



การเตรียมและสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์/ไทเทเนียม Preparation and Antibacterial Property of Hydroxyapatite/Titanium compounds

วัลย์ลิกา สุขสำราญ

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

บทคัดย่อ

สารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์/ไทเทเนียม (HAP/Ti) ถูกเตรียมจาก Ti^{4+} ที่มีความเข้มข้น $X_{Ti} = 0.15, 0.2$ และ 0.25 เมื่อ $X_{Ti} = Ti/(Ca+Ti)$ โดยสารประกอบ HAP/Ti ถูกหาลักษณะเฉพาะด้วยฟูเรียทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรสโคปี เอ็กเรย์ดิฟเฟรคชัน กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย การต้านเชื้อแบคทีเรียทำการทดสอบโดยการกรองสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียแขวนลอยอยู่ด้วยผ้าฝ้ายที่ถูกชุบเพื่อให้มีการแทรกตัวของสารประกอบ HAP/Ti อยู่บนผ้าฝ้าย จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียประมาณร้อยละ 95-98 ถูกกำจัดออก ไปภายใต้แสงยูวีที่ถูกกรองด้วยผ้ากรอง 2 ชั้น และยังพบว่า เมื่อนำสารประกอบ HAP/Ti ใส่ลงในสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียพร้อมกับฉายแสงยูวี เป็นเวลา 60 นาที มีร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอยู่ที่ประมาณร้อยละ 78-82

คำสำคัญ : ไฮดรอกซีอะพาไทต์, ไทเทเนียม, การต้านเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

The hydroxyapatite/titanium compounds (HAP/Ti) were prepared with Ti^{4+} concentrations of $X_{Ti} = 0.15, 0.2$ and 0.25 [$X_{Ti} = Ti/(Ca+Ti)$]. The HAP/Ti compounds were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscope (SEM) and antibacterial property. The antibacterial property was tested by filtering the bacteria suspension solution with the depositing HAP/Ti compounds on a cotton fabric. The results showed that about 95-98% of the bacteria can be removed by the two-layer filter cloth under UV irradiation. It is also found that the cotton fabrics which coated by the HAP/Ti compounds were immersed in the solution containing bacteria under UV irradiation for 60 minutes, the bactericidal killing percentages were about 78-82%.

Keywords : hydroxyapatite, titanium, antibacterial property



บทนำ

แบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญก่อให้เกิดโรคที่เป็นอันตรายกับร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการติดเชื้อทั้งที่รุนแรงและไม่รุนแรงเกี่ยวกับระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหารและโรคอื่นๆ อีกหลายโรค โดยการติดเชื้อเกิดขึ้นจากการกระจายตัวของแบคทีเรียเหล่านี้ที่มากับอากาศและน้ำ จึงได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาวัสดุสำหรับกระบวนการบำบัดอากาศและน้ำด้วยการกรอง (Yang et al., 2007) โดยวัสดุที่มีขนาดอนุภาคในระดับนาโนเมตรที่มีสมบัติต่อต้านเชื้อแบคทีเรียมีทั้งที่ได้จากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้นมา ซึ่งได้แก่ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Titanium oxide, TiO_2) ซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide, ZnO) ฟูลเลอร์อล (Fullerol) เปปไทด์ โคโคซาน คาร์บอกซีฟูลเลอร์รีน (Carboxy fullerene) ท่อคาร์บอนระดับนาโนเมตร (Carbon nanotube) และอนุภาคนาโนของโลหะเงิน (Silver nanoparticle) โดย TiO_2 เป็นตัวเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรคเนื่องจากไม่เป็นพิษและราคาไม่แพง ได้มีการศึกษาวิจัยอย่างมากเกี่ยวกับประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อด้วยการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง (Photocatalytic disinfection) ของ TiO_2 พบว่า มีศักยภาพในการฆ่าเชื้อโรคที่มากับน้ำได้ดี และได้มีการพัฒนาสมบัติทางด้านการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงของ TiO_2 ด้วยการเติมโลหะบางตัวลงไปใน TiO_2 เพื่อให้ TiO_2 มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาด้วยแสงในช่วงยูวีเอ (UV-A) และความว่องไวในช่วงแสง วัสดุเปลซึ่งทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในที่ที่ไม่มีกระแสไฟฟ้าได้ (Li et al., 2008) นอกจากนี้ถ้าวัสดุที่นำมาใช้เพื่อกรองเชื้อแบคทีเรียนั้นมีความสามารถในการดูดซับเชื้อแบคทีเรียไว้ได้ด้วย จึงยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้มากขึ้น โดยวัสดุที่มีความสามารถในการดูดซับเชื้อแบคทีเรียได้ดีตัวหนึ่งคือ ไฮดรอกซีอะปาทาइट ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; HAP) ซึ่ง HAP เป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกและฟัน มีความสามารถเข้าได้ดีกับร่างกาย (Biocompatibility) และไม่เป็นพิษ (Yang et al., 2007) ทำให้ HAP ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางไม่ว่าจะเป็นวัสดุทดแทนกระดูก (Bone Substitution Materials) และวัสดุที่ใช้เป็นโครงในการงอกใหม่ของเนื้อเยื่อกระดูก (Scaffolds for bone tissue regeneration) (Neumann and Eppler, 2006) สารปลดปล่อยยา (Jokanovic et al., 2006) ไบโอเซรามิกส์ (Bioceramics) ตัวเร่งปฏิกิริยาและ HAP ยังสามารถนำมาใช้เป็นตัวดูดซับแบคทีเรีย ไวรัส สารประกอบไนโตรเจนออกไซด์และแอมโมเนียอีกด้วย (Anmin et al., 2006) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาพบว่า การเติมไอออนของเงิน (Ag^+) และไอออนของไทเทเนียม (Ti^{4+}) เข้าในโครงสร้างของ HAP เป็น $(\text{Ag}, \text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ หรือ $(\text{Ag}, \text{Ti})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Anmin et al., 2006) และ $(\text{Ti}, \text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ามีผลต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการผสมไทเทเนียมลงใน HAP

จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการเตรียมวัสดุที่มีความสามารถในการดูดซับและการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Wakamura et al., 2003.) ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารประกอบ HAP/Ti โดยนำสารละลายไทเทเนียมเตตระคลอไรด์ (TiCl_4) ทำปฏิกิริยากับแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และใช้สารละลายแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) เป็นแหล่งของฟอสเฟตในโครงสร้างของ HAP แล้วนำสารประกอบ HAP/Ti ที่ได้ไปทดสอบการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเตรียมและศึกษาสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบไฮดรอกซีอะปาทาइट/ไทเทเนียม

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารประกอบ HAP/Ti

เติม TiCl_4 (0.09M solution in 20% HCl, ACROS Organics) ลงในสารละลาย CaCO_3 (99%, Carlo Erba reagents) เข้มข้น 10 % w/v โดยใช้อัตราส่วนโดยโมลของ HAP/Ti ให้ X_{Ti} เท่ากับ 0.15 0.20 และ 0.25 [$X_{\text{Ti}} = \text{Ti}/(\text{Ca}+\text{Ti})$] แล้วเติม $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (98%, Ajax Finechem) ลงในสารละลายแล้วปรับค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 9 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการกรองและล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปราศจากไอออน นำสารที่ได้มา 2.5 กรัม เติมน้ำปราศจากไอออน 250 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 9 แล้วนำไปใส่ในขวดเทฟลอนปิดฝาให้สนิท นำไปเข้าอโตเคลฟที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำสารละลายมากรองและล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปอบที่ 80 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง นำสารประกอบ HAP/Ti ไปวิเคราะห์หาลักษณะเฉพาะด้วยเครื่องฟูเรียรทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (Fourier transform infrared spectrometer, FTIR) และเครื่องเอ็กซเรย์ดิฟแฟรคชัน (X-ray diffraction, XRD) เทียบกับ (1) HAP ที่สังเคราะห์ขึ้นจาก CaCO_3 ที่ถูกย่อยสลายด้วยกรดไนตริก 20% v/v แล้วทำปฏิกิริยากับ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงที่ pH เท่ากับ 9 (2) TiO_2 ที่เตรียมได้จากสารละลายไทเทเนียมไอโซโพรพอกไซด์ ($[\text{Ti}(\text{OCH}(\text{CH}_3)_2)_4]$, 98% ACROS Organics) (Manivannan et al., 2008) และ 3) นาโน- TiO_2 (99.5%, <100nm; Aldrich)

2. การเตรียมวัสดุเพื่อศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรีย

นำสารประกอบ HAP/Ti มาเติมน้ำปราศจากไอออน โดยให้สารตัวอย่างแขวนลอยคิดเป็นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก นำผ้าฝ้าย ขนาด 5x5 ตารางเซนติเมตร และ 1x1 ตารางเซนติเมตร



ไปแช่ในสารประกอบ HAP/Ti และคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของผ้าที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti โดยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM)

3. การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียของวัสดุจากสารประกอบ HAP/Ti โดยเชื้อแบคทีเรียได้มาจากการเพาะเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากอากาศนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว (Trypticase soy broth) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียลงใน 0.85% NaCl 9 มิลลิลิตร โดยใช้วิธี serial dilution แล้วนำไปหาปริมาณเชื้อด้วยเทคนิคสแตนด์เพดเคานต์ (Standard Plate Count) โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ประมาณ 105 cells/ml ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 นำของเหลวที่มีเชื้อแบคทีเรีย 50 มิลลิลิตร มารองผ่านผ้าที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti ขนาด 5x5 ตารางเซนติเมตร โดยมีผ้าฝ้ายซักแล้วที่ไม่ได้ชุบสารประกอบ HAP/Ti เป็นตัวควบคุม เวลาที่ใช้ในการกรอง 10 นาที พร้อมทั้งฉายแสงยูวีจากหลอดกำเนิดแสงยูวีที่มีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ขนาด 110 วัตต์ โดยปริมาณสแตนด์เพดเคานต์เริ่มต้นจะได้รับการกรองผ่านผ้าฝ้ายที่ซักแล้วแต่ไม่ผ่านชุบสารตัวอย่าง HAP/Ti จำนวน 1 ชั้น แล้วนำของเหลวที่ผ่านการกรองไปหาปริมาณเชื้อโดยเทคนิคสแตนด์เพดเคานต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังการบ่มนำมานับโคโลนีเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นเพิ่มวัสดุกรองเป็น 2 ชั้น วิธีที่ 2 นำผ้าที่ชุบด้วย

สารประกอบ HAP/Ti ขนาด 1x1 ตารางเซนติเมตร มาใส่ลงในสารละลาย 0.85% NaCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่มีเชื้อแบคทีเรียที่ทราบจำนวนเรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำไปฉายแสง UV เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที แล้วนำไปหาปริมาณร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเช่นเดียวกับวิธีที่ 1

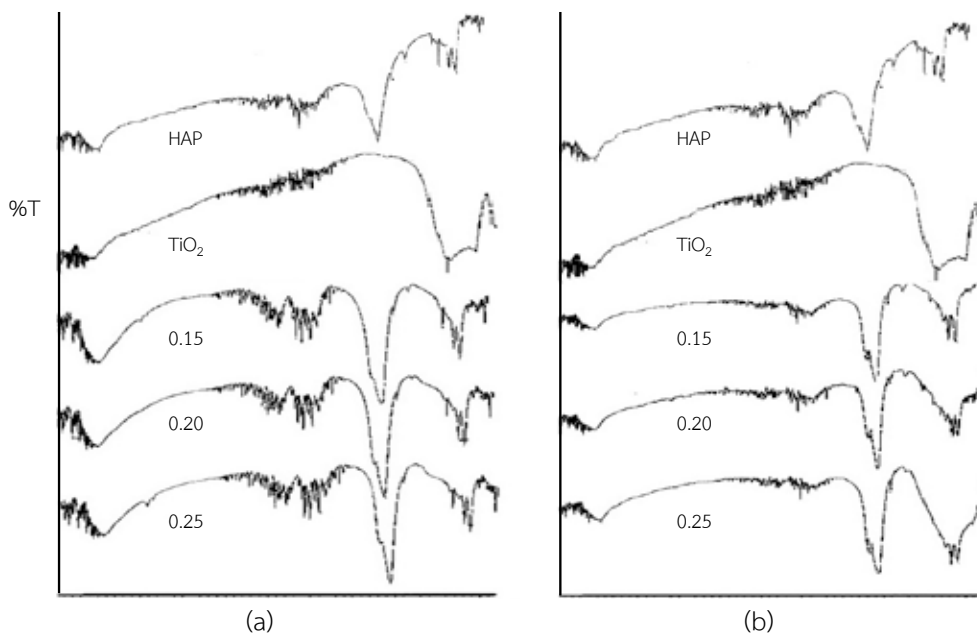
$$\text{ร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Killing percentage)} = \frac{(N_0 - N \times 100)}{N_0}$$

