

การปรับปรุงฉิวรัตน์โลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก  
โดยกระบวนการทางกล เพื่อประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม



นางสาวสุภารัตน์ อุดมเลิศปรีชา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ ภาควิชาวิศวกรรมโลหการ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

IMPROVEMENT OF TITANIUM – BASED BULK METALLIC GLASS SURFACE  
BY MECHANICAL PROCESS FOR DENTAL IMPLANT APPLICATIONS

Miss Suparat Udomlertpreecha



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering Program in Metallurgical Engineering

Department of Metallurgical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การปรับปรุงฉนวนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก โดยกระบวนการทางกล เพื่อประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม
โดย	นางสาวสุภารัตน์ อุดมเลิศปรีชา
สาขาวิชา	วิศวกรรมโลหการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.บุญรัตน์ โล่ห์วงศ์วัฒน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธำชย เหลืองวรานันท์)  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(อาจารย์ ดร.บุญรัตน์ โล่ห์วงศ์วัฒน)  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์)  
.....กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.มาวิน สุประดิษฐ์ ณ อยุธยา)  
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไสว ด่านชัยวิจิตร)

สุภารัตน์ อุดมเลิศปรีชา : การปรับปรุงผิวรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก โดยกระบวนการทางกล เพื่อประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม. (IMPROVEMENT OF TITANIUM – BASED BULK METALLIC GLASS SURFACE BY MECHANICAL PROCESS FOR DENTAL IMPLANT APPLICATIONS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร.บุญรัตน์ โล่ห์วงศ์วัฒน์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ. ทพ. ดร.ประสิทธิ์ ภาสันต์, , หน้า.

รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักคือโลหะผสมไทเทเนียมกลุ่มใหม่ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางการแพทย์ เช่น วัสดุตามกระดูก รากฟันเทียม เป็นต้น เนื่องจากรัตนโลหะมีความแข็งแรงสูง มีความยืดหยุ่นสูง มีความต้านทานการกัดกร่อนสูง รวมทั้งมีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย งานวิจัยนี้จึงได้สังเคราะห์  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  โดยใช้วิธีหลอมด้วยการอาร์คและหล่อลงบนแม่พิมพ์ทองแดง เพื่อนำไปเป็นขั้วแคโทดในการสร้างชั้นฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ ซึ่งใช้โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V เป็นชิ้นงานควบคุม รัตนโลหะส่วนผสมนี้แสดงความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายต่อเซลล์ MC3T3-E1 และเซลล์ SaOS-2 หลังจากนั้นได้สังเคราะห์ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ให้มีรูปร่างเป็นเหรียญ เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตรหนา 1 มิลลิเมตร โดยการหลอมด้วยการอาร์คและหล่อลงบนแม่พิมพ์ทองแดง แล้วนำชิ้นงานไปขัดด้วยกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร ชิ้นงานจะมีค่าความหยาบผิวเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้อะลูมินาขนาดใหญ่ขึ้น โดยชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  จะมีค่าความหยาบผิวต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V เมื่อใช้อะลูมินาขนาดเท่ากัน เนื่องจากชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีความแข็งแรงมากกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V นอกจากนี้ยังพบอะลูมินาฝังตัวอยู่บนชิ้นงานทั้งสองกลุ่ม ภาพรูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ทั้งบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V แสดงให้เห็นว่าเซลล์สามารถเติบโต สร้างแอกตินฟิลาเมนต์และยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงานทั้งหมด โดยชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ทำการพ่นขัดผิวสามารถสนับสนุนการยึดเกาะและการแผ่ของเซลล์ที่เร็วกว่าชิ้นงานที่ไม่ได้ทำการพ่นขัดผิว ส่วนชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ไม่ได้ผ่านการพ่นขัดผิว ไม่สามารถคงสถานะของความเป็นเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ โดยเซลล์มีลักษณะยึดและยาวออก ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) ซึ่งแตกต่างกับชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ผ่านการพ่นขัดผิวยังสามารถรักษารูปร่างของเซลล์ที่คล้ายเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้

ภาควิชา วิศวกรรมโลหการ

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมโลหการ

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....



# # 5370370321 : MAJOR METALLURGICAL ENGINEERING

KEYWORDS: TI-BASED METALLIC GLASS / BIOCOMPATIBILITY / SURFACE PROPERTIES /  
BLASTING

SUPARAT UDOMLERTPREECHA: IMPROVEMENT OF TITANIUM – BASED BULK METALLIC GLASS SURFACE BY MECHANICAL PROCESS FOR DENTAL IMPLANT APPLICATIONS. ADVISOR: BOONRAT LOHWONGWATANA, Ph.D., CO-ADVISOR: PROF. PRASIT PAVASANT, Ph.D., pp.

Ti-based bulk metallic glass (BMG) is a new class of titanium alloys that exhibits excellent properties for biomedical applications such as bone plates, and dental implants, etc. They have high strength, low elastic modulus, good corrosion resistance and satisfactory biocompatibility. Titanium alloy cylindrical rod with a nominal composition of the  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  were fabricated by arc-melting and casting into copper mold to be used plasma cathode in filtered cathodic vacuum arc (FCVA) deposition technique. The Ti-6Al-4V alloy was studied in parallel as a control material. This new Ti-based metallic glass (MG) composition has shown promising osteoblast-biocompatible characteristics, no cytotoxicity on MC3T3-E1 cells and SaOS-2 cells. Afterwards, coin-shape samples of the  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  with a diameter of 15 mm and thickness of 1 mm were prepared by arc-melting and casting into copper mold. The coin-shape samples were polished, and then followed by blasting with 50  $\mu m$  and 250  $\mu m$  average particle sizes of alumina. The larger size of alumina particle, the higher the  $R_a$ ,  $R_q$  and  $R_t$  with significant difference. When using the same size of alumina, the blasted  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  sample showed lower roughness values than those blasted Ti-6Al-4V samples. This may be because of the higher hardness values of  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  sample, when compared to the softer Ti-6Al-4V samples. Some abrasive alumina particles were found to be embedded onto the blasted surface. The actin cytoskeleton of MC3T3-E1 on  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  and Ti-6Al-4V samples using immunofluorescence micrographs indicated that cells could attach very well on all samples. Cell attached on blasted  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  samples faster than those untreated samples. The cytoskeleton of MC3T3-E1 on untreated Ti-6Al-4V samples changed to flat and elongated shape which was similar to fibroblast cell shape but blasted Ti-6Al-4V samples could maintain osteoblast-like cell shape.

Department:	Metallurgical Engineering	Student's Signature .....
Field of Study:	Metallurgical Engineering	Advisor's Signature .....
Academic Year:	2013	Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ สำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนทุนวิจัยจาก ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมทั้งจากทุนวิจัยมูลนิธิกระจกเงาซาฮี ขอขอบคุณในความกรุณาของ อ.ดร.บุญรัตน์ โล่ห์วงศ์วัฒน ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้เปิดทัศนยะและมอบความรู้ในเรื่องของรัตนโลหะและโลหะต่าง ๆ ให้แก่ข้าพเจ้า รวมทั้งขอขอบคุณ อาจารย์ทุก ๆ ท่านในภาควิชาวิศวกรรมโลหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ข้อชี้แนะและความช่วยเหลือในหลายสิ่งหลายอย่าง

ขอขอบคุณ อ.ดร.มิญช์ เมธีสุวกุล และนายชาญวิทย์ อร่ามวิทย์ ในความอนุเคราะห์และความช่วยเหลือในการทำการทดลองที่ภาควิชาฟิสิกส์และวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นอกจากนี้ ขอขอบคุณ ศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภาวสันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ คุณจิรนนท์ มโนกวินโชค รวมทั้งพี่ ๆ ทันตแพทย์และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ประจำที่หน่วยวิจัยเนื้อเยื่ออินทรีย์ ชั้น 7 ตึกพรีคลินิก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับชีววิทยาและการทดลองการเพาะเลี้ยงเซลล์ ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในทุกขั้นตอนของการทดลอง และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการทุกท่าน ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์และสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้าย ขอขอบพระคุณบิดา มารดา นายชัยวัฒน์ บุตรไชย รวมทั้งเพื่อน ๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดเวลาในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ .....	ฌ
สารบัญตาราง.....	ท
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1    ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2    วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3    ขอบเขตของการวิจัย .....	3
1.4    ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม.....	4
2.1    วัสดุชีวภาพ (Biomaterials).....	4
2.2    การพ่นขัดผิว (Particle Blasting).....	11
2.3    ความหยาบผิว (Surface roughness) .....	13
2.4    งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
บทที่ 3 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย.....	25
3.1    การเตรียมชิ้นงาน .....	26
3.2    วิธีการทดสอบทางโลหะวิทยา.....	31
3.3    วิธีการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย .....	32
3.4    ผลการทดสอบทางโลหะวิทยา.....	35
3.5    ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย.....	40
บทที่ 4 ผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์.....	45
4.1    การเตรียมชิ้นงาน .....	45
4.2    วิธีการทดสอบทางโลหะวิทยา.....	50
4.3    วิธีการทดสอบผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์ .....	52
4.4    ผลการทดสอบทางโลหะวิทยา.....	53

4.5	ผลการทดสอบผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์.....	60
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	65
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	65
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	66
	รายการอ้างอิง.....	67
	ภาคผนวก.....	72
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	82



## สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1	เปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างระหว่างโครงสร้างแบบผลึกและโครงสร้างอสัณฐาน [19]....	5
รูปที่ 2.2	การพัฒนาของรัตนโลหะเมื่อเปรียบเทียบกับความหนาของชั้นงานที่ขึ้นรูปได้ [20] .....	6
รูปที่ 2.3	ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังของรัตนโลหะ เปรียบเทียบกับโลหะที่มีโครงสร้างเป็นผลึก [4].....	7
รูปที่ 2.4	กราฟอะโนดิกโพลาไรเซชัน (Anodic Polarization) ของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักเปรียบเทียบกับไทเทเนียม โลหะผสมไทเทเนียมและเหล็กกล้าไร้สนิม ในสารละลาย HBSS ที่อุณหภูมิ 310K [21] .....	8
รูปที่ 2.5	แผนภาพอุณหภูมิ - เวลา - การเปลี่ยนเฟส (time-temperature-transformation diagram) (1) การหล่อโดยตรง (2) การขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติก [1] .....	11
รูปที่ 2.6	การหาค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average: $R_a$ ).....	14
รูปที่ 2.7	การหาค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม (Roughness total height : $R_t$ , $R_y$ ).....	15
รูปที่ 2.8	การหาค่าความหยาบผิวขนาดโดยเฉลี่ย 10 จุด (Roughness Ten-point mean : $R_z$ )... ..	15
รูปที่ 2.9	ไทเทเนียมออกไซด์ ( $TiO_2$ ) ขนาดต่าง ๆ (ซ้าย) และลักษณะผิวที่ได้หลังจากการพ่นขัดผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาดต่าง ๆ ที่ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า (ขวา) .....	17
รูปที่ 2.10	พื้นผิวของชิ้นงานที่พ่นขัดผิวด้วยอนุภาคอะลูมินา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM).....	18
รูปที่ 2.11	กราฟแสดงการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) ของชิ้นงานที่ไม่ได้ปรับปรุงผิวทางเคมี (Ti, Al, Si) (ซ้าย) และชิ้นงานที่ปรับปรุงผิวทางเคมี (Ti-2S, Al-2S, Si-2S) (ขวา)....	19
รูปที่ 2.12	กราฟแสดงค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสแอคทิวิตี (Alkaline phosphatase activity: ALP) ของชิ้นงานที่มีการใส่วิตามินดี (+D) และไม่ใส่วิตามินดี (-D).....	19
รูปที่ 2.13	ผิวของชิ้นงานที่ (a) ไม่ได้ปรับปรุงผิว, (b) กัดด้วยกรด, (c) พ่นขัดผิวด้วย $TiO_2$ และ (d) พ่นขัดผิวและกัดกรด ทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอรัซ (Atomic force microscope, AFM).....	20
รูปที่ 2.14	ผลการทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอรัซ (AFM) .....	21
รูปที่ 2.15	ผิวของชิ้นงานที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วยกำลังขยาย 2000 เท่า (a) pTi, (b) eTi, (c) bTi และ (d) beTi.....	22
รูปที่ 2.16	ผลการตรวจสอบโครงสร้างอสัณฐานด้วยเครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ของรัตนโลหะ $Zr_{58.3}Cu_{18.8}Al_{14.6}Ni_{8.3}$ .....	23

## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 2.17 (a) กราฟความเค้น – ความเครียดของรัตนโลหะที่พ่นชนิดผิวด้วยระยะเวลาต่าง ๆ และ (b) เปรียบเทียบค่าความแข็งแรง ณ จุดคราก (yield strength) ความแข็งแรงแตกหัก (fracture strength) ความเครียดพลาสติก (plastic strain) และค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ (Vicker hardness) ของรัตนโลหะที่พ่นชนิดผิวด้วยระยะเวลาต่าง ๆ .....	23
รูปที่ 3.1 ธาตุต่าง ๆ ก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นก้อน .....	26
รูปที่ 3.2 (ก) เตอาอาร์คสุญญากาศและ (ข) ชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ หลังจากการหลอมเป็นก้อนเดียวกัน โดยเตอาอาร์คสุญญากาศ .....	27
รูปที่ 3.3 ชิ้นงานรูปทรงกระบอก ที่จะนำไปเป็นขั้วแคโทดในขั้นตอนการสร้างฟิล์ม .....	27
รูปที่ 3.4 (ก) เป้ารับที่ยึดติดแผ่นอลูมิเนียมที่มีแผ่นกระจกปิดสไลด์ (ข) แทนกำเนิดพลาสมา .....	29
รูปที่ 3.5 ชิ้นงานและตัวจับยึดชิ้นงานที่ทำจากเซรามิก .....	29
รูปที่ 3.6 (ก) การติดตั้งเป้ารับ แทนกำเนิดพลาสมาและตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์ .....	30
รูปที่ 3.7 การต่อวงจรไฟฟ้าของสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ .....	30
รูปที่ 3.8 เป้ารับที่มีแผ่นกระจกปิดสไลด์รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ก่อนและหลังการสร้างชั้นฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ .....	30
รูปที่ 3.9 เครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (X-ray photoelectron spectrometer: XPS) .....	32
รูปที่ 3.10 เซลล์ SaOS-2 ที่ (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูง และเซลล์ MC3T3-E1 ที่ (ค) กำลังขยายต่ำ (ง) กำลังขยายสูง .....	33
รูปที่ 3.11 ภาพตัดขวางแสดงความหนาของชั้นฟิล์มของชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ และ Ti-6Al-4V35	
รูปที่ 3.12 ลักษณะพื้นผิวฟิล์มของชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ และ Ti-6Al-4V ที่วัดจากกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิคฟอรัซ .....	36
รูปที่ 3.13 สเปกตรัมจากเครื่อง XPS ประกอบด้วย (ก) สเปกตรัมแบบโดยรวมทั้งสองชิ้นงาน และ (ข – จ) สเปกตรัมแบบละเอียด Ti 2p, Co 2p, Zr 3d และ Pd 3d ตามลำดับ .....	38
รูปที่ 3.14 ผลการทดสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ของ (ก) เซลล์ SaOS-2 และ (ข) เซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ , Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม กราฟจะแสดงเป็นร้อยละของวันที่ 1 ของชิ้นงานควบคุม และแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่า $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติคือ $*p < 0.05$ .....	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 3.15 ผลการทดสอบการพัฒนาคือของเซลล์ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ของเซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ , Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม กราฟจะแสดงเป็นร้อยละของวันที่ 1 ของชิ้นงานควบคุม และแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่า  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติคือ  $*p < 0.05$  ..... 43

รูปที่ 3.16 ผลการทดสอบการสะสมแร่ธาตุ ที่ได้จากการย้อมด้วยสารอะลิซารินเรด (Alizarin red) เพื่อดูปริมาณแคลเซียมที่เกิดจากการพัฒนาคือของเซลล์ MC3E3-E1 ที่ทดสอบเป็นเวลา 15 วันบน (ก) ชิ้นงานควบคุม (ข) ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  (ค) ชิ้นงาน Ti-6Al-4V และทดสอบเป็นเวลา 21 วันบน (ง) ชิ้นงานควบคุม (จ) ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ (ฉ) ชิ้นงาน Ti-6Al-4V ..... 44

รูปที่ 4.1 (ก) ภายนอกและ (ข) ภายในเครื่องอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยง (Arc tilt melting furnace)..... 46

รูปที่ 4.2 ขั้นตอนการทำงานของเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยง [44] ..... 47

รูปที่ 4.3 (ก) แม่พิมพ์ทองแดงแบบแยกที่ใช้สร้างชิ้นงานทรงเหรียญด้วยเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยงและ (ข) การวางก้อนชิ้นงานและแม่พิมพ์ทองแดงแบบแยกภายในเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยง ..... 47

รูปที่ 4.4 ชิ้นงานก่อนและหลังการขึ้นรูปให้เป็นเหรียญ ..... 48

รูปที่ 4.5 ผงขัดอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 ไมโครเมตรที่ (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูงและผงขัดอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 250 ไมโครเมตรที่ (ค) กำลังขยายต่ำ (ง) กำลังขยายสูง..... 49

รูปที่ 4.6 (ก) เครื่องพ่นขัดผิวและ (ข) แบบจำลองการพ่นขัดผิวชิ้นงาน ..... 50

รูปที่ 4.7 ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร..... 50

รูปที่ 4.8 เครื่องวัดความหยาบผิว (surface profilometer) รุ่น Talyscan 150 ..... 51

รูปที่ 4.9 การวัดมุมสัมผัส..... 52

รูปที่ 4.10 กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (fluorescence microscope) รุ่น LSM 700 ของบริษัท ZEISS ..... 53

รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (SE) ที่กำลังขยายต่ำของ (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 และที่กำลังขยายสูงของ (ช) TiMG-untreated, (ซ) TiMG-50, (ฅ) TiMG-250, (ญ) Ti64-untreated, (ฎ) Ti64-50, (ฏ) Ti64-250 ..... 55

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) ที่กำลังขยายต่ำของชิ้นงาน (ก) TiMG-50, (ข) TiMG-250, (ค) Ti64-50, (ง) Ti64-250 และที่กำลังขยายสูงของชิ้นงาน (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250, (ช) Ti64-50, (ฌ) Ti64-250 ..... 56

รูปที่ 4.13 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิตของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร ..... 57

รูปที่ 4.14 ค่าความแข็งของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ..... 58

รูปที่ 4.15 ลักษณะพื้นผิวจากเครื่องวัดความหยาบพื้นผิว (Profilometer) ของชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50 และ (ฉ) Ti64-250 ..... 58

รูปที่ 4.16 ภาพการวัดมุมสัมผัสของชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50 และ (ฉ) Ti64-250 ..... 60

รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการเปียก (wettability) ซึ่งแสดงโดยมุมสัมผัสกับความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (average roughness) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ..... 60

รูปที่ 4.18 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) TiMG-untreated, (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงาน TiMG-50 และชิ้นงาน TiMG-250 มากกว่าชิ้นงาน TiMG-untreated ..... 62

รูปที่ 4.19 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) TiMG-untreated, (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะบนชิ้นงานทั้งสามกลุ่มได้ดีใกล้เคียงกัน ..... 62



## สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

- รูปที่ 4.20 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) Ti64-untreated, (ข) Ti64-50, (ค) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงาน Ti64-50 และชิ้นงาน Ti64-250 มากกว่าชิ้นงาน Ti64-untreated ..... 63
- รูปที่ 4.21 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) Ti64-untreated, (ข) Ti64-50, (ค) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์มีลักษณะยึดและยาวออกคล้ายเซลล์สร้างเส้นใยบนชิ้นงาน Ti64-untreated ..... 63

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ส่วนผสมของโลหะไททาเนียม Ti-6Al-4V (ร้อยละโดยน้ำหนัก) [18].....	5
ตารางที่ 2.2 การพัฒนาของรัตนโลหะ [4].....	6
ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างส่วนผสมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก .....	9
ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างส่วนผสมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก และไม่มีธาตุที่เป็นพิษ .....	10
ตารางที่ 2.5 ค่าความหยาบผิว .....	16
ตารางที่ 2.6 แสดงค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average: $R_a$ ) ของทุกชิ้นงาน.....	18
ตารางที่ 2.7 ค่าความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 4 กลุ่ม.....	20
ตารางที่ 2.8 ค่าความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 4 กลุ่ม ได้แก่ pTi, eTi, bTi และ beTi.....	21
ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมทางเคมีของชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ .....	26
ตารางที่ 3.2 ตัวแปรต่าง ๆ ในการสร้างชั้นฟิล์มวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ .....	29
ตารางที่ 3.3 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ) ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ของชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ และ Ti-6Al-4V.....	36
ตารางที่ 3.4 ค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐาน [35] .....	39
ตารางที่ 4.1 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ), ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน (EP%) และค่ามุมสัมผัสของชิ้นงาน $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร.....	57

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเลือกใช้วัสดุชีวภาพในงานศัลยกรรมและงานทางด้านทันตกรรมมีหลักการพิจารณาอยู่ 3 ข้อ ได้แก่ การพิจารณาสมบัติความแข็งแรงคงทนของวัสดุ การพิจารณาความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (biocompatibility) และการพิจารณาความสามารถในการขึ้นรูปให้ได้ตามรูปร่างที่ต้องการ [1] วัสดุชีวภาพแบ่งได้เป็น โลหะ เซรามิกส์และพลาสติก โดยวัสดุชีวภาพที่ทำจากโลหะเริ่มมีการนำมาใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 ซึ่งในปัจจุบันมีการนำโลหะและโลหะผสมหลากหลายชนิดมาใช้เป็นวัสดุชีวภาพในงานศัลยกรรมและงานทางด้านทันตกรรม เช่น เหล็กกล้าไร้สนิม โลหะผสมโคบอลต์ – โครเมียม ไทเทเนียมบริสุทธิ์ โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และโลหะมีค่าต่าง ๆ [2, 3]

ในช่วงสองทศวรรษที่ผ่านมา มีการศึกษาและพัฒนาวัสดุอย่างกว้างขวาง เนื่องจากวัสดุโลหะเป็นโลหะที่มีสมบัติที่ดียเยี่ยม คือ มีความแข็งแรงสูง มีความยืดหยุ่นสูง มีความต้านทานการกัดกร่อนสูง มีค่าความต้านทานการขัดสีสูง (Wear resistance) รวมทั้งมีความสามารถในการขึ้นรูปที่มีรูปแบบเฉพาะตัว [1, 4, 5] และเมื่อรวมกับสมบัติของความสามารถในการเข้ากันได้กับร่างกายของไทเทเนียม ทำให้วัสดุโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก มีความเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในงานศัลยกรรมและงานทันตกรรม โดยได้มีการพัฒนาวัสดุโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักออกมาหลายระบบ เช่น Ti-Cu-Ni, Ti-Zr-Cu-Ni, Ti-Zr-Cu-Ni-Be, Ti-Ni-Cu-Sn, Ti-Cu-Ni-Zr-Hf-Si, และ Ti-Ni-Cu-B-Si-Sn เป็นต้น [6] แต่วัสดุโลหะระบบเหล่านี้ยังคงมีธาตุที่มีพิษอยู่ เช่น นิกเกิล (Ni) และเบริลเลียม (Be) ซึ่งธาตุเหล่านี้ก่อให้เกิดอาการแพ้และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคได้ [3, 7, 8] ดังนั้นจึงทำให้มีการพัฒนาวัสดุโลหะระบบ Ti-Zr-Cu-Pd และ Ti-Zr-Cu-Pd-Sn ขึ้นมา [9, 10] แต่อย่างไรก็ตาม ได้มีการรายงานว่าพบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast cell line) ของวัสดุโลหะที่มีทองแดง (Cu) เป็นส่วนประกอบ [11, 12]

ในงานทางด้านทันตกรรม การปลูกถ่ายรากฟันเทียม (Dental implant) ได้รับความนิยมมากขึ้น เนื่องจากสามารถแก้ไขปัญหาให้แก่ผู้ป่วยที่สูญเสียฟันธรรมชาติไปโดยไม่สามารถทดแทนด้วยการใส่ฟันชนิดอื่น เช่น การทำครอบฟัน (Crown) หรือการทำสะพานฟัน (Bridge) รวมทั้ง การปลูกถ่ายรากฟันเทียมยังมีความแข็งแรง ทนทาน ตัวฟันปลอมที่ทำขึ้นมาใหม่จะมีความสวยงามใกล้เคียงฟันธรรมชาติ ซึ่งการปลูกถ่ายรากฟันเทียมเป็นการฝังเข้าไปในกระดูกขากรรไกร ทำให้น้ำหนักที่ใช้ในการบดเคี้ยวจะกดลงบนกระดูกขากรรไกรจริง ๆ เหมือนรากฟันธรรมชาติ ช่วยให้ผู้ป่วยมีความรู้สึกขณะ

ใช้งานใกล้เคียงกับฟันจริง แต่การปลูกถ่ายรากฟันเทียมพบปัญหาอยู่มาก เช่น การอักเสบของเนื้อเยื่อ บริเวณใกล้เคียง ซึ่งเป็นผลมาจากการยึดเกาะกันไม่ดีระหว่างรากฟันเทียมกับกระดูกขากรรไกร

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีการปรับปรุงและพัฒนาให้รากฟันเทียมยึดเกาะกับกระดูก (Osseointegration) ให้ดีขึ้น โดยงานวิจัยจำนวนมากได้เสนอว่าความหยาบของพื้นผิว (surface roughness) เป็นหนึ่งในสาเหตุหลักที่มีผลต่อการยึดเกาะกันระหว่างรากฟันเทียมกับกระดูก [13, 14] แต่ในปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยใดสรุปว่าความหยาบผิวแบบใดที่จะทำให้รากฟันเทียมยึดเกาะกับกระดูก ได้ดีที่สุด ทำให้มีการศึกษา ปรับปรุงและพัฒนาพื้นผิวของ รากฟันเทียมกันมาอย่างต่อเนื่อง

การปรับปรุงพื้นผิวรากฟันเทียมมีหลากหลายวิธี [13] ได้แก่ การปรับปรุงผิวทางเคมี (chemical treatment) เช่น การใช้กรดกัดผิว (acid etching) การทำอะโนไดซิง (anodizing) และการปรับปรุงพื้นผิวทางกายภาพ (physical treatment) เช่น การตัดและกลึงผิว (cutting and turning) การขัดผิวละเอียด (smoothing) และการพ่นขัดผิว (particle blasting) โดยการพ่นขัดผิว ได้รับความนิยมนสูง เนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อนและสามารถให้ลักษณะพื้นผิวหลายรูปแบบ อีกทั้งยังสามารถทำร่วมกับการปรับปรุงผิวทางเคมีได้อีกด้วย

จากที่กล่าวมา รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักมีสมบัติที่ดีเยี่ยม เหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้ในด้านทันตกรรมรากฟันเทียม ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษารัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักโดยไม่มีธาตุที่มีพิษเป็นส่วนผสม รวมทั้งศึกษาอิทธิพลของการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว (particle blasting) ต่อสมบัติทางพื้นผิว (Surface properties) ของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม โดยในการวิจัยนี้จะทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูก (Osteoblasts) ลงบนวัสดุที่ทำการพัฒนา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ยืนยันความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบส่วนผสมของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (Ti-Based Bulk metallic glass) ที่มีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (Biocompatibility)

2. เพื่อศึกษาอิทธิพลของการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว (particle blasting) ต่อสมบัติทางพื้นผิว (Surface properties) ของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก

### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. เตรียมชิ้นงานรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักจากการเปลี่ยนแปลงส่วนผสม ดังนี้ Ti, Zr, Co และ Pd
2. ตรวจสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (Biocompatibility) ด้วยการเลี้ยงเซลล์ลงบนรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก ที่เตรียมด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (Filtered cathodic vacuum arc: FCVA) ลงบนแผ่นกระจกปิดสไลด์
3. ศึกษาอิทธิพลของการใช้อนุภาคอะลูมินา ( $Al_2O_3$ ) ที่มีขนาดเฉลี่ย 50  $\mu m$  และ 250  $\mu m$  ในการพ่นขัดผิวชิ้นงาน
4. ศึกษาสมบัติทางพื้นผิวของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว โดยสมบัติทางพื้นผิวที่ทำการศึกษาได้แก่ ความหยาบผิว (surface roughness) ลักษณะของพื้นผิว (surface topography) และองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิว (surface composition)
5. ตรวจสอบสมบัติทางพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอร์ซ (Atomic Force Microscopy: AFM) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy: SEM) เครื่องวัดความหยาบผิว (surface profilometer) และเครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (X-ray photoelectron spectrometer: XPS)
6. ศึกษาอิทธิพลของสมบัติทางพื้นผิวของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักที่ผ่านการพ่นขัดผิวต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation) และการทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์ (Cell differentiation) รวมทั้งดูโครงสร้างของเซลล์

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ในปัจจุบันมีการพบปัญหาในการฝังรากฟันเทียมให้แก่ผู้ป่วยในงานด้านทันตกรรม เช่น การอักเสบในบริเวณใกล้เคียง ซึ่งเกิดมาจากการยึดเกาะกันไม่ดีระหว่างรากฟันเทียมและกระดูกขากรรไกร งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษา ปรับปรุงและพัฒนาหารัตนโลหะชนิดใหม่ ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย รวมทั้งหาลักษณะพื้นผิวที่เหมาะสมเพื่อให้เซลล์สร้างกระดูก (Osteoblasts) ยึดเกาะได้ดีที่สุด เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่นำไปสู่แนวทางในการปรับปรุงและพัฒนาพื้นผิวของรากฟันเทียม และนำไปประยุกต์ใช้งานจริง นอกจากนี้ยังสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อนำไปใช้ปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุที่ใช้ทดแทนกระดูกในส่วนอื่น ๆ ของร่างกายได้ อีกทั้งการศึกษาเกี่ยวกับการพ่นขัดผิวรัตนโลหะยังมีอยู่ไม่มาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการเพิ่มองค์ความรู้ให้กับการปรับปรุงพื้นผิวของรัตนโลหะ

## บทที่ 2

### ปรีทัศน์วรรณกรรม

#### 2.1 วัสดุชีวภาพ (Biomaterials)

วัสดุชีวภาพ (biomaterial) เป็นวัสดุที่ใช้เพื่อซ่อมแซมหรือทดแทนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย หรือใช้แทนส่วนใดส่วนหนึ่งของเนื้อเยื่อในอวัยวะในร่างกายมนุษย์ที่เสื่อมสภาพโดยไม่เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากร่างกายมนุษย์ [2, 15, 16] โดยในปัจจุบัน วัสดุชีวภาพแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม [17] ได้แก่ โลหะ พอลิเมอร์ เซรามิกส์ และวัสดุธรรมชาติ (natural materials) ซึ่งบางครั้งมีการผสมกันระหว่างวัสดุสองประเภทกลายเป็นวัสดุผสม (composite material) เช่น ยางซิลิโคนที่เสริมแรงด้วยซิลิกา (silica-reinforced silicone rubber) ที่นำไปใช้ในหัวใจเทียมและปอดเทียม เป็นต้น โดยอาจกล่าวได้ว่าวัสดุผสมนี้เป็นวัสดุชีวภาพกลุ่มที่ห้า

สำหรับงานทางด้านทันตกรรม วัสดุที่ใช้มีทั้งเซรามิกส์และโลหะ โดยเซรามิกส์ เช่น อะลูมินา ( $Al_2O_3$ ) แคลเซียมฟอสเฟส (calcium phosphates) จะนำไปทำเป็นฟันปลอมและสารอุดฟัน ส่วนโลหะที่นำมาใช้จะมีหลากหลายชนิด ได้แก่ เหล็กกล้าไร้สนิม โลหะผสมโคบอลต์ – โครเมียม ไทเทเนียมบริสุทธิ์ โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และโลหะมีค่าต่าง ๆ แต่ที่นิยมนำไปทำรากฟันเทียม ได้แก่ โลหะผสมไทเทเนียม [2, 3]

##### 2.1.1 โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V

โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ถูกพัฒนาขึ้นในประเทศสหรัฐอเมริกา ในช่วงปลายปี ค.ศ. 1940 มีโครงสร้างเป็นอัลฟา ( $\alpha$ ) – เบต้า ( $\beta$ ) เป็นเกรดที่มีการใช้งานมากที่สุดในบรรดาโลหะผสมไทเทเนียมทั้งหมด (คิดเป็นร้อยละ 50 ของโลหะผสมไทเทเนียมทั้งหมด) ประมาณร้อยละ 80 เป็นการใช้งานในอุตสาหกรรมการบินและอวกาศ ส่วนการใช้งานในด้านการแพทย์และทันตกรรมมีประมาณร้อยละ 3

สมบัติเด่นของโลหะผสมไทเทเนียมชนิดนี้ คือ มีความแข็งแรง ความแกร่ง และความต้านทานการกัดกร่อนที่ดีเยี่ยม นอกจากนี้ยังมีสมบัติที่สามารถเข้ากันได้กับร่างกายที่ดีอีกด้วย ด้วยสมบัติดังกล่าวจึงนิยมนำโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V มาทำเป็นสกรูยึดกระดูกและข้อสะโพก หัวเข้า ข้อศอก ขากรรไกร นิ้วมือ หัวไหล่เทียม รวมทั้งนำมาทำเป็นรากฟันเทียม

โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ประกอบด้วยอลูมิเนียมร้อยละ 5.5 - 6.5 เป็นธาตุที่ช่วยเพิ่มความเสถียรของโครงสร้างอัลฟา ( $\alpha$ -Stabilizer) ทำให้อุณหภูมิของการเปลี่ยนเฟสจาก

เฟสอัลฟาไปเป็นเบต้าสูงขึ้น และมีวานาเดียมร้อยละ 3.5 – 4.5 เป็นธาตุที่ช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับโครงสร้างเบต้า ( $\beta$ -Stabilizer) โดยการลดอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสจากเฟสอัลฟาไปเป็นเบต้า [18] โดยส่วนผสมของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ตามมาตรฐานการค้าที่กำหนดไว้ แสดงดังตารางที่ 2.1

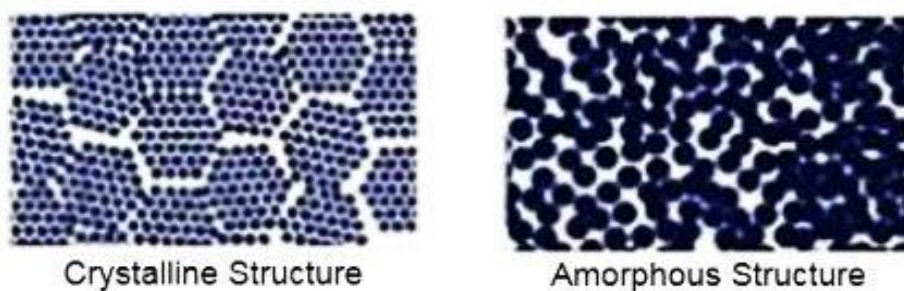
ตารางที่ 2.1 ส่วนผสมของโลหะไททาเนียม Ti-6Al-4V (ร้อยละโดยน้ำหนัก) [18]

Al	V	Fe	O	C	N	H	Ti
5.5 – 6.5	3.5 – 4.5	0.25	0.13	0.08	0.05	0.0125	Balance

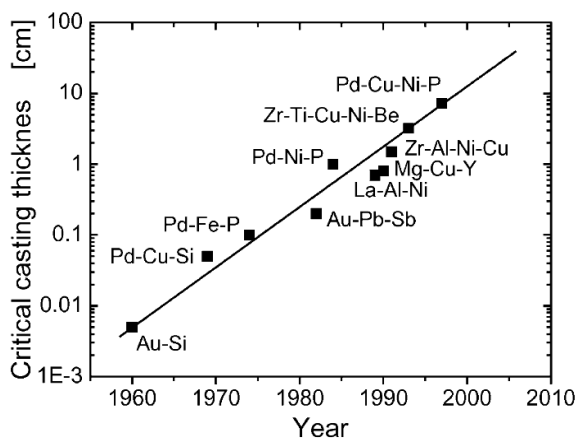
นอกจากโลหะผสมไทเทเนียมที่ได้รับความนิยมนำไปใช้ในงานทางทันตกรรมแล้ว รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักก็สามารถนำไปใช้ในส่วนต่าง ๆ ภายในร่างกายได้อีกด้วย

### 2.1.2 รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (Ti-based bulk metallic glass)

รัตนโลหะ (Metallic glass) มีลักษณะเหมือนโลหะ เพราะประกอบด้วยพันธะโลหะ แต่อะตอมเหล่านั้นเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบเหมือนแก้ว จึงเรียกว่ามีโครงสร้างอสัณฐาน (amorphous) (รูปที่ 2.1) ซึ่งเกิดจากการทำให้โลหะหลอมเหลว เย็นตัวลงด้วยอัตราการเย็นตัวสูง ( $\approx 10^7$  K/s) จนทำให้อะตอมไม่มีเวลาหรือพลังงานเพียงพอที่จะจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบจนเกิดเป็นผลึกขึ้นได้ [1, 3, 5] ในปี ค.ศ.1959 ได้มีการค้นพบรัตนโลหะครั้งแรกโดยนาย Duwez และคณะ [5] ในขณะศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการเย็นตัวอย่างรวดเร็ว (rapid solidification) ของโลหะผสม Au – Si หลังจากนั้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงและเพิ่มธาตุผสมอื่น ๆ ดังตารางที่ 2.2 เพื่อพัฒนาให้สามารถผลิตรัตนโลหะให้มีความหนาเพิ่มมากขึ้น โดยรูปที่ 2.2 แสดงการพัฒนาของรัตนโลหะเมื่อเปรียบเทียบกับความหนาของชิ้นงานที่ขึ้นรูปได้



