิต

สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

Synthesis of Hydroxyapatite for Medical Applications

หัวหน้าโครงการ

ปุณณมา ศิริพันธ์โนน

RCI+

OD

181

Pi

เลขหมู่.....ป.659จ.....

เลขทะเบียน 54576.....

วัน,เดือน,ปี 21 ส.ค. 2548.....

b. 11/24/609.....

1.....

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์สำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม โดยศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและอัตราส่วนโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P) ที่ได้ สารตั้งต้นที่ใช้ได้แก่ แคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรต ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เข้มข้น 0.5 โมล/ลิตร ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์ (P_2O_5) หรือกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) เข้มข้น 0.3 โมล/ลิตร สารละลายตั้งต้นจะเกิดการตกตะกอนที่ pH 6, 7, 8, 9, 11 และ 12 โดยการเติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (30% NH_4OH) สารแขวนลอยของตะกอนจะถูกตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 และ 60 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนโดยสมบูรณ์ สารที่สังเคราะห์จากแคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรตและกรดฟอสฟอริก ซึ่งตกตะกอนที่ pH 9 และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเป็น 60 นาที มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P เท่ากับ 1.15 ซึ่งเข้าใกล้ค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P เท่ากับ 1.67 นอกจากนี้สารที่ได้มีวิฤภาคองค์ประกอบหลักเป็นไฮดรอกซีแอปพาไทต์ เมื่อนำไปแคลไซน์ที่ 1000 และ 1100°C วิฤภาคองค์ประกอบหลักจะเปลี่ยนเป็นไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium Phosphate; TCP) เนื่องจากโมเลกุลของน้ำสลายออกไปจากโครงสร้างของไฮดรอกซีแอปพาไทต์ ส่วนสารที่สังเคราะห์จากแคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรตและฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์ ซึ่งตกตะกอนที่ pH 7 และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเป็น 30 นาที จะมีอัตราส่วนโมลของ Ca/P น้อยที่สุดคือ 0.55 และมีวิฤภาคองค์ประกอบหลักเป็นไดแคลเซียมฟอสเฟต (Dicalcium Phosphate; DCP) ซึ่งเมื่อนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 800 และ 950°C จะพบวิฤภาคที่เป็นผลึกของไฮดรอกซีแอปพาไทต์เกิดขึ้นแต่วิฤภาคองค์ประกอบหลักยังคงเป็นไดแคลเซียมฟอสเฟต หลังจากนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพโดยการแช่ในสารละลาย Simulated Body Fluid (SBF) พบว่ามีไฮดรอกซีแอปพาไทต์เกิดขึ้นที่พื้นผิวของสารตัวอย่างทุกชนิด แสดงว่าสารที่สังเคราะห์ได้มีความว่องไวทางชีวภาพ

Synthesis of Hydroxyapatite for Medical Applications

Abstract

This research involved a synthesis of hydroxyapatite by coprecipitation method. Factors affected on chemical composition and molar ratio of calcium per phosphorus (Ca/P) were investigated. Starting materials were 0.5 mol/l calcium nitrate tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) and 0.3 mol/l phosphorus pentoxide (P_2O_5) or 0.3 mol/l phosphoric acid (H_3PO_4). The starting solutions were precipitated at pH 6, 7, 8, 9, 11 and 12 by adding 30% ammonium hydroxide (NH_4OH). Suspensions of the precipitates were aging for 30 and 60 min in order to completely precipitate. The sample synthesized from calcium nitrate tetrahydrate and phosphoric acid, precipitated at pH 9 and aged for 60 min, had a molar Ca/P ratio of 1.15 which was close to the theoretical value of hydroxyapatite (Ca/P = 1.67). In addition, a main constitute phase in this sample was hydroxyapatite. After calcination at 1000 and 1100°C, the main constitute phase changed to tricalcium phosphate (TCP) because of the decomposition of water from hydroxyapatite. The sample synthesized from calcium nitrate tetrahydrate and phosphorus pentoxide, precipitated at pH 7 and aged for 30 min, had the lowest molar Ca/P ratio of 0.55. The main constitute phase in this sample was dicalcium phosphate (DCP). The crystalline phase of hydroxyapatite was obtained after calcination at 800 and 950°C but main constitute phase was still dicalcium phosphate. Bioactivity of the synthesized samples was studied by soaking in simulated body fluid (SBF). The formation of hydroxyapatite was observed on the surfaces of all samples, indicating that the synthesized samples were bioactive materials.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
สารบัญ	iii
1. ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. ทฤษฎีและหลักการ	2
4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและเอกสารอ้างอิง	5
5. วิธีการดำเนินงานวิจัย	6
6. ผลการทดลอง	9
7. สรุปผลการวิจัย	19



1. ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ในอดีตที่ผ่านมาเมื่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกายเกิดการติดเชื้อหรือถูกทำลายเนื่องจากโรคภัยไข้เจ็บและอุบัติเหตุ การบำบัดรักษาที่ทำได้คือตัดเนื้อเยื่อส่วนนั้นทิ้งไป การรักษาวิธีนี้มีส่วนช่วยลดการติดเชื้อและการแพร่กระจายของโรคไปยังอวัยวะส่วนอื่นๆ แต่จะก่อให้เกิดความบกพร่องของร่างกายและมีโอกาสจะเกิดโรคแทรกซ้อนอื่นๆตามมา

ในช่วงศตวรรษปัจจุบันแนวทางการบำบัดรักษาโรคมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เนื่องจากมีการค้นพบหลายๆสิ่งที่มีสำคัญ เช่น การฆ่าเชื้อโรค (Antiseptics) ยาเพนนิซิลิน (Penicillin) ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) การบำบัดน้ำประปาด้วยวิธีทางเคมี การพัฒนาด้านสุศึกษา การให้วัคซีน ฯลฯ วิวัฒนาการทางการแพทย์เหล่านี้นำไปสู่การบำบัดรักษาแบบใหม่โดยการปลูกถ่ายอวัยวะจากธรรมชาติ (Transplantation) วิธีการนี้คือการผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่บกพร่องออกแล้วแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อจากอวัยวะส่วนอื่นในร่างกายผู้ป่วยเอง เนื้อเยื่อผู้บริจาคทั้งที่ยังมีชีวิตอยู่ (เช่น หัวใจ หัวใจและปอด ไต ตับ เรตินา) หรือเสียชีวิตแล้วก็ได้ (เช่น กระจก) หรือเนื้อเยื่อจากสิ่งมีชีวิตสปีชีส์อื่นทั้งที่ยังมีชีวิตอยู่หรือเสียชีวิตแล้วก็ได้ การรักษาวิธีนี้มีปัญหาหลายประการ เช่น ข้อจำกัดด้านปริมาณและแหล่งที่มาของเนื้อเยื่อ คุณภาพของเนื้อเยื่อธรรมชาติซึ่งขึ้นโดยตรงกับสุขภาพของผู้บริจาค ระบบภูมิคุ้มกัน และปัญหาด้านศีลธรรม ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยนำวัสดุสังเคราะห์ที่มีความสามารถเข้ากันได้กับระบบสรีระวิทยาภายในร่างกายมนุษย์มาใช้ในการเปลี่ยนถ่ายแทนที่อวัยวะที่บกพร่อง (Implantation หรือ Alloplastic หรือ Allografts) เช่น กระจกเทียม, รากฟันเทียม, แก้วหูเทียม, ข้อต่อสะโพกเทียม, ฯลฯ ข้อได้เปรียบที่สำคัญของวัสดุประเภทนี้ที่เหนือกว่าเนื้อเยื่อธรรมชาติคือไม่มีข้อจำกัดในด้านปริมาณ สามารถผลิตขึ้นใหม่ได้เรื่อยๆ เป็นวัสดุที่สามารถเชื่อมต่อได้ ไม่มีปัญหาด้านคุณภาพของเนื้อเยื่อและปัญหาด้านศีลธรรม นอกจากนี้กระบวนการผลิตที่ดีมีประสิทธิภาพ และมีการทดสอบซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมมาตรฐาน ทำให้โอกาสเกิดความล้มเหลวเชิงกลของวัสดุประเภทนี้ลดลง อย่างไรก็ตามวิธีการรักษาทั้งสองแบบข้างต้นนี้จะช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวดทุกข์ทรมาน และช่วยยืดอายุของผู้ป่วย ซึ่งเป็นการพัฒนาที่นำไปสู่คุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นของมนุษย์

วัสดุทางการแพทย์และอวัยวะเทียมในปัจจุบันมีด้วยกันหลายชนิด ทั้งที่ผลิตจากโลหะ พลาสติก ยาง สิ่งทอ และเซรามิกส์ ลักษณะสำคัญของวัสดุเหล่านี้คือ ไม่เป็นพิษหรือปลดปล่อยสารพิษสู่ร่างกายเมื่อนำไปใช้งาน ดังนั้นในระยะแรกจึงนิยมใช้วัสดุที่เฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาในทางชีวภาพ (Bioinert) อย่างไรก็ตามอวัยวะเทียมที่ผลิตจากวัสดุเหล่านี้ยังถือเป็นสิ่งแปลกปลอมเมื่อนำมาใช้ในร่างกาย ดังนั้นร่างกายจึงสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาห่อหุ้มอวัยวะเทียมนั้น การเคลื่อนไหวที่บริเวณรอยต่อระหว่างอวัยวะเทียมและเนื้อเยื่อเดิมของร่างกาย จะมีผลทำให้ความหนาของเนื้อเยื่อที่ร่างกายสร้างขึ้นมาห่อหุ้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการเลื่อนหลุดของอวัยวะเทียม ทำให้อายุการใช้งานของอวัยวะเทียมสั้นลง วัสดุสังเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีความหวังในการเกิดปฏิกิริยาทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวภาพ (Bio-active materials) และไม่เป็นพิษต่อร่างกายถูกเสนอขึ้นมาเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น เนื่องจากอวัยวะเทียมที่ผลิตจากวัสดุสังเคราะห์ชนิดนี้สามารถเชื่อมติดกับเนื้อเยื่อภายในร่างกายได้โดยตรงด้วยการเกิดสารกระดูกใหม่ขึ้นที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุสังเคราะห์และเนื้อเยื่อเดิม ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเคลื่อนหลุดของอวัยวะเทียมภายหลังการทำศัลยกรรมได้