N_0 คือ จำนวนเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น

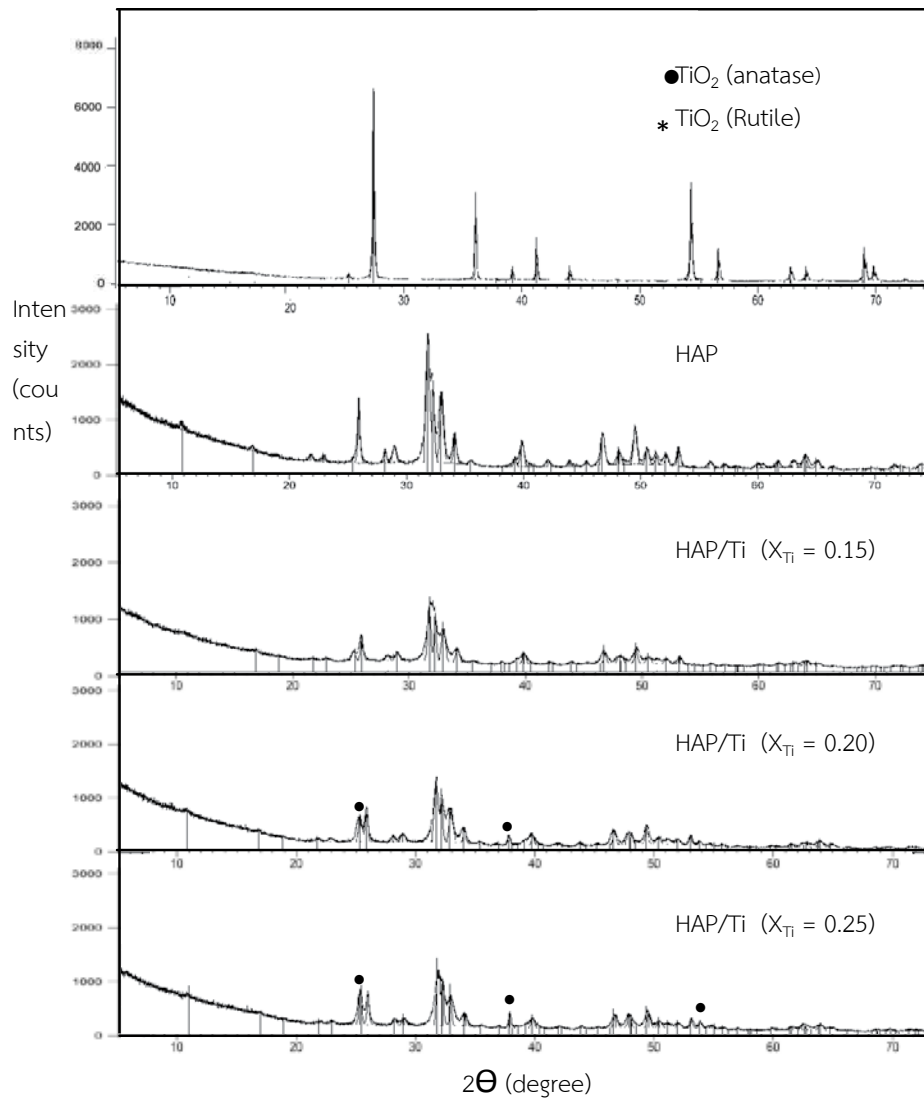
N คือ จำนวนเชื้อแบคทีเรียหลังการฉายแสง UV

ผลการวิจัย

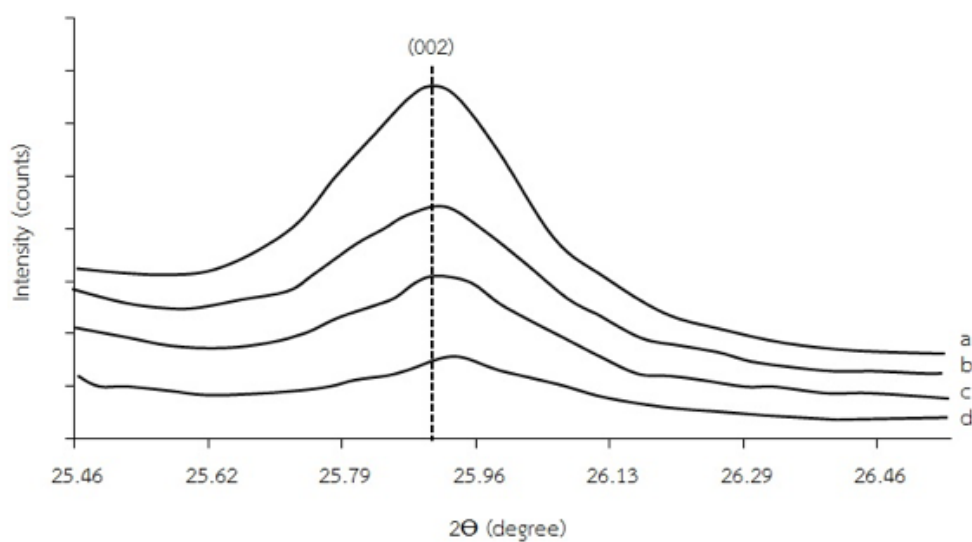
1. การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของสารประกอบ HAP/Ti จากผลการวิเคราะห์สารประกอบ HAP/Ti ด้วยเทคนิค FTIR พบพิกของหมู่ PO_4^{3-} ที่ประมาณ $565\text{--}567\text{ cm}^{-1}$, 962 cm^{-1} และ $1033\text{--}1037\text{ cm}^{-1}$ พิกของหมู่ OH^- ประมาณ 3400 cm^{-1} ซึ่งเป็นพิกหลักของ HAP และยังปรากฏพิกที่ $500\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งแสดงถึงการสั่นของ Ti-O (ภาพที่ 1(a)) ลักษณะของพิก Ti-O ของสารประกอบ HAP/Ti จะแคบกว่าเมื่อเทียบกับพิกของการผสม HAP กับ TiO_2 โดย TiO_2 เตรียมได้จากสารละลาย $\text{Ti}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_4$ (ภาพที่ 1 (b)) แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่สารประกอบ HAP/Ti จะมี Ti เข้าไปแทนที่ที่อยู่ในโครงสร้างของ HAP ด้วยและอาจมีส่วนเกิดเป็น TiO_2 ที่จะเป็นการผสมกันระหว่าง HAP กับ TiO_2 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่ออัตราส่วนของ X_{Ti} เพิ่มขึ้น พิกของ Ti-O จะกว้างขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามี TiO_2 เกิดขึ้นระหว่างการออโตเคลฟและอยู่ปนกับ HAP (Anmin et al., 2006; Berannek and Kisch, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับผลของ XRD และ SEM



