

ผลกระทบของการเผาในสุญญากาศ ไนโตรเจน และอากาศ ต่อโครงสร้าง
การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใย
ไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี

EFFECTS OF SINTERING IN VACUUM, NITROGEN, AND AIR ON
THE STRUCTURE, BIOACTIVITY, AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY
OF ZINC-DOPED MICRO-CALCIUM PHOSPHATE FIBERS

ศิริวรรณ โตจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีวัสดุและนวัตกรรม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2567
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ผลกระทบของการเผาในสุญญากาศ ไนโตรเจน และอากาศ
ต่อโครงสร้าง การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ
เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี

ศิริวรรณ ไตจ่อ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีวัสดุและนวัตกรรม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2567
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลกระทบของการเผาในสุญญากาศ ไนโตรเจน และอากาศ ต่อโครงสร้างการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี Effects of Sintering in Vacuum, Nitrogen, and Air on the Structure, Bioactivity, and Antimicrobial Activity of Zinc-Doped Micro-Calcium Phosphate Fibers
ชื่อ – นามสกุล	นางสาวศิริวรรณ โตจ่อ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีวัสดุและนวัตกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อติพงศ์ บุตรชานนท์, วท.ด.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรพันธ์ วัฒนวิทย์กรรม, ประ.ด.
ปีการศึกษา	2567

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

	ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ธนิษฐ์ สายโสภา, วท.ด.)
	กรรมการ (รองศาสตราจารย์นริศร์ บาลทิพย์, Ph.D.)
ปวิเทพ อินตะวิน	กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรารถนา อินตะวิน, วท.ด.)
	กรรมการ (รองศาสตราจารย์อติพงศ์ บุตรชานนท์, วท.ด.)
จักรพันธ์ วัฒนวิทย์กรรม	กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรพันธ์ วัฒนวิทย์กรรม, ประ.ด.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท


..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิพัทธ์ จงสวัสดิ์, ประ.ด.)
วันที่ 30 เดือน มกราคม พ.ศ. 2568

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลกระทบของการเผาในสุญญากาศ ไนโตรเจน และอากาศ ต่อโครงสร้าง การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใยไมโคร แคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี
ชื่อ – นามสกุล	นางสาวศิริวรรณ โตจ้อ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีวัสดุและนวัตกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อทิพงศ์ บุตรชานนท์, วท.ด.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรพันธ์ วัฒนวิทย์กรรม, ปร.ด.
ปีการศึกษา	2567

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้นำเสนอการศึกษาผลกระทบของการเผาในสุญญากาศ ไนโตรเจน และอากาศ ต่อโครงสร้าง การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี สารละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือสังกะสี 3% (3%Zn-CaP) ถูกสังเคราะห์โดยใช้กระบวนการโซล-เจล เส้นใยไมโครถูกประดิษฐ์โดยใช้โพลีไวนิลไพร์-โรลิดอน/3%Zn-CaP ด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง โครงสร้างผลึก โครงสร้างเฉพาะบริเวณ องค์ประกอบทางเคมี และการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพถูกตรวจสอบโดยใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ การดูดกลืนรังสีเอกซ์ อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์จะเป็นแบบแปลงฟูเรียร์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดตามลำดับ

การวิเคราะห์ XRD เปิดเผยว่าเฟสหลักในเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ (3%Zn-Air) แสดงเฟสแคลเซียมคาร์บอเนต เฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสรอง แคลเซียมคาร์บอเนตยังคงเป็นหลักสำหรับเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ (3%Zn-Vacuum) เฟสแคลเซียมออกไซด์และเฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสรอง ในทางกลับกันเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะไนโตรเจน (3%Zn-Nitrogen) เกิดเฟสออสตราณ ผลของ FTIR แสดงองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วย XRD โครงสร้างเฉพาะของสังกะสีถูกตรวจสอบโดยใช้เทคนิค XAS พบโครงสร้าง ZnO ในตัวอย่างเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ และพบโครงสร้าง ZnS ในตัวอย่างเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ ในขณะที่เส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะไนโตรเจนพบโครงสร้างออสตราณ

ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยในระดับจุลภาคถูกตรวจสอบด้วยเทคนิค SEM หลังจากการแช่ในสารจำลองสภาวะร่างกาย (SBF) เป็นระยะเวลา 14 วัน 3%Zn-Nitrogen แสดงการก่อตัวของชั้นอะพาไทต์บนตัวอย่างมากที่สุดอย่างมีนัยยะ ซึ่งบ่งชี้ถึงการปรับปรุงการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ สุดท้ายผลของกิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเส้นใยแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยับยั้งสอมบูร์น 100% สำหรับตัวอย่าง 3%Zn-Air และ 3%Zn-Vacuum

คำสำคัญ : แคลเซียมฟอสเฟต แคลเซียมคาร์บอเนต เส้นใยไมโครไฮดรอกซีอะพาไทต์ กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง กระบวนการโซล-เจล

Thesis Title	Effects of Sintering in Vacuum, Nitrogen, and Air on the Structure, Bioactivity, and Antimicrobial Activity of Zinc-Doped Micro-Calcium Phosphate Fibers
Name-Surname	Ms. Siriwan Tocho
Program	Materials Technology and Innovation
Thesis Advisor	Associate Professor Atipong Bootchanont, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Chakkaphan Wattanawikkam, Ph.D.
Academic Year	2024

ABSTRACT

This thesis presents a study on the effects of sintering in vacuum, nitrogen, and air on the structure, bioactivity, and antimicrobial activity of zinc-doped micro-calcium phosphorus fibers (Zn-CaP). 3%Zn-doped calcium phosphate solution (3%Zn-CaP) was synthesized using a sol-gel process. Microfibers were fabricated using polyvinylpyrrolidone/3%Zn-CaP by electrospinning process. The crystal structure, local structure, chemical composition, and bioactivity were investigated by X-ray diffraction (XRD), X-ray absorption spectroscopy (XAS), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscopy (SEM) technique, respectively.

Owing to the XRD analysis, the results revealed that the major phase in the fibers sintered under air condition (3%Zn-Air) showed calcium carbonate phase; hydroxyapatite phase was the minor phase. Calcium carbonate remained the major phase for the fibers sintered under vacuum condition (3%Zn-Vacuum); calcium oxide phase and hydroxyapatite phase were the minor phases. On the other hand, the fibers sintered under nitrogen condition (3%Zn-Nitrogen) formed an amorphous phase. The FTIR results showed the chemical composition, which were consistent with those of the XRD analysis. In addition, the specific structure of Zn investigated using XAS technique, indicated the presence of the ZnO structure in air-sintered samples and the ZnS structure in vacuum-sintered samples, while the fiber samples sintered under nitrogen condition showed an amorphous structure.

The mean microscopic diameters of the fibers were examined by SEM technique. After immersion in simulated body fluid (SBF) for 14 days, 3%Zn-Nitrogen displayed the most significant apatite layer formation on the samples, indicating the improved bioactivity. Finally, the results of the antimicrobial activity revealed that the fiber samples exhibited the ability to inhibit *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* microorganisms, particularly 100% inhibition for 3%Zn-Air and 3%Zn-Vacuum samples.

Keywords: calcium phosphate, calcium carbonate, hydroxyapatite microfiber, electrospinning, sol-gel process.

กิตติกรรมประกาศ

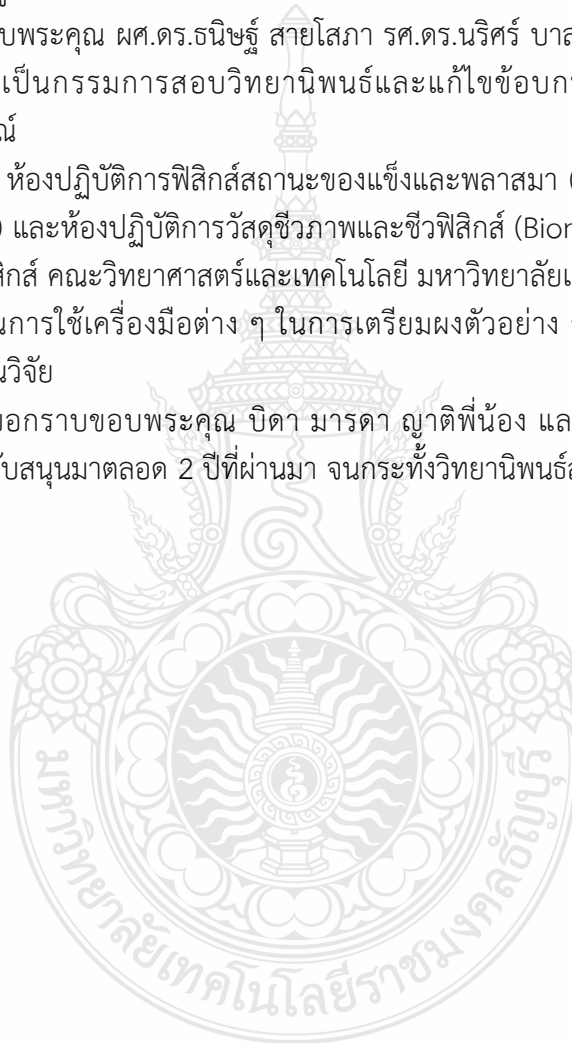
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.อทิพงศ์ บุตรชานนท์ และ ผศ.ดร.จักรพันธ์ วัฒนวิทย์กรรม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ซึ่งคอยให้ความรู้ คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธนิษฐ์ สายโสภา รศ.ดร.นริศร์ บาลทิพย์ และ ผศ.ดร.ปรารณา อินตะวิน ที่กรุณาได้รับเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการจัดทำวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการฟิสิกส์สถานะของแข็งและพลาสมา (Solid State Physics and Plasma Laboratory) และห้องปฏิบัติการวัสดุชีวภาพและชีวฟิสิกส์ (Biomaterials and Biophysics Laboratory) สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือต่าง ๆ ในการเตรียมผงตัวอย่าง การตรวจสอบสมบัติต่าง ๆ ตลอดจนสถานที่ทำงานวิจัย

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง และเพื่อน ๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจและส่งเสริมสนับสนุนมาตลอด 2 ปีที่ผ่านมา จนกระทั่งวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วง

ศิริวรรณ ไตจ่อ



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ.....	(3)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญรูปภาพ	(9)
บทที่ 1 บทนำ.....	10
1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา	10
1.2 วัตถุประสงค์	11
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	11
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	12
1.5 ขั้นตอนการวิจัย/กรอบแนวคิดในการวิจัย	12
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	13
บทที่ 2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	14
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	21
3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ	21
3.2 สารเคมี.....	22
3.3 ขั้นตอนการทดลอง	22
บทที่ 4 ผลการทดลอง และการวิจารณ์หรือการวิเคราะห์	27
4.1 การตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer;XRD).....	27
4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared Spectrometer; FTIR).....	28
4.3 การตรวจสอบโครงสร้างในระดับอะตอมจากเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy; XAS).....	29
4.4 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM).....	30
4.5 ผลการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพโดยการแช่สารจำลองสภาวะร่างกาย (Simulated body fluid; SBF).....	31
4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุโดยใช้เทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์ (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy; EDS).....	32

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.7 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการด้านเชื้อจุลินทรีย์	33
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	35
5.1 สรุปผลการทดลอง	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	42
ภาคผนวก ก ภาพประกอบการใช้งานโปรแกรม	43
ภาคผนวก ข ภาพประกอบกรวิจัย	48
ประวัติผู้เขียน	51



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การกระจายพลังงานของรังสีเอ็กซ์บนเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ที่ผ่านการแช่สารจำลองสภาวะ ร่างกายเป็นเวลา 14 วัน.....	32
---	----



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning process)	17
รูปที่ 2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาภายใต้อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน	27
รูปที่ 3 การวิเคราะห์ทางองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาภายใต้อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน	28
รูปที่ 4 การวิเคราะห์ Zn K-edge XANES spectra ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน โดยเทียบกับ Zn foil ZnO standard และ ZnS Standard	29
รูปที่ 5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน (a) 3%Zn-Air (b) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะอากาศ (c) 3%Zn-Vacuum (d) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะสุญญากาศ (e) 3%Zn-Nitrogen และ (f) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจน	30
รูปที่ 6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่บริเวณผิวหน้าของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ที่ผ่านการแช่สารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 14 วัน (a) 3%Zn-Air (b) 3%Zn-Vacuum (c) 3%Zn-Nitrogen	31
รูปที่ 7 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีโดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus epidermidis</i> และ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

โรคกระดูกพรุนเกิดจากความหนาแน่นของกระดูกที่ต่ำ เนื่องจากความแข็งแรงของกระดูกลดลงจึงทำให้กระดูกแตกหักง่าย โดยส่วนใหญ่มักพบในผู้สูงอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไป [1, 2] ส่งผลกระทบในด้านสุขภาพของประชากรที่เพิ่มขึ้น [3] ดังนั้น วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (Bone Tissue Engineering; BTE) จึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในด้านต่างๆ เช่น วัสดุชีวภาพ ไบโอสรามิก และการฟื้นฟูเนื้อเยื่อกระดูกที่บกพร่องในร่างกายมนุษย์ ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาโครงเลี้ยงเซลล์กระดูกที่เกิดจากความบาดเจ็บหรือเสียหาย [4, 5] ดังนั้น สิ่งที่สำคัญในการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก คือการเลียนแบบโครงสร้างลำดับชั้นของเมทริกซ์นอกเซลล์ (Extracellular Matrix; ECM) และการควบคุมพฤติกรรมของเซลล์ต้นกำเนิด (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) ให้เหมาะสำหรับการยึดเกาะ การแพร่กระจาย การเจริญเติบโต การแทรกซึมของเซลล์ รวมถึงการแพร่กระจายของสารอาหารหรือของเสีย [6-8]