ในปัจจุบันการศึกษาวิจัยและการนำวัสดุที่ວ່ອງไวทางชีวภาพมาใช้งานเริ่มเป็นที่แพร่หลายและมีแนวโน้มจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ในต่างประเทศ โดยเฉพาะงานทางด้านทันตกรรมและออร์โทปิดิกส์ ในทางตรงข้ามการใช้งานของวัสดุสังเคราะห์ประเภทนี้ยังไม่แพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากวัสดุดังกล่าวยังไม่สามารถผลิตได้ภายในประเทศต้องนำเข้าจากต่างประเทศทำให้มีราคาสูง อีกทั้งความรู้พื้นฐานและการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับวัสดุที่ວ່ອງไวทางชีวภาพในประเทศไทยยังจำกัดอยู่ในวงแคบ

จากข้อจำกัดและปัญหาดังกล่าวข้างต้นนำไปสู่แนวความคิดที่จะศึกษาวิจัยและสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติว່ອງไวทางชีวภาพและมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในงานทางการแพทย์และอวัยวะเทียมในโครงการวิจัยนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาความรู้และเทคโนโลยีซึ่งอาจนำไปสู่การผลิตวัสดุประเภทนี้เพื่อใช้เองภายในประเทศแทนการนำเข้าจากต่างประเทศ

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์โดยวิธีทางเคมี
2. ศึกษาตัวแปรต่างๆที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์
3. ศึกษาสมบัติว່ອງไวในทางชีวภาพของสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ระบบจำลอง
4. ศึกษาตัวแปรต่างๆที่มีอิทธิพลต่อสมบัติว່ອງไวในทางชีวภาพของสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้

3. ทฤษฎีและหลักการ

ความสามารถในการเข้ากันได้ระหว่างเนื้อเยื่อกับวัสดุสังเคราะห์ (Biocompatibility) เป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการยอมรับของร่างกายต่อวัสดุชีวภาพที่ฝังเข้าไปในร่างกาย ซึ่งมีผลโดยตรงต่อความเป็นไปได้ในการนำวัสดุนั้นๆมาประยุกต์ใช้ในงานด้านการเปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อ วัสดุที่เข้ากันได้กับระบบในร่างกายจะต้องไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองและอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียง ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ และไม่ก่อให้เกิดมะเร็ง

โดยทั่วไปเราสามารถจำแนกชนิดของปฏิกิริยาตอบโต้ของเนื้อเยื่อในร่างกายต่อวัสดุชีวภาพได้เป็น 4 ชนิด ดังนี้

- เนื้อเยื่อตาย เนื่องจากเนื้อเยื่อเกิดปฏิกิริยากับวัสดุชีวภาพ (Toxic)
- เนื้อเยื่อสร้างถุงเส้นใยที่ไม่ยึดติด (Non-adherent fibrous capsule) ขึ้นมาห่อหุ้มวัสดุชีวภาพไว้ เพื่อแยกวัสดุออกจากสภาวะแวดล้อมของร่างกาย (Biologically nearly inert)
- เนื้อเยื่อสร้างพันธะที่บริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อกับวัสดุ (Bioactive)
- เนื้อเยื่อสร้างตัวเองแทนที่วัสดุชีวภาพ (Dissolution of implant)

จากปฏิกิริยาตอบโต้ของร่างกายที่กล่าวข้างต้น เราสามารถจำแนกประเภทของวัสดุเคราะห์ที่ใช้ในงานทางการแพทย์ตามกลไกการยึดติดระหว่างเนื้อเยื่อและวัสดุชีวภาพได้เป็น 4 ประเภทคือ

1. วัสดุค่อนข้างเฉื่อย (Nearly inert / Bioinert)

วัสดุประเภทนี้จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือเปลี่ยนน้อยมากเมื่อถูกฝังอยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมในร่างกายเป็นระยะเวลานาน เนื้อเยื่อจะแสดงปฏิกิริยาตอบโต้ต่อวัสดุชีวภาพเฉื่อย โดยการสร้างชั้นเส้นใยขึ้นห่อหุ้มวัสดุชีวภาพนั้นไว้ เพื่อปิดกั้นการสัมผัสของวัสดุนั้นกับระบบภายในร่างกาย การเคลื่อนที่ที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุชีวภาพกับเนื้อเยื่อจะทำให้ความหนาของชั้นเส้นใยที่ห่อหุ้มวัสดุชีวภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งก่อให้เกิดการเคลื่อนหลุดของวัสดุชีวภาพ

2. วัสดุที่มีรูพรุน (Porous materials)

วัสดุประเภทนี้ส่วนใหญ่จะเป็นพวกเซรามิกที่มีรูพรุน หรือพวกโลหะที่มีรูพรุนซึ่งเคลือบผิวด้วยสารประเภทไฮดรอกซีเอปาทิต (Hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ที่มีองค์ประกอบเคมีคล้ายคลึงกับแร่ธาตุหลักในเนื้อเยื่อแข็ง กระดูก ฟัน และเคลือบฟันของมนุษย์ วัสดุประเภทนี้สามารถลดปัญหาการเคลื่อนหลุดของวัสดุที่เกิดกับวัสดุประเภทแรกได้ เนื่องจากกระดูกจะถูกสร้างและเจริญเติบโตเข้าไปในรูพรุนที่พื้นผิววัสดุเป็นตัวช่วยยึดระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อ ขนาดของรูพรุนของวัสดุประเภทนี้ต้องมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 100 ไมครอน เพื่อให้เส้นเลือดฝอยสามารถเจริญผ่านรูพรุนเข้าไปได้ เส้นเลือดฝอยนี้จะนำเลือดไปหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เจริญอยู่ในรูพรุน การเคลื่อนที่แม้เพียงเล็กน้อยที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุชีวภาพกับเนื้อเยื่อสามารถทำให้เส้นเลือดฝอยขาดได้ ซึ่งจะส่งผลให้เนื้อเยื่อที่อยู่ในรูพรุนตาย เกิดการอักเสบ และทำลายเสถียรภาพที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุชีวภาพกับเนื้อเยื่อ

3. วัสดุที่สามารถถูกดูดซับหรือกัดเซาะภายใต้สภาวะร่างกาย (Resorbable or Erodeable materials)

วัสดุประเภทนี้ถูกออกแบบเพื่อให้ค่อยๆสลายตัวภายหลังการเปลี่ยนถ่าย และจะถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อธรรมชาติที่ร่างกายสร้างขึ้น ข้อกำหนดที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึงในการออกแบบวัสดุประเภทนี้ได้แก่ ปริมาณและองค์ประกอบของวัสดุประเภทนี้จำเป็นจะต้องเข้ากันได้กับระบบเมตาบอลิซึมของร่างกาย และอัตราการดูดซึมของวัสดุควรจะต้องสอดคล้องกับอัตราการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อ จากข้อกำหนดทั้งสองทำให้การออกแบบวัสดุประเภทนี้มีความยากลำบากมาก

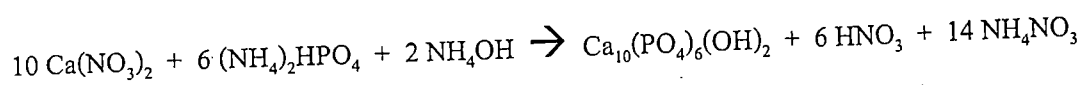
4. วัสดุที่ว่องไวในทางชีวภาพ (Bioactive materials)

วัสดุประเภทนี้ค้นพบโดย Hench และผู้ร่วมงานในปี 1969 โดยให้นิยามว่า วัสดุที่ว่องไวในทางชีวภาพ คือวัสดุที่สามารถตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมทางสรีรวิทยา โดยการเกิดปฏิกิริยาเคมีที่บริเวณพื้นผิวของวัสดุซึ่งจะก่อให้เกิดการเชื่อมต่อระหว่างวัสดุและเนื้อเยื่อของร่างกาย จากนิยามดังกล่าวจะเห็นได้ว่าลักษณะของวัสดุประเภทนี้จะอยู่กึ่งกลางระหว่างวัสดุที่ค่อนข้างเฉื่อยและวัสดุที่สามารถดูดซึมภายใต้สภาวะร่างกาย