ภาพที่ 1 สเปกตร้า FTIR (a) สารประกอบ HAP/Ti (b) สารผสม HAP กับ TiO_2 ที่ $X_{\text{Ti}} = 0.15, 0.20$ และ 0.25 เทียบกับ HAP และ TiO_2 ที่เตรียมได้จากสารละลาย $\text{Ti}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_4$



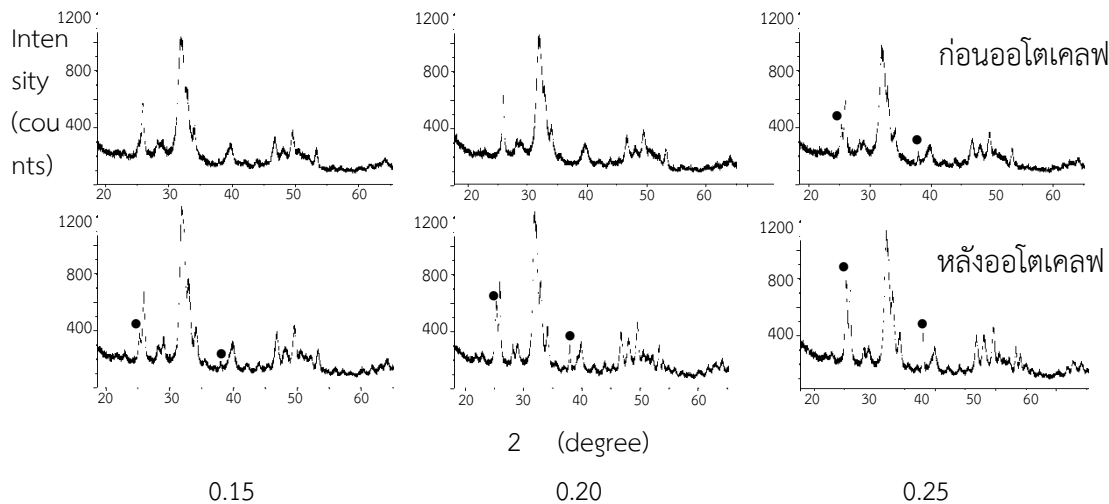
ภาพที่ 2 สเปกตร้าเอ็กซ์เรย์ดิฟเฟรคชันของสารประกอบ HAP/Ti ที่ $X_{Ti} = 0.15, 0.20$ และ 0.25 เทียบกับ HAP และ TiO_2



ภาพที่ 3 แสดงระนาบ (002) (peak reflections) ของสารประกอบ HAP/Ti ที่ (a) $X_{Ti} = 0$ (b) $X_{Ti} = 0.15$ (c) $X_{Ti} = 0.20$ และ (d) $X_{Ti} = 0.25$



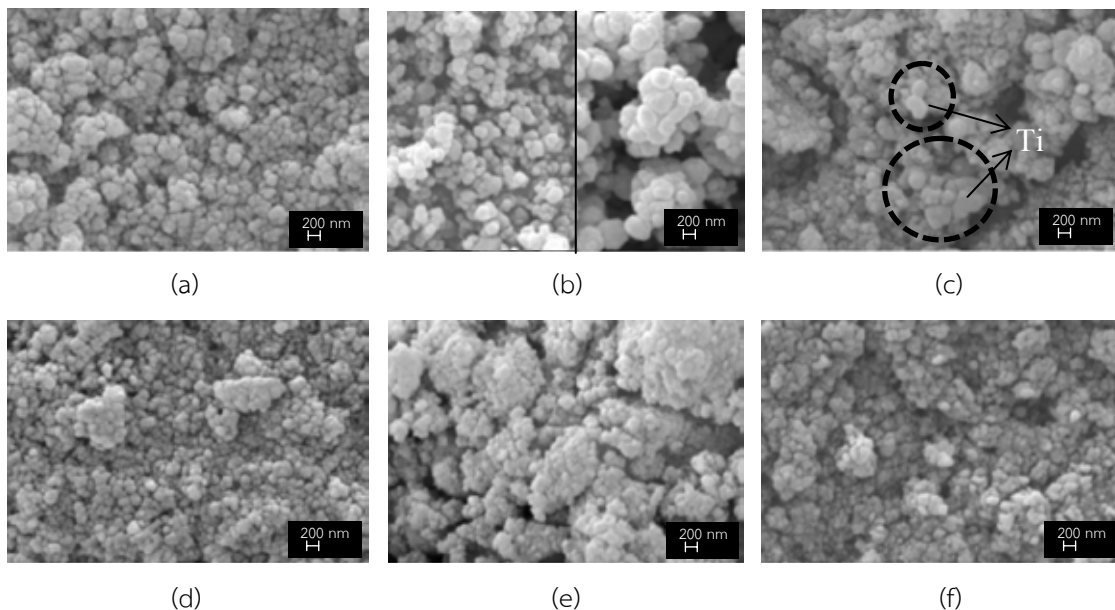
จากภาพที่ 3 แสดงให้เห็นถึงระนาบ (002) (peak reflections) ของสารประกอบ HAP/Ti ที่ $X_{Ti} = 0, 0.15, 0.20$ และ 0.25 ที่มีการเคลื่อนไปในตำแหน่ง 2 ที่มากขึ้นเมื่อ X_{Ti} มีค่ามากขึ้น