แคลเซียมฟอสเฟต (CaP) แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และไฮดรอกซีอะพาไทต์ (HAp) เป็นวัสดุที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางสำหรับการสร้างกระดูกใหม่ เนื่องจากมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และความสามารถในการรองรับการเจริญเติบโตของกระดูก สำหรับแคลเซียมฟอสเฟต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรูปแบบของไฮดรอกซีอะพาไทต์ และ β -tricalcium phosphate (β -TCP) สามารถเลียนแบบองค์ประกอบแร่ธาตุของกระดูกธรรมชาติได้ แคลเซียมฟอสเฟตแสดงให้เห็นถึงการเหนี่ยวนำกระดูก และย่อยสลายทางชีวภาพได้ดี นักวิจัยกำลังมุ่งเน้นไปที่การปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกล และเจือไอออนชีวภาพเพื่อเพิ่มความสามารถในการสร้างกระดูกใหม่ [9, 10] แคลเซียมคาร์บอเนตมีบทบาทสำคัญในการสร้างกระดูกใหม่ เนื่องจากมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ คุณสมบัติในการสร้างกระดูก และความสามารถในการเอื้ออำนวยแหล่งแคลเซียมชีวภาพสำหรับการสร้างกระดูกใหม่ แคลเซียมคาร์บอเนตทำหน้าที่เป็นวัสดุโครงเลี้ยงเซลล์ที่รองรับการเติบโต การสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ และอำนวยความสะดวกในการสะสมไฮดรอกซีอะพาไทต์ ส่งเสริมการซ่อมแซมกระดูกอย่างแข็งแรง และจะเปลี่ยนสภาพเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งจะสร้างวัสดุที่แข็งแรงคล้ายกระดูกโดยผสมผสานเข้ากับกระดูกธรรมชาติได้ [11, 12] ไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นรูปแบบสำคัญของแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่ามีความคล้ายคลึงกับองค์ประกอบแร่ธาตุในกระดูกของมนุษย์ [9, 13] มีประโยชน์ในการซ่อมแซมกระดูก การปลูกถ่ายกระดูก โครงเลี้ยงเซลล์ และการส่งยา ไฮดรอกซีอะพาไทต์มีคุณสมบัติที่จำเป็น เช่น ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และการเหนี่ยวนำกระดูก เพื่อปรับปรุงการตอบสนองทางชีวภาพของการปลูกถ่ายทางศัลยกรรม [14, 15] ในทางกลับกัน ไฮดรอกซีอะพาไทต์บริสุทธิ์แสดงการต้านเชื้อแบคทีเรียได้น้อย จึงมีการผสมไอออนโลหะ เช่น เงิน (Ag) สังกะสี (Zn) ไททาเนียม (Ti) และทองแดง (Cu) ซึ่งสามารถเจือในไฮดรอกซีอะพาไทต์ เพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากไอออนโลหะเหล่านี้ส่งเสริมการสร้างผลึก และยังมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการยึดเกาะของแบคทีเรีย การเจือสังกะสีในวัสดุชีวภาพเป็นแนวโน้มที่ดีในการสร้างกระดูกใหม่

เนื่องจากเสริมฤทธิ์กันในการสร้างกระดูก โดยสังกะสีมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ช่วยป้องกันการติดเชื้อบริเวณที่ปลูกถ่าย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้การปลูกถ่ายกระดูกประสบความสำเร็จ [16, 17]

เพื่อปรับปรุงโครงสร้างสำหรับการสร้างเนื้อเยื่อกระดูก กระบวนการอิเล็กทรอนิกส์เป็นเทคนิคที่โดดเด่นในการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับรองรับการสร้างกระดูกใหม่ เส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์เหล่านี้เลียนแบบเมทริกซ์นอกเซลล์ (ECM) ของกระดูกตามธรรมชาติได้ โดยให้สภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเจริญเติบโต และการแบ่งตัวของเซลล์สร้างกระดูก [18, 19] เส้นใยที่สังเคราะห์โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเส้นใยแบบไม่ถักทอ เส้นใยมีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง [20, 21] สันฐานวิทยาของเส้นใยนาโนสามารถปรับเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่ต่อเนื่องในระดับไมโครเมตรจนถึงนาโนเมตรได้ โดยสามารถปรับได้จาก สารละลายโพลิเมอร์ กระบวนการสังเคราะห์ และค่าพารามิเตอร์ [22, 23] อย่างไรก็ตาม การสังเคราะห์สารละลายแคลเซียมฟอสเฟตโดยใช้วิธีโซล-เจลเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด ซึ่งอาศัยการไฮโดรไลซิส และการควบแน่นของสารตั้งต้นเพื่อให้เกิดการก่อตัวของอนุภาคคอลลอยด์ (โซล) และการก่อตัวของเครือข่ายสามมิติ (เจล) [20, 24]

ในงานวิจัยนี้ เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือสังกะสีถูกสังเคราะห์จากสารตั้งต้นของแคลเซียมฟอสเฟตโดยใช้กระบวนการโซล-เจล และสร้างเส้นใยโดยใช้โพลีไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone; PVP) โดยใช้กระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ โดยเส้นใยที่สังเคราะห์ได้จะถูกเผาในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน เพื่อนำไปตรวจสอบหาโครงสร้างของเส้นใย การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการทดแทนกระดูก

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีด้วยกระบวนการโซล-เจล ร่วมกับกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์

1.2.2 เพื่อศึกษาโครงสร้างผลึก การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีผ่านการเผาในสภาวะแวดล้อมอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 ลักษณะของโครงสร้างผลึกมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเผาเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ซึ่งสามารถวิเคราะห์เฟสองค์ประกอบได้ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer; XRD) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารโดยการตรวจสอบการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared Spectrometer; FTIR) และโครงสร้างเฉพาะบริเวณจากเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy; XAS)

1.3.2 เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี ที่ผ่านการเผาภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน อาจส่งผลต่อการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพซึ่งมีผลต่อการกระตุ้นการสร้างกระดูกของโครงเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีการทดสอบในสารจำลองของเหลวในร่างกาย (Simulated body fluid; SBF) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) และจากการเจือด้วยสังกะสี คาดว่าจะช่วยในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 สังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี โดยใช้สารตั้งต้นแคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรต ($\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ไตรเอทิลฟอสเฟต ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$) และซิงค์ไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ด้วยกระบวนการโซล-เจล ร่วมกับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

1.4.2 ตรวจสอบโครงสร้างผลึกของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี ภายใต้สภาวะแวดล้อมในการเผาอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน โดยการให้ความร้อนแก่เส้นใยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.4.3 การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี โดยการแช่ในสารละลายจำลองสภาวะร่างกาย

1.4.4 ศึกษาประสิทธิภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี ต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa*

1.5 ขั้นตอนการวิจัย/กรอบแนวคิดในการวิจัย

1.5.1 สังเคราะห์แคลเซียมฟอสเฟตโดยเจือด้วย 3%Zn ด้วยวิธีการโซล-เจล

1.5.2 ขึ้นรูปเส้นใยแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วย 3%Zn โดยใช้โพลิไวนิลไพโรลิโดน (PVP) ด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

1.5.3 ตรวจสอบเฟสองค์ประกอบด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

1.5.4 ตรวจสอบหาโครงสร้างทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการตรวจสอบการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด

1.5.5 ตรวจสอบโครงสร้างเฉพาะบริเวณของสังกะสีด้วยเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ ณ สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน

1.5.6 ตรวจสอบการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ โดยการนำตัวอย่างไปแช่ในสารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 2 สัปดาห์

1.5.7 ตรวจสอบการก่อตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ (Hydroxy Carbonate Apatite; HCA) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และเทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์

1.5.8 ตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa*

1.5.9 วิเคราะห์ และสรุปผล จัดทำต้นฉบับรายงานรวมถึงเผยแพร่ผลงานวิจัย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1.6.1 สามารถสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี จากสารตั้งต้น แคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรต ($\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ไตรเอทิลฟอสเฟต ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$) และซิงค์ไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ด้วยกระบวนการโซล-เจล ร่วมกับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

1.6.2 ทราบถึงโครงสร้างผลึกของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี ที่ผ่านการเผาภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน

1.6.3 เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี สามารถการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพโดยการก่อกำเนิดของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์

1.6.4 เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์



บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 แคลเซียมฟอสเฟต (Calcium Phosphate; CaP)

แคลเซียมฟอสเฟต (CaP) เป็นวัสดุชีวภาพที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางสำหรับการสร้างกระดูกใหม่ เนื่องจากมีคุณสมบัติทางเคมีที่คล้ายคลึงกับแร่ธาตุในกระดูกของมนุษย์ แคลเซียมฟอสเฟตมีคุณสมบัติในความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การเหนี่ยวนำกระดูก และออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ ทำให้เหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้ในการปลูกถ่ายกระดูก โครงเลี้ยงเซลล์ และการสร้างเนื้อเยื่อ คุณสมบัติหลักของแคลเซียมฟอสเฟต สำหรับการสร้างกระดูกใหม่

2.1.1.1 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุแคลเซียมฟอสเฟต แสดงความไม่เป็นพิษ และแสดงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพียงเล็กน้อยเมื่อปลูกถ่ายเข้าไปในร่างกาย

2.1.1.2 การเหนี่ยวนำกระดูก เหมาะสำหรับการยึดเกาะ การแพร่กระจาย และการสร้างกระดูกใหม่

2.1.1.3 การออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพ แคลเซียมฟอสเฟตจะสร้างชั้นอะพาไทต์คล้ายกระดูกบนพื้นผิวเมื่อสัมผัสกับสภาวะทางสรีรวิทยา ทำให้สามารถผสมเข้ากับกระดูกธรรมชาติได้

2.1.1.4 การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ รูปแบบเฉพาะของแคลเซียมฟอสเฟต เช่น β -tricalcium phosphate (β -TCP) สามารถดูดซึมได้ และสามารถย่อยสลายได้เพื่อถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อกระดูกธรรมชาติ [9, 10, 14, 16]

2.1.2 ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite; HAp)

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ประกอบด้วยแคลเซียมฟอสเฟต [25] จึงถูกใช้เป็นสารประกอบสำคัญในการซ่อมแซมกระดูกและฟัน เนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การยึดเกาะของพันธะเคมี ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ไม่เป็นพิษ มีความสามารถในการดูดซับ และมีลักษณะเป็นสื่อนำกระดูก จึงมีการนำมาใช้งานอย่างแพร่หลายสำหรับโครงสร้างกระดูก [26] นอกจากนี้ ไฮดรอกซีอะพาไทต์ยังเป็นเกลือแคลเซียมฟอสเฟตที่เสถียรที่สุด โดยมี pH ตั้งแต่ 4.0 ถึง 12 ที่อุณหภูมิปกติ เป็นแร่ธาตุที่พบมากที่สุดในร่างกาย ซึ่งพบได้ในกระดูก 50% เนื้อฟัน 70% และสารเคลือบฟัน 96% โดยไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อของกระดูก กระดูกอ่อน และเนื้อเยื่อฟัน และมีสูตรทางเคมี คือ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ซึ่งพบว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์นั้นมีความคล้ายคลึงกับอะพาไทต์ทางชีวภาพ (หรือแร่ฮอสเซียส) แต่มีความแตกต่างในองค์ประกอบทางเคมี และความเป็นผลึก [27, 28]

ไฮดรอกซีอะพาไทต์สามารถสังเคราะห์ได้โดยใช้วิธีการที่หลากหลายซึ่งรวมถึงวิธีเคมีแบบเปียก และโซลิดสเตต วิธีการสังเคราะห์สารเคมีแบบเปียกประกอบด้วยวิธีการโซล-เจล การตกตะกอนร่วม เทคโนโลยีอิมัลชัน และการสังเคราะห์ไฮโดรเทอร์มอลแบบเบส และแบบต่อเนื่อง กระบวนการโซล-เจลได้รับความนิยมมากกว่าตัวเลือกอื่น ๆ เนื่องจากเป็นวิธีการทางเคมีแบบเปียกที่ไม่ต้องใช้ค่า pH ที่สูง และไม่มีอุณหภูมิการเผาไหม้สูงเกินไป เป็นการผสมระดับโมเลกุลของแคลเซียม

และฟอสฟอรัส ซึ่งสามารถปรับปรุงความเป็นเนื้อเดียวกันของสารเคมีได้ ทำให้มีการผสมโมเลกุลที่สม่ำเสมอ มีความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์สูง อุณหภูมิการสังเคราะห์ต่ำ และความสามารถในการผลิตอนุภาคนาโน อัตราส่วนต่อโมลของแคลเซียม และฟอสฟอรัส 1.67 นอกจากนี้ ยังมีการใช้สารตั้งต้นของฟอสฟอรัส และแคลเซียมทางเลือกหลายชนิดในขั้นตอนโซล-เจล [29-32]

2.1.3 กระบวนการโซล-เจล

กระบวนการโซล-เจล ได้รับความนิยมเนื่องจากสามารถสร้างเครือข่ายที่เสถียรพร้อมปฏิกิริยาที่ควบคุมได้ในเมทริกซ์อินทรีย์ ทำให้สามารถควบคุมลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของอนุภาคระดับนาโนได้ และมีประสิทธิภาพในการเตรียมโครงเลี้ยงเซลล์คอมโพสิตอินทรีย์-อนินทรีย์ง่ายต่อการผสมโมเลกุลที่เป็นเนื้อเดียวกัน อุณหภูมิในการสังเคราะห์ต่ำ และความสามารถในการสร้างผลิตภัณฑ์นาโน ความเร็วของปฏิกิริยา และปริมาณของวัสดุ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการสังเคราะห์อื่นๆ [33, 34]

กระบวนการโซล-เจลสามารถแบ่งเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้ ขั้นตอนแรก โซลจะถูกสร้างขึ้นจากสารละลายหรือสารตั้งต้น ในขั้นตอนที่สอง เจลจะถูกสร้างขึ้นจากการควบแน่น ซึ่งเพิ่มความหนืดของสารละลาย ขั้นตอนที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของสารตั้งต้น [35]

2.1.4 โครงเลี้ยงเซลล์วิศวกรรมเนื้อเยื่อ

สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อโครงเลี้ยงเซลล์สังเคราะห์ในอุดมคติควรจะสามารถเลียนแบบสภาพแวดล้อมทางชีวภาพ ทางฟิสิกส์ ทางเคมี โดยไม่ต่อต้านการตอบสนองทางสรีรวิทยา และสามารถสลายไปพร้อมกันเมื่อเนื้อเยื่อกระดูกจริงมารวมตัวกัน สำหรับการเลือกวัสดุที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโครงเลี้ยงเซลล์ คือคุณสมบัติของวัสดุต้องใกล้เคียงกับกระดูกตามธรรมชาติ และเหมาะสมกับการใช้งานด้านชีวการแพทย์ เช่น โครงสร้างทางเคมีของวัสดุ ความหนืด น้ำหนักโมเลกุล ความสามารถในการละลาย ความชอบน้ำ พลังงาน ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การดูดซึมน้ำ การย่อยสลาย และกลไกการกักเก็บ ซึ่งจะส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ โดยการทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เพื่อส่งเสริม และควบคุมการเกาะติดของเซลล์ การอพยพ การเพิ่มจำนวน [36] ในการออกแบบ และการสังเคราะห์โครงเลี้ยงเซลล์มีความสำคัญ ไม่เพียงแต่ส่งผลต่อการทำงานขั้นสุดท้ายของเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นใหม่ แต่ยังรวมถึงการใช้งานทางคลินิก มีเกณฑ์การออกแบบมากมายสำหรับโครงเลี้ยงเซลล์ในอุดมคติที่ใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งแตกต่างกันไปตามประเภทของเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อควรมีคุณสมบัติดังนี้:

2.1.4.1 เข้ากันได้ทางชีวภาพ คือ ไม่ต่อต้านภูมิคุ้มกัน ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และเนื้อเยื่อที่มีชีวิต

2.1.4.2 ย่อยสลายได้ทางชีวภาพหรือสามารถดัดแปลงให้สอดคล้องกับกระบวนการฟื้นฟูหรือซ่อมแซม