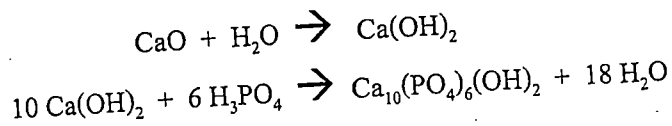
วัสดุที่ว่องไวในทางชีวภาพจะเกิดการเชื่อมต่อกับกระดูกหรือเนื้อเยื่อภายในร่างกาย โดยจะมีการสร้างสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ซึ่งมีองค์ประกอบและโครงสร้างคล้ายคลึงกับแร่ธาตุหลักในกระดูกและฟันของมนุษย์ที่บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุสังเคราะห์และเนื้อเยื่อข้างเคียงภายหลังจากการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาเรื่องการเลื่อนหลุดของอวัยวะเทียมได้

จากผลงานวิจัยข้างต้นของ Hench และคณะทำให้นักวิจัยหลายกลุ่มหันมาสนใจที่จะศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางการแพทย์มากขึ้น เนื่องจากนักวิจัยเหล่านี้เชื่อมั่นว่าวัสดุชีวภาพและอวัยวะเทียมที่ผลิตจากสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์น่าจะมีสมบัติทางกายภาพและเคมีคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อแข็งภายในร่างกายมากที่สุด

โครงสร้างผลึกของสารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่เป็นองค์ประกอบหลักในกระดูกและฟันจะประกอบด้วยกลุ่มของแคลเซียม (Ca) ฟอสเฟต (PO₄) และ ไฮดรอกไซด์ (OH) โดยมีอัตราส่วนโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P) ประมาณ 1.67 นักวิจัยหลายกลุ่มในต่างประเทศได้ทำการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ด้วยวิธีการและสภาวะที่แตกต่างๆกัน ทำให้ได้สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่มีโครงสร้างและสมบัติต่างกันไป เช่น กลุ่มวิจัยของ Hayek และคณะได้ทำการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ จากสารตั้งต้นแคลเซียมไนเตรต (Ca(NO₃)₂) และแอมโมเนียมฟอสเฟต ((NH₄)₂HPO₄) โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH₄OH) ดังสมการ



ในขณะที่กลุ่มวิจัยของ Berzina และคณะได้ทำการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีแอปพาไทต์ด้วยวิธีการไฮโดรลิซิสแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ให้กลายเป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)₂) แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริก (H₃PO₄) ดังสมการ



อย่างไรก็ตามการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีเอปาทาइटในหลายๆงานวิจัย ยังไม่สามารถควบคุมให้มีอัตราส่วนโมลของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 1.67 ได้ จึงเป็นผลให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆร่วมด้วย เช่น ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ฯลฯ นักวิจัยบางกลุ่มได้เสนอว่าโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของไฮดรอกซีเอปาทาइटที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อสมบัติความว่องไวในทางชีวภาพ และสมบัติอื่นๆของสารไฮดรอกซีเอปาทาइट ดังนั้นการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์สารไฮดรอกซีเอปาทาइटจึงดำเนินมาอย่างต่อเนื่องโดยนักวิจัยหลายกลุ่ม เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ให้ได้สารไฮดรอกซีเอปาทาइटที่ใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อธรรมชาติมากที่สุด โดยใช้วิธีการที่ง่าย ประหยัด และมีประสิทธิภาพที่สุด

วิธีการทดสอบสมบัติความว่องไวในทางชีวภาพของวัสดุสังเคราะห์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น ทดสอบการเปลี่ยนแปลงโดยใส่ในงานเพาะเชื้อ หรือทดสอบโดยการผ่าตัดใส่ในสัตว์ทดลอง ซึ่งการทดสอบทั้งสองวิธีมีความยุ่งยากมาก ค่าใช้จ่ายสูง และต้องมีความรู้และความชำนาญเป็นพิเศษในการวิเคราะห์ผล ดังนั้นกลุ่มนักวิจัยภายใต้การนำของ Kokubo ได้คิดค้นวิธีการศึกษาและทดสอบคุณสมบัติความว่องไวในทางชีวภาพ (Bioactivity) ของวัสดุสังเคราะห์ภายใต้สภาวะจำลอง โดยการแช่วัสดุสังเคราะห์ที่ต้องการทดสอบในสารละลายเคมีที่มีชนิดและความเข้มข้นของสารประกอบ อนินทรีย์คล้ายคลึงกับเลือดของมนุษย์ สารละลายชนิดนี้เรียกว่า Simulated body fluid (SBF) การทดลองจะควบคุมอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์ วิธีนี้เป็นวิธีการศึกษาสมบัติความว่องไวในทางชีวภาพของวัสดุสังเคราะห์ขั้นพื้นฐานที่ง่าย สะดวก และประหยัดก่อนจะทำการทดสอบกับสัตว์ทดลอง ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สัตว์ทดลองลงได้

4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและเอกสารอ้างอิง

- [1] McConnell, D. Apatite : Its crystal chemistry, mineralogy, utilization, and geologic and biologic occurrences, Springer-Verlag, New York, 1973.
- [2] LeGeros, R.Z. and LeGeros, J.P. "Dense hydroxyapatite" In *An introduction to bioceramic*. Edited by Hench, L.L. and Wilson, J. World Scientific, Singapore, 1993, pp.139-180.
- [3] Klein, C.P.A.T. Wolke, J.G.C. and DeGroot, K. "Stability of calcium phosphate ceramics and plasma sprayed coating" In *An introduction to bioceramic*. Edited by Hench, L.L. and Wilson, J. World Scientific, Singapore, 1993, pp.199-221.

- [4] Aoki, H. Medical Application of Hydroxy-apatite, Ishiyaky EuroAmerica, Tokyo, 1994.
- [5] Victoria, E.C. and Gnanam, F.D. "Synthesis and characterization of biphasic calcium phosphate" *Trends Biomater. Artif. Organs.*, 2002, 16(1), 12-14.
- [6] Hayak, E. and Newesely, H. "Pentacalcium monohydroxyorthophosphate" *Inorg. Syn.*, 1963, 7, 63-65.
- [7] Aoki, H. Science and Medical Applications of Hydroxyapatite, Takayama press, Tokyo, 1991.
- [8] Yeong, B., Junmin, X. and Wang, J. "Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite from calcium oxide and brushite" *J. Am. Cera. Soc.*, 2001, 84(2), 465-467.
- [9] Boudeville, P., Pauvert, B., Ginebra, M.P., Fernandez, E. and Planell, J.A. "Dry mechanochemical synthesis of apatites and other calcium phosphates" *Key Engr. Mater.*, 2001, 192-195, 115-118.
- [10] Weng, W. and Baptista, J.L. "Alkoxide route for preparing apatite and its coating" *Biomaterials*, 1998, 19, 125-131.
- [11] Kaciulis, S., Mattogno, G., Pandolfi, L., Cavalli, M., Gnappi, G. and Montenero, A. "XPS study of apatite-based coatings prepared by sol-gel technique" *Appl. Surf. Sci.*, 1999, 151, 1-5.
- [12] Kokubo, T. "Surface chemistry of bioactive glass-ceramics" *J. Non-Cryst. Solids*, 1990, 120, 138-151.
- [13] Kokubo, T. "A-W glass-ceramic: Processing and properties" In *An introduction to bioceramic*. Edited by Hench, L.L. and Wilson, J. World Scientific, Singapore, 1993, pp. 75-88.
- [14] Cho, S.B., Nakanishi, K., Kokubo, T., Soga, N., Ohtsuki, C., Nakamura, T., Kitsugi, T. and Yamamuro, T. "Dependence of apatite formation on silica gel on its structure: Effect of heat treatment" *J. Am. Ceram. Soc.*, 1995, 78, 1769-1774.

5. วิธีการดำเนินงานวิจัย

5.1 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอปาทิต (HAp)

5.1.1 สารตั้งต้น P_2O_5 และ $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ เป็นสารตั้งต้น

ซึ่งแคลเซียมไนเตรทเตรไฮเดรต 23.6 กรัม และฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ 8.52 กรัม (ซึ่งละเอียด 4 ตำแหน่ง) ละลายในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ปั่นกวนบนเครื่องปั่นกวนแม่เหล็กเป็นเวลา

1 ชั่วโมง ค่อย ๆ เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ลงไป วัด pH ให้ได้ 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 และ 60 นาที นำมากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 คืน

5.1.2 สารตั้งต้น H_3PO_4 และ $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ เป็นสารตั้งต้น

เปิดสารละลายกรดฟอสฟอริก 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร ผสมกับแคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรต 29.2 กรัม (ซึ่งละเอียด 4 ตำแหน่ง) ปั่นกวนบนเครื่องปั่นกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ค่อย ๆ เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ลงไป วัด pH ให้ได้ 6, 7, 8, 9, 11 และ 12 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 และ 60 นาที นำมากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 คืน

5.2 การแคลไซน์ (calcine) สารที่สังเคราะห์ได้

ในขั้นตอนนี้จะนำสารที่สังเคราะห์ได้มาเผาในถ้วยครุซิบิลที่อุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อไล่ออกประกอบอินทรีย์ออกไป จากนั้นนำสารที่ได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 800, 950, 1000 และ 1100 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อเปลี่ยนวัฏภาคอสัณฐานให้เป็นผลึก

5.3 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้

5.3.1 องค์ประกอบทางเคมีของสารที่สังเคราะห์ได้

นำสารที่แคลไซน์แล้วมาตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยใช้เทคนิคเอ็กซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ (X-ray fluorescence; XRF) โดยซึ่งสารตัวอย่างประมาณ 0.5 กรัม บดผสมรวมกับกรดบอริกประมาณ 4.5 กรัม โดยใช้เครื่องบดผสม (Rock Labs) แล้วนำไปอัดขึ้นรูปในถาดอะลูมิเนียมสำหรับใส่สารตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่องเอ็กซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์ (XRF) รุ่น SRS3400 บริษัท BRUKER