ภาพที่ 4 สเปกตรานี้กเรย์ดิฟเฟรคชันของสารประกอบ HAP/Ti โดย $X_{Ti} = 0.15, 0.20$ และ 0.25 ก่อนและหลังออโตเคลฟ (•บ่งบอกถึงตำแหน่งของ TiO_2 ที่มีโครงสร้างอะนาเทส)

จากภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าเมื่อ $X_{Ti} = 0.25$ จะเกิด TiO_2 ที่มีโครงสร้างอะนาเทสแยกส่วนออกมาตั้งแต่ในขั้นตอนที่ให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนนำมาออโตเคลฟ และเมื่อนำมาออโตเคลฟที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

12 ชั่วโมง พบว่า สารประกอบ HAP/Ti ใน X_{Ti} ทุกอัตราส่วน จะเกิด TiO_2 ที่มีโครงสร้างอะนาเทสมากขึ้น จึงเป็นการยืนยันว่ามีความเป็นไปได้ที่นอกจากจะเกิดการแทนที่ด้วย Ti^{4+} ในโครงสร้างของ HAP แล้ว ยังมี TiO_2 ที่มีโครงสร้างอะนาเทสเกิดปนกับ HAP ด้วย



ภาพที่ 5 แสดงภาพ SEM กำลังขยาย 20,000 เท่าของ (a) HAP (b) (ซ้าย) นาโน- TiO_2 (ขวา) TiO_2 ที่สังเคราะห์จาก $Ti[OCH(CH_3)_2]_4$ (c) การผสมกันของ HAP กับ TiO_2 (d) สารประกอบ HAP/ TiO_2 $X_{Ti} = 0.15$ (e) สารประกอบ HAP/ TiO_2 $X_{Ti} = 0.20$ (f) สารประกอบ HAP/ TiO_2 $X_{Ti} = 0.25$

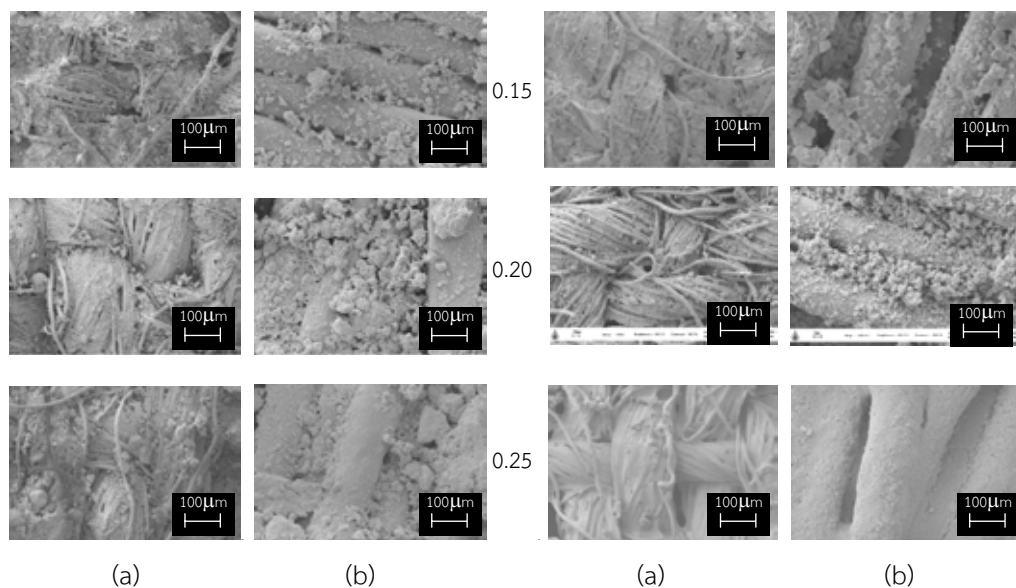


จากวิเคราะห์ด้วย SEM (ภาพที่ 5) พบว่า สารประกอบ HAP/Ti หลังจากเข้าเครื่องอโตเคลฟ มีลักษณะเป็นเม็ดกลมจับรวมกันเป็นกลุ่มก้อน โดยมีลักษณะและขนาดอนุภาคใกล้เคียงกับ HAP ที่ได้จากการสังเคราะห์ (รูปที่ 5(a) และนาโน-TiO₂ (รูปที่ 5(b) ซ้าย) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anmin และคณะ (2006) โดยพบว่าสารประกอบ HAP/Ti ก่อนอโตเคลฟมีลักษณะเป็นหลอด (rod like) และหลังจากอโตเคลฟลักษณะของอนุภาคจะเป็นเม็ดกลมมากขึ้น จากภาพที่ 5 พบว่า ขนาดอนุภาคของสารประกอบ HAP/TiO₂ อยู่ที่ประมาณ 50 – 100 นาโนเมตรซึ่งใกล้เคียงกับขนาดของ HAP แต่ขนาดอนุภาคของสารประกอบ HAP/TiO₂ จะเล็กกว่า TiO₂ ที่เตรียมได้จากสารละลายไทเทเนียมไอโซโพรพอกไซด์ (Ti[OCH(CH₃)₂]₄) (รูปที่ 5(b)) นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบ HAP/TiO₂ ในทุกอัตราส่วนของ X_{Ti} จะมีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกับ HAP จึงมีความเป็นไปได้ที่ Ti⁴⁺ บางส่วนจะเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของ HAP แล้ว ยังมี TiO₂ โครงสร้างอะนาเทสที่มีขนาดอนุภาคนาโนเกิดขึ้นปนอยู่กับสารประกอบ HAP/TiO₂ ทำให้เห็นความแตกต่างของสารประกอบ HAP/TiO₂ กับ TiO₂ โครงสร้างอะนาเทสที่เกิดขึ้นได้ยากกว่าเมื่อ