2.1.4.3 มีรูพรุนเพื่อสร้างสภาพแวดล้อม 3 มิติที่เหมาะสมสำหรับเซลล์ตลอดจนการขนส่งสารอาหาร และของเสีย

2.1.4.4 พื้นผิวเป็นสื่อกระแสไฟฟ้าเพื่ออำนวยความสะดวกในการทำงานของเซลล์

2.1.4.5 มีความเสถียรทางกลไกสำหรับการผ่าตัด

2.1.4.6 ง่ายต่อการสังเคราะห์ในปริมาณมาก และฆ่าเชื้อได้โดยไม่สูญเสียความเสถียร ต่อการทำงาน [37]

โดยพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ใช้ในวัสดุชีวภาพสามารถป้องกันการอักเสบหรือภูมิคุ้มกัน
และความเป็นพิษ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับเมทริกซ์นอกเซลล์ จึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการ
สังเคราะห์โครงเลี้ยงเซลล์ [38]

2.1.5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone; PVP)

โพลีไวนิลไพโรลิโดนเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติพิเศษในการละลายน้ำได้ มี
ลักษณะทางเคมีของกลุ่ม Polar Lactam ในไพโรลิโดนที่ให้ความสามารถในการชอบน้ำ และเมทิลีน
มอยอิตีที่ไม่มีขั้วซึ่งมีความสามารถในการดูดไขมันได้ดี จึงถูกนำมาใช้งานด้านชีวการแพทย์ เนื่องจากมี
ความเฉื่อย ความคงตัวทางเคมี ไม่เป็นพิษ ไม่มีการระคายเคือง และความเข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยถูก
นำมาใช้งานแพร่หลายในการพัฒนาไฮโดรเจล วัสดุปิดแผล เส้นใยนาโน โครงเลี้ยงเซลล์ ระบบนำส่งยา
และการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ โดยโพลีไวนิลไพโรลิโดนมีเข้ากันได้กับโพลีเมอร์อื่น ๆ ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพ
ของวัสดุ และถูกนำมาใช้ในการสังเคราะห์เส้นใยนาโนหรือโครงเลี้ยงเซลล์นาโนเพิ่มขึ้น [39]

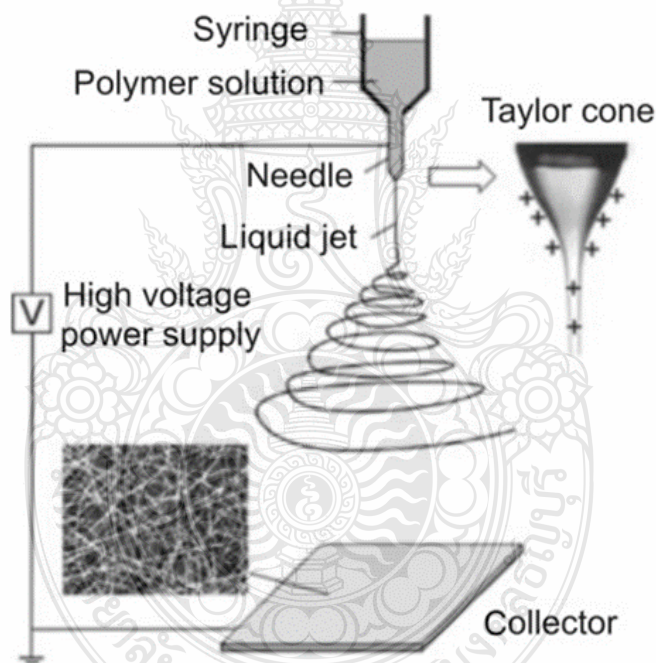
2.1.6 สังกะสี (Zn)

สังกะสีเป็นธาตุที่พบมากเป็นอันดับสองในร่างกาย และเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์
ต่าง ๆ ที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาหน้าที่ทางสรีรวิทยาให้ปกติ เช่น การสังเคราะห์ DNA การเผา
ผลาญของกระดูก และการทำงานของภูมิคุ้มกัน เป็นต้น สังกะสีมีอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อทั้งหมด แต่ส่วน
ใหญ่จะอยู่ในเนื้อเยื่อกระดูก ซึ่งทำหน้าที่เป็นแร่ธาตุที่ขาดไม่ได้สำหรับการเผาผลาญของกระดูก สังกะสี
จึงเป็นที่รู้จักกันดีว่าช่วยส่งเสริมการสร้างกระดูก มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านการอักเสบ
[40]

2.1.7 กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning process)

กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงมีความสำคัญอย่างมากในการพัฒนาเส้นใยนาโนหรือ
โครงเลี้ยงเซลล์จากพอลิเมอร์ วัสดุอินทรีย์ และอนินทรีย์ โดยพบว่าอิเล็กโตรสปินนิงเป็นวิธีทั่วไปที่ใช้
สำหรับการผลิตเส้นใยนาโน ที่มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงโดยใช้วัสดุที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้หลากหลาย
ชนิด หลักการสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง คือการใช้แรงไฟฟ้าสถิตเพื่อผลิตเส้นใย
นาโน การฉีดสารละลายที่มีประจุโดยใช้เข็มโลหะ (สปินเนอร์) ไปยังตัวรองรับเส้นใยที่มีประจุตรงข้าม
เมื่อปลายเข็มพ่นสารละลายพอลิเมอร์ ส่งผลให้เกิดเส้นใยนาโนแห้งตัว กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงมี
ข้อดี คือความคุ้มค่า ต้นทุน สะดวก อัตราการผลิตมีความต่อเนื่อง ความยืดหยุ่นในการใช้วัสดุที่หลากหลาย
และสามารถจัดการกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยสำหรับการวิจัย ดังนั้น เส้นใยนาโนหรือโครงเลี้ยงเซลล์ที่
พัฒนาขึ้นสำหรับการใช้งานด้านชีวการแพทย์ วิศวกรรมเนื้อเยื่อ การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ การประยุกต์ใช้
ทางวิศวกรรม ส่วนผสมทางเภสัชกรรม อวัยวะเทียมในการแพทย์ วัสดุปิดแผล วิศวกรรมเนื้อเยื่อ
กระดูก การทดสอบทางชีวภาพ สิ่งทอ ตัวเร่งปฏิกิริยา อิเล็กโทรด การกรอง และการตรวจจับ เทคนิค
อิเล็กโตรสปินนิงสามารถใช้กับวัสดุได้หลากหลายซึ่งครอบคลุมถึงพอลิเมอร์ เซรามิก และคอมโพสิต การ
เลือกเทคนิคที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับคุณลักษณะที่ต้องการของเส้นใยนาโนสำหรับการใช้งานเฉพาะ [41]

การตั้งค่าอิเล็กโตรสปินนิงประกอบด้วยองค์ประกอบหลักดังนี้ แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูง บั๊มหลอดฉีดยา เข็มโลหะ และตัวรองรับเส้นใย แสดงดังรูปที่ 1 สารละลายโพลีเมอร์ ถูกปั๊มผ่านเข็มโลหะ และมีแนวโน้มที่จะก่อตัวเป็นหยดทรงกลมเป็นผลมาจากการจำกัดแรงตึงผิว เนื่องจากแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ระหว่างเข็มโลหะ (ทำหน้าที่เป็นอิเล็กโตรด) และตัวรองรับเส้นใย (ทำหน้าที่เป็นอิเล็กโตรดเคาน์เตอร์) พื้นผิวหยดทรงกลมจะถูกประจุบวกคลุมอย่างรวดเร็ว เมื่อแรงผลักที่เกิดจากประจุบนพื้นผิวหยดทรงกลมมีความแข็งแรงเพียงพอที่จะเอาชนะแรงตึงผิวของสารละลาย จะเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นรูปทรงกรวยของหยด หากใช้แรงดันไฟฟ้าที่สูงกว่า ทำให้หยดของเส้นใยที่มีรูปร่างผิดปกติเนื่องจากสนามไฟฟ้า และแรงผลักระหว่างประจุที่พื้นผิว เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่เกิดขึ้นจะยังคงลดลงต่อไปจนกระทั่งมันเริ่มโค้งงอ จากนั้นเส้นใยจะเข้าสู่ระยะ "ความไม่มั่นคงในการโค้งงอ" ซึ่ง ณ จุดนี้มันจะเร่งความเร็ว และผันผวนอย่างรวดเร็วในการเคลื่อนที่ ส่งผลให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยลดลงอย่างมาก ในขณะที่ตัวทำละลายระเหยเมื่อเวลาผ่านไป ดังนั้นบนแผ่นรองรับเส้นใยจึงได้เส้นใยแข็งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางหลายร้อยนาโนเมตร [42]



รูปที่ 1 กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning process) [43]

2.1.8 กลไกการสร้างกระดูก

กระดูกมีส่วนประกอบหลัก ได้แก่

2.1.8.1 osteoid ซึ่งประกอบด้วยคอลลาเจนเป็นส่วนใหญ่ ทำให้กระดูกมีความ

ยืดหยุ่น

2.1.8.2 calcium phosphate ซึ่งอยู่ในรูปของ hydroxyapatite ($3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$) โดยสะสมตัวอยู่ในช่องว่างระหว่างโมเลกุลของ คอลลาเจน ทำให้กระดูกเกิดการแข็งตัว

2.1.8.3 เซลล์กระดูก ซึ่งมีอยู่สามชนิดด้วยกัน คือ osteoblast เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างกระดูก osteoclast เป็นเซลล์ขนาดใหญ่มีหลายนิวเคลียสทำหน้าที่ในการสลายกระดูก และ osteocyte ซึ่งเป็น osteoblast ที่เจริญเต็มที่แล้ว โดยปกติแล้วเซลล์ทั้งสามชนิดนี้ทำงานร่วมกัน เพื่อทำให้เกิดกระบวนการซ่อม สร้าง และสลาย โดยกระดูก (bone remodeling cycle) ซึ่งเป็นวงจรที่เกิดขึ้นตลอดเวลาเพื่อคงสมดุล และความแข็งแรงของกระดูก

Bone remodeling cycle เป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้กระดูกมีการเจริญพัฒนา และซ่อมแซมกระดูกให้มีความแข็งแรงอยู่เสมอ ถ้ามีความผิดปกติเกิดขึ้นกับกระบวนการดังกล่าว เช่น เกิดกระบวนการสลายกระดูกมากกว่าการสร้างกระดูก จะทำให้มีการสูญเสียเนื้อกระดูก มวลกระดูกลดลง และอาจทำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนได้ในที่สุด Bone remodeling cycle ประกอบด้วยกระบวนการต่าง ๆ ที่แบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

1) Resorption phase คือ กระบวนการสลายเนื้อกระดูก โดย osteoclast จะใช้ส่วนของ ruffle border วางตัวบริเวณผิวกระดูกส่วนที่จะมีการสลายเนื้อกระดูก จากนั้นจะหลั่งไฮโดรเจนไอออน (H^+) และหลั่ง hydrolytic enzyme เพื่อสลายกระดูกทำให้เกิดการปลดปล่อยแคลเซียมฟอสเฟตออกมา ในขณะที่เกิดกระบวนการสลายกระดูก osteoclast จะหลั่งเอนไซม์ Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) ออกมา ซึ่งทำให้เกิดกระบวนการ dephosphorylation เกิดการสลายเนื้อกระดูกทำให้กระดูกเกิดเป็นหลุมเล็ก ๆ ขึ้น

2) Reversal phase ภายหลังจากที่มีการสลายกระดูกแล้วจะมีเซลล์เม็ดเลือดขาวพวก macrophages มาเก็บกินซากกระดูก มีกลุ่ม mononuclear cells (pro-osteoblasts) มายังตำแหน่งที่มีการสลายกระดูก และเริ่มเข้าสู่กระบวนการสร้างกระดูกต่อไป

3) Formation phase คือ กระบวนการสร้างกระดูก โดย osteoblast จะสังเคราะห์และหลั่ง osteoid ล้อมรอบตัวเอง หลังจากนั้นจะหลั่ง pyrophosphate และแคลเซียมออกมาจนกระทั่งความเข้มข้นของแคลเซียมภายนอกเซลล์สูงเกินกว่าที่จะละลายได้ osteoblast จะหลั่งเอนไซม์ alkaline phosphatase ออกมาเพื่อสลาย (hydrolyze) pyrophosphate ทำให้เกิดการสะสมตัวของแคลเซียมที่ช่องว่างระหว่างโมเลกุลของคอลลาเจน ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า mineralization ทำให้ osteoblast ค่อย ๆ ถูกดันให้ออกห่างจากผิวกระดูกแล้วเปลี่ยนไปเป็น osteocyte

4) Quiescence phase เป็นระยะภายหลังจากที่เกิดกระบวนการสร้างกระดูกเสร็จสิ้นแล้ว [44]

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี พ.ศ. 2547 Yunzhi Yang และคณะ ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์ และไทเทเนียมที่อุณหภูมิสูงในสภาวะสุญญากาศ โดยวัสดุผสมระหว่าง

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ และไทเทเนียมใช้ความดันต่ำกว่า 6×10^{-3} ปาสคาล ที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส ในการให้ความร้อนกับตัวอย่างทำให้วัสดุระหว่างโลหะและเซรามิกกลายเป็นวัสดุผสมเซรามิกอย่างสมบูรณ์ ซึ่งจากการทดสอบด้วย FTIR ไม่พบหมู่ไฮดรอกซิล และจากการทดสอบด้วย XRD พบเฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสหลัก และพบเฟสของ β -TCP เป็นเฟสรอง [42]

ในปี พ.ศ. 2555 P.Q. Franco และคณะ ได้ทำการสังเคราะห์เส้นใยไมโครไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยใช้กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงร่วมกับกระบวนการโซล-เจล ซึ่งกระบวนการโซล-เจลนั้นใช้แคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรต และฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์เป็นสารตั้งต้นของแคลเซียม และฟอสฟอรัส โดยใช้ PVP ในการขึ้นรูปเส้นใย หลังจากการเผาผนึกจะได้เส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์ขนาดนาโนและไมโคร เมื่อผ่านการเผาทำให้เส้นใยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง และมีการกระจายขนาดที่สม่ำเสมอมากขึ้น เส้นใยที่ถูกเผาพบไฮดรอกซีคาร์บอนอะพาไทต์ เช่นเดียวกับกระดูกมนุษย์ สเปกตรัม FTIR บ่งบอกถึงการมีอยู่ของไฮดรอกซีอะพาไทต์ โดยการเพิ่มอุณหภูมิในการเผาทำให้เกิดเส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีความเป็นผลึกสูงขึ้น ดังนั้นเส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้จากการสังเคราะห์สามารถนำมาใช้ในเทคโนโลยีชีวภาพในเมมเบรนสำหรับการลำเลียงไอออน หรือใช้ในชีวเวชศาสตร์ในการผลิตเมทริกซ์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้ [24]