5.3.2 วัฏภาคที่เป็นผลึกของสารที่สังเคราะห์ได้

นำสารที่แคลไซน์ที่อุณหภูมิ 800, 950, 1000 และ 1100 °C แล้วมาตรวจวิเคราะห์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนของวัฏภาคที่เป็นผลึก โดยใช้เทคนิคการกระเจิงของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction; XRD) การวิเคราะห์ทำได้โดยนำเอาผงของตัวอย่างมาบดละเอียดแล้วใส่ในภาชนะใส่ตัวอย่าง ทำการตรวจวิเคราะห์สารที่เตรียมได้โดยใช้เครื่อง XRD รุ่น D8 Advance บริษัท BRUKER ซึ่งมีทองแดง (Cu) เป็นแหล่งกำเนิดรังสีเอ็กซ์

5.4 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ในระบบจำลองการตรวจ

ในการทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ในระบบจำลอง จะทำการทดสอบโดยการแช่สารตัวอย่างในสารละลาย simulated body fluid (SBF) ซึ่งจะมียังองค์ประกอบทางเคมีของไอออนอนินทรีย์และค่าความเป็นกรด - ด่างคล้ายระบบในร่างกายมนุษย์

5.4.1 การเตรียมสารละลาย Simulated Body Fluid (SBF)

การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ในระบบจำลอง ทำโดยเตรียมสารละลาย SBF ให้มีความเข้มข้นและปริมาณไอออนเช่นเดียวกับสารภายในร่างกายดังแสดงในตารางที่ 5.1 โดยละลายสารเคมีดังตารางที่ 5.2 ในน้ำกลั่น 500 ml

ตารางที่ 5.1 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของไอออนระหว่าง Simulated Body Fluid กับ Blood Plasma

	Ion concentration (mmol/l)						
	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺	Ca ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻
Simulated body fluid	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8	4.2	1.0
Blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0

ตารางที่ 5.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย Simulated body fluid

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย		
1. NaCl	3.998	กรัม
2. NaHCO ₃	0.175	กรัม
3. KCl	0.112	กรัม
4. K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.114	กรัม
5. MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.153	กรัม
6. 1M HCl	20	มล.
7. CaCl ₂	0.139	กรัม
8. Na ₂ SO ₄	0.036	กรัม
9. Trishydroxymethyl-aminomethane [(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂]	3.029	กรัม

5.4.2 การทดสอบความว่องไวทางชีวภาพของผงไฮดรอกซีแอปพาไทต์

ทำการแช่ผงไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่เคลือบที่ 950, 1000 และ 1100 °C ลงในสารละลาย SBF ในอัตราส่วน 1 มล. : 1 มก. ในช่วงเวลาต่างกันตั้งแต่ 1 – 25 วัน โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 36.5 °C (อุณหภูมิร่างกาย) เมื่อครบตามเวลาที่ต้องการตรวจวิเคราะห์แล้ว แยกส่วนของสารละลาย SBF

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรนำไปใช้

และผงไฮดรอกซีเอปาทิต์ออกจากกัน ล้างผงไฮดรอกซีเอปาทิต์ด้วยน้ำกลั่น ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เก็บสารละลาย SBF และผงไฮดรอกซีเอปาทิต์ไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

5.5 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบทางชีวภาพ

นำผงตัวอย่างที่ได้จากการแช่ไปตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงวัฏภาคที่เป็นผลึกด้วยเทคนิค XRD ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลภาคของพื้นผิวสารหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Scanning Electron Microscope, SEM) รุ่น JEC-120 บริษัท JEOL

6. ผลการทดลอง

6.1 องค์ประกอบทางเคมีของสารที่สังเคราะห์ได้

จากผลการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคเอ็กซ์เรย์ฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโกปี พบว่าสารที่สังเคราะห์ได้มีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมและฟอสฟอรัส ดังแสดงในตารางที่ 6.1 ซึ่งพบว่าอัตราส่วน โมลของ Ca/P จะมีค่าแตกต่างกันขึ้นกับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่ใช้ในการตกตะกอนและเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงตะกอน และพบว่าอัตราส่วน โมลของ Ca/P ในสารที่สังเคราะห์ได้มีค่าต่ำกว่าค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซีเอปาทิต์ ($Ca/P = 1.67$) ซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่สำคัญ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบหลักในกระดูกและฟัน จึงใช้เป็นค่าในอุดมคติเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลอง

จากตารางที่ 6.1 เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างสารในตัวอย่างที่ 1-4 ซึ่งใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้นจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีอัตราส่วน โมลของ Ca/P น้อยกว่าสารตัวอย่างที่ 5-11 ซึ่งใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น เนื่องจากฟอสฟอรัสไอออนในฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์มีปริมาณเป็นสองเท่าของฟอสฟอรัสไอออนในกรดฟอสฟอริก เมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์และกรดฟอสฟอริกเท่ากันจึงทำให้สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์มีอัตราส่วน โมลของ Ca/P น้อยกว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกรดฟอสฟอริก

เมื่อพิจารณาค่า pH ที่ใช้ในการตกตะกอน พบว่าเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราส่วน โมลของ Ca/P เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อความเป็นเบสของสารละลายเพิ่มขึ้น (pH สูงขึ้น) แคลเซียมไอออนในสารละลายตั้งต้นจะสามารถตกตะกอนออกมาได้มากกว่าเมื่อใช้ pH ต่ำ จึงทำให้มีอัตราส่วน โมลของ Ca/P เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากผลการเปรียบเทียบระหว่างสารตัวอย่างที่ 2, 3 และ 4 ที่ใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอนเป็น 30 นาที สารตัวอย่างที่ 5, 6, 7 และ 8 ที่ใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอนเป็น 60 นาที และสารตัวอย่างที่ 9, 10 และ 11 ที่ใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น เวลาในการตกตะกอนเป็น 30 นาที สารตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่มข้างต้นนี้ใช้สารตั้งต้นและเวลาในการตกตะกอนเหมือนกัน แต่เมื่อเพิ่ม pH

ที่ใช้ในการตกตะกอนจะทำให้อัตราส่วนโมลของ Ca/P ของสารผลิตภัณฑ์มีค่าเข้าใกล้ค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซีเอปาทาइट (1.67) มากขึ้น แสดงว่าไฮดรอกซีเอปาทาइटจะเกิดได้ดีที่ pH สูงขึ้น

เมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้จาก 30 นาที เป็น 60 นาที จะทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีอัตราส่วน โมลของ Ca/P เพิ่มขึ้น เนื่องจากระยะเวลาในการตกตะกอนมากขึ้นสารตั้งต้นทำปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์จะมีมากขึ้น โดยเฉพาะแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในสารละลายซึ่งจะตกตะกอนออกมาได้ช้า เมื่อเวลาในการตกตะกอนนานขึ้นแคลเซียมไฮดรอกไซด์จึงสามารถตกตะกอนออกมาได้มากขึ้น จึงทำให้อัตราส่วน โมลของ Ca/P เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากการเปรียบเทียบระหว่างสารตัวอย่างที่ 8 และ 9 ที่ใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น โดย pH ที่ใช้ตกตะกอนเท่ากับ 9 และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากับ 60 และ 30 นาทีตามลำดับ พบว่าสารตัวอย่างที่ 8 ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอนมากกว่ามีอัตราส่วน โมลของ Ca/P มากกว่าสารตัวอย่างที่ 9 ที่ใช้เวลาในการตกตะกอนน้อยกว่า สำหรับไฮดรอกซีเอปาทาइटที่ใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้นดังในสารตัวอย่างที่ 1 ถึง 4 พบว่า สารตัวอย่างที่ 1 ซึ่งใช้ pH ในการตกตะกอนน้อยกว่าสารตัวอย่างที่ 2, 3 และ 4 แต่ใช้เวลาในการตกตะกอนมากกว่าคือ 60 นาที จะมีอัตราส่วน โมลของ Ca/P มากกว่า แสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนมีผลอย่างมากต่อการเกิดไฮดรอกซีเอปาทาइट

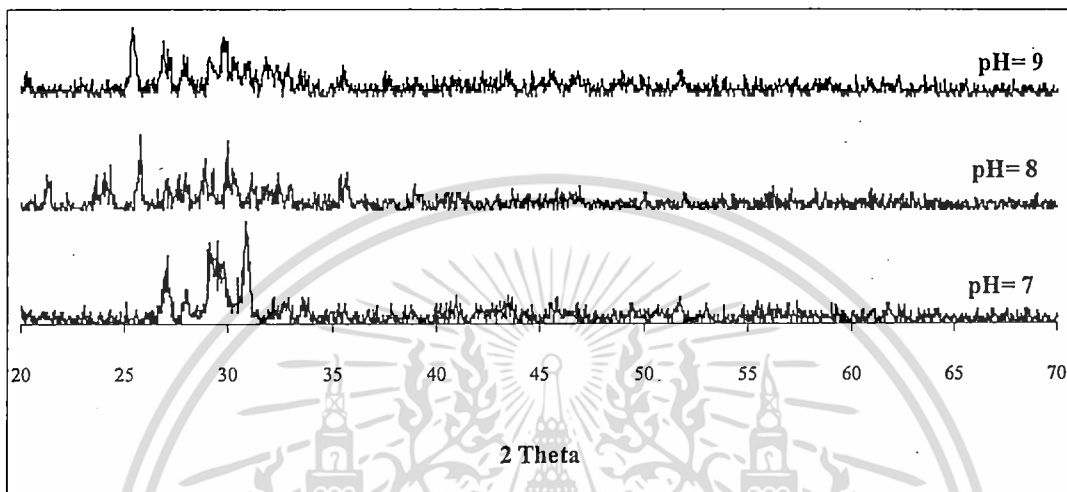
ตารางที่ 6.1 องค์ประกอบทางเคมีของสารที่สังเคราะห์ได้