เทียบกับการผสมระหว่าง HAP กับ TiO₂ ที่เตรียมได้จากสารละลาย (Ti[OCH(CH₃)₂]₄) จะเห็นว่ามีอนุภาคของ TiO₂ ปะปนอยู่กับอนุภาคของ HAP ได้อย่างชัดเจนดังรูปที่ 5(c)

2. การทดสอบวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของวัสดุสำหรับทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากภาพ SEM (ภาพที่ 6) พบว่า ผ้าที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti จะมีการเกาะติดของสารประกอบ HAP/Ti บนเนื้อผ้าฝ้ายอย่างสม่ำเสมอและมีการเกาะติดในเนื้อผ้ามากขึ้นเมื่ออัตราส่วนของ X_{Ti} เพิ่มขึ้น มีการจับเป็นกลุ่มๆ ที่มีขนาดต่างกันกระจายกันไปทั้งผืนผ้า แต่ในกรณีของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยนาโน-TiO₂ จากบริษัท Aldrich จะมีลักษณะกระจายตัวของอนุภาค Ti อย่างสม่ำเสมอและเห็นได้ชัดเจนถึงความละเอียดของขนาดอนุภาคที่เล็กกว่ามากเมื่อเทียบกับผ้าที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti และยิ่งเกาะติดเนื้อผ้าได้ดีกว่าสารประกอบ HAP/Ti HAP และ TiO₂ เตรียมได้จากสารละลาย (Ti[OCH(CH₃)₂]₄) อาจเนื่องมาจาก HAP และ TiO₂ ที่เตรียมได้จากสารละลาย (Ti[OCH(CH₃)₂]₄) นั้นมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่กว่าและมีลักษณะที่จับตัวเป็นกลุ่มที่มีขนาดต่างๆ กันไป ทำให้การเกาะติดเนื้อผ้ามีความสม่ำเสมอน้อยกว่านาโน-TiO₂



ภาพที่ 6 แสดงภาพ SEM ของผ้าที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti ในอัตราส่วน X_{Ti} = 0.15, 0.20 และ 0.25, HAP, TiO₂ จากสารละลาย (Ti[OCH(CH₃)₂]₄) และนาโน-TiO₂ ที่กำลังขยาย (a) 150 เท่า และ (b) 2000 เท่า

3. การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบ HAP/Ti โดยใช้ผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารประกอบ HAP/Ti ในด้านแสดนดาร์ตเพลตแคนต์ จากผลการทดลองด้วยวิธีที่ 1 โดยการกรองสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียผ่านแผ่นผ้าฝ้าย จำนวน 1

และ 2 ชั้น ได้ผลดังตารางที่ 1 พบว่า สารประกอบ HAP/Ti ที่ X_{Ti} = 1.5 จะให้ประสิทธิภาพการกรองแบคทีเรียที่ทำให้การฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุดคือ ร้อยละ 97.85 ซึ่งมีค่าต่างเล็กน้อยจากอัตราส่วนของ X_{Ti} = 2 และ 2.5 และยังมีน้อยกว่านาโน-TiO₂ ไม่มากนัก



ตารางที่ 1 การทดสอบคุณลักษณะทางชีววิทยาของสารตัวอย่างที่ซบลงผ้าฝ้าย

สารตัวอย่าง	ร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย				
	การกรองสารละลายเชื้อผ่านผ้า		การแช่ผ้าในสารละลายเชื้อ		
	1 ชั้น	2 ชั้น	20 นาที	40 นาที	60 นาที
สารประกอบ HAP/Ti ($X_{Ti} = 1.5$)	86.54	97.85	76.17	79.88	82.82
สารประกอบ HAP/Ti ($X_{Ti} = 2.0$)	84.92	95.45	67.05	76.47	79.82
สารประกอบ HAP/Ti ($X_{Ti} = 2.5$)	85.75	96.72	65.88	76.05	78.23
นาโน-TiO ₂	96.87	98.28	94.11	95.58	96.17
TiO ₂ (Ti[OCH(CH ₃) ₂] ₄)	68.94	74.14	89.29	90.00	94.70
HAP	1.03	1.84	57.88	69.76	78.52
ผ้าฝ้ายที่ไม่ซบสารประกอบ	0.02	0.05	35.29	45.29	67.64