ในปี พ.ศ. 2557 Jung-Hee Lee และคณะ ได้ทำการศึกษาเส้นใยนาโนไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ถูกสร้างโดยกระบวนการโซล-เจล และอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งใช้เจลาตินในการขึ้นรูปเส้นใย จากนั้นจะทำการเผาที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส เพื่อกำจัดเจลาตินออก พบว่าก่อนทำการเผาเส้นใยมีโครงสร้างเป็นรูพรุนที่เชื่อมต่อกันอย่างสมบูรณ์ และเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยแตกต่างกันไปตั้งแต่ 1.09 ± 0.24 ไมโครเมตร ถึง 1.44 ± 0.17 ไมโครเมตร หลังการเผาที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส เส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญจาก 1.2170 ± 0.21 ไมโครเมตร เป็น 400 ± 52 นาโนเมตร ซึ่งอาจเกิดจากการกำจัดเจลาติน การวิเคราะห์ ATR-FTIR EDX XRD และ XRF ยืนยันว่าเส้นใยนาโนไฮดรอกซีอะพาไทต์แสดงเฟสเดียวกันกับเฟสของปริมาณสารสัมพันธ์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ นอกจากนี้ ผลจากการทดสอบการจำลองของเหลวในร่างกาย (SBF) และการทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์แสดงกิจกรรมทางชีวภาพของกระดูกในร่างกายที่ดีขึ้น [20]

ในปี พ.ศ. 2562 E. A. Ofudje และคณะ ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์ และการศึกษาคุณลักษณะของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เจือด้วยสังกะสีต่อโครงเลี้ยงเซลล์ การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีอัตราส่วนในการเจือสังกะสีร้อยละ $5\text{Zn}+\text{HAp}$ $10\text{Zn}+\text{HAp}$ $15\text{Zn}+\text{HAp}$ และ $20\text{Zn}+\text{HAp}$ ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างได้มีการอัดเม็ด และผ่านการเผาซินเตอร์ที่อุณหภูมิ 1000 องศาเซลเซียส จากการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้แบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ใช้เวลาในการทดสอบนาน 7 วัน พบว่าเมื่ออัตราส่วนการเจือของสังกะสีเพิ่มขึ้น ปริมาณการยับยั้งแบคทีเรียมีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่งผลการยับยั้งแบคทีเรียของตัวอย่าง จะแสดงถึงยับยั้ง *S. aureus* ได้มีประสิทธิภาพสูงกว่า *E. coli* [45]

ในปี พ.ศ. 2563 Sebastian Tutu และคณะ ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์เส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยใช้กระบวนการโซล-เจล และอิเล็กโตรสปินนิง เพื่อศึกษาเฟสของไฮดรอกซีอะพาไทต์จากพอลิเมอร์ที่ใช้ในการขึ้นรูปแตกต่างกันคือ เจลาตินและโพลีไวนิลไพโรลิโดน ซึ่ง

ใช้อุณหภูมิในการเผาที่ 600 700 และ 800 องศาเซลเซียส พบว่าเส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ใช้เจลาตินในการขึ้นรูป เฟสหลักที่พบคือ β -TCP โดยมีเฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสรอง โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเส้นใยอยู่ในระดับไมโครเมตร ส่วนเส้นใยไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ใช้โพลีไวนิลไพโรลิโดนในการขึ้นรูป พบเฟสหลักคือไฮดรอกซีอะพาไทต์เฟสเดียว และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเส้นใยอยู่ในระดับนาโนเมตร [21]

ในปี พ.ศ. 2563 Govindaraj Perumal และคณะ ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์เกล็ดนาโนแมกนีเซียมฟอสเฟตโดยใช้ PCL ในการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่ ซึ่งการสังเคราะห์แมกนีเซียมฟอสเฟตนาโนเฟลกทำได้โดยการฉายรังสีไมโครเวฟ จากนั้นนำไปทำเป็นโครงเลี้ยงเซลล์เส้นใยนาโนด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ จากการวิเคราะห์ความชอบน้ำโดยการวัดมุมสัมผัส พบว่าเส้นใยมีความชอบน้ำ ซึ่งช่วยในการสนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์ การแพร่กระจาย และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่สังเคราะห์ขึ้นไม่เป็นพิษต่อเซลล์ MG63 และ hMSCs ทำให้เห็นว่าเซลล์มีการเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดสูง [46]

ในปี พ.ศ. 2563 Vivian Ines dos Santos และคณะ ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของการรวมแคลเซียมฟอสเฟตเข้าไปในเมมเบรนโพลีแลคติกโคไกลโคลิกโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง เพื่อควบคุมการสร้างกระดูกใหม่ การศึกษานี้พัฒนาเมมเบรนโดยใช้กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงของ PLGA โดยเติม HAp (ไฮดรอกซีอะพาไทต์): β -TCP (β -tricalcium phosphate) กลุ่มที่มีอัตราส่วน HAp: β -TCP ต่ำที่สุด (60:40) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีอัตราการสลายตัวที่เหมาะสมที่สุด และเป็นกลุ่มที่แสดงพฤติกรรมของกระดูกอ่อนดีที่สุด ดังนั้นการผสมแคลเซียมฟอสเฟตช่วยปรับปรุงกระดูกอ่อน การแพร่กระจาย และการเคลื่อนตัวเข้าไปในเมมเบรนที่มีรูพรุนสูง จากผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการผสมแคลเซียมฟอสเฟต หากใช้ในปริมาณที่เหมาะสม สามารถปรับคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ และการสร้างกระดูกใหม่ [47]

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง

ในบทนี้กล่าวถึง อุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี ขั้นตอนการเตรียมสารละลายแคลเซียมฟอสเฟต สำหรับสังเคราะห์แคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีด้วยกระบวนการโซล-เจล ขั้นตอนการสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง ขั้นตอนการเผาเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีที่สภาวะแวดล้อมต่างกัน ขั้นตอนการเตรียมสารจำลองสภาวะร่างกาย (Simulated body fluid; SBF) ขั้นตอนการตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer; XRD) ขั้นตอนการวิเคราะห์ทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared Spectrometer; FTIR) ขั้นตอนการตรวจสอบโครงสร้างในระดับอะตอมจากเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy; XAS) ขั้นตอนการวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) และขั้นตอนการตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี

3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

- 3.1.1 ปีกเกอร์ขนาด 25 50 100 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.1.2 แท่งแม่เหล็กกวนสาร
- 3.1.3 ไมโครปิเปตต์
- 3.1.4 ซ้อนตักสาร
- 3.1.5 กระดาษรองชั่งสาร
- 3.1.6 หลอดหยดสาร
- 3.1.7 ขวดแก้วใสสารขนาด 10 มิลลิลิตร
- 3.1.8 เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.9 เครื่องปั่นกวนแบบแม่เหล็ก
- 3.1.10 ตู้ดูดความชื้น
- 3.1.11 เครื่องอิเล็กโตรสปินนิง
- 3.1.12 เตาเผา รุ่น SX2-4-14TP
- 3.1.13 เครื่องมือวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer: XRD)
- 3.1.14 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy: SEM)
- 3.1.15 เตาอบ รุ่น 101-1AB
- 3.1.16 เครื่องวัด pH รุ่น EZ-9909-SP
- 3.1.17 ครูซิเบิล
- 3.1.18 ครกหินอ่อนบดสาร
- 3.1.19 หลอดฉีดยาแก้ว

3.1.20 เชื้อฉีดยา

3.1.21 เครื่องมือวิเคราะห์การดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy: XAS)

3.2 สารเคมี

3.2.1 แคลเซียมไนเตรตเตตระไฮเดรต ($\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

3.2.2 ไตรเอทิลฟอสเฟต ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$)

3.2.3 โพลีไวนิลไพร์โรลิโดน Polyvinylpyrrolidone (PVP)

3.2.4 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

3.2.5 โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NaHCO_3)

3.2.6 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

3.2.7 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)

3.2.8 แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

3.2.9 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.2.10 แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)

3.2.11 โซเดียมซัลเฟต (NaSO_4)

3.2.12 ทริสไฮดรอกซีเมทิลอะมีโนมีเทน ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$)

3.2.13 ซิงค์ไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

3.3 ขั้นตอนการทดลอง

3.3.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือจางด้วยสังกะสีด้วยกระบวนการโซล-เจล

3.3.1.1 เตรียมสารละลายแคลเซียมฟอสเฟตโดยเจือจางสังกะสีปริมาณความเข้มข้น 3 ร้อยละโดยโมล โดยใช้ซิงค์ไนเตรตเฮกซะไฮเดรต 0.1785 กรัม และเตรียมแคลเซียมไนเตรต 4.5814 กรัม เติลงในบีกเกอร์เดียวกัน โดยใช้เอทานอล 10 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย กวนสารอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปั่นกวนแบบแม่เหล็ก ด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.1.2 เตรียมสารละลายไตรเอทิลฟอสเฟต 2.0443 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ โดยใช้เอทานอล 8.5714 มิลลิลิตร และน้ำ 1.4286 มิลลิลิตร กวนสารอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปั่นกวนแบบแม่เหล็ก ด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.1.3 เทสารละลายจากข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2 เข้าด้วยกันแล้วทำการกวนสารอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปั่นกวนแบบแม่เหล็ก ด้วยความเร็ว 900 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งสารทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.1.4 เพิ่มอุณหภูมิสารละลายเป็น 50 องศาเซลเซียส โดยตั้งสารทิ้งไว้เป็นเวลา 57 ชั่วโมง จะได้สารละลายแคลเซียมฟอสเฟตสำหรับนำไปสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟต

3.3.2 ขั้นตอนการสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

3.3.2.1 เตรียมสารละลายโพลิไวนิลไพร์โรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone: PVP) 1.8 กรัม โดยใช้เอทานอล 10 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย

3.3.2.2 นำสารละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.1 มาผสมกับสารละลาย PVP ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.2.1 โดยใช้อัตราส่วนของสารละลาย PVP ต่อสารละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสี คือ 9:1 กวนสารอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องปั่นกวนแบบแม่เหล็ก ด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.3.2.3 นำสารละลายเทใส่หลอดฉีดยาแกวขนาด 10 มิลลิลิตร โดยตั้งค่าพารามิเตอร์สำหรับเครื่องอิเล็กโตรสปินนิงดังนี้:

- 1) ระยะห่างระหว่างปลายเข็มถึงพอยล์ 10 เซนติเมตร
- 2) แรงดันไฟฟ้า 12 กิโลโวลต์
- 3) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง

3.3.2.4 เตรียมพอยล์ไว้สำหรับรองรับเส้นใย จากนั้นทำการต่อหัวบวกับปลายเข็ม และต่อกราวด์เข้ากับพอยล์ จากนั้นจึงเริ่มทำการจ่ายแรงดันไฟฟ้า

3.3.3 ขั้นตอนการเผาเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีที่สภาวะอากาศ

3.3.3.1 นำเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงในข้อ 3.3.2 ใส่ในคลุชชีเบล แล้วนำไปใส่ในเตาเผา

3.3.3.2 ตั้งค่าอุณหภูมิเตาเผาโดยให้ความร้อนแก่เส้นใยเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.3.3.3 นำเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ได้จากการเผาไปทำการวิเคราะห์

3.3.4 ขั้นตอนการเผาเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีที่สภาวะสุญญากาศ

3.3.4.1 นำเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงในข้อ 3.3.2 ใส่ในคลุชชีเบล แล้วนำไปใส่ในเตาเผา

3.3.4.2 นำคลุชชีเบลใส่ในท่อแก้วควอตซ์ จากนั้นตั้งค่าอุณหภูมิโดยให้ความร้อนแก่เส้นใยที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.3.4.3 เปิดปั๊มลมเพื่อดูดอากาศออก โดยใช้ความดันที่ 3×10^{-3} มิลลิบาร์

3.3.4.4 นำเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ได้จากการเผาไปทำการวิเคราะห์

3.3.5 ขั้นตอนการเผาเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีที่สภาวะไนโตรเจน

3.3.5.1 นำเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงในข้อ 3.3.2 ใส่ในคลุชชีเบล แล้วนำไปใส่ในเตาเผา

3.3.5.2 นำคลุชชีเบลใส่ในท่อแก้วควอตซ์ จากนั้นตั้งค่าอุณหภูมิโดยให้ความร้อนแก่เส้นใยที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.3.5.3 เปิดปั๊มลมเพื่อดูดอากาศออก โดยใช้ความดันที่ 3×10^{-3} มิลลิบาร์ อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน 1.5 ลิตรต่อนาที

3.3.5.4 นำเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ได้จากการเผาไปทำการวิเคราะห์

3.3.6 ขั้นตอนการเตรียมสารจำลองสภาวะร่างกาย (Simulated body fluid; SBF)

3.3.6.1 เตรียมน้ำกลั่น และน้ำปราศจากไอออนผสมกันในปริมาณ 700 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 1,000 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ 36.5 ± 1.5 องศาเซลเซียส

3.3.6.2 จากนั้นนำมาปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กด้วยความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที

3.3.6.3 เติมน้ำ NaCl 8.035 กรัม จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำ NaHCO_3 0.355 กรัม KCl 0.225 กรัม $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.231 กรัม และ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.311 กรัม

3.3.6.4 เมื่อสารละลายแล้ว เติมน้ำ HCl 1.0 M ในปริมาณ 39 มิลลิลิตร และเติมน้ำ CaCl_2 0.292 กรัม และ NaSO_4 0.072 กรัม

3.3.6.5 จากนั้นสังเกตสารละลายในบีกเกอร์โดยมีปริมาณอยู่ที่ 900 มิลลิลิตร หากสารละลายมีปริมาณไม่ถึงให้เติมน้ำปราศจากไอออน

3.3.6.6 ทำการวัดค่า pH โดยสารละลายควรมีค่า pH เท่ากับ 2.0 ± 1.0

3.3.6.7 ปรับค่า pH ของสารละลายให้ใกล้เคียงกับสภาวะในร่างกาย โดยการเติมน้ำ Tris 6.118 กรัม ลงไปในสารละลายทีละน้อย ๆ จนสารละลายมีค่า pH เท่ากับ 7.45 ± 0.1

3.3.6.8 จากนั้นเติมน้ำ HCl 1.0 M 0.5 มิลลิลิตร เพื่อปรับค่า pH ให้ลดลงเท่ากับ 7.42 ± 0.1 ปรับค่า pH ขึ้นลงจนกว่า Tris ที่เตรียมไว้จะหมด

3.3.6.9 เติมน้ำ HCl 1.0 M เพื่อให้ค่า pH ลดลงเท่ากับ 7.40

3.3.6.10 เมื่อได้ค่า pH ที่ต้องการนำสารละลายเทลงในขวดวัดปริมาตร ถ้าปริมาณสารละลายไม่ถึง 1,000 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำปราศจากไอออนจนถึงปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการควบคุมอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส [48]

3.3.7 ขั้นตอนการแช่สารจำลองสภาวะร่างกาย (Simulated body fluid; SBF)

3.3.7.1 นำเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือรวมด้วยสังกะสีที่ผ่านการเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน มาวางลงในภาชนะเพื่อทำการแช่สารจำลองสภาวะร่างกาย

3.3.7.2 เทสารจำลองสภาวะในร่างกายลงในภาชนะจนท่วมเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือรวมด้วยสังกะสีแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์

3.3.8 การตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer; XRD)