รูปที่ 2.1 เปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างระหว่างโครงสร้างแบบผลึกและโครงสร้างอสัณฐาน [19]



รูปที่ 2.2 การพัฒนาของรัตนโลหะเมื่อเปรียบเทียบกับความหนาของชิ้นงานที่ขึ้นรูปได้ [20]

ตารางที่ 2.2 การพัฒนาของรัตนโลหะ [4]

Nonferrous alloy system		Ferrous alloy system	
Pd-Cu-Si	1974	Fe-(Al,Ga)-(P,C,B,Si,Ge)	1995
Pt-Ni-P	1975	Fe-(Nb,Mo)-(Al,Ga)-(P,B,Si)	1995
Au-Si-Ge	1975	Co-(Al,Ga)-(P,B,Si)	1996
Pd-Ni-P	1982	Fe-(Zr,Hf,Nb)-B	1996
Ln-Al-TM(TM=Fe,Co,Ni,Cu)	1989	Co-(Zr,Hf,Nb)-B	1996
Zr-Al-TM	1990	Ni-(Zr,Hf,Nb)-B	1996
Zr-Ln-Al-TM	1992	Fe-Co-Ln-B	1998
Ti-Zr-TM	1993	Fe-Ga-(Cr,Mo)-(P,C,B)	1999
Zr-Ti-TM-Be	1993	Fe-(Nb,Cr,Mo)-(C,B)	1999
Zr-(Ti,Nb,Pd)-Al-TM	1995	Ni-(Nb,Cr,Mo)-(P,B)	1999
Pd-Cu-Ni-P	1996	Co-Ta-B	1999
Ti-Ni-Cu-Sn	1998	Fe-Ga-(P,B)	2000
Ca-Cu-Ag-Mg	2000	Ni-Zr-Ti-Sn-Si	2001
Cu-(Zr,Hf)-Ti-(Y,Be)	2001	Ni-(Nb,Ta)-Zr-Ti	2002
Cu-(Zr,Hf)-Ti-(Fe,Co,Ni)	2002	Fe-Si-B-Nb	2002
Cu-(Zr,Hf)-Al	2003	Co-Fe-Si-B-Nb	2002
Cu-(Zr,Hf)-Al-(Ag,Pd)	2004	Ni-Nb-Sn	2003
Ti-Cu-(Zr,Hf)-(Co,Ni)	2004	Co-Fe-Ta-B-Si	2003
Au-Ag-Pd-Cu-Si	2005	Ni-Pd-P	2004
Ce-Cu-Al-Si-Fe	2005	Fe-(Cr,Mo)-(C,B)-Ln (Ln=Y,Er,Tm)	2004
Cu-(Zr,Hf)-Ag	2006	Co-(Cr,Mo)-(C,B)-Ln (Ln=Y,Er,Tm)	2006



### 2.1.2.1 สมบัติของรัตนโลหะ

ในช่วงสามทศวรรษที่ผ่านมา มีการศึกษาและพัฒนารัตนโลหะกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากโครงสร้างของรัตนโลหะเป็นโครงสร้างอสัณฐาน คือ ไม่มีขอบเกรน (grain boundary) ไม่มีดิสโลเคชัน (dislocation) รวมทั้งไม่มีระนาบการเลื่อน (slip plane) ทำให้รัตนโลหะเป็นโลหะที่มีสมบัติที่พิเศษ คือ

1) มีความแข็งแรงสูง รัตนโลหะจะมีค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) สูงกว่าโลหะที่มีโครงสร้างเป็นผลึกถึง 3 เท่า (เมื่อเทียบกับโลหะที่มีค่ามอดูลัสของยังเท่ากัน) [4] ดังรูปที่ 2.3

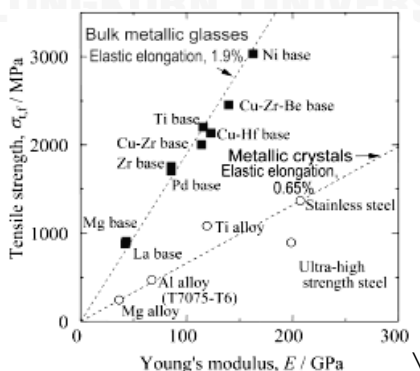
2) มีความยืดหยุ่นสูง รัตนโลหะมีค่ามอดูลัสของยังสูงกว่าโลหะที่มีโครงสร้างเป็นผลึก 1/3 เท่า (เมื่อเทียบกับโลหะที่มีค่าความต้านทานแรงดึงเท่ากัน) [4] ดังรูปที่ 2.3

3) มีความสัมพันธ์ระหว่างค่าความต้านทานแรงดึงและความมอดูลัสของยังเป็นเส้นตรงตามกฎของฮุก (Hook's law) โดยค่าความชันแสดงถึงค่าขีดจำกัดความยืดหยุ่น (elastic elongation limit) จากรูปที่ 2.3 แสดงให้เห็นว่ารัตนโลหะมีค่าขีดจำกัดความยืดหยุ่น ประมาณร้อยละ 2 ซึ่งมีค่าเป็น 3 เท่าของของโลหะที่มีโครงสร้างเป็นผลึก (ประมาณร้อยละ 0.65) [4]

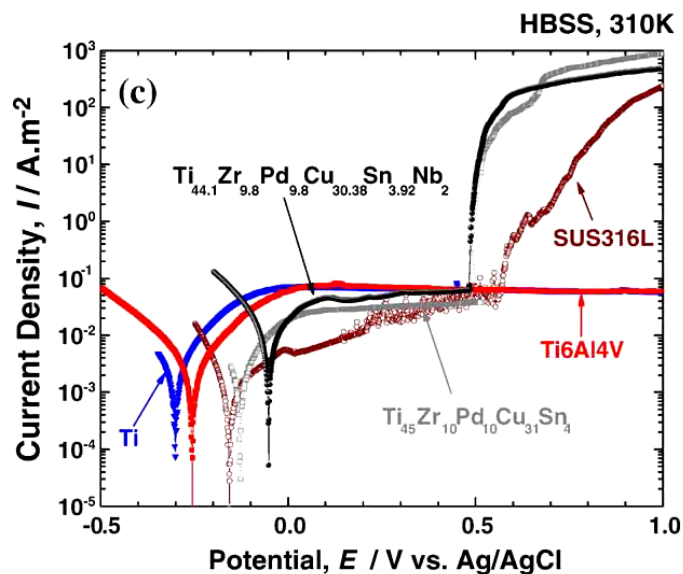
4) มีความต้านทานการกัดกร่อนที่สูง สำหรับรัตนโลหะที่มีธาตุ Nb, Ta, Cr หรือธาตุ Mo เป็นส่วนประกอบ จะมีการสร้างฟิล์มที่มีความเสถียรและมีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) สูง เคลือบผิวหน้าชิ้นงาน ทำให้สามารถต้านทานการกัดกร่อนในสารละลายต่าง ๆ ได้มากกว่าเหล็กกล้าไร้สนิม SUS316L ถึง 100 – 10000 เท่า (รูปที่ 2.4) [3, 4]

5) มีค่าความต้านทานการขัดสีสูง (Wear resistance) [4]

6) มีความสามารถในการขึ้นรูปที่มีรูปแบบเฉพาะตัว เนื่องจากรัตนโลหะมีความคล้ายคลึงกับพลาสติกและแก้วมาก จึงสามารถใช้กระบวนการขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติก ที่โลหะทั่วไปไม่สามารถขึ้นรูปได้ นอกจากนี้ยังสามารถขึ้นรูปให้มีขนาดเล็กได้ตั้งแต่ 10 นาโนเมตร ถึงหลายมิลลิเมตร [1, 5]



รูปที่ 2.3 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังของรัตนโลหะเปรียบเทียบกับโลหะที่มีโครงสร้างเป็นผลึก [4]



รูปที่ 2.4 กราฟอะโนดิกโพลาไรเซชัน (Anodic Polarization) ของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักเปรียบเทียบกับไทเทเนียม โลหะผสมไทเทเนียมและเหล็กกล้าไร้สนิม ในสารละลาย HBSS ที่อุณหภูมิ 310K [21]

ด้วยสมบัติที่ดีของรัตนโลหะจึงทำให้สามารถนำรัตนโลหะไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย อาทิ นำไปทำอุปกรณ์ที่ต้องรับแรงสูง เช่น ชิ้นส่วนเครื่องบิน ชิ้นส่วนรถยนต์ นำไปทำเครื่องประดับ นำไปทำเซนเซอร์ที่มีขนาดเล็กแต่มีความไวสูง รวมทั้งนำไปทำชิ้นส่วนที่ใช้ในร่างกายได้