สรุปและอภิปรายผล

จากการวิเคราะห์ด้วย FTIR พบว่า สารประกอบ HAP/Ti โดย $X_{Ti} = 1.5$ 2.0 และ 2.5 จะปรากฏพิกของหมู่ PO_4^{3-} และ OH^- ซึ่งเป็นพิกหลักของ HAP และพิกที่แสดงถึงการสันของ Ti-O ซึ่งลักษณะของพิก Ti-O ของสารประกอบ HAP/Ti จะแคบกว่าเมื่อเทียบกับพิกของการผสม HAP กับ TiO₂ จึงมีความเป็นไปได้ที่สารประกอบ HAP/Ti จะมี Ti เข้าไปแทนที่ที่อยู่ในโครงสร้างของ HAP ด้วยและอาจมีบางส่วนที่เป็นการผสมกันระหว่าง HAP กับ TiO₂ ซึ่งสอดคล้องกับผลของ XRD และ SEM ซึ่งจากการวิเคราะห์ด้วย XRD ของสารประกอบ HAP/Ti โดย $X_{Ti} = 0.15$, 0.20 และ 0.25 เทียบกับ HAP และ TiO₂ ที่เตรียมได้จากสารละลาย Ti[OCH(CH₃)₂]₄ (ภาพที่ 2) แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของสารประกอบ HAP/Ti จะมี Ti^{4+} เข้าไปอยู่ในโครงสร้าง HAP มากขึ้นเมื่อ X_{Ti} มีค่ามากขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากความเข้มที่ลดลงและความกว้างของพิกที่กว้างขึ้นในตำแหน่ง 2 ของ HAP ที่ 26° 32°-34° 40° และ 50° ซึ่งเป็นตำแหน่งหลักของ HAP (Piantone et al., 2003) นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่า เมื่อค่า X_{Ti} เพิ่มขึ้นจะปรากฏพิกหลักของ TiO₂ (อะนาเทส, anatase) แต่ไม่ปรากฏพิกของ TiO₂ (รูไทล์, Rutile) นั้นแสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่นอกจากจะเกิดการแทนที่ด้วย Ti^{4+} ในโครงสร้างของ HAP แล้ว ยังมี TiO₂ ที่มีโครงสร้างอะนาเทสเกิดปนกับ HAP อีกด้วย จากการศึกษาคูของ Anmin และคณะ (Anmin et al., 2006) พบว่า Ca^{2+} ในโครงสร้างของ HAP เมื่อถูกแทนที่ด้วย Ti^{4+} จะทำให้ความเป็นระเบียบของผลึก HAP ลดลง และเมื่อ Ti^{4+} เข้าไปแทนที่มากขึ้นความเป็นระเบียบของผลึก HAP ยิ่งลดลง เนื่องจาก Ti^{4+} มีขนาดไอออน 0.075 นาโนเมตรซึ่งน้อยกว่า Ca^{2+} ซึ่งมีขนาดไอออนเท่ากับ 0.099 นาโนเมตร และยังมีค่าประจุที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเข้าไปแทนที่ของ Ti^{4+} ในโครงสร้างของ HAP จะทำให้ HAP ที่ได้มีความเป็นไปได้ยากที่จะมีโครงสร้างที่มีความเป็นผลึกสูง ซึ่งจะเห็นได้จากภาพที่ 3 ลักษณะพิกที่มีความกว้างมากขึ้นและความเข้มที่ลดลง และจากภาพที่ 3 แสดงให้เห็นถึงระนาบ (002)

(peak reflections) ของสารประกอบ HAP/Ti ที่ $X_{Ti} = 0$, 0.15, 0.20 และ 0.25 ที่มีการเคลื่อนไปในตำแหน่ง 2 ที่มากขึ้นเมื่อ X_{Ti} มีค่ามากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anmin และคณะ (Anmin et al., 2007) นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์ด้วย XRD (ภาพที่ 2) จะสังเกตได้ว่า เมื่อค่า X_{Ti} เพิ่มขึ้น จะปรากฏพิกหลักของ TiO₂ (อะนาเทส, anatase) ที่ตำแหน่ง 2 25.2° 38° และ 54° แต่ไม่ปรากฏพิกของ TiO₂ (รูไทล์, Rutile) ซึ่งมีพิกหลักอยู่ที่ 27° 36° และ 54.5° (Nathanael et al., 2010) แสดงว่าในการเตรียมสารประกอบ HAP/Ti เกิด TiO₂ ที่เป็นอะนาเทสปะปนอยู่กับ HAP ด้วย นั้นแสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่นอกจากจะเกิดการแทนที่ด้วย Ti^{4+} ในโครงสร้างของ HAP แล้ว ยังมี TiO₂ ที่มีโครงสร้างอะนาเทสเกิดปนกับ HAP อีกด้วยเมื่อ X_{Ti} มีค่าเพิ่มขึ้น การที่สารตัวอย่าง HAP/Ti มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอาจเนื่องมาจาก HAP ที่มีไทเทเนียมเข้าไปอยู่ในโครงสร้างจะปล่อย positive holes (h+) เช่นเดียวกับ TiO₂ โดย positive holes จะเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำที่ถูกดูดซับไว้ในโครงสร้างกลายเป็น hydroxyl radicals ($\bullet OH$) ซึ่งมีความสามารถในการเกิดออกซิเดชัน (oxidation ability) ที่สูงสามารถสลายสารอินทรีย์ได้หลายชนิด (Wakamura et al., 2003)

จากผลการวิเคราะห์ SEM พบว่า ขนาดอนุภาคของสารประกอบ HAP/TiO₂ อยู่ที่ประมาณ 50 - 100 นาโนเมตร สารประกอบ HAP/TiO₂ ในทุกอัตราส่วนของ X_{Ti} มีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกับ HAP จึงมีความเป็นไปได้ที่ Ti^{4+} บางส่วนจะเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของ HAP แล้ว ยังมี TiO₂ โครงสร้างอะนาเทสที่มีขนาดอนุภาคนาโนเมตรเกิดขึ้นปนอยู่กับสารประกอบ HAP/TiO₂ ทำให้มองไม่เห็นความแตกต่างของสารประกอบ HAP/TiO₂ กับ TiO₂ โครงสร้างอะนาเทสที่เกิดขึ้นในการทำปฏิกิริยา จากภาพ SEM พบว่า ผ้าที่ซบด้วยสารประกอบ HAP/Ti จะมีการเกาะติดของสารประกอบ HAP/Ti บนเนื้อผ้าฝ้ายอย่างสม่ำเสมอและจะมีการเกาะติดในเนื้อผ้ามากขึ้นเมื่ออัตราส่วนของ X_{Ti} เพิ่มขึ้น



