

การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีซิลิกอนในโครงสร้างจากเปลือกไข่โดยวิธีการตกตะกอน

Synthesis of silicon-substituted hydroxyapatite from eggshells by a precipitation method

มาศกร โทวันนัง (Madsakorn Towannang)\* สุภาสินี ซีท (Suphasinee Seet)\*\*

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสังเคราะห์วัสดุผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีซิลิกอนในโครงสร้าง (SiHA) ด้วยวิธีการตกตะกอน โดยสารตั้งต้นที่ใช้คือ เปลือกไข่ไก่เผาที่ 1000°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และฟุ้งซิลิกา หลังจากเตรียมวัสดุผง SiHA ได้แล้วถูกนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 600, 700 และ 800°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และถูกวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของวัสดุผง SiHA โดยเทคนิค XRD, FTIR และ SEM จากผลการศึกษาลักษณะและโครงสร้างของวัสดุผง SiHA โดยเทคนิค XRD พบว่าเป็นเฟสของ HA ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าค่าคงที่แลตทิซพารามิเตอร์ a และ c มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อซิลิกอนเพิ่มขึ้น จากการศึกษาเทคนิค FTIR พบว่ามีพีคของกลุ่มฟอสเฟต ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) คาร์บอเนต ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) และกลุ่มไฮดรอกซิล (OH) เกิดขึ้น และพบว่าไม่มีหมู่ซิลิเกต ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) เพิ่มขึ้นซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีซิลิกอนอยู่ในโครงสร้าง HA จริง

### ABSTRACT

This research aims to synthesize silicon-substituted hydroxyapatite (SiHA) powder by a precipitation method. Eggshell calcined at 1000°C for 2 hours and fumed silica were used as starting materials. The precipitate was calcined at 600, 700 and 800°C for 4 hours and then characterized by XRD, FTIR and SEM techniques. The XRD results confirmed the formation of the HA phase and, as the silicon content increased, the increment of lattice parameters a and c was found. From FTIR study, the peaks of phosphate, carbonate and hydroxyl groups were observed. In addition, the peak of silicate group was also found. This peak indicated the presence of Si in the HA structure.

คำสำคัญ : ซิลิกอน ไฮดรอกซีอะพาไทต์ เปลือกไข่ไก่

Key Words : Silicon, Hydroxyapatite, eggshell

\*มหาดบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*\*อาจารย์ สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## บทนำ

เปลือกไข่ประกอบด้วยโครงสร้างสามชั้น ได้แก่ cuticle layer, spongy layer และ lamellar layer ส่วนที่เป็น cuticle layer หมายถึง พื้นผิวนอกสุด และชั้น cuticle ประกอบด้วย โปรตีน ซึ่งชั้น spongy และ lamellar เป็นส่วนประกอบจากเส้นใยโปรตีนที่ติดกับผลึกแคลไซต์ (calcite) ในสัดส่วน 1:50 นอกจากนี้เปลือกไข่ยังประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต 94% แคลเซียมฟอสเฟต 1% สารอินทรีย์ 4% และแมกนีเซียมคาร์บอเนต 1% (Rivera *et al.*, 1999)

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite, HA) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  ซึ่งเป็นสารแคลเซียมฟอสเฟตที่สำคัญมากที่ใช้สำหรับเป็นวัสดุทดแทนกระดูก ซึ่ง HA มีสมบัติความเข้ากันได้ดีทางชีวภาพ (biocompatibility) ที่ดีเยี่ยม เนื่องจาก HA เป็นวัสดุที่สำคัญที่ถูกนำไปประยุกต์ใช้ทางชีวการแพทย์ (biomedical) เพราะ HA มีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกับกระดูกจริง และ HA มีสมบัติไบโอแอคทีวิตี (bioactivity) ที่ดีขึ้นเมื่อเติมซิลิกอนเข้าไปในโครงสร้างของ HA (Kim *et al.* 2003; Zou *et al.* 2005; Thian *et al.* 2007; Balamurugan *et al.* 2008; Palard *et al.*, 2008)