#### 2.1.2.2 รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (Ti-based bulk metallic glass)

รัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายว่าสามารถนำไปใช้ในร่างกายได้ดี เนื่องจากมีความแข็งแรงสูง มีค่ามอดูลัสของยังต่ำ มีความต้านทานการกัดกร่อนสูง รวมทั้งมีค่าความมีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity) ที่สูงจากธาตุไทเทเนียม ทำให้ปัจจุบันมีการคิดค้นส่วนผสมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักหลากหลายส่วนผสม เช่น Ti-Cu-Ni, Ti-Cu-Ni-Co, Ti-Cu-Ni-Zr, Ti-Cu-Ni-Zr-Sn, Ti-Cu-Ni-Sn-B-Si, Ti-Cu-Ni-Sn-Be, Ti-Cu-Ni-Zr-Be, Ti-Cu-Ni-Zr-Hf-Si และ Ti-Cu-Ni-Zr-Nb (Ta) ดังตารางที่ 2.3 แต่ส่วนผสมดังกล่าวนี้ มีธาตุ Ni และ/หรือ Be ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย จึงไม่เหมาะแก่การนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนในร่างกาย ปัจจุบัน มีการคิดค้นส่วนผสมใหม่ที่ไม่ใช่ธาตุ Ni และ/หรือ Be โดยที่ยังให้ค่าความสามารถในการกลายเป็นแก้ว (glass-forming ability, GFA) ได้ดีเหมือนเดิม ได้แก่ Ti-Zr-Cu-Pd-Sn และ Ti-Zr-Cu-Pd [3] ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างส่วนผสมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก

Alloy composition (at.%)	$T_g$ (K)	$T_x$ (K)	$T_l$ (K)	$T_{rg}$	$\Delta T_x$ (K)	$D_{max}$ (mm)	Ref.
Ti <sub>50</sub> Cu <sub>42.5</sub> Ni <sub>7.5</sub>	670	708	1226	0.546	38	0.2	[6]
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>25</sub> Ni <sub>8</sub> Cu <sub>9</sub> Be <sub>18</sub>	621	668	1009	0.615	47	8	
Ti <sub>50</sub> Zr <sub>15</sub> Ni <sub>8</sub> Cu <sub>9</sub> Be <sub>18</sub>	622	662	1009	0.6165	40	6	
Ti <sub>55</sub> Zr <sub>10</sub> Ni <sub>8</sub> Cu <sub>9</sub> Be <sub>18</sub>	629	667	1013	0.6209	38	6	
Ti <sub>47.5</sub> Zr <sub>2.5</sub> Cu <sub>42.5</sub> Ni <sub>7.5</sub>	673	720	1225	0.5494	47	1.5	
Ti <sub>42.5</sub> Zr <sub>2.5</sub> Hf <sub>5</sub> Cu <sub>42.5</sub> Ni <sub>7.5</sub>	677	726	1203	0.5628	49	2.5	
Ti <sub>41.5</sub> Zr <sub>2.5</sub> Hf <sub>5</sub> Cu <sub>42.5</sub> Ni <sub>7.5</sub> Si <sub>1</sub>	680	730	1199	0.5671	50	5	
Ti <sub>34</sub> Zr <sub>11</sub> Cu <sub>47</sub> Ni <sub>8</sub>	698.4	727.2	1169	0.5974	28.8	4.5	[22]
Ti <sub>53</sub> Cu <sub>15</sub> Ni <sub>18.5</sub> Al <sub>7</sub> Si <sub>3</sub> Sc <sub>3</sub> B <sub>0.5</sub>	709	767	1240	0.572	58	2	
Ti <sub>53</sub> Cu <sub>15</sub> Ni <sub>18.5</sub> Al <sub>7</sub> Si <sub>3</sub> Hf <sub>3</sub> B <sub>0.5</sub>	695	749	1230	0.565	54	2	
Ti <sub>53</sub> Cu <sub>15</sub> Ni <sub>18.5</sub> Al <sub>7</sub> Si <sub>3</sub> Ta <sub>3</sub> B <sub>0.5</sub>	675	760	1254	0.606	85	<1.5	
Ti <sub>53</sub> Cu <sub>15</sub> Ni <sub>18.5</sub> Al <sub>7</sub> Si <sub>3</sub> Nb <sub>3</sub> B <sub>0.5</sub>	669	747	1252	0.597	75	<1.5	[23]
Ti <sub>41.5</sub> Zr <sub>2.5</sub> Hf <sub>5</sub> Cu <sub>42.5</sub> Ni <sub>7.5</sub> Si <sub>1</sub>	684.6	719.9	1206	0.568	35.3	2	
Ti <sub>41.5</sub> Zr <sub>2.5</sub> Hf <sub>5</sub> Cu <sub>37.5</sub> Ni <sub>7.5</sub> Si <sub>1</sub> Sn <sub>5</sub>	693.3	757.5	1176	0.59	64.2	6	

### 2.1.2.3 กระบวนการผลิตรัตนโลหะ

การสังเคราะห์รัตนโลหะ มีหลักเกณฑ์ในการพิจารณา [4, 9] ดังนี้

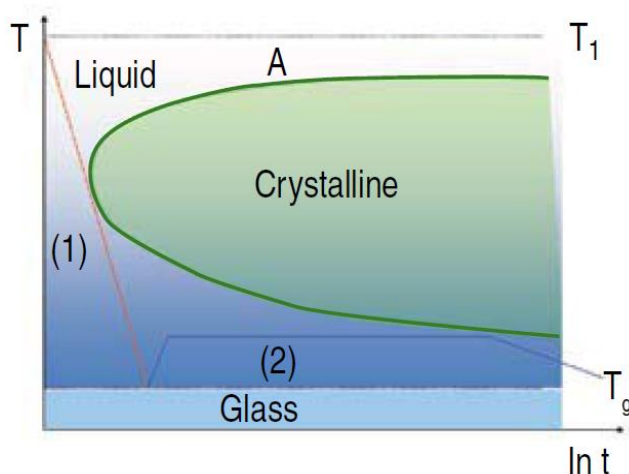
- ธาตุที่นำมาผสม ต้องมีตั้งแต่สามธาตุขึ้นไป
- ธาตุหลักที่นำมาผสมต้องมีขนาดของอะตอมแตกต่างกันมากกว่าร้อยละ 12
- ธาตุหลักที่ทำมาผสม ต้องมีค่าความร้อนที่เกิดจากการผสม (heat of mixing) น้อยกว่าศูนย์

นอกจากนี้ธาตุหลักที่นำมาผสม จะใช้ส่วนผสมที่ใกล้เคียงกับส่วนผสมยูเทคติก เพื่อที่จะทำให้เกิดของเหลวที่เสถียร ที่อุณหภูมิต่ำ

ในปัจจุบันการผลิตรัตนโลหะแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การหล่อโดยตรงและการขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติก ดังรูปที่ 2.5 เส้นทางที่ 1 เป็นวิธีการขึ้นรูปขึ้นงานโดยวิธีการหล่อโดยตรง ซึ่งอัตราการเย็นตัวต้องสูงพอที่จะไม่ให้เกิดผลึก ส่วนเส้นทางที่ 2 เป็นกระบวนการขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติกได้ ที่ไม่ต้องอาศัยการเย็นตัวอย่างรวดเร็ว แต่มีสิ่งที่จะต้องระวังคือเวลาในการขึ้นรูป ต้องไม่มากเกินไปจนทำให้เกิดผลึก

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างส่วนผสมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก และไม่มีธาตุที่เป็นพิษ

Alloy composition (at.%)	T <sub>g</sub> (K)	T <sub>x</sub> (K)	T <sub>m</sub> (K)	T <sub>l</sub> (K)	T <sub>rg</sub>	ΔT <sub>x</sub> (K)	D <sub>max</sub> (mm)	Ref.
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>40</sub> Pd <sub>10</sub>	660	709	1114	1184	0.5574	49	4	[9]
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>38</sub> Pd <sub>12</sub>	666	715	1119	1189	0.56	49	6	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>36</sub> Pd <sub>14</sub>	669	718	1114	1191	0.562	49	6	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>34</sub> Pd <sub>16</sub>	672	723	1125	1231	0.5459	51	4	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>32</sub> Pd <sub>18</sub>	683	740	1143	1272	0.537	57	3	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>30</sub> Pd <sub>20</sub>	687	747	1145	1279	0.5371	60	3	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>34</sub> Pd <sub>14</sub> Sn <sub>2</sub>	689	739	1187	1126	0.58	50	10	[10]
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>32</sub> Pd <sub>14</sub> Sn <sub>4</sub>	697	752	1204	1112	0.579	55	10	
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Cu <sub>30</sub> Pd <sub>14</sub> Sn <sub>6</sub>	702	758	1215	1148	0.578	56	<10	
Ti <sub>44.55</sub> Zr <sub>9.9</sub> Pd <sub>9.9</sub> Cu <sub>30.69</sub> Sn <sub>3.96</sub> Ta <sub>1</sub>	669	733	1121	-	0.6	64	4	[21]
Ti <sub>44.1</sub> Zr <sub>9.8</sub> Pd <sub>9.8</sub> Cu <sub>30.38</sub> Sn <sub>3.92</sub> Ta <sub>2</sub>	677	744	1119	-	0.61	67	4	
Ti <sub>43.65</sub> Zr <sub>9.7</sub> Pd <sub>9.7</sub> Cu <sub>30.07</sub> Sn <sub>3.88</sub> Ta <sub>3</sub>	689	756	1127	-	0.61	67	4	
Ti <sub>43.2</sub> Zr <sub>9.6</sub> Pd <sub>9.6</sub> Cu <sub>29.76</sub> Sn <sub>3.84</sub> Ta <sub>4</sub>	687	753	1122	-	0.61	66	3.5	
Ti <sub>42.75</sub> Zr <sub>9.5</sub> Pd <sub>9.5</sub> Cu <sub>29.45</sub> Sn <sub>3.8</sub> Ta <sub>5</sub>	684	741	1125	-	0.61	57	3.5	
Ti <sub>44.55</sub> Zr <sub>9.9</sub> Pd <sub>9.9</sub> Cu <sub>30.69</sub> Sn <sub>3.96</sub> Nb <sub>1</sub>	683	750	1138	-	0.6	67	4	
Ti <sub>44.1</sub> Zr <sub>9.8</sub> Pd <sub>9.8</sub> Cu <sub>30.38</sub> Sn <sub>3.92</sub> Nb <sub>2</sub>	688	750	1124	-	0.61	62	5	
Ti <sub>43.65</sub> Zr <sub>9.7</sub> Pd <sub>9.7</sub> Cu <sub>30.07</sub> Sn <sub>3.88</sub> Nb <sub>3</sub>	680	744	1125	-	0.6	64	4	
Ti <sub>43.2</sub> Zr <sub>9.6</sub> Pd <sub>9.6</sub> Cu <sub>29.76</sub> Sn <sub>3.84</sub> Nb <sub>4</sub>	686	739	1124	-	0.61	53	3.5	
Ti <sub>42.75</sub> Zr <sub>9.5</sub> Pd <sub>9.5</sub> Cu <sub>29.45</sub> Sn <sub>3.8</sub> Nb <sub>5</sub>	700	757	1122	-	0.62	57	3	