การตรวจสอบโครงสร้างผลึกโดยการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ที่มุม 2θ อยู่ในช่วง 20-80 องศา โดยใช้เป้าทองแดง ($\text{CuK}\alpha$) ความยาวคลื่น 1.5406 อังสตรอม โดยผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐาน JCPDS

3.3.9 การตรวจสอบหาองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared Spectrometer; FTIR)

เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ จำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมี หรือหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล ซึ่งสามารถ วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ โดยอาศัยหลักการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงอินฟราเรด ในช่วงเลขคลื่น 4000 - 400 เซนติเมตร ที่ทำให้เกิดการสั่นของพันธะเคมีภายในโมเลกุล ซึ่งค่าความถี่ต่างๆ ของการสั่นในสเปกตรัมนี้สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโมเลกุลของสารที่แน่นอนได้เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง (nondestructive)

3.3.10 การตรวจสอบโครงสร้างในระดับอะตอมจากเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy; XAS)

เป็นการฉายรังสีเอกซ์ลงบนตัวอย่าง และวัดอัตราส่วนการดูดกลืนรังสีเอกซ์ที่พลังงานต่าง ๆ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้บ่งบอกถึงโครงสร้างของสารตัวอย่างในระดับอะตอมได้ ระบบลำเลียงแสง และสถานีทดลองนี้สามารถทำงานได้ในช่วงพลังงานแสงซินโครตรอนย่านรังสีเอกซ์ ตั้งแต่ 1,240 - 12,100 อิเล็กตรอนโวลต์ (eV) โดยใช้เครื่องคัดเลือกพลังงานแสงแบบผลึกคู่ (Double Crystal Monochromator; DCM) สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบคุณสมบัติของสาร โดยอาศัยการกระตุ้นอะตอมด้วยรังสีเอกซ์ที่มีความยาวคลื่นเหมาะสม เมื่ออะตอมของสารตัวอย่างถูกกระตุ้น คลื่นพลังงานของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าจะเกิดการแกว่ง และเกิดปฏิกิริยากับสนามพันธะของอิเล็กตรอนภายในอะตอม ส่งผลให้อิเล็กตรอนเหล่านั้นได้รับพลังงานกระตุ้น และเคลื่อนย้ายตำแหน่ง โดยย้ายระดับพลังงานพร้อม ๆ กับการปลดปล่อยพลังงานในรูปของแสง [49]

3.3.11 การตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)

เป็นการสร้างภาพที่ได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่สะท้อนจากพื้นผิวหน้าของตัวอย่าง ซึ่งภาพที่ได้จากเครื่อง SEM จะเป็นภาพลักษณะ 3 มิติ จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาสัณฐาน และรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง ตรวจสอบลักษณะผิวภายนอกของตัวอย่าง ตรวจสอบการเรียงตัวของผลึกด้วยระบบการรับสัญญาณเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอนกระเจิงกลับ และ การวิเคราะห์การกระจายพลังงานของรังสีเอกซ์ (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy; EDS) เป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยสเปกโตรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดซึ่งมีบทบาทสำคัญในการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีหรือธาตุ ของตัวอย่าง (โลหะ เซรามิก หรือพอลิเมอร์)

3.3.12 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของสารทดสอบแบบผงเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์

3.3.12.1 เตรียมกล้าเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยนำเชื้อที่ถูกเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Tryptic soy broth; TSB) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.12.2 ซั่งสารที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิด ปริมาณ 0.05 กรัม ลงในหลอดทดสอบแต่ละหลอด และเติมอาหาร 1% peptone ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (ตามวิธีมาตรฐาน ASTM E2149-20) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนขึ้น (ชุดควบคุม ไม่มีการเติมสาร) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.12.3 ดูดกล้ำเชื้อของ *S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น log 7 CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดสอบ

3.3.12.4 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเขย่า เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาเจือจางในสารละลาย 0.85% NaCl และหยดเชื้อ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนอาหาร (Tryptic soy agar; TSA) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

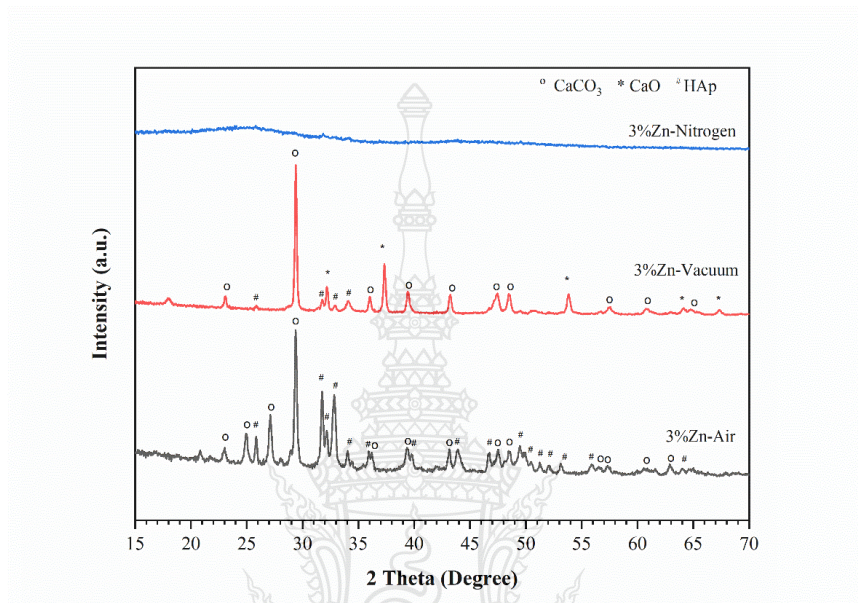
3.3.12.5 นับจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีการเติมสารทดสอบ เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารทดสอบ

3.3.12.6 คำนวณ %inhibition เทียบกับชุดควบคุม



บทที่ 4 ผลการทดลอง และการวิจารณ์หรือการวิเคราะห์

4.1 การตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer; XRD)

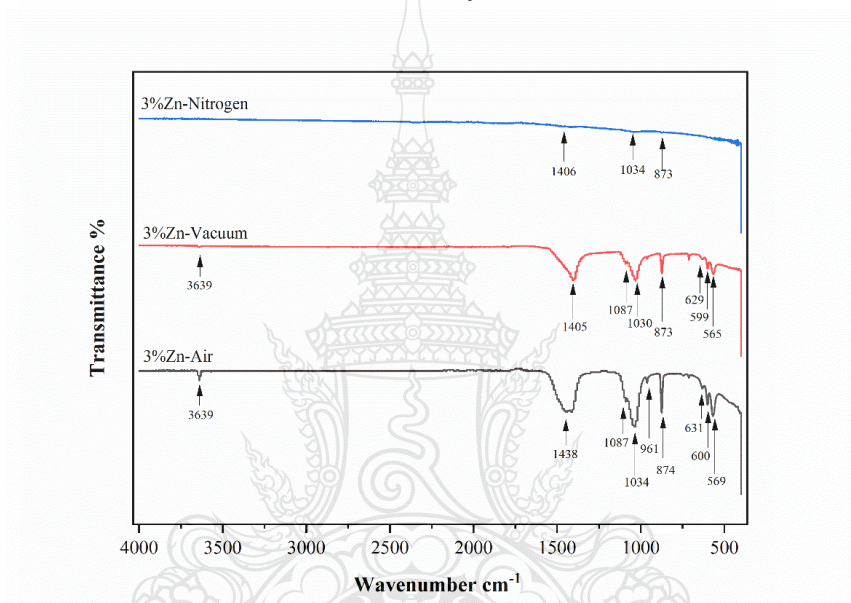


รูปที่ 2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาภายใต้อากาศ สูญญากาศ และไนโตรเจน

ผลการตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือสังกะสี ซึ่งผ่านการเผาภายใต้สภาวะอากาศ สูญญากาศ และไนโตรเจน โดยเส้นใยจะผ่านการอบอ่อนที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเผาที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 2 พบว่าเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ (3%Zn-Air) แสดงเฟสแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นเฟสหลัก โดยมีโครงสร้างผลึกแบบแคลไซต์และวาทไรต์ ตามด้วยเฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสรอง มีโครงสร้างผลึกแบบเฮกซะโกนอล (JCPDS file no. 10-072-01937, 00-024-0030, 96-900-2215) สำหรับเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสูญญากาศ (3%Zn-Vacuum) พบเฟสหลักคือแคลเซียมคาร์บอเนตมีโครงสร้างผลึกแบบแคลไซต์ เฟสรองคือแคลเซียมออกไซด์มีโครงสร้างผลึกแบบคิวบิก และไฮดรอกซีอะพาไทต์มีโครงสร้างแบบเฮกซะโกนอล (JCPDS file no. 01-086-2339, 96-900-6714) ในขณะที่เส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะไนโตรเจน (3%Zn-Nitrogen) เกิดเฟสสัณฐาน ผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นว่าผลของบรรยากาศมีผลต่อการก่อตัวของกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟตที่มากขึ้น โดยเฟสหลักที่พบคือเฟสแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งมีโครงสร้างผลึกแบบแคลไซต์และวาทไรต์ โดยแต่ละรูปผลึกมีคุณสมบัติต่างกันในด้านความเสถียร ซึ่งโครงสร้างผลึกแบบแคลไซต์มีความเสถียรสุด มักจะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากปลดปล่อย Ca^{2+} ไอออนต่ำ ทำให้ไม่รบกวน

สมดุลอูออนในร่างกาย และโครงสร้างผลึกแบบวาเทอร์ไรต์เป็นผลึกที่มีความเสถียรต่ำสุด ทำให้ปลดปล่อย Ca^{2+} อูออนอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้สมดุลอูออนในเซลล์เสียหาย และไม่เสถียรทางอุณหพลศาสตร์ส่วนเฟสไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีโครงสร้างผลึกแบบเฮกซะโกนอล มีค่า Ca/P เท่ากับ 1.67 นั้นเป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกมนุษย์และสัตว์ มีความเสถียรที่อากาศแห้ง ดังนั้นจึงมีการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์เพื่อใช้งานทางด้านชีวการแพทย์ต่าง ๆ มากมาย [50]

4.2 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared Spectrometer; FTIR)

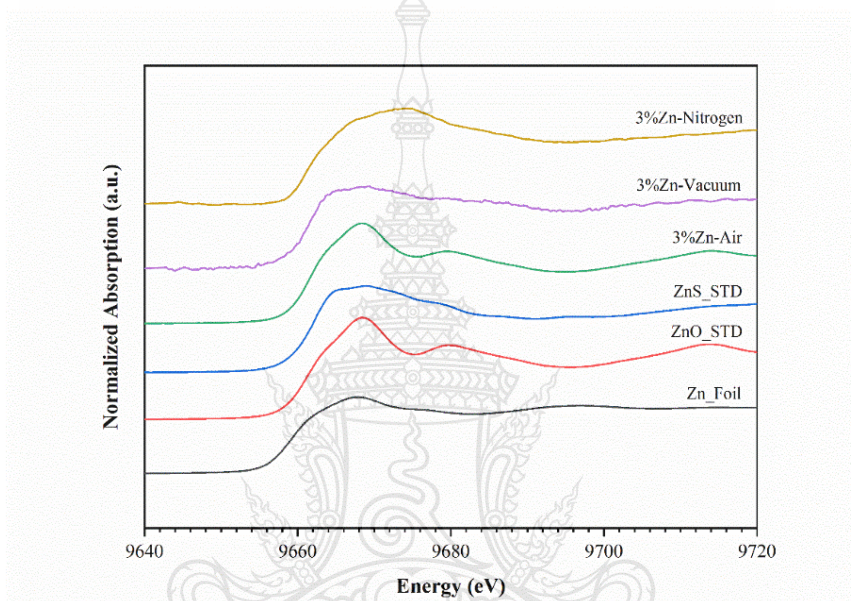


รูปที่ 3 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้ความยาวคลื่นช่วงอินฟราเรด ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาภายใต้อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน

ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของกลุ่มฟอสเฟต (PO_4^{3-}) แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และไฮดรอกซิล (OH^-) ในวัสดุโดยใช้เทคนิคฟูริเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน แสดงดังรูปที่ 3 โดยเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ พบว่ามีแถบกว้างที่ประมาณ 1000 และ 1100 เซนติเมตร⁻¹ แสดงถึงการก่อตัวของโครงสร้างอะพาไทต์ แถบที่ 3639 และ 631 เซนติเมตร⁻¹ เกิดจากการยืดแบบไม่สมมาตรของกลุ่มไฮดรอกซิล ในขณะที่แถบการดูดกลืนสำหรับการสั่นสะเทือนของ CaCO_3 ปรากฏที่ประมาณ 1438 และ 874 เซนติเมตร⁻¹ นอกจากนี้ แถบการดูดกลืนของ PO_4^{3-} ปรากฏที่ประมาณ 1087 1034 961 600 และ 569 เซนติเมตร⁻¹ [15] สำหรับเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ แถบของกลุ่มไฮดรอกซิลปรากฏที่ 3639 และ 629 เซนติเมตร⁻¹ แถบการสั่นสะเทือนของ CaCO_3 ปรากฏที่ประมาณ 1405 และ 873 เซนติเมตร⁻¹ และแถบการดูดกลืนของ PO_4^{3-} ปรากฏที่ประมาณ 1087 1030 599 และ 565 เซนติเมตร⁻¹ ในขณะเดียวกัน เส้นใยที่เผาภายใต้

สภาวะไนโตรเจน แสดงแถบการดูดกลืนสำหรับการสั่นสะเทือนของ CaCO_3 ปรากฏที่ประมาณ 1406 และ 873 cm^{-1} ในขณะที่แถบการดูดกลืนของ PO_4^{3-} ปรากฏที่ประมาณ 1034 cm^{-1} ดังนั้นการวิเคราะห์ FTIR ยืนยันการก่อตัวของแคลเซียมและฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตและไฮดรอกซีอะพาไทต์ จึงสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์

4.3 การตรวจสอบโครงสร้างในระดับอะตอมจากเทคนิคการดูดกลืนรังสีเอกซ์ (X-ray absorption spectroscopy; XAS)