เนื่องจากซิลิกาหรือซิลิกอนถูกนำไปใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติไบโอแอคทีวิตีของวัสดุไบโอบีโกลาส (bioglass) ดังนั้นซิลิกอนน่าจะปรับปรุงสมบัติไบโอแอคทีวิตีของ HA ได้เช่นเดียวกัน เมื่อนำซิลิกอนเติมเข้าไปในโครงสร้าง HA เพื่อทำให้สมบัติไบโอแอคทีวิตีของ HA ให้ดีขึ้น และเมื่อซิลิกอนเข้าไปในแลตทิซของ HA คนส่วนมากมีความพยายามเพื่อทำการเตรียมซิลิกอนแทนใน HA โดยวิธีการสังเคราะห์ที่หลากหลาย อย่างไรก็ตามผลที่เกิดขึ้นเมื่อมีซิลิกอนในอะพาไทต์แล้วนั้นไม่ต้องการให้มีเฟสของสารแคลเซียมฟอสเฟตชนิดอื่นเกิดขึ้น หรือ การแทนที่ที่เพิ่มขึ้นนอกจากซิลิกอน ของกลุ่มไอออนที่เข้าไปในแลตทิซของ HA และเชื่อว่าองค์ประกอบสำคัญในการเกิดกระดูก คือ ซิลิกอน สิ่งแรกทำให้รู้ว่าหน้าที่ physiological ของ

ซิลิกอนถูกอธิบายโดย Carlisle ซึ่งเป็นบุคคลที่รายงานว่า การทดสอบระยะแรกกระดูกไม่มีการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเพิ่มเติมโดย Schwarz และ Milen มีการพิสูจน์ในหนูหลายตัวว่าเมื่อขาดซิลิกอนผลที่ตามมาคือ มีการผิดรูปร่างของกะโหลกหนูตรงบริเวณกระดูกกะโหลก ซึ่งในตอนต้นพบว่าปริมาณซิลิกอนที่เข้าไปรวมกับธาตุกระดูกนั้นแสดงว่าซิลิกอนที่เติมเข้าไปมีความสัมพันธ์กับการเกิดกระดูก (Patel *et al.*, 2002)

เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการศึกษาให้เห็นว่าการแทนที่ของซิลิกอนใน HA เป็นการเพิ่มสมบัติไบโอแอคทีวิตีทั้ง *in vitro* และ *in vivo* ให้ดีขึ้นด้วย เพราะการแทนที่ของซิลิกอนใน HA เป็นสิ่งที่กำลังพัฒนาอยู่ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและเป็นการสร้างสรรค์สิ่งใหม่ๆ สำหรับการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกระดูกในกระดูก (Balamurugan *et al.* 2008)

ดังนั้นจึงได้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการเตรียมวัสดุผงไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีซิลิกอนในโครงสร้าง (SiHA) จากเปลือกไข่กับฟุ้งซิลิกาโดยวิธีการตกตะกอนทางเคมี ซึ่งมีปริมาณการเติมซิลิกอนในอัตราที่แตกต่างกัน คือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 wt% ตามลำดับ

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์วัสดุผง SiHA จากเปลือกไข่กับฟุ้งซิลิกา โดยวิธีการตกตะกอนทางเคมี
2. เพื่อศึกษาสมบัติของวัสดุผงในข้อ 1 โดยใช้เทคนิค XRD, FTIR และ SEM

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

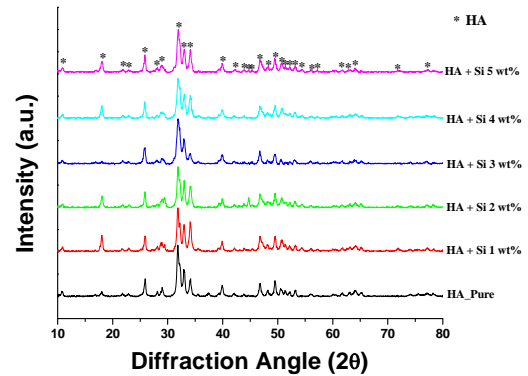
วัสดุอุปกรณ์ในงานวิจัยนี้ขั้นตอนแรกนำเอาเปลือกไข่ไปล้างให้สะอาดและล้างไข่ให้แห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียดร่อนผ่าน sieve ขนาด 150 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 1000 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้อัตราการเผา 5 องศาต่อนาที จากนั้นนำ