รูปที่ 2.5 แผนภาพอุณหภูมิ - เวลา - การเปลี่ยนแปลงเฟส (time-temperature-transformation diagram) (1) การหล่อโดยตรง (2) การขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติก [1]

วิธีการหล่อโดยตรงจะหลอมโลหะตามส่วนผสมที่ต้องการด้วยเครื่องหลอมเหนี่ยวนำไฟฟ้า (Induction melter) แล้วฉีดโลหะหลอมเหลวที่ได้ลงไปแม่พิมพ์ทองแดง (copper mold) ซึ่งจะได้ชิ้นงานที่มีขนาดใหญ่มากไม่ได้ เนื่องจากจะทำให้อัตราเย็นตัวช้ากว่าอัตราเย็นตัววิกฤต (critical cooling rate) จนชิ้นงานที่ได้กลายเป็นผลึก จึงมีการพัฒนาให้ใช้วิธีการหล่อโดยตรงและวิธีขึ้นรูปแบบเทอร์โมพลาสติกร่วมกัน โดยขั้นแรกขึ้นรูปรัตนโลหะแบบหล่อโดยตรงให้เป็นเม็ดกลมขนาดเล็ก ทำให้ได้อัตราเย็นตัวสูงพอจนเกิดเป็นโครงสร้างอสัญฐาน จากนั้นจึงให้ความร้อนใหม่จนได้อุณหภูมิที่อยู่ในช่วง supercooled liquid region (SCLR) ซึ่งเป็นช่วงที่รัตนโลหะอ่อนตัวลงจนสามารถขึ้นรูปให้เป็นรูปทรงต่างๆ ได้ โดยที่ยังคงมีโครงสร้างอสัญฐานอยู่ [1]

## 2.2 การพ่นขัดผิว (Particle Blasting)

การปรับปรุงพื้นผิวมีหลากหลายวิธี [13] ยกตัวอย่าง การปรับปรุงผิวทางเคมี (chemical treatment) เช่น การใช้กรดกัดผิว (acid etching) การทำอะโนไดซิง (anodizing) และการปรับปรุงพื้นผิวทางกายภาพ (physical treatment) เช่น การตัดและกลึงผิว (cutting and turning) การขัดผิวละเอียด (smoothing) และการพ่นขัดผิว (particle blasting) โดยการพ่นขัดผิวนั้น ได้รับความนิยมสูง เนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน และสามารถให้ลักษณะพื้นผิวหลายรูปแบบ และยังสามารถทำร่วมกับการปรับปรุงผิวทางเคมีได้อีกด้วย

การพ่นขัดผิวเป็นกระบวนการทางกลประเภทหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิววัสดุต่างๆ โดยในปัจจุบันมีการนำมาใช้ในงานต่าง ๆ เช่น การพ่นขัดผิวกระจก แก้วให้เป็นลวดลาย เพื่อตกแต่งเพิ่มคุณค่าให้แก่ชิ้นงานให้สวยงามยิ่งขึ้น การพ่นขัดผิวหินอ่อน หินแกรนิต เพื่อทำป้ายต่าง ๆ การพ่น

ขัดผิวงานเครื่องประดับเงิน ทอง ทองเหลือง เพื่อให้มีผิวด้านตัดกับผิวเงา เพิ่มความสวยงาม สำหรับงานทางโลหะ การพ่นขัดผิวจะทำเพื่อทำความสะอาดผิวที่เก่า สกปรก ขึ้นสนิม พ่นขัดผิวแม่พิมพ์ให้หยาบหรือละเอียดตามต้องการ พ่นขัดผิวเพื่อลบรอยข่วน รอยเจียร รวมทั้งพ่นขัดผิวเพื่อเตรียมผิวก่อนการชุบหรือพ่นสี เพื่อให้การยึดเกาะดียิ่งขึ้น เป็นต้น แต่สำหรับวัสดุชีวภาพที่จะนำมาใช้ในร่างกายนั้น การพ่นขัดผิวจะกระทำขึ้นเพื่อ

- (1) ทำความสะอาดพื้นผิว กำจัดสารปนเปื้อนต่าง ๆ
- (2) สร้างความขรุขระให้แก่พื้นผิวเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการทำปฏิกิริยา
- (3) ทำให้เกิดความเค้นตกค้าง (residual stress) ที่ผิวที่เป็นประโยชน์

ซึ่งทำให้ค่าพลังงานพื้นผิวสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าแอกติวิตีทางเคมีและทางกายภาพของพื้นผิว (surface chemical and physical activities) สูงขึ้น รวมทั้งทำให้ความแข็งแรงการล้า (fatigue strength) มากขึ้นด้วย [24]

การพ่นขัดผิวนั้น จะทำโดยการพ่นผงขัด (abrasive particle) ออกมาจากหัวพ่น ลงไปกระทบผิววัสดุที่ต้องการ ผงขัดเหล่านั้นจะพุ่งออกจากหัวพ่นพร้อมอากาศด้วยความเร็วสูง เมื่อไปกระทบผิววัสดุ จะทำให้ผิววัสดุเกิดความขรุขระ โดยความหยาบหรือความละเอียดจะขึ้นอยู่กับขนาดของผงขัดเป็นสำคัญ คือเมื่อใช้ผงขัดขนาดเล็กจะได้ผิวที่มีความละเอียด และในทางกลับกันถ้าใช้ผงขัดขนาดใหญ่ก็ได้ผิวที่มีความหยาบสูง แต่มีบางงานวิจัย [13] ได้เสนอว่า เมื่อใช้ผงขัดที่มีขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร จะไม่สามารถทำขึ้นงานหยาบมากขึ้นได้

### 2.2.1 ชนิดของเครื่องพ่นขัดผิว

1) เครื่องพ่นขัดผิวแบบดูดและใช้คนพ่นด้วยมือ (Suction Blast Cabinet) เป็นเครื่องขัดพ่นที่เหมาะสมสำหรับชิ้นงานที่มีขนาดเล็กถึงปานกลาง และชิ้นงานมีขนาดใหญ่ไม่เกินขนาดของตัวตู้ที่ใช้ ผู้ใช้สามารถยกชิ้นงานเข้าตู้พ่นขัดผิวได้ การพ่นขัดผิวจะเป็นการพ่นผงขัดโดยใช้ปืนพ่นด้วยมือที่ละชิ้น ผงขัดที่ใช้จะถูกเทใส่ไว้ในตู้ สามารถใช้หมุนเวียนได้ตลอดเวลา ตู้พ่นขัดผิวที่ดี ในขณะที่พ่น ผุ่นผงขัดต้องไม่ฟุ้งอยู่ในตู้จนมองไม่เห็นชิ้นงานและต้องไม่รั่วออกมาออกตู้จนสถานที่ทำงานเต็มไปด้วยฝุ่น

2) เครื่องพ่นขัดผิวขนาดใหญ่แบบอัตโนมัติ (Mass Sandblasting Machine) มีหลายรูปแบบตามการใช้งาน เช่น แบบเป็นสายพาน แบบเป็นตุ้กลิ้งและแบบสำหรับพ่นงานท่อขนาดยาวมาก ๆ เป็นต้น ตู้พ่นขัดผิวประเภทนี้มีราคาแพงมาก เหมาะสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมที่มีงานขนาดใหญ่พิเศษ งานจำนวนมาก งานขนาดเล็กพิเศษและงานที่มีรูปแบบเฉพาะ

3) เครื่องพ่นขัดผิวแรงดันสูง (Pressure Blast Machine) เป็นเครื่องพ่นขัดผิวที่เหมาะสมสำหรับงานที่มีขนาดใหญ่ เช่น งานลอกสีรถถังคัน งานขัดสนิมถึงน้ำมันกลางแจ้ง งานขัดสนิมเรือ งาน

ขัดสนิมเหล็กโครงสร้าง เป็นต้น ถังพ่นผงขัดจะมีระบบอัดแรงดันสูง ต้องใช้ปั๊มลมขนาดใหญ่ ผงขัดที่ใช้จะเป็นทรายทะเล ทราย Copper Slag หรือทรายที่มีราคาถูก เพราะใช้ได้ครั้งเดียวหมุนเวียนไม่ได้

### 2.2.2 ผงขัด (abrasive particle)

ผงขัดที่ใช้ในการพ่นขัดผิวมีหลากหลายชนิด ขึ้นอยู่กับลักษณะของวัสดุที่ต้องการปรับปรุงผิว โดยที่ผงขัดชนิดทรายซิลิกา (Silica sand) จะได้รับความนิยมสูง เนื่องจากหาง่ายและมีราคาถูก แต่ผงขัดชนิดนี้จะก่อให้เกิดฝุ่นผงจำนวนมาก ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ทำการพ่นขัดผิว