สารตัวอย่างที่	สารตั้งต้น			pH	Aging time (นาที)	อัตราส่วน โมลของ Ca/P ของสารที่สังเคราะห์ได้
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O (mol/l)	P ₂ O ₅ (mol/l)	H ₃ PO ₄ (mol/l)			
1	0.5	0.3	-	6	60	0.58
2	0.5	0.3	-	7	30	0.55
3	0.5	0.3	-	8	30	0.56
4	0.5	0.3	-	9	30	0.57
5	0.5	-	0.3	6	60	1.03
6	0.5	-	0.3	7	60	1.05
7	0.5	-	0.3	8	60	1.08
8	0.5	-	0.3	9	60	1.15
9	0.5	-	0.3	9	30	1.03
10	0.5	-	0.3	11	30	1.08
11	0.5	-	0.3	12	30	1.11

6.2 วัสดุที่เป็นผลึกของสารที่สังเคราะห์ได้

6.2.1 ผลของ pH ที่ใช้ในการตกตะกอน

รูปที่ 6.1 และรูปที่ 6.2 เป็นการเปรียบเทียบแพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ (XRD pattern) ของสารที่สังเคราะห์ได้ที่ผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500°C โดยใช้สารตั้งต้นและเวลาในการตกตะกอนเท่ากัน แต่ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนต่างกัน

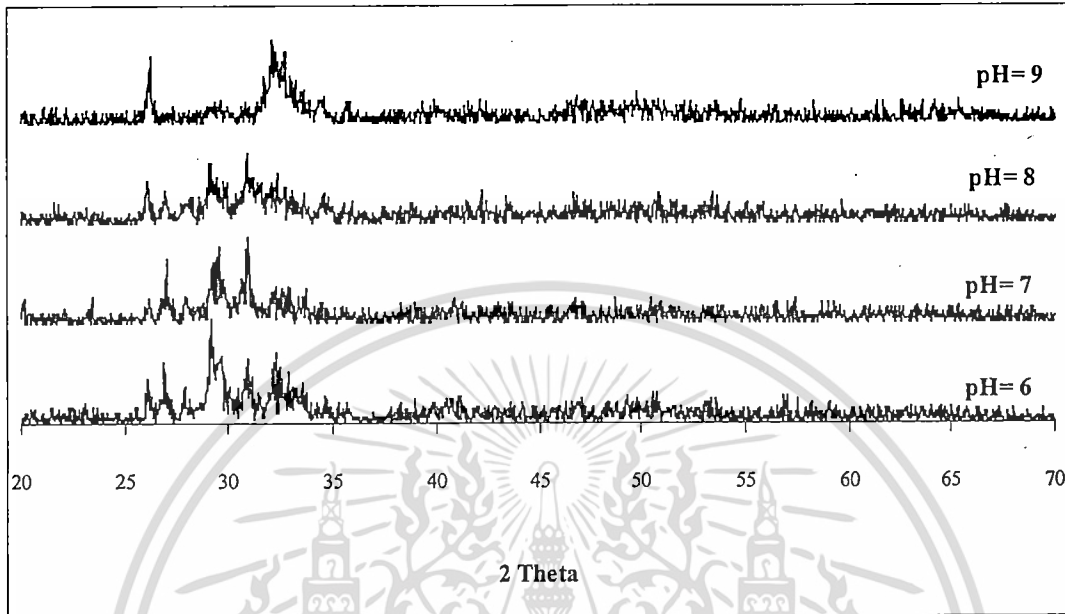


รูปที่ 6.1 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ เป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอน 30 นาที ที่ pH ต่างๆ

จากรูปที่ 6.1 พบว่าสารที่สังเคราะห์ได้ที่ pH 7 ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบจำพวกไดแคลเซียมฟอสเฟต (dicalcium phosphate; DCP) ที่มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ โดยจะเห็นจากพีกที่ ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 26.9 จนถึง 32.9 องศา (ภาคผนวก ง) ซึ่งเป็นแพทเทิร์นของไดแคลเซียมฟอสเฟต และอาจมีสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตอีกชนิดอื่น ๆ รวมอยู่ด้วย เช่น ไฮดรอกซีเอปาทาइटและไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate; TCP สูตร โมเลกุล $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ซ้อนทับกันอยู่

เมื่อเพิ่ม pH ที่ใช้ในการตกตะกอนเป็น 8 และ 9 พบว่าเริ่มมีวัสดุของไฮดรอกซีเอปาทาइटเกิดมากขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากพีกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.8 องศาและพีกในช่วง 31.7 จนถึง 34.0 องศา โดยจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อใช้ pH เท่ากับ 9 นอกจากนี้ยังมีวัสดุของไตรแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งเกิดพีกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 28.1 และ 31.3 องศา แต่เป็นพีกที่ซ้อนทับกันอยู่กับไฮดรอกซีเอปาทาइट อย่างไรก็ตามยังพบวัสดุของไดแคลเซียมฟอสเฟตร่วมอยู่ด้วย

จากผลการตรวจวิเคราะห์ข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สารที่สังเคราะห์โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้นมีวิฤภาคองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมฟอสเฟตชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไฮดรอกซีเอปาทิต



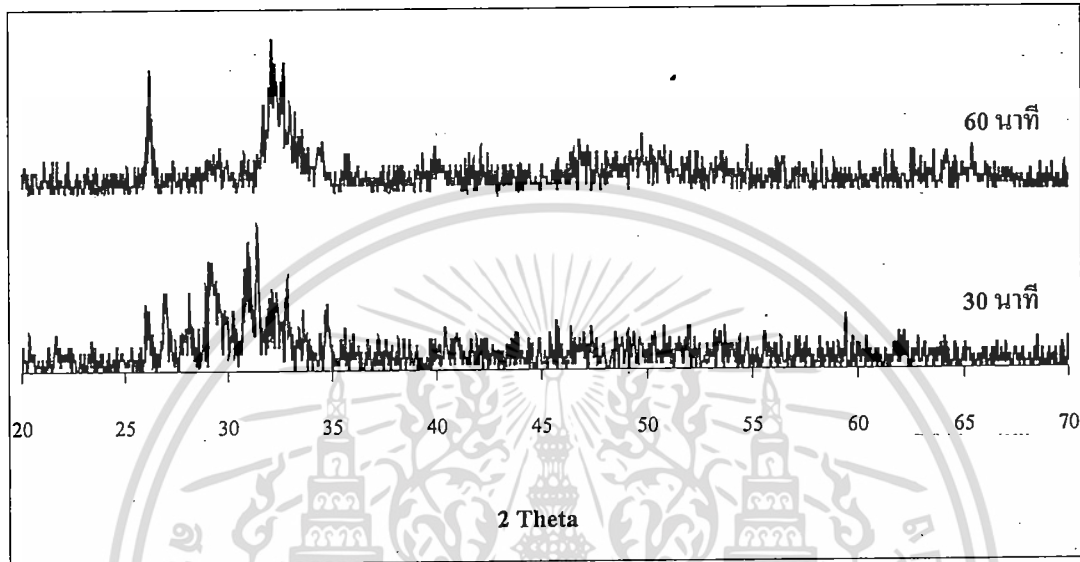
รูปที่ 6.2 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอน 60 นาที ที่ pH ต่างๆ

จากรูปที่ 4-2 แสดงให้เห็นว่าวิฤภาคองค์ประกอบของสารที่สังเคราะห์ได้เมื่อใช้ pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 6 คือ ไดแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งมีพิกหลักที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 29.0 องศา และพบวิฤภาคของไฮดรอกซีเอปาทิตร่วมอยู่ด้วย ซึ่งจะมีพิกซ้อนทับกันในช่วงกว้างตั้งแต่ที่ 2θ เท่ากับ 31.7 ถึง 34.0 องศา

ส่วนในช่วง pH ตั้งแต่ 7 - 9 พบว่ามีไฮดรอกซีเอปาทิตเกิดมากขึ้น โดยสังเกตได้จากพิกที่ ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.8 องศาและพิกในช่วง 31.7 ถึง 34.0 องศาซึ่งเป็นพิกของไฮดรอกซีเอปาทิตว่าจะมีความเข้มของพิกสูงขึ้นในขณะที่ความเข้มของพิกของไดแคลเซียมฟอสเฟตลดลงในช่วง pH 9 ซึ่งเป็น pH ที่สูงที่สุดจะเห็นแพทเทิร์นของไฮดรอกซีเอปาทิตเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งมีวิฤภาคอื่นรบกวนน้อยมาก อย่างไรก็ตามฐานพิกของไฮดรอกซีเอปาทิตมีลักษณะกว้าง (broad) เนื่องมาจากไฮดรอกซีเอปาทิตที่เกิดขึ้นยังไม่เป็นผลึกที่สมบูรณ์