เปลือกไข่ที่เผาแล้วไปทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริกในอัตราส่วนของ Ca/P เท่ากับ 1.67 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำพุ่มซิลิกาที่ถูกละลายด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ จนมีลักษณะใสนำมาเทลงในบีกเกอร์ที่มีเปลือกไข่เผาที่ทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริกในตอนต้นพร้อมกับคนสารละลายต่อเนื่อง เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายแอมโมเนียอย่างรวดเร็ว พร้อมกับคนสารละลาย และวัดค่า pH ได้ประมาณเท่ากับ 12.5 หลังจากสารละลายผสมกันดีแล้ว ตั้งทิ้งไว้ทิ้งคืนที่อุณหภูมิห้อง ต่อจากนั้นนำสารละลายล้างด้วยน้ำ DI สอกรอบ แล้วล้างด้วยอะซิโตนอีกหนึ่งรอบ หลังจากนั้นกรองเอาตะกอนใส่บีกเกอร์พร้อมก็นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาบดให้ละเอียดพร้อมร่อนผ่าน sieve ขนาด 150 ไมโครเมตร แล้วนำไปแคลไซน์ที่อุณหภูมิ 600, 700 และ 800 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ขั้นตอนสุดท้ายเก็บวัสดุผง SiHA ที่แคลไซน์แล้วไว้ในขวดบรรจุภัณฑ์ที่ปิดสนิทแล้วนำไปเก็บในตู้ดูดความชื้นเพื่อนำไปศึกษาคุณลักษณะของวัสดุผง SiHA ด้วยเทคนิค XRD, FTIR และ SEM

**ผลการวิจัยและการอภิปรายผล**

จากรูปแบบการเลี้ยวเบนของวัสดุผง SiHA ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย XRD (Philips Analytical X-ray PW 3710, The Netherland) โดยใช้อัตราการเพิ่มมุม 2θ 0.02 องศาต่อนาที ซึ่งทำให้พบว่าเฟสที่เกิดขึ้นเป็นเฟสของ HA เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในภาพที่ 1 และไม่ว่าจะเติมซิลิกอนเข้าไปในปริมาณที่แตกต่างกันก็ไม่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงเฟสของ HA แต่อย่างไรก็ตาม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงภายในแลตทิซของ HA ซึ่งทำให้ค่าคงที่ของแลตทิซ a และ c มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Kim *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2005; Thian *et al.*, 2007; Balamurugan *et al.*, 2008; Palard *et al.*, 2008 และ Bianco *et al.*, 2009) อัน

เนื่องมาจากพันธะของ Si-O มีค่ายาวกว่าพันธะของ P-O ดังนั้นจึงทำให้ค่าคงที่แลตทิซมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากหมู่ซิลิกอนเข้าไปแทนที่หมู่ฟอสเฟตในโครงสร้าง (Chappell and Bristowe, 2007) ดังแสดงในตารางที่ 1



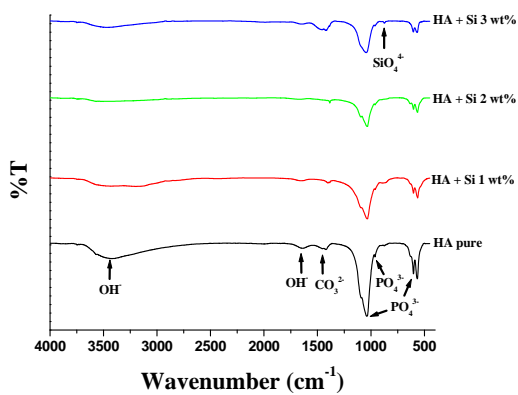
ภาพที่ 1 กราฟรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์จากเทคนิค XRD ของวัสดุผง SiHA ที่เติม Si ตั้งแต่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 wt% แล้วเผาแคลไซน์ที่ 700°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของ lattice parameter (a) และ lattice parameter (c)