ในการศึกษาเกี่ยวกับการนำเชื้อด้วยวิธีการการแช่ผ้าลงในสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียอยู่นั้น จากผลการทดลองพบว่า สารประกอบ HAP/Ti ที่ $X_{Ti} = 1.5$ มีร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าค่า X_{Ti} อื่นๆ แต่มีค่าแตกต่างกันไม่มากนักเช่นเดียวกับวิธีแรก และเมื่อเวลาในการฉายแสงเพิ่มขึ้นจะมีค่าร้อยละการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น แต่มีค่าร้อยละการฆ่าเชือน้อยกว่าวิธีการกรอง อาจเนื่องมาจากการกรองนั้นมีการกรองเชื้อจุลินทรีย์บางส่วนไว้บนผิวของสารประกอบ HAP/Ti รวมกับการฆ่าเชื้อที่เกิดจากกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง จึงทำให้มีร้อยละการฆ่าเชื้อที่มากกว่า แต่การใส่ผ้าที่ขุบสารประกอบ HAP/Ti ลงในสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียอยู่นั้น การฆ่าเชื้อเกิดจากกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงเพียงอย่างเดียว แต่มีข้อสังเกตคือ ในกรณีของ HAP จะพบว่า การใส่ผ้าที่ขุบ HAP ในสารละลายที่มีเชื้อแบคทีเรียจะมีร้อยละการฆ่าเชื้อที่มากกว่าวิธีการกรอง เนื่องจากเวลาที่ใช้สำหรับวิธีการกรองพร้อมกับการฉายแสง UV นั้นใช้เวลาเพียง 10 นาที ในขณะที่การใส่ผ้าที่ขุบ HAP ลงไปพร้อมกับการฉายแสงใช้เวลาถึง 60 นาที จึงทำให้ HAP เกิดการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงเพิ่มขึ้น ซึ่งจากรายงานของ Tsukada et al. (2011) พบว่า HAP มีสมบัติการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงที่แถบช่องว่างพลังงาน (band gap) มากกว่า 6 eV ในขณะที่ TiO_2 มีค่า แถบช่องว่างพลังงาน 3.27 eV และสารประกอบ HAP/Ti ที่มีการแทนที่ Ti (10 mol%) ในโครงสร้างของ HAP มีค่าแถบช่องว่างพลังงาน 3.65 eV นั่นคือ HAP จะเกิดการกระตุ้นการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงได้เมื่อมีค่าพลังงานมากกว่า 6 eV ดังนั้น เมื่อเวลาในการฉายแสง UV เพิ่มขึ้นจึงทำให้ HAP เกิดการกระตุ้นการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงเพิ่มขึ้นและ Nishikawa (2003) ได้เสนอว่าเมื่อเกิดปฏิกิริยาเร่งด้วยแสงของ HAP จะมีการเกิด $\bullet OH$ และ $O_2\bullet-$ ขึ้น ซึ่งสามารถออกซิไดส์สารอินทรีย์ที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวของ HAP

เมื่อนำไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย จากตารางที่ 1 พบว่าสารประกอบ HAP/Ti ที่ $X_{Ti} = 1.5$ จะให้ประสิทธิภาพการกรองแบคทีเรียที่ทำให้การฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุด แต่มีค่าไม่ต่างจากอัตราส่วนของ $X_{Ti} = 2$ และ 2.5 มากนัก อย่างไรก็ตามเนื่องจากค่า P-Value มีค่าเท่ากับ 0.78 ซึ่งมากกว่า 0.05 แสดงว่าสารประกอบ HAP/Ti ทั้ง 3 อัตราส่วน ($X_{Ti} = 1.5, 2$ และ 2.5) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นั้นแสดงว่า สารประกอบ HAP/Ti ทั้ง 3 อัตราส่วน มีร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต่างกัน ในขณะที่ HAP มีร้อยละการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่น้อยมาก จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าสารประกอบ HAP/Ti ที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี

ข้อเสนอแนะ

ศึกษาเพิ่มเติมทางด้านการต้านเชื้อแบคทีเรียในอากาศของสารประกอบ HAP/Ti

เอกสารอ้างอิง

- Anmin, H., Ming, L., Chengkang, C. and Dali, M. (2007). Preparation and Characterization of a Titanium-Substituted Hydroxyapatite Photocatalyst. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 267: 79–85.
- Anmin, H., Tong, L., Ming, L., Chengkang, C., Huiqin, L. and Dali, M. (2006). Preparation of nanocrystals hydroxyapatite/ TiO_2 compound by hydrothermal treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*. 63: 41–44.
- Beranek, R., & Kisch, H. (2008). Tuning the Optical and Photoelectrochemical Properties of Surface-Modified TiO_2 . *Photochemical & Photobiological Sciences*, 7(1), 40-48.
- Jokanovic, V., Izvonar, D., Dramicanin, M. D., Jokanovic, B., Zivojinovic, V., Markovic, D. and Dacic, B. (2006). Hydrothermal Synthesis and Nanostructure of Carbonated Calcium Hydroxyapatite, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 17: 539-546.
- Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D. and Alvarez, P. J. J. (2008). Antimicrobial Nanomaterials for Water Disinfection and Microbial Control: Potential Applications and Implications. *Water research*. 42: 4591-4602.
- Manivannan, A., Glaspell, G., and Dutta, P. (2008). Synthesis of Nanocrystalline TiO_2 Particles and Their Structural Characteristics. *Journal of Cluster Science*. 19, 391–399.
- Nathanael, A. J., Mangalaraj, D., Chen, P. C. and Ponpandian, N. (2010). Mechanical and Photocatalytic Properties of Hydroxyapatite/Titania Nanocomposites Prepared by Combined High Gravity and Hydrothermal Process. *Composites Science and Technology*. 70: 419–426.



- Neumann, M. and Epple M. (2006). Composites of Calcium Phosphate and Polymers as Bone Substitution Materials. **European Journal of Trauma**. 2: 125-131.
- Nishikawa, H. (2003). Surface Changes and Radical Formation on Hydroxyapatite by UV Irradiation for Inducing Photocatalytic Activation. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. 206: 331-338.
- Piantone, P., Bodéan, F., Derie, R., and Depelsenaire, G. (2003). Monitoring the Stabilization of Municipal Solid Waste Incineration Fly Ash by Phosphation: Mineralogical and Balance Approach. **Waste Management**. 23: 225-243.
- Tsukada, M., Wakamura, M., Yoshida, N. and Watanabe, T. (2011). Band Gap and Photocatalytic Properties of Ti-Substituted Hydroxyapatite: Comparison with Anatase-TiO₂. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. 338: 18-23.
- Wakamura, M., Hashimoto K. and Watanabe T. (2003). Photocatalysis by Calcium Hydroxyapatite Modified with Ti(IV): Albumin Decomposition and Bactericidal Effect. **Langmuir**. 19: 3428-3431.
- Yang, L., Ning, X. Chen, K. and Zhou, H. (2007). Preparation and Properties of Hydroxyapatite Filters for Microbial Filtration. **Ceramics International**. 33: 483 - 489.