6.2.2 ผลของเวลาที่ใช้ในการตกตะกอน

รูปที่ 6.3 เป็นการเปรียบเทียบแพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ที ผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500°C โดยใช้สารตั้งต้นและ pH เท่ากันแต่เวลาที่ใช้ในการตกตะกอน ต่างกัน

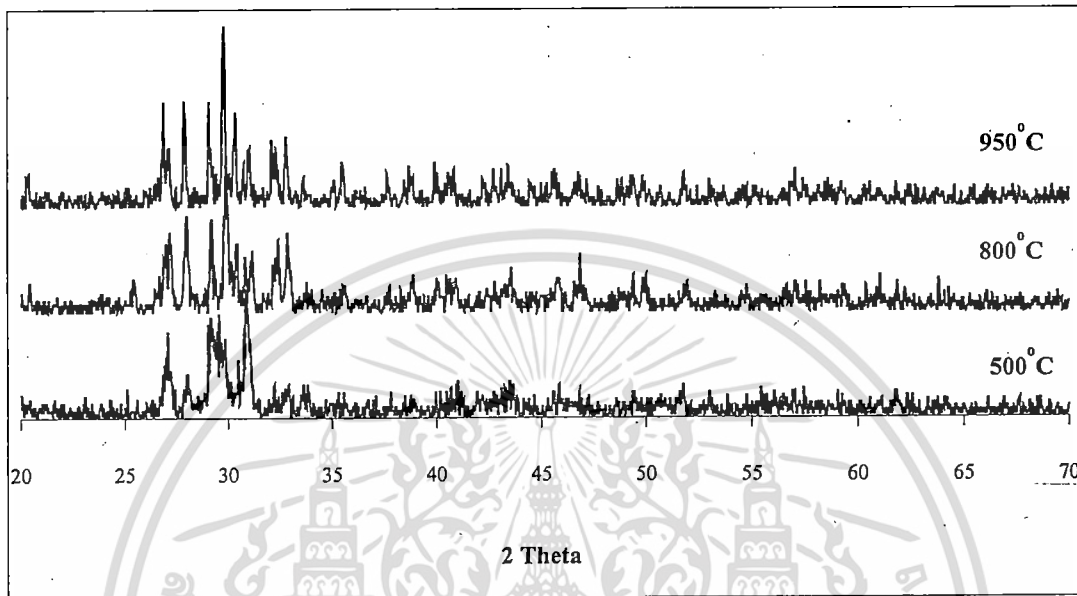


รูปที่ 6.3 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้ pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 6 และใช้เวลาในการตกตะกอนต่างกัน

จากรูปที่ 6.3 แสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนมีผลต่อการเกิดไฮดรอกซีเอปาทาइटเป็นอย่างมาก เมื่อพิจารณาแพทเทิร์นของสารผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาในการตกตะกอน 30 นาที พบว่าวัฏภาคองค์ประกอบหลักเป็นไคแคลเซียมฟอสเฟต โดยมีพีคในช่วง 2θ เท่ากับ 26.9 ถึง 32.9 องศา ซึ่งซ้อนทับกับพีคของไฮดรอกซีเอปาทาइटที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.8, 31.7, 32.1, 32.9 และ 34.1 องศา นอกจากนี้ยังพบว่ามีพีคที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 28.1, 31.4 และ 34.7 องศา ซึ่งเป็นพีคของไตรแคลเซียมฟอสเฟตร่วมด้วย แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการตกตะกอนเป็น 60 นาที พบว่าวัฏภาคองค์ประกอบหลักในแพทเทิร์นนี้คือไฮดรอกซีเอปาทาइट ดังจะเห็นได้จากพีคที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 25.8 องศา และพีคที่อยู่ในช่วง 31.7 จนถึง 34.0 องศาที่มีความเข้มเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่พีคของไค-แคลเซียมฟอสเฟตและไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีความเข้มลดลง

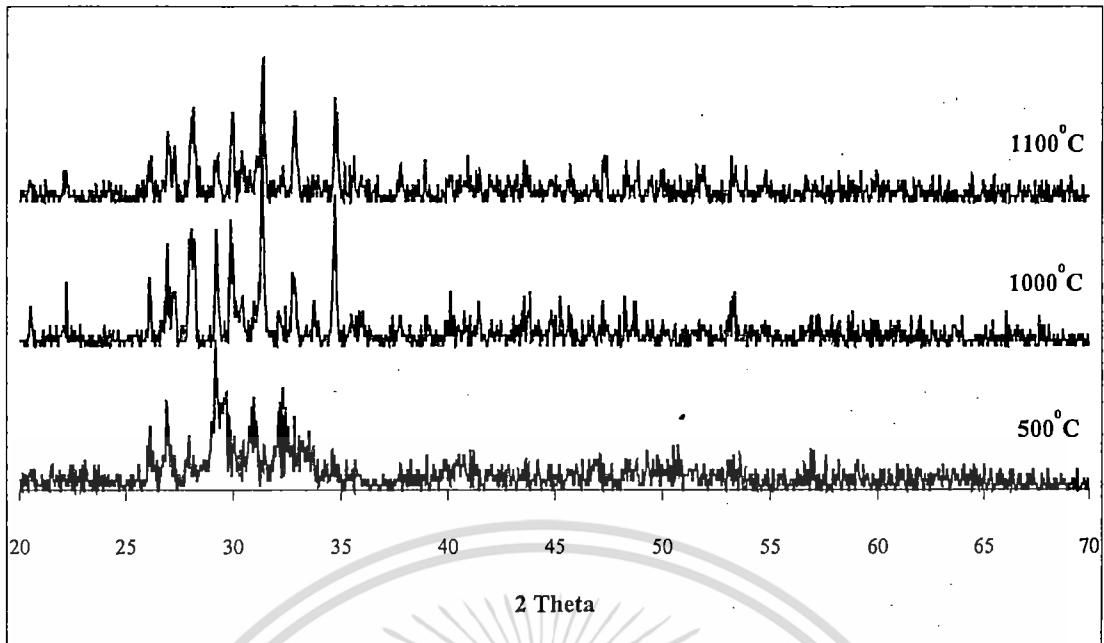
6.2.3 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนวิภาคที่เป็นผลึกของสารที่สังเคราะห์ได้

รูปที่ 6.4 – 6.6 เป็นแพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ ซึ่งผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ



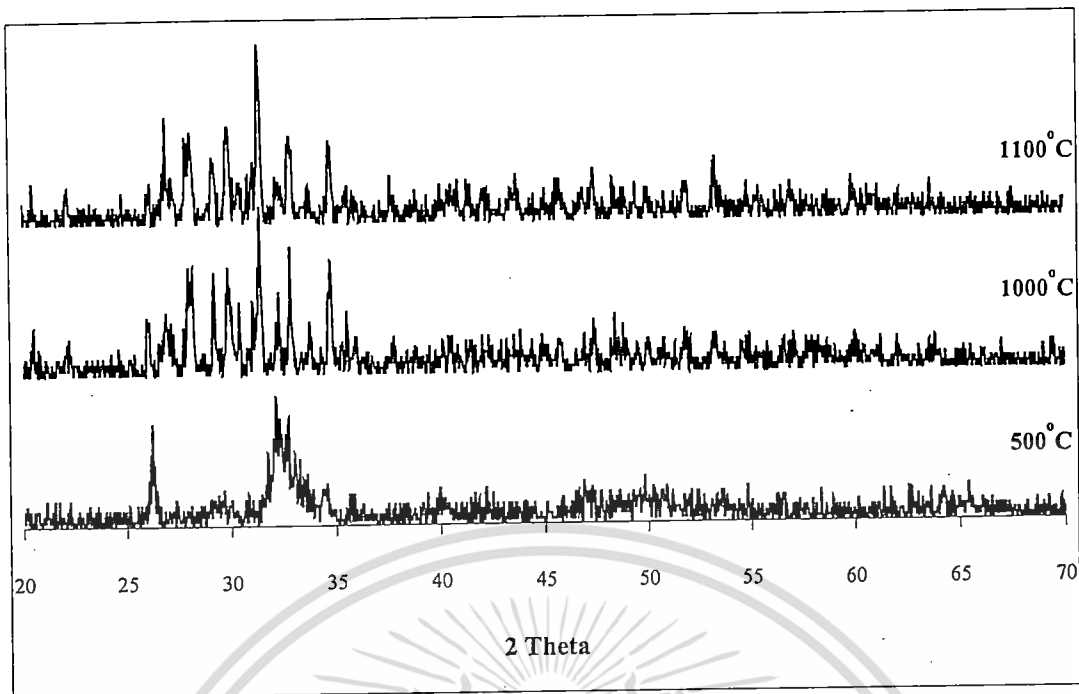
รูปที่ 6.4 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ เป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้ pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 7 และใช้เวลาตกตะกอน 30 นาที ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ

จากรูปที่ 6.4 พบว่าเมื่อทำการแคลไซน์สารที่เตรียมโดยใช้ฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์และแคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรตเป็นสารตั้งต้น (pH ที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากับ 7) ที่อุณหภูมิ 500, 800 และ 950°C สารจะเกิดการเปลี่ยนวิภาคองค์ประกอบหลักจากไคแคลเซียมฟอสเฟตเป็น ไตร-แคลเซียมฟอสเฟตและไฮดรอกซีเอปาทาइटตามลำดับ จากแพทเทิร์นที่ 500°C มีพีกที่ 2θ ในช่วงตั้งแต่ 26.9 จนถึง 32.1 องศาซึ่งเป็นแพทเทิร์นของไคแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งพีกมีลักษณะฐานพีกกว้าง เนื่องจากสารที่สังเคราะห์ได้เป็นไคแคลเซียมฟอสเฟตที่ยังเป็นรูปผลึกไม่สมบูรณ์ เมื่อเผาที่อุณหภูมิสูงขึ้นพบว่าที่ฐานของพีกแคบลง เนื่องจากสารมีรูปผลึกที่สมบูรณ์มากขึ้น นอกจากนี้ที่ 800°C ยังพบการเปลี่ยนของวิภาคองค์ประกอบหลักเป็น ไตรแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งมีพีกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 47.3 องศา และไฮดรอกซีเอปาทาइटซึ่งมีพีกที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 31.7 องศา