สารตัวอย่าง	เผาที่ 700°C เป็นเวลา 4h	
	a (nm)	c (nm)
HA	0.93056	0.61715
HA (Si 1 wt%)	0.92927	0.61866
HA (Si 2 wt%)	0.93425	0.61777
HA (Si 3 wt%)	0.95265	0.62200
HA (Si 4 wt%)	0.94940	0.61875
HA (Si 5 wt%)	0.94752	0.61808

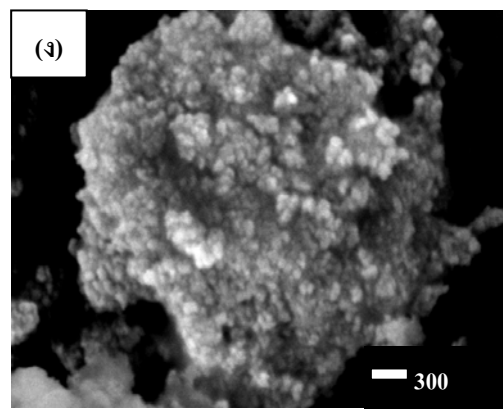
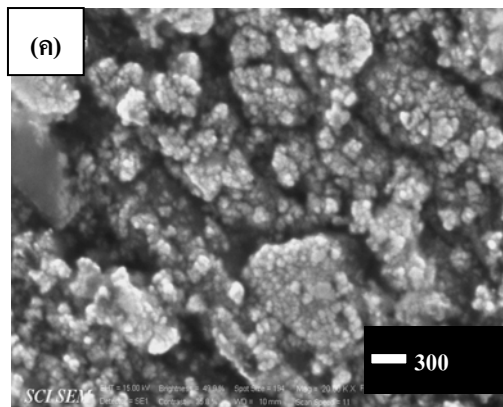
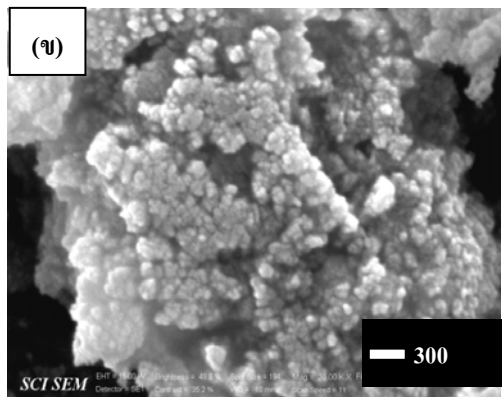
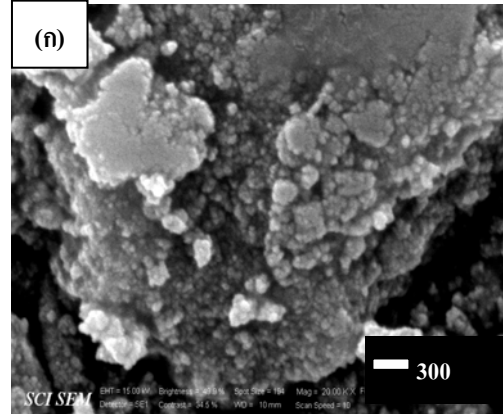
จากการศึกษาเทคนิค FTIR (Spectrum one FTIR Spectrometer, Perkin Elmer Instrument, USA) โดยใช้ช่วงการวัดตั้งแต่ 400-4000 cm<sup>-1</sup> ในการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันที่มีอยู่ในวัสดุผง SiHA ที่ยังไม่ได้แคลไซน์พบว่ามียุ่ของหมู่ ฟอสเฟต (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) คาร์บอนเนต