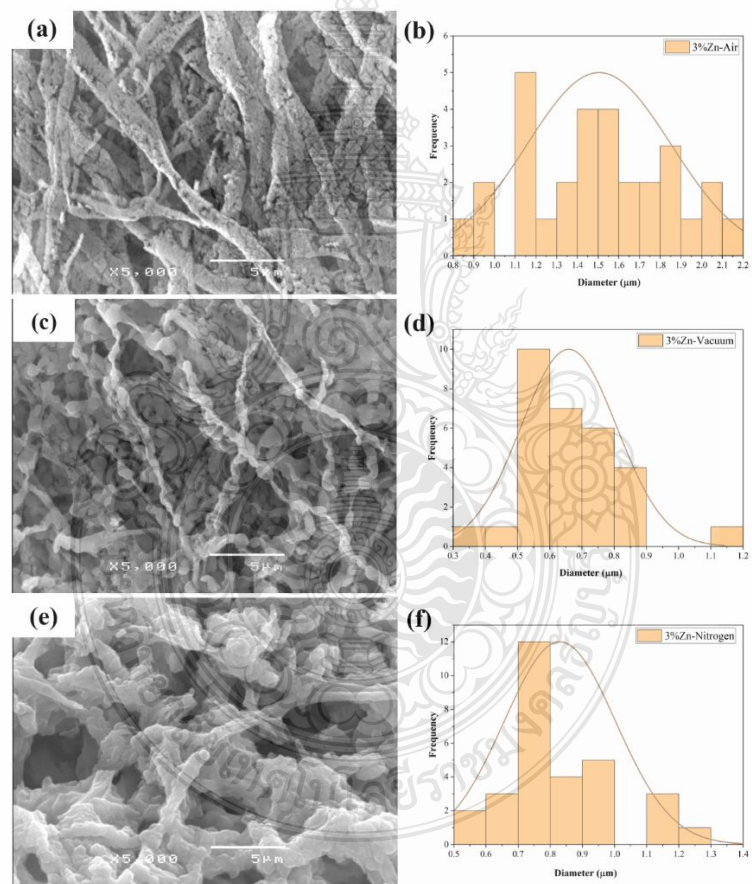
รูปที่ 4 การวิเคราะห์ Zn K-edge XANES spectra ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน โดยเทียบกับ Zn foil ZnO standard และ ZnS Standard

การแยกสเปกตรัมการดูดกลืนรังสีเอกซ์ใกล้ขอบพลังงาน (X-ray Absorption Near-Edge Structure: XANES) เป็นเทคนิคสำหรับวัดการกระตุ้นนิวเคลียสของอิเล็กตรอนไปยังสถานะว่าง ซึ่งให้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับโครงสร้างเฉพาะบริเวณของธาตุที่สนใจ กระบวนการนี้สร้างคลื่นอิเล็กตรอนทรงกลมที่แผ่กระจายจากอะตอมกลางไปยังข้างเคียง ทำให้สามารถวิเคราะห์สภาพแวดล้อมทางเคมีในพื้นที่รอบๆ อะตอมที่ดูดกลืนได้ เทคนิคนี้ช่วยให้นักวิจัยสามารถกำหนดรายละเอียดต่างๆ เช่น สถานะออกซิเดชัน โครงสร้างเฉพาะบริเวณ [51]

ผลการตรวจสอบโครงสร้างในระดับอะตอมโดยใช้เทคนิค XANES ของ Zn K-edge เพื่อตรวจสอบโครงสร้างเฉพาะของอะตอม Zn โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานของ Zn foil ZnO และ ZnS ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน แสดงดังรูปที่ 4 พบว่าปรากฏขอบการดูดกลืนที่ประมาณ 9661 อิเล็กตรอนโวลต์ ในทุกตัวอย่าง ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของไอออน Zn^{2+} โดยสเปกตรัมให้ข้อมูลเชิงลึก

เกี่ยวกับโครงสร้างเฉพาะบริเวณ และสถานะออกซิเดชันของสังกะสีในตัวอย่าง เส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ พบเฟส ZnO ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการก่อตัวของ ZnO ที่เป็นผลึกภายใต้สภาวะอากาศ ในขณะที่เส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ แสดงลักษณะสเปกตรัมที่บ่งบอกถึงเฟส ZnS ซึ่งบ่งบอกถึงผลกระทบของสภาพแวดล้อมสุญญากาศมีผลต่อวิวัฒนาการโครงสร้างของวัสดุ อย่างไรก็ตามเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะไนโตรเจน แสดงลักษณะสเปกตรัมที่คลุมเครือซึ่งไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นโครงสร้างผลึกใด ผลเหล่านี้เมื่อวิเคราะห์ร่วมกับผลการวิเคราะห์รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ จึงระบุได้ว่าตัวอย่างที่ผ่านการเผาภายใต้สภาวะไนโตรเจนมีเฟสแบบอสัณฐาน

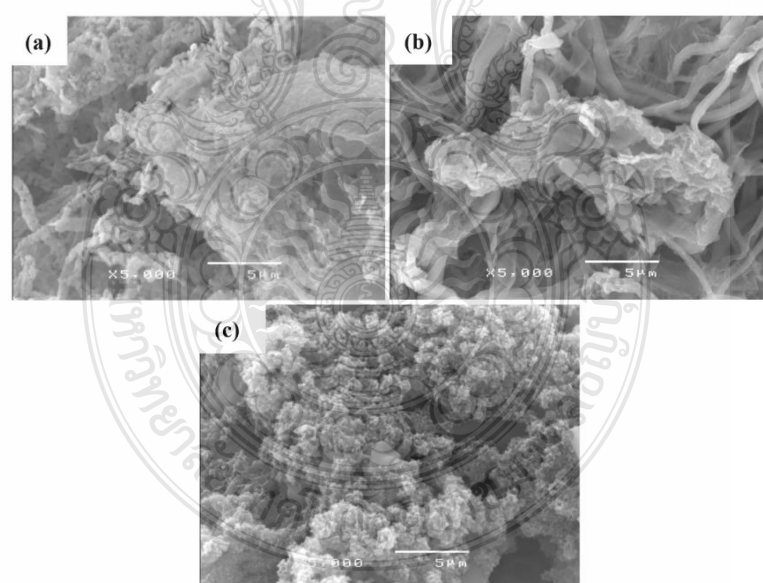
4.4 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM)



รูปที่ 5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน (a) 3%Zn-Air (b) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะอากาศ (c) 3%Zn-Vacuum (d) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะสุญญากาศ (e) 3%Zn-Nitrogen และ (f) ขนาดของเส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจน

ในการตรวจสอบลักษณะทางโครงสร้างจุลภาคของเส้นใยไมโครเคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน โดยอบอ่อนที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเผาที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 5000 เท่า พบว่าขนาดของเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ มีขนาดเส้นใยเฉลี่ยอยู่ที่ 0.898-2.157 ไมโครเมตร โดยลักษณะของเส้นใยมีขนาดใหญ่ มีพื้นผิวที่หยาบ มีพื้นที่รูพรุนระหว่างเส้นใยน้อย และเส้นใยมีความต่อเนื่อง ซึ่งน่าจะเกิดจากการสลายตัว และการระเหยของสารละลาย PVP ที่ดี ซึ่งแสดงดังรูปที่ 5 (a) และ (b) สำหรับเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ มีขนาดเส้นใยเฉลี่ยอยู่ที่ 0.342-0.626 ไมโครเมตร เส้นใยมีขนาดเล็กที่สุด และมีลักษณะเป็นเม็ดเกิดจากสารละลายที่มีความหนืดต่ำในระหว่างกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง โดยเส้นใยดังกล่าวมีพื้นที่รูพรุนระหว่างเส้นใยมากกว่าเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ และไนโตรเจน ซึ่งแสดงดังรูปที่ 5 (c) และ (d) อย่างไรก็ตามเส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจน มีขนาดเส้นใยเฉลี่ยอยู่ที่ 0.559-0.785 ไมโครเมตร เส้นใยมีลักษณะเป็นก้อน มีพื้นผิวที่หยาบ และมีพื้นที่รูพรุนระหว่างเส้นใยน้อยที่สุด ซึ่งแสดงดังรูปที่ 5 (e) และ (f)

4.5 ผลการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพโดยการแช่สารจำลองสภาวะร่างกาย (Simulated body fluid; SBF)



รูปที่ 6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่บริเวณผิวหน้าของเส้นใยไมโครเคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ที่ผ่านการแช่สารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 14 วัน (a) 3%Zn-Air (b) 3%Zn-Vacuum (c) 3%Zn-Nitrogen

ข้อกำหนดสำคัญสำหรับวัสดุเทียมที่จะยึดติดกับกระดูกมนุษย์คือการก่อตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ ที่มีลักษณะคล้ายกระดูกมนุษย์เมื่อฝังเข้าไปในร่างกาย กระบวนการสร้างอะพาไทต์ในร่างกายนี้สามารถจำลองได้ในสารจำลองสภาวะร่างกาย โดยมีความเข้มข้นของไอออนที่เกือบจะเท่ากับในพลาสมาของมนุษย์ [20]

ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จากการแช่สารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 14 วัน แสดงดังรูปที่ 6 พบว่าเส้นใยที่เฝายใต้สภาวะอากาศ มีการก่อตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ อย่างเห็นได้ชัด มีรูพรุน และเส้นใยบางส่วนที่ชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ ไม่สามารถปกคลุมได้หมด แสดงดังรูปที่ 6 (a) ในขณะที่เส้นใยที่เฝายใต้สภาวะสุญญากาศ มีการก่อตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ลดลง และจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อน พบรูพรุนระหว่างเส้นใยจำนวนมาก เนื่องจากชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ ไม่สามารถปกคลุมเส้นใยได้ทั้งหมด แสดงดังรูปที่ 6 (b) ในทางกลับกัน เส้นใยที่เฝายในสภาวะไนโตรเจน พื้นผิวเส้นใยทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ เนื่องจากการประกอบขึ้นเองของแผ่นนาโนเพื่อสร้างโครงสร้างสามมิติ นอกจากนี้ ไม่สามารถเห็นเส้นใย และรูพรุนที่อยู่ด้านล่าง เนื่องจากการเติบโตของผลึกอย่างมีนัยสำคัญ แสดงดังรูปที่ 6 (c)

4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุโดยใช้เทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอ็กซ์ (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy; EDS)

ตารางที่ 1 การกระจายพลังงานของรังสีเอ็กซ์บนเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเฝายในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ที่ผ่านการแช่สารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 14 วัน

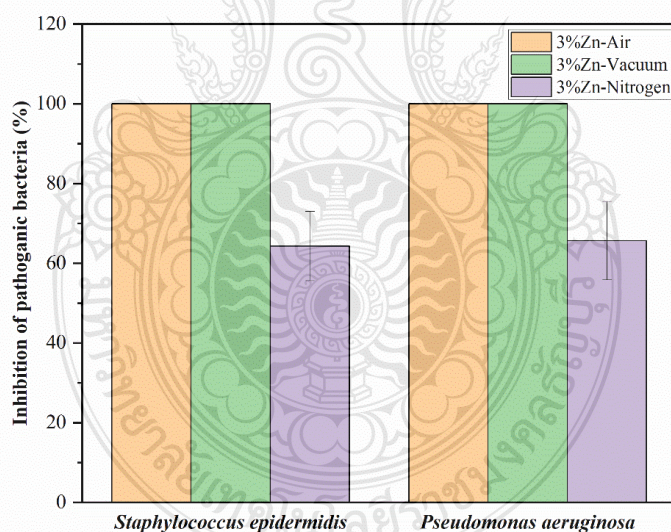
Elements	3%Zn-Air (Atomic%)	3%Zn-Vacuum (Atomic %)	3%Zn-Nitrogen (Atomic %)
Ca	22.67	55.03	8.47
O	51.82	29.90	37.93
P	4.38	1.10	4.42
Zn	0.71	0.05	0.03
Cl	1.74	2.14	9.33
Ca/P	5.18	50.03	1.92

จากตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีเอกซเรย์แบบกระจายพลังงาน ยืนยันการมีอยู่ของสังกะสีในตัวอย่างที่แช่สารจำลองสภาวะร่างกายเป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้ ยังแสดงการมีอยู่ของธาตุต่างๆ ในเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่เจือด้วยสังกะสี โดยเฝายในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน

โดยปกติแคลเซียม และฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหลักในการก่อตัวของชั้นอะพาไทต์ โดยกระดูกธรรมชาติปริมาณสารสัมพันธ์ของไฮดรอกซีอะพาไทต์จะมีอัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสเฟตอยู่ที่ 1.67 ส่วนแร่ธาตุในกระดูกมีอัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสเฟตที่ 1.37 - 1.87 เนื่องจากองค์ประกอบของแร่ธาตุในกระดูกมีความซับซ้อนมากและมีไอออนเพิ่มเติม เช่น ซิลิกอน คาร์บอน และสังกะสี [52, 53]

จากตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของธาตุที่กำหนดโดยการวิเคราะห์ EDX โดยแสดงการมีอยู่ของธาตุ และอัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสเฟตในตัวอย่างที่แช่สารจำลองสภาวะร่างกาย เป็นเวลา 14 วัน จากการทดสอบเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ แสดงปริมาณสังกะสี 0.71 และอัตราส่วน Ca:P 5.18 ซึ่งบ่งชี้ว่าในโครงสร้างมีการก่อตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอนอะพาไทต์น้อยลง โดยมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบหลัก แสดงดังรูปที่ 6 (a) นอกจากนี้ เส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ แสดงปริมาณสังกะสี 0.05 และอัตราส่วน Ca:P 50.03 ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการก่อตัวของแคลเซียมมากเกินไป เช่น CaCO_3 หรือ CaO และชั้นไฮดรอกซีคาร์บอนอะพาไทต์มีการพัฒนาที่จำกัด แสดงดังรูปที่ 6 (b) ในทางกลับกัน เส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจน แสดงปริมาณสังกะสี 0.03 และอัตราส่วน Ca:P 1.92 ซึ่งใกล้เคียงกับอัตราส่วน Ca:P ของกระดูกธรรมชาติ ดังนั้น เส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจนจึงมีการก่อตัว และการกระจายตัวของชั้นไฮดรอกซีคาร์บอนอะพาไทต์บนเส้นใยได้ดีที่สุด แสดงดังรูปที่ 6 (c)

4.7 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์



รูปที่ 7 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีโดยเผาในสภาวะอากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน ต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพของเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* แสดงดัง

รูปที่ 7 พบว่าเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะอากาศ และเส้นใยที่เผาภายใต้สภาวะสุญญากาศ มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของทั้ง *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ 100% สำหรับเส้นใยที่เผาในสภาวะไนโตรเจน พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* ได้ 64.29% และมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ 65.63% ประสิทธิภาพที่ลดลงนี้อาจเกิดจากเฟสอสังฐานของสังกะสีในตัวอย่าง ผลการทดลองเหล่านี้ยืนยันว่า ZnO และ ZnS ช่วยเพิ่มฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีสองกลไกหลักสำหรับการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอนุภาคสังกะสี ได้แก่ ก) ความเป็นพิษของไอออนสังกะสีต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ข) ความเป็นพิษต่อ ROS (อนุมูลอิสระ) เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล อนุภาคเหล่านี้ทำลายส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรีย ได้แก่ DNA ไขมัน และโปรตีน ซึ่งไอออนสังกะสีที่มีประจุบวกยังสามารถทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบของผนังแบคทีเรียที่มีประจุลบได้โดยตรง อย่างไรก็ตาม หากใช้ ZnO และ ZnS ในปริมาณที่มากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งจำกัดต่อการใช้งานในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก [54-56]



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

สามารถสังเคราะห์เส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีได้ ด้วยกระบวนการโซล-เจล ร่วมกับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

การตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ เส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะอากาศ พบแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นเฟสหลัก โดยมีไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นเฟสรอง สำหรับเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะสุญญากาศ พบแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นเฟสหลัก เฟสรองคือแคลเซียมออกไซด์และไฮดรอกซีอะพาไทต์ ในทางตรงกันข้าม เส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะไนโตรเจน พบเฟสออสตราผลการวิเคราะห์ทางองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ สำหรับเทคนิคการแยกสเปกตรัมการดูดกลืนรังสีเอกซ์ใกล้ขอบพลังงาน พบเฟส ZnO ของเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะอากาศ และพบเฟส ZnS ของเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะสุญญากาศ สำหรับเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะไนโตรเจน พบเฟสออสตรา

ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเส้นใยมีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตร สำหรับผลการออกฤทธิ์ได้ทางชีวภาพโดยการแช่ในสารจำลองสภาวะร่างกาย เป็นระยะเวลา 14 วัน ตัวอย่างเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะไนโตรเจน แสดงให้เห็นว่ามีการก่อตัวของธาตุซึ่งนำไปสู่การสร้างชั้นไฮดรอกซีคาร์บอเนตอะพาไทต์ได้ดีที่สุด ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์พบว่าตัวอย่างเส้นใยที่เฝ้าภายใต้สภาวะอากาศ และสุญญากาศ แสดงประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ 100%

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำเส้นใยไมโครแคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกเจือด้วยสังกะสีโดยเฝ้าในสภาวะอากาศสุญญากาศ และไนโตรเจน ไปทำการทดสอบเพิ่มเติม เช่น การทดสอบความเป็นพิษ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไปใช้งานต่อไป

บรรณานุกรม

- [1] M. B. Goldman, R. Troisi, and K. M. Rexrode, "Women's health in the 21st century," in *Women and health*: Elsevier, 2013, pp. 5-20.
- [2] F. Hawkins, V. Garla, G. Allo, D. Males, L. Mola, and E. Corpas, "Senile and postmenopausal osteoporosis: Pathophysiology, diagnosis, and treatment," in *Endocrinology of aging*: Elsevier, 2021, pp. 131-169.
- [3] S. Kumar and R. Maurya, "Plant drugs in the treatment of osteoporosis," in *Natural Products and Drug Discovery*: Elsevier, 2018, pp. 179-212.
- [4] M. Hassan *et al.*, "Biomimetic PLGA/strontium-zinc nano hydroxyapatite composite scaffolds for bone regeneration," *Journal of functional biomaterials*, vol. 13, no. 1, p. 13, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/jfb13010013>.
- [5] P. Mankotia, K. Sharma, V. Sharma, R. Sehgal, and V. Kumar, "Inorganic bionanocomposites for bone tissue engineering," in *Inorganic Nanosystems*: Elsevier, 2023, pp. 589-619.
- [6] N. P. Wijedasa, S. M. Broas, R. E. Daso, and I. A. Banerjee, "Varying fish scale derived hydroxyapatite bound hybrid peptide nanofiber scaffolds for potential applications in periodontal tissue regeneration," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 109, p. 110540, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110540>.
- [7] L. Lao, Y. Wang, Y. Zhu, Y. Zhang, and C. Gao, "Poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanofibrous scaffolds fabricated by electrospinning for bone tissue engineering," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 22, pp. 1873-1884, 2011, doi: DOI 10.1007/s10856-011-4374-8.
- [8] Y. Dong, J. Liang, Y. Cui, S. Xu, and N. Zhao, "Fabrication of novel bioactive hydroxyapatite-chitosan-silica hybrid scaffolds: Combined the sol-gel method with 3D plotting technique," *Carbohydrate polymers*, vol. 197, pp. 183-193, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.086>.
- [9] X. Chen, H. Li, Y. Ma, and Y. Jiang, "Calcium phosphate-based nanomaterials: preparation, multifunction, and application for bone tissue engineering," *Molecules*, vol. 28, no. 12, p. 4790, 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28124790>.
- [10] M. Tavoni, M. Dapporto, A. Tampieri, and S. Sprio, "Bioactive calcium phosphate-based composites for bone regeneration," *Journal of Composites Science*, vol. 5, no. 9, p. 227, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/jcs5090227>.

- [11] K. H. Min, D. H. Kim, K. H. Kim, J.-H. Seo, and S. P. Pack, "Biomimetic Scaffolds of Calcium-Based Materials for Bone Regeneration," *Biomimetics*, vol. 9, no. 9, p. 511, 2024, doi: <https://doi.org/10.3390/biomimetics9090511>.
- [12] S. K. Wong, M. M. F. Yee, K.-Y. Chin, and S. Ima-Nirwana, "A review of the application of natural and synthetic scaffolds in bone regeneration," *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 14, no. 5, p. 286, 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/jfb14050286>.
- [13] G. Tripathi and B. Basu, "A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations," *Ceramics International*, vol. 38, no. 1, pp. 341-349, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.07.012>.
- [14] S. Mondal, U. Pal, and A. Dey, "Natural origin hydroxyapatite scaffold as potential bone tissue engineering substitute," *Ceramics International*, vol. 42, no. 16, pp. 18338-18346, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.08.165>.
- [15] G. Wei and P. X. Ma, "Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 25, no. 19, pp. 4749-4757, 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.12.005>.
- [16] J. P. O'Connor, D. Kanjilal, M. Teitelbaum, S. S. Lin, and J. A. Cottrell, "Zinc as a therapeutic agent in bone regeneration," *Materials*, vol. 13, no. 10, p. 2211, 2020, doi: <https://doi.org/10.3390/ma13102211>.
- [17] X. Wen, J. Wang, X. Pei, and X. Zhang, "Zinc-based biomaterials for bone repair and regeneration: mechanism and applications," *Journal of Materials Chemistry B*, 2023, doi: <https://doi.org/10.1039/D3TB01874A>.
- [18] X. Yan, H. Yao, J. Luo, Z. Li, and J. Wei, "Functionalization of electrospun nanofiber for bone tissue engineering," *Polymers*, vol. 14, no. 14, p. 2940, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/polym14142940>.
- [19] T. Zhao, J. Zhang, X. Gao, D. Yuan, Z. Gu, and Y. Xu, "Electrospun nanofibers for bone regeneration: from biomimetic composition, structure to function," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 10, no. 32, pp. 6078-6106, 2022, doi: <https://doi.org/10.1039/D2TB01182D>.
- [20] J.-H. Lee and Y.-J. Kim, "Hydroxyapatite nanofibers fabricated through electrospinning and sol-gel process," *Ceramics International*, vol. 40, no. 2, pp. 3361-3369, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.09.096>.
- [21] T. Sebastian, T. Preisker, L. Gorjan, T. Graule, C. Aneziris, and F. Clemens, "Synthesis of hydroxyapatite fibers using electrospinning: A study of phase

- evolution based on polymer matrix," *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 40, no. 6, pp. 2489-2496, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2020.01.070>.
- [22] S. Dimassi *et al.*, "Polydopamine treatment of chitosan nanofibers for the conception of osteoinductive scaffolds for bone reconstruction," *Carbohydrate Polymers*, vol. 276, p. 118774, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118774>.
- [23] J. I. Kim, J. Y. Kim, S.-H. Kook, and J.-C. Lee, "A novel electrospinning method for self-assembled tree-like fibrous scaffolds: Microenvironment-associated regulation of MSC behavior and bone regeneration," *Journal of Materials Science & Technology*, vol. 115, pp. 52-70, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2021.10.039>.
- [24] P. Franco, C. João, J. Silva, and J. Borges, "Electrospun hydroxyapatite fibers from a simple sol-gel system," *Materials Letters*, vol. 67, no. 1, pp. 233-236, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.09.090>.
- [25] K. E. Mosaad, K. R. Shoueir, A. H. Saied, and M. M. Dewidar, "New prospects in nano phased co-substituted hydroxyapatite enrolled in polymeric nanofiber mats for bone tissue engineering applications," *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 49, no. 9, pp. 2006-2029, 2021.
- [26] K. Yamaguchi *et al.*, "Highly dispersed nanoscale hydroxyapatite on cellulose nanofibers for bone regeneration," *Materials Letters*, vol. 168, pp. 56-61, 2016.
- [27] H. Khalid and A. A. Chaudhry, "Basics of hydroxyapatite—structure, synthesis, properties, and clinical applications," in *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*: Elsevier, 2020, pp. 85-115.
- [28] M. Park, D. Lee, S. Shin, and J. Hyun, "Effect of negatively charged cellulose nanofibers on the dispersion of hydroxyapatite nanoparticles for scaffolds in bone tissue engineering," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 130, pp. 222-228, 2015.
- [29] S. Fernando, M. McEnery, and S. Guelcher, "Polyurethanes for bone tissue engineering," *Advances in polyurethane biomaterials*, pp. 481-501, 2016.
- [30] M. K. Datta *et al.*, "Biocompatible Sol-Gel Based Nanostructured Hydroxyapatite Coatings on Nano-porous SiC," *Silicon Carbide Biotechnology: A Biocompatible Semiconductor for Advanced Biomedical Devices and Applications*, p. 333, 2011.

- [31] M. Baladi *et al.*, "Green sol–gel synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using lemon extract as capping agent and investigation of its anticancer activity against human cancer cell lines (T98, and SHSY5)," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 16, no. 4, p. 104646, 2023.
- [32] W. Feng, L. Mu-Sen, L. Yu-Peng, and Q. Yong-Xin, "A simple sol–gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders," *Materials Letters*, vol. 59, no. 8-9, pp. 916-919, 2005.
- [33] W. Ma *et al.*, "Preparation of High Mechanical Strength Chitosan Nanofiber/NanoSiO₂/PVA Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering Using Sol–Gel Method," *Polymers*, vol. 14, no. 10, p. 2083, 2022.
- [34] J. Livage, C. Sanchez, M. Henry, and S. Doeuff, "The chemistry of the sol-gel process," *Solid state ionics*, vol. 32, pp. 633-638, 1989.
- [35] A. S. Khan and A. A. Chaudhry, *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*. Woodhead Publishing, 2019.
- [36] M. Meskinfam, "Polymer scaffolds for bone regeneration," in *Characterization of Polymeric Biomaterials*: Elsevier, 2017, pp. 441-475.
- [37] R. Kannan, G. Wei, and P. X. Ma, "Synthetic polymeric biomaterials for tissue engineering," in *Tissue Engineering Using Ceramics and Polymers*: Elsevier, 2022, pp. 41-74.
- [38] K. T. Arul, E. Manikandan, and R. Ladchumananandasivam, "Polymer-based calcium phosphate scaffolds for tissue engineering applications," in *Nanoarchitectonics in Biomedicine*: Elsevier, 2019, pp. 585-618.
- [39] M. Kurakula and G. K. Rao, "Moving polyvinyl pyrrolidone electrospun nanofibers and bioprinted scaffolds toward multidisciplinary biomedical applications," *European Polymer Journal*, vol. 136, p. 109919, 2020.
- [40] Z. Chen, W. Zhang, M. Wang, L. J. Backman, and J. Chen, "Effects of zinc, magnesium, and iron ions on bone tissue engineering," *ACS biomaterials science & engineering*, vol. 8, no. 6, pp. 2321-2335, 2022.
- [41] T. Xu, J. M. Miszuk, Q. Yao, Z. Liang, H. Sun, and H. Fong, "Electrospun three-dimensional nanofibrous scaffolds based on polycaprolactone for stem cells differentiation and bone regeneration," in *Electrospun Polymers and Composites*: Elsevier, 2021, pp. 179-215.
- [42] Y. Yang, K.-H. Kim, C. M. Agrawal, and J. L. Ong, "Interaction of hydroxyapatite–titanium at elevated temperature in vacuum environment," *Biomaterials*, vol. 25, no. 15, pp. 2927-2932, 2004.

- [43] K. Garg and G. L. Bowlin, "Electrospinning jets and nanofibrous structures," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 1, 2011, doi: <http://dx.doi.org/10.1063/1.3567097>.
- [44] ส. จ. ม. ว. นนท์ and ว. ร. ภ. ณ. ต. ย. ส. ก. โกวิท, "การศึกษา ผล และ กลไก การ รักษา ภาวะ กระดูก พรุน ของ พืช สมุนไพร ไทย กวาวเครือ ขาว ใน หนู แร่ ท: รายงาน ผล การ วิจัย," จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
- [45] E. A. Ofudje, A. I. Adeogun, M. A. Idowu, and S. O. Kareem, "Synthesis and characterization of Zn-Doped hydroxyapatite: scaffold application, antibacterial and bioactivity studies," *Heliyon*, vol. 5, no. 5, 2019.
- [46] G. Perumal, P. M. Sivakumar, A. M. Nandkumar, and M. Doble, "Synthesis of magnesium phosphate nanoflakes and its PCL composite electrospun nanofiber scaffolds for bone tissue regeneration," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 109, p. 110527, 2020.
- [47] V. I. dos Santos, C. Merlini, Á. Aragones, K. Cesca, and M. C. Fredel, "Influence of calcium phosphates incorporation into poly (lactic-co-glycolic acid) electrospun membranes for guided bone regeneration," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 179, p. 109253, 2020.
- [48] ณ. อีสร์นัน, "การศึกษาโครงสร้าง การกระตุ้นทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์ และสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ถูกเจือร่วมด้วยสตรอนเซียมและสังกะสี," ปริญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2564.
- [49] สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอนองค์การมหาชน. "หลักการของเทคนิค XAS." (accessed.
- [50] M. Sawada, K. Sridhar, Y. Kanda, and S. Yamanaka, "Pure hydroxyapatite synthesis originating from amorphous calcium carbonate," *Scientific reports*, vol. 11, no. 1, p. 11546, 2021, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91064-y>.
- [51] A. Bootchanont *et al.*, "Comparison of local structure between Mg/Mn-doped natural and synthetic hydroxyapatites by X-ray absorption spectroscopy," *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 177, p. 109075, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.109075>.
- [52] E. A. Hughes, T. E. Robinson, D. B. Bassett, S. C. Cox, and L. M. Grover, "Critical and diverse roles of phosphates in human bone formation," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 7, no. 47, pp. 7460-7470, 2019, doi: <https://doi.org/10.1039/C9TB02011J>.
- [53] B. Wan *et al.*, "Biomimetically precipitated nanocrystalline hydroxyapatite," *Nano Trans Med*, vol. 1, no. 2-4, p. e9130008, 2022, doi: <https://doi.org/10.26599/NTM.2022.9130008>.