รูปที่ 6.5 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้ pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 6 และใช้เวลาตกตะกอน 60 นาที ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ

สารที่สังเคราะห์โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น (pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 6 และใช้เวลาตกตะกอน 60 นาที) ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500, 1000 และ 1100°C ตามลำดับ จะมีแพทเทิร์นดังแสดงในรูปที่ 6.5 จากแพทเทิร์นพบว่าสารที่ได้มีวิภาคองค์ประกอบหลัก ภายหลังจากแคลไซน์ที่ 500°C เป็นไดแคลเซียมฟอสเฟต ไตรแคลเซียมฟอสเฟต และไฮดรอกซีแอปพาไทต์ตามลำดับ เมื่อทำการแคลไซน์ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่ 1000 และ 1100°C พบว่าพีกในแพทเทิร์นมีลักษณะฐานแคบลง การแยกของพีกที่ตำแหน่งต่างๆ ชัดเจนมากขึ้น เนื่องจากการเผาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้สารมีความเป็นผลึกสูงขึ้น นอกจากนี้สารจะเกิดการเปลี่ยนวิภาคองค์ประกอบหลักจากไดแคลเซียมฟอสเฟตเป็น ไตรแคลเซียมฟอสเฟตและไฮดรอกซีแอปพาไทต์ตามลำดับ



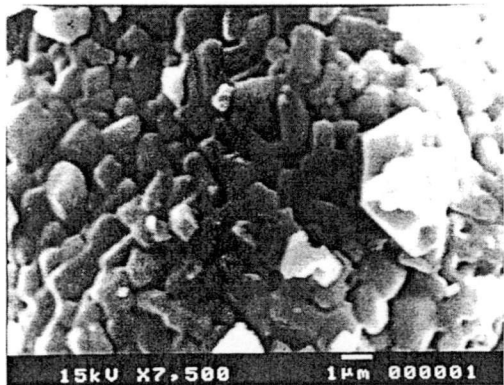
รูปที่ 6.6 แพทเทิร์นการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ซึ่งใช้ pH ในการตกตะกอนเท่ากับ 9 และใช้เวลาตกตะกอน 60 นาที ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างๆ

แพทเทิร์นของสารซึ่งเตรียมโดยใช้กรดฟอสฟอริกและแคลเซียมไนเตรทเตตระไฮเดรตเป็นสารตั้งต้น (pH ที่ใช้ตกตะกอนเท่ากับ 9 และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากับ 60 นาที) เป็นดังแสดงในรูปที่ 6.4 – 6.6 ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 500 1000 และ 1100°C ตามลำดับ พบว่าเริ่มต้นเมื่อเผาที่ 500°C แพทเทิร์นที่ได้มีลักษณะคล้ายแพทเทิร์นของไฮดรอกซีเอปาทาइटมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลขององค์ประกอบทางเคมีในตารางที่ 6.1 ที่พบว่าสารตัวอย่างนี้มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P เท่ากับ 1.15 ซึ่งเข้าใกล้อัตราส่วน โมลทางทฤษฎีของไฮดรอกซีเอปาทาइट เมื่อเผาสารนี้ที่อุณหภูมิ 1000 และ 1100°C พบว่าสารเกิดการเปลี่ยนวิฤภาคองค์ประกอบหลักกลายเป็น ไตร-แคลเซียมฟอสเฟตที่มีไฮดรอกซีเอปาทาइटร่วมอยู่ด้วย

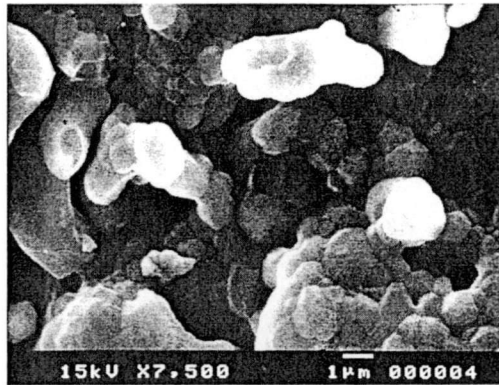
6.3 โครงสร้างจุลภาคของสารที่สังเคราะห์ได้

เมื่อนำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลภาควิธีพื้นที่ผิวของตัวอย่างภายหลังการแช่ในสารละลาย SBF

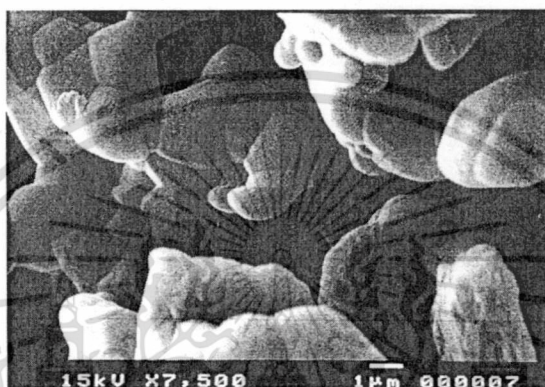
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 6.7 ลักษณะ โครงสร้างจุลภาคที่พื้นผิวของสารที่สังเคราะห์ได้ ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า

- (ก) สารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้น (pH = 7 เวลาในการตกตะกอน 30 นาที) ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 950 °C
- (ข) สารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น (pH = 9 เวลาในการตกตะกอน 60 นาที) ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 1000 °C
- (ค) สารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น (pH = 9 เวลาในการตกตะกอน 60 นาที) ภายหลังจากแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 1100 °C

จากรูปที่ 6.7 (ก) แสดงลักษณะ โครงสร้างจุลภาคที่พื้นผิวของสารที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้น พบว่าอนุภาคของสารที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเกรนเป็นแท่งยาว ซึ่งเป็นลักษณะเกรนของไดแคลเซียมฟอสเฟต ในบางส่วนของพื้นผิวพบอนุภาคที่มีโครงสร้างจุลภาคที่แตกต่างจากไดแคลเซียมฟอสเฟต โดยมีเกรนค่อนข้างกลมขนาดเล็ก ซึ่งเป็นลักษณะเกรนของไตรแคลเซียมฟอสเฟต นอกจากนี้พบว่าที่อุณหภูมิการแคลไซน์นี้เกรนของผลึกจะมีการเชื่อมต่อกันเห็นเป็นขอบเกรนอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าอนุภาคมีความพรุนตัวลดลง ซึ่งถ้าใช้อุณหภูมินี้ในการเผาสารตัวอย่างที่นำไปอัดเป็นชิ้นงาน น่าจะได้ชิ้นงานที่มีความหนาแน่นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำ 17

จากรูปที่ 6.7 (ข) และ (ค) แสดงลักษณะพื้นผิวของสารตัวอย่างที่สังเคราะห์โดยมีกรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น ภายหลังจากการแคลไซน์ที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าอนุภาคของสารตัวอย่างมีลักษณะเกรนเป็นหกเหลี่ยมค่อนข้างกลมเกาะรวมตัวกันอยู่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะเฉพาะของไตรแคลเซียมฟอสเฟตชนิด Whitlockite

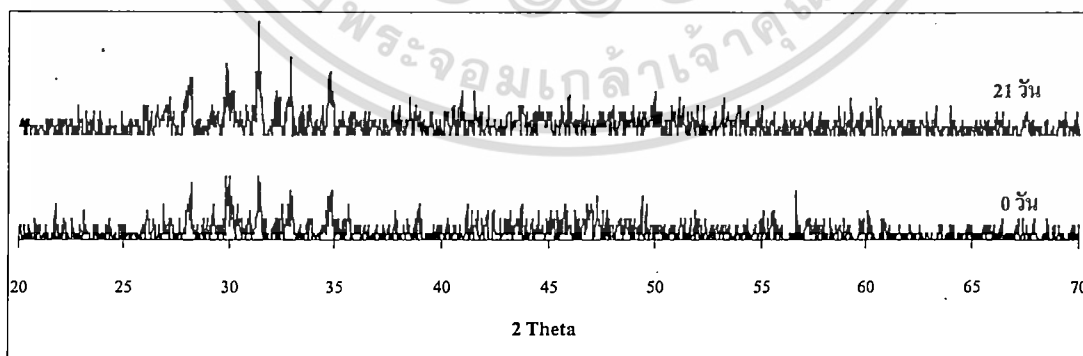
6.4 สมบัติความว่องไวทางชีวภาพ

ในการทดลองนี้จะใช้สารตัวอย่างที่มีอัตราส่วน โมลของ Ca/P มากที่สุด คือ สารตัวอย่างที่ 8 โดยจะนำสารตัวอย่างดังกล่าวที่ผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 1000°C ไปแช่ในสารละลาย SBF