(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) และหมู่ไฮดรอกซิล (OH) เกิดขึ้นที่ตำแหน่งต่างๆ อีกทั้งยังพบกลุ่มของซิลิเกต (SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup>) เกิดขึ้นที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน เมื่อเติมซิลิกอน 3 wt% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Tang *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตเห็นว่าเปอร์เซ็นต์การส่องผ่าน (Transmittance, %T) ของกลุ่ม SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup> เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณซิลิกอนเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม %T ของกลุ่ม PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ลดลง แสดงถึงการแทนที่ของหมู่ฟอสเฟตด้วยหมู่ซิลิเกต ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 อินฟราเรดสเปกตรัมของวัสดุผสม SiHA ที่เติมซิลิกอนตั้งแต่ 0, 1, 2 และ 3wt% และยังไม่ได้เผาแคลไซน์

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัสดุผสม SiHA ที่ยังไม่ได้แคลไซน์ โดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพ SEM (LEO 1450 VP, Germany) ที่ใช้กำลังขยาย 30,000 เท่า แสดงดังภาพที่ 3 จากภาพพบว่าอนุภาคของวัสดุผสม SiHA ที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกันในทุกสารตัวอย่าง นั่นคือมีลักษณะเป็นเม็ดค่อนข้างกลมและมีการเกาะตัวกันเป็นกลุ่มก้อนของอนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วง 20-65 นาโนเมตร



ภาพที่ 3 แสดงภาพถ่าย SEM ที่ยังไม่ได้แคลไซน์

(ก) HA pure (ข) HA + Si 1wt% (ค) HA + Si 2 wt% และ (ง) HA + Si 5 wt%

### สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีซิลิกอนในโครงสร้าง โดยใช้สารตั้งต้นจากเปลือกไข่ไก่เผาที่ 1000°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กับฟลูมัลซิลิกอนนั้น ผลปรากฏว่าประสบความสำเร็จนอกจากนั้น SiHA ที่ได้มีลักษณะกลม ขนาดเล็ก และมีขนาดที่สม่ำเสมอ

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาฟิสิกส์ ภาควิชาเคมี และภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยนาโนเทคโนโลยีบูรณาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้การสนับสนุนทุนสำหรับการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

Balamurugan, A., Rebelo, AHS., Lemos AF., Rocha, JHG., Ventura, JMG., and Ferreira, JMF. 2008. "Suitability evaluation of sol-gel derived Si-substituted hydroxyapatite for dental and maxillofacial applications through *in vitro* osteoblasts response." *Journal Dental Materials* **24**: 1374-1380.

Bianco, A., Cacciotti, I., Lombardi, M., and Montanaro, L. 2009. "Si-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sinterability." *Materials Research Bulletin* **44**: 345-354.

Chappell, HF., and Bristowe, PD. 2007. "Density functional calculation of the properties of Silicon-substituted hydroxyapatite." *Journal Materials Science: Materials in Medicine* **18**: 829-837.

Kim, SR. *et al.* 2003. "Synthesis of Si, Mg substituted hydroxyapatite and their sintering behaviors." *Biomaterials* **24**: 1389-1398.

Palard, M., Eric, C., and Foucaud, S. 2008. "Synthesis of silicate hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ ." *Journal of Solid State Chemistry* **181**: 1950-1960.

Patel, N., Best, SM., and Bonfield, W. 2002. "A comparative study on the *in vivo* behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules." *Journal Materials Science: Materials In Medicine* **13**: 1199-1206.

Rivera, EM. Araiza, M., Brostow W., Castano, VM., Diaz-Estrada, JR., Hernandez, R., and Rodriguez, JR. 1999. "Synthesis of hydroxyapatite from eggshells." *Journal Materials Letters* **41**: 128-134

Tang, X.L., Xiao, X.F. and Lui, R.F. 2005. "Structure characterization of silicon-substituted hydroxyapatite synthesized by a hydrothermal method." *Materials Letters* **59**: 3841-3846.

Thian, ES., Huang, J., Best, SM., Barber, ZH., and Bonfield, W. 2007. "Silicon-substituted hydroxyapatite: The next generation of bioactive coatings." *Materials Science and Engineering* **27**: 251-256.

Zou, S., Huang, J., Best, S., and Bonfield, W. 2005. "Crystal imperfection studies of pure and silicon substituted hydroxyapatite using Raman and XRD." *Journal Materials Science: Materials In Medicine* **16**: 1143-1148.