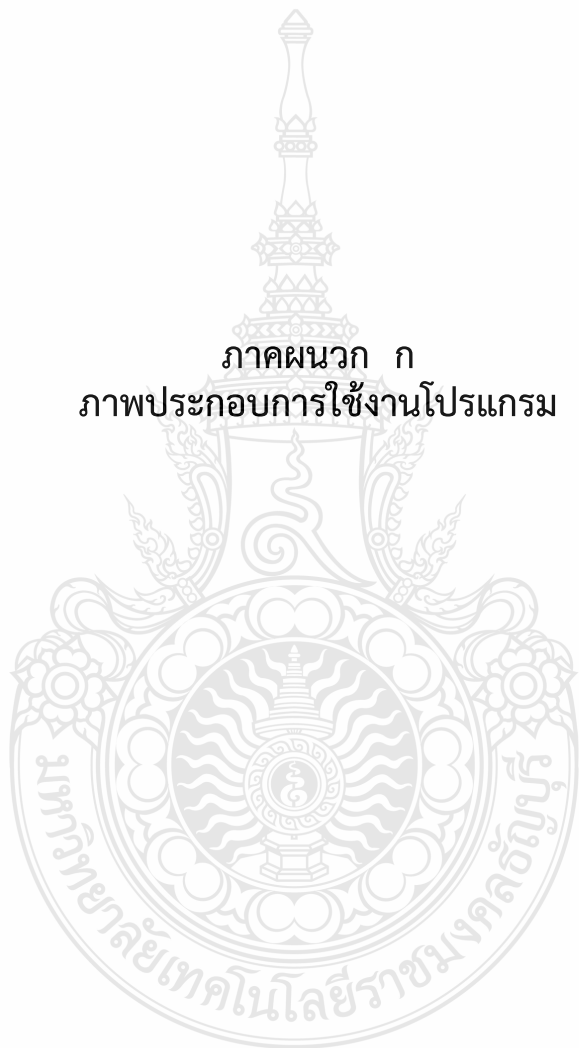
- [54] R. Alfata, G. Ramahdita, and A. H. Yuwono, "The Effect of Additional Zinc Oxide to Antibacterial Property of Chitosan/Collagen-Based Scaffold," in *Materials Science Forum*, 2020, vol. 1000: Trans Tech Publ, pp. 107-114, doi: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.1000.107>.
- [55] N. Bouasla, S. Abderrahmane, Z. Obeizi, M. Sarah, and A. Saoudi, "Antimicrobial Activity of ZnS and ZnO-TOP Nanoparticles Againsts Pathogenic Bacteria," *Chemistry & Biodiversity*, p. e202400724, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400724>.
- [56] L. F. Sukhodub, L. B. Sukhodub, M. Kumeda, A. Denysenko, and M. Kravchenko, "Bioactive Polymer-apatite Coatings with Antimicrobial Properties on Model Titanium Implants," 2020, doi: [https://doi.org/10.21272/jnep.12\(3\).03025](https://doi.org/10.21272/jnep.12(3).03025).



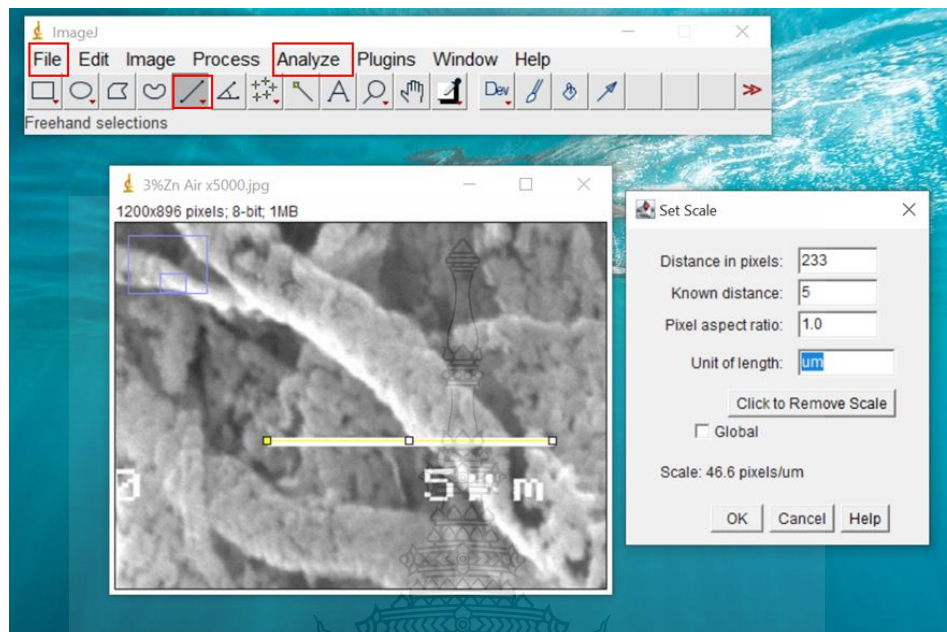
ภาคผนวก



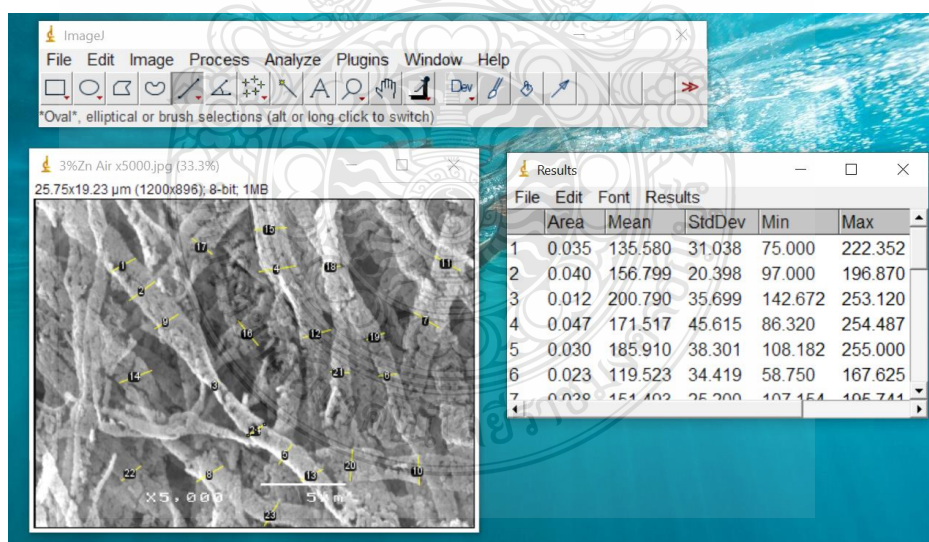
ภาคผนวก ก
ภาพประกอบการใช้งานโปรแกรม



ภาพประกอบการใช้งานโปรแกรม ImageJ



เปิดโปรแกรม ImageJ เลือกคำสั่ง File จากนั้น Open เลือกรูปที่ต้องการวัด แล้วจึงกดเลือก straight เพื่อกำหนดขนาดเส้นจากรูปภาพ จากนั้นเลือกคำสั่ง Analyze เพื่อ Set Scale



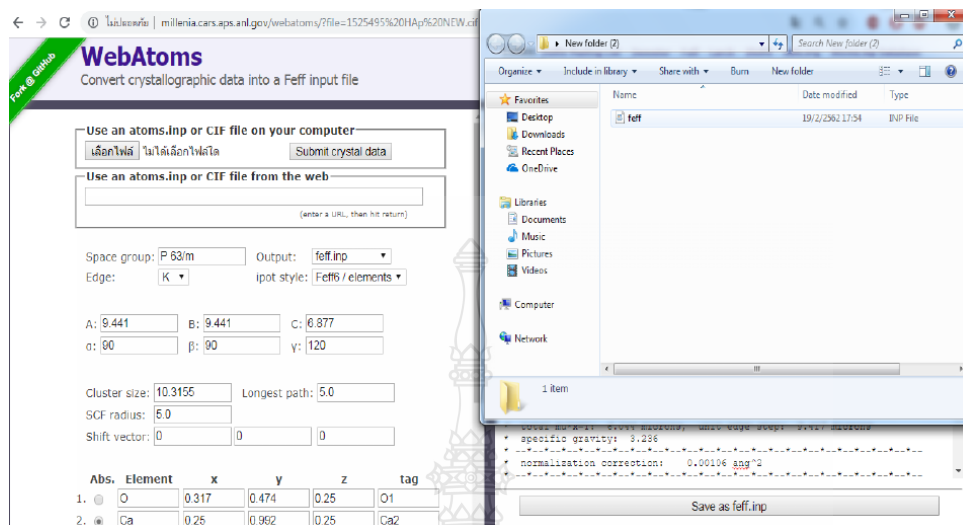
คลิกลากตรงเส้นที่ต้องการวัดแล้วกด ctrl+M เพื่อวัดค่า

Results									
File Edit Font Results									
	Label	Area	Mean	StdDev	Min	Max	Angle	Length	
12		0.036	132.392	25.752	60.000	185.763	15.642	1.671	
13		0.031	189.327	32.216	101.000	253.368	26.565	1.440	
14		0.043	127.627	14.302	77.000	152.027	20.772	1.997	
15		0.041	189.712	27.525	113.000	246.828	3.945	1.871	
16		0.040	95.895	25.881	45.000	156.834	-50.711	1.830	
17		0.032	136.633	15.639	104.017	159.692	-37.875	1.468	
18		0.021	210.903	28.524	128.000	255.000	3.814	0.968	
19		0.024	122.771	20.638	61.000	143.827	-159.444	1.100	
20		0.039	143.213	18.453	105.500	189.000	-94.086	1.807	
21		0.024	157.693	34.957	90.235	221.471	-3.366	1.096	
22		0.030	121.651	12.635	103.734	166.000	37.405	1.378	
23		0.033	153.553	29.022	97.131	215.412	59.036	1.502	
24		0.025	145.351	35.424	84.000	214.000	33.690	1.161	
25	Mean	0.033	154.241	27.915	94.288	209.355	5.456	1.515	
26	SD	0.008	28.759	8.044	23.242	37.783	53.060	0.376	
27	Min	0.012	95.895	12.635	45.000	143.827	-159.444	0.546	
28	Max	0.047	210.903	45.615	142.672	255.000	92.203	2.149	

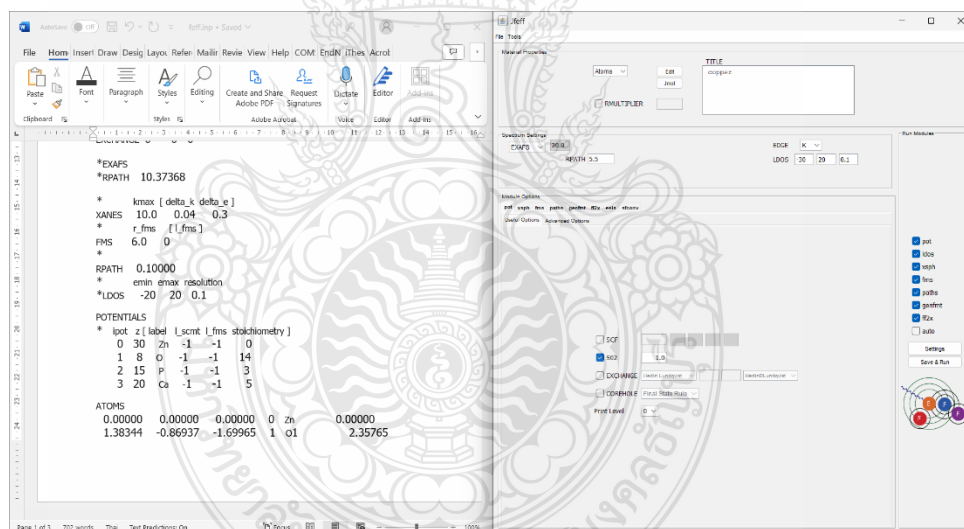
เลือกคำสั่ง Results แล้วเลือก Summarize เพื่อคำนวณค่า



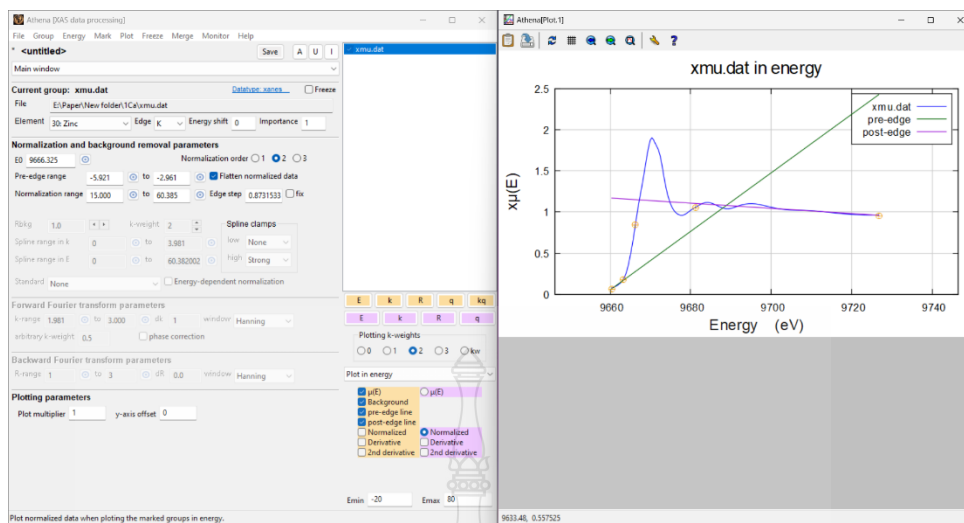
ภาพประกอบการใช้งานโปรแกรม Athena



การแปลงไฟล์ feff.inp ผ่านเว็บไซต์ WebAtoms



การแก้ไขข้อมูลไฟล์ feff.inp สำหรับคำนวณสเปกตรัมในโปรแกรม FEFF9



การ Normalization สเปกตรัมของ XANES ที่ได้จากการคำนวณในโปรแกรม Athena

ภาคผนวก ข
ภาพประกอบการวิจัย

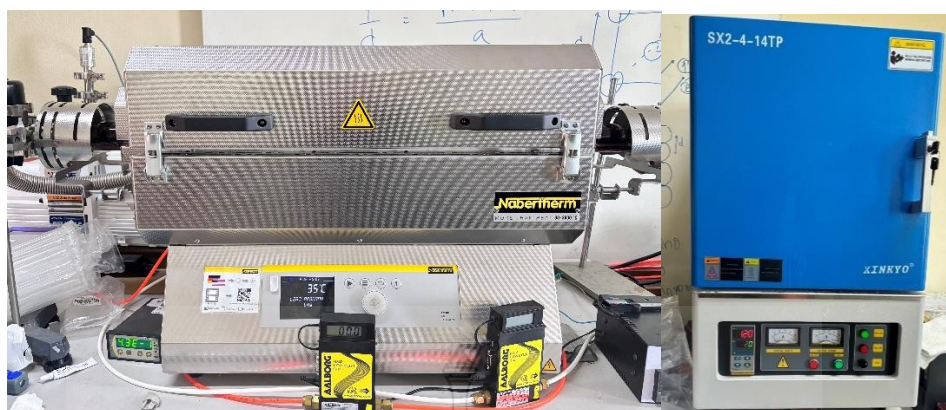




กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง



เส้นใยที่ได้หลังจากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง



ทำการเผาเส้นใยที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส ที่สภาวะแวดล้อมต่างกัน ได้แก่ อากาศ สุญญากาศ และไนโตรเจน



ตัวอย่างที่ได้หลังการเผาภายใต้สภาวะอากาศ และจึงนำไปทำการทดสอบ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวศิริวรรณ โตจ่อ
วัน เดือน ปีเกิด	10 ตุลาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี : สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ประวัติการทำงาน	พนักงานห้องปฏิบัติการ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ
เบอร์โทรศัพท์	082-3286892
อีเมล	siriwantojor@gmail.com