รูปที่ 6.8 แสดงแพทเทิร์น XRD ของสารตัวอย่างก่อนและหลังการแช่ในสารละลาย SBF พบว่าพีกของไฮดรอกซีเอปาทาइटใน ที่ตำแหน่ง $2\theta = 32.9$ และ 49.4° มีค่าความเข้มสูงขึ้นในขณะที่ความเข้มของพีกเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีค่าลดลง ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีไฮดรอกซีเอปาทาइटเกิดขึ้นที่พื้นผิวของสารตัวอย่างภายหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF

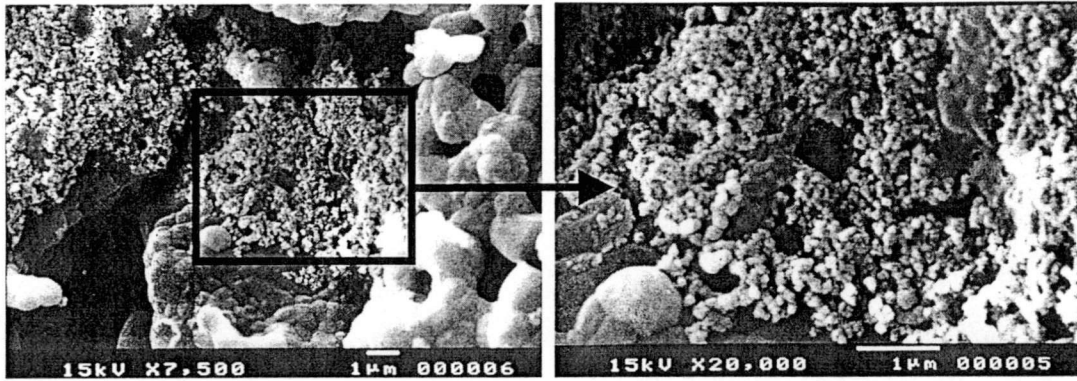
รูปที่ 6.9 แสดงลักษณะ โครงสร้างจุลภาคที่พื้นผิวสารตัวอย่างภายหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF พบว่ามีผลึกลักษณะคล้ายเข็มรวมตัวกันเป็นอนุภาคทรงกลมคล้ายลูกบอลเกิดขึ้นบนพื้นผิวผลึกของเบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟตของสารตัวอย่างภายหลังจากการแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 21 วัน อนุภาคที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะเช่นเดียวกับผลึกของไฮดรอกซีเอปาทาइट จึงสรุปได้ว่าอนุภาคดังกล่าวเป็นอนุภาคของไฮดรอกซีเอปาทาइटที่เกิดขึ้นใหม่จากสารละลาย SBF ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์โดยเทคนิค XRD

การก่อผลึกของไฮดรอกซีเอปาทาइटบนพื้นผิวสารตัวอย่างภายใต้สภาวะจำลองของระบบร่างกาย เป็นตัวชี้บอกว่าสารตัวอย่างดังกล่าวมีสมบัติความว่องไวทางชีวภาพ และมีความเป็นไปได้ที่จะเชื่อมต่อกับกระดูกจริงหากอยู่ภายใต้สภาวะร่างกายมนุษย์



รูปที่ 6.8 รูปแบบการกระเจิงรังสีเอ็กซ์ของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่สังเคราะห์ได้ (pH = 9 เวลาในการตกตะกอน 60 นาที แคลไซน์ที่ 1000°C) ก่อนและหลังแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6.9 โครงสร้างจุลภาคของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่สังเคราะห์ได้ (pH = 9 เวลาในการตกตะกอน 60 นาที แคลไซน์ที่ 1000°C) ภายหลังจากแช่ในสารละลาย SBF เป็นเวลา 21 วัน

7. สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยพบว่าชนิดของสารตั้งต้น pH ที่ใช้ในการตกตะกอน และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอน เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

1. อัตราส่วน โมลของ Ca/P ของสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น จะมีความมากกว่าและเข้าใกล้ค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซีแอปพาไทต์มากกว่าผลิตภัณฑ์จากการใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้น แม้จะใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้น pH และเวลาในการตกตะกอนเท่ากัน เนื่องจากจำนวน โมลของฟอสฟอรัสในฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์มีมากกว่าในกรดฟอสฟอริกถึง 2 เท่า จึงมีปริมาณฟอสฟอรัสไอออนมากกว่า เป็นผลให้สารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P น้อยกว่า

2. ในการสังเคราะห์ที่ใช้สารตั้งต้นชนิดเดียวกัน และเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากัน เมื่อเพิ่มค่า pH ในการตกตะกอนให้สูงขึ้นจะเป็นผลให้อัตราส่วนโมลของ Ca/P ของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อความเป็นเบสของสารละลายเพิ่มขึ้น (pH สูงขึ้น) ทำให้แคลเซียมไอออนสามารถเกิดการตกตะกอนได้ดีขึ้น จึงทำให้มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P เพิ่มขึ้น

3. ในการสังเคราะห์ที่ใช้สารตั้งต้นชนิดเดียวกัน และ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากัน พบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาในการตกตะกอน 60 นาที อัตราส่วน โมลของ Ca/P มากกว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาในการตกตะกอน 30 นาที เนื่องจากมีเวลาในการตกตะกอนที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มโอกาสในการทำปฏิกิริยาของสารตั้งต้นสมบูรณ์มากขึ้น และแคลเซียมไอออนในสารละลายซึ่งตก

ตะกอนออกมาได้ช้า เมื่อเวลาในการตกตะกอนนานขึ้นแคลเซียมไอออนจึงสามารถตกตะกอนออกมาได้มากขึ้น

โดยปกติไฮดรอกซีแอปพาไทต์ ($Ca/P = 1.67$) จะสามารถคงสภาพได้จนถึงอุณหภูมิ $1100^{\circ}C$ แต่เนื่องจากไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้มีอัตราส่วนโมลของของ Ca/P น้อยกว่า 1.67 ทำให้ไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่สังเคราะห์ได้สามารถคงสภาพได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าค่าทางทฤษฎี ดังนั้นเมื่อแคลไซน์สารตัวอย่างที่ 800, 950, 1000 และ $1100^{\circ}C$ จะทำให้น้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบในไฮดรอกซีแอปพาไทต์สลายออกไป ทำให้บางส่วนของไฮดรอกซีแอปพาไทต์เกิดการเปลี่ยนวิฤภาคกลายเป็นไตรแคลเซียมฟอสเฟต นอกจากนี้เมื่อเผาสารที่สังเคราะห์โดยใช้ฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์เป็นสารตั้งต้นซึ่งมีอัตราส่วนโมลของ Ca/P ต่ำที่อุณหภูมิ $1000^{\circ}C$ สารจะเกิดการหลอม จึงเผาได้ที่อุณหภูมิสูงสุดเพียง $950^{\circ}C$

จากการวิเคราะห์วิฤภาคที่เป็นผลึกของสารที่สังเคราะห์ได้ พบว่าสารที่สังเคราะห์จากฟอสฟอรัสเพนท็อกไซด์มีวิฤภาคองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไดแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งเมื่อนำไปเผาที่อุณหภูมิสูงขึ้นองค์ประกอบบางส่วนจะเปลี่ยนเป็นไตรแคลเซียมฟอสเฟตและไฮดรอกซีแอปพาไทต์ แต่องค์ประกอบหลักยังคงเป็นไดแคลเซียมฟอสเฟตอยู่ในขณะที่สารที่สังเคราะห์จากกรดฟอสฟอริกพบว่า สารที่สังเคราะห์โดยใช้ pH ในการตกตะกอนต่ำๆ (pH 6) วิฤภาคองค์ประกอบหลักเป็นไดแคลเซียมฟอสเฟตเช่นเดียวกัน แต่เมื่อนำไปเผาที่อุณหภูมิสูง พบว่าวิฤภาคของไดแคลเซียมฟอสเฟตจะลดลงในขณะที่วิฤภาคของไฮดรอกซีแอปพาไทต์จะเพิ่มขึ้น สำหรับสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ที่ pH 9 วิฤภาคส่วนใหญ่ของผลิตภัณฑ์จะเป็นไฮดรอกซีแอปพาไทต์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบทางเคมีที่มีอัตราส่วนโมลของ Ca/P เข้าใกล้ค่าทางทฤษฎีของไฮดรอกซี-แอปพาไทต์ และเมื่อนำสารนี้ไปเผาที่อุณหภูมิ 1000 และ $1100^{\circ}C$ วิฤภาคส่วนใหญ่จะกลายเป็นไตร-แคลเซียมฟอสเฟต เนื่องจากโมเลกุลของน้ำในไฮดรอกซีแอปพาไทต์สลายออกไป

เมื่อนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติความว่องไวทางชีวภาพ โดยทำการแช่ในสารละลาย Simulated body fluid (SBF) แล้ว พบว่าบนพื้นผิวของสารตัวอย่างมีอนุภาคของไฮดรอกซี-แอปพาไทต์มีโครงสร้างจุลภาคที่มีรูปร่างผลึกคล้ายเข็ม (Needle-like crystal) ซึ่งรวมตัวกันอยู่ในลักษณะอนุภาคกลมคล้ายลูกบอล (Ball-like particle) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าสารที่สังเคราะห์ได้มีความว่องไวทางชีวภาพ ซึ่งแสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำสารดังกล่าวไปผลิตเป็นวัสดุเพื่อไปใช้ในร่างกายมนุษย์และสามารถก่อให้เกิดไฮดรอกซีแอปพาไทต์ที่พื้นผิวของวัสดุทำให้เกิดการเชื่อมต้อระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อในร่างกายได้