สำหรับงานทางด้านโลหะ ผงขัดก็มีหลากหลายชนิดเช่นเดียวกัน อาทิ เหล็กกล้า เหล็กกล้าไร้สนิม อลูมิเนียม ทองแดง สังกะสี เป็นต้น การเลือกใช้ผงขัดจะขึ้นอยู่กับผิวสุดท้ายที่ต้องการ ส่วนผงขัดที่นำมาใช้เพื่อปรับปรุงผิววัสดุชีวภาพเพื่อจะนำไปใช้ในร่างกายจะต้องมีความเสถียร มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (biocompatibility) และต้องไม่ขัดขวางการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูก (Ossiointegration) [25] โดยผงขัดที่ใช้กันในปัจจุบัน ได้แก่ อะลูมินา ( $Al_2O_3$ ) ไทเทเนียมออกไซด์ (Titanium oxide) และแคลเซียมฟอสเฟส (Calcium phosphate) เป็นต้น

1) อะลูมินา ( $Al_2O_3$ ) เป็นที่นิยมในการนำมาใช้เป็นผงขัดสำหรับสร้างผิวขรุขระให้แก่วัสดุชีวภาพ แต่หลังจากการพ่นขัดผิว ผงขัดชนิดนี้จะชอบฝังตัวอยู่บนผิวของวัสดุ ถึงแม้ว่าจะทำความสะอาดผิวด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic) กัดด้วยกรดและทำการฆ่าเชื้อ (sterilization) แล้วก็ตาม ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากอะลูมินามีความเสถียรสูงและไม่ละลายในกรด [25]

2) ไทเทเนียมออกไซด์ (Titanium oxide) เป็นที่นิยมใช้เช่นเดียวกับอะลูมินา มีหลายงานวิจัยได้เสนอไว้ว่า รากฟันเทียมที่ทำการพ่นขัดผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์มีค่า bone-to-implant contact (BIC) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับรากฟันเทียมที่ปรับปรุงผิวด้วยวิธีทางกล (machined surface) [25]

3) แคลเซียมฟอสเฟส (Calcium phosphate) เป็นผงขัดอีกชนิดที่นิยมใช้ โดยผงขัดแคลเซียมฟอสเฟสที่นำมาใช้ จะอยู่ในรูปของไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) และ/หรือ เบต้า-ไตรแคลเซียมฟอสเฟส (beta-tricalcium phosphate)

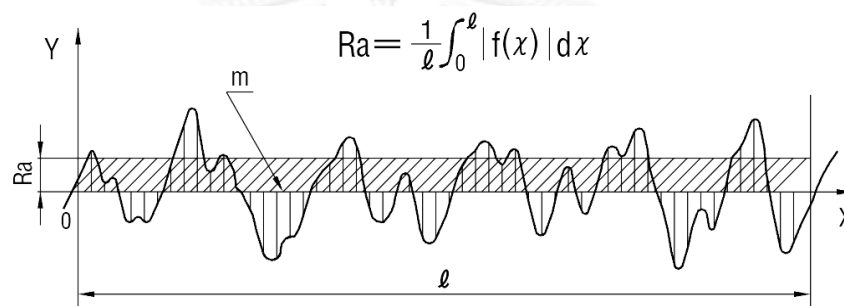
## 2.3 ความหยาบผิว (Surface roughness)

เมื่อทำการพ่นขัดผิวชิ้นงาน สิ่งที่ได้คือความหยาบของผิว ซึ่งจะแปรผันตามขนาดของผงขัด เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละชิ้นงาน จึงต้องมีค่าที่ใช้วัดความหยาบผิว ความหยาบผิวแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ การวัดความหยาบผิวโดยเฉลี่ย กับการวัดความหยาบผิวโดยขนาด [26]

### 2.3.1 การวัดความหยาบผิวเฉลี่ย (Average parameter)

การวัดความหยาบผิวเฉลี่ย คือ การอาศัยการวัดแล้วคำนวณค่าความหยาบผิวออกมาเป็นค่าความหยาบผิวเฉลี่ย ซึ่งจะทำให้เรารู้ระดับความหยาบโดยรวมแต่ไม่สามารถรู้ลักษณะความคลาดเคลื่อนสูงต่ำของความหยาบ วิธีการกลุ่มนี้ได้แก่  $R_a$ ,  $R_{ku}$ ,  $R_q$  และ  $R_{sk}$

1) ความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average:  $R_a$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวด้วยค่าเฉลี่ยทางเลขคณิตของผิวที่วัด ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้กันมากที่สุด และหลายมาตรฐานมักอ้างอิงค่านี้ในการกำหนดมาตรฐานความหยาบผิว การหาค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิตได้จากการรวมพื้นที่ยอดแหลมของคลื่นเหนือเส้นกึ่งกลาง (M-Line) กับพื้นที่ยอดแหลมของคลื่นใต้เส้นกึ่งกลางหารด้วยความยาวเฉลี่ย ( $L_m$ ) โดยที่ค่าของ  $R_a$  มีหน่วยวัดเป็นไมโครเมตร ( $\mu m$ )



รูปที่ 2.6 การหาค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average:  $R_a$ )

2) ความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง (Roughness root mean square :  $R_q$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวด้วยรากที่สองของค่าเฉลี่ยกำลังสองของผิวที่วัด

3) ความหยาบผิวเฉลี่ยปริมาตร (Roughness skewness :  $R_{sk}$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยการวัดปริมาณของยอดและหลุม โดยปริมาณของยอดให้เป็นค่าบวก ส่วนปริมาณของหลุมให้เป็นค่าลบ หากค่าใดมีมากก็แสดงให้เห็นถึงการมียอดหรือหลุมมากนั่นเอง

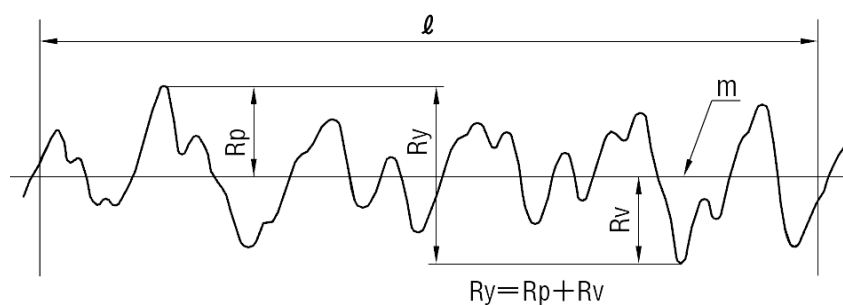
4) ความหยาบผิวเฉลี่ยรูปร่าง (Roughness kurtosis :  $R_{ku}$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยแสดงให้เห็นถึงลักษณะรูปร่างของยอดผิวว่ามีลักษณะยอดโค้ง ยอดแหลม หรือยอดเรียบ

### 2.3.2 การวัดความหยาบผิวโดยขนาด (Amplitude parameter)

การวัดความหยาบผิวโดยขนาดคือ อาศัยการวัดหาค่าสูงต่ำของขนาดความหยาบของผิว ซึ่งจะทำให้เราารู้รูปลักษณะของความหยาบได้ชัดเจนกว่า วิธีการกลุ่มนี้ได้แก่  $R_p$ ,  $R_t$ ,  $R_v$  และ  $R_z$

1) ความหยาบผิวขนาดโดยรวม (Roughness total height :  $R_t$ ,  $R_v$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยวัดขนาดความห่างระหว่างยอดสูงสุดถึงหลุมลึกสุดของผิว ค่านี้มีประโยชน์มากตรงที่หากเราต้องการขัดผิวเพื่อขจัดความขรุขระออกให้หมด เราจะรู้ได้ว่าจะต้องขัดผิวลงไปลึกกี่ไมโครเมตร



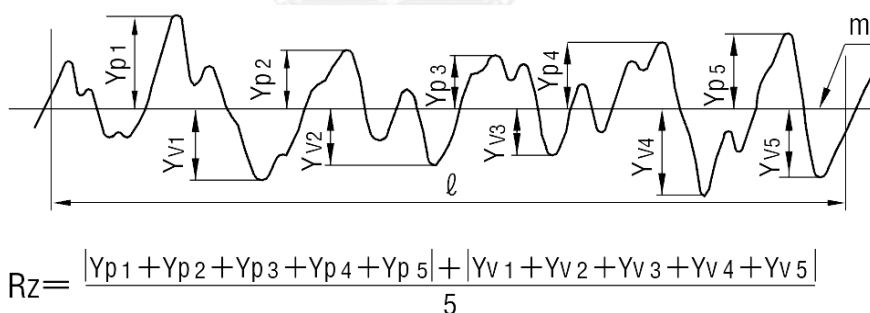


รูปที่ 2.7 การหาค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม (Roughness total height :  $R_t$  ,  $R_y$ )

2) ความหยาบผิวขนาดหลุมลึกที่สุด (Roughness valley :  $R_v$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยวัดขนาดความลึกของหลุม โดยแสดงความลึกหลุมที่มีขนาดลึกที่สุด

3) ความหยาบผิวขนาดยอดสูงสุด (Roughness Peak :  $R_p$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยวัดขนาดความสูงของยอด โดยแสดงความสูงของยอดที่มีขนาดสูงที่สุด

4) ความหยาบผิวขนาดโดยเฉลี่ย 10 จุด (Roughness Ten-point mean :  $R_z$ ) เป็นการแสดงความหยาบผิวโดยวัดขนาดความสูงของยอดกับความลึกของหลุม โดยแสดงขนาดเฉลี่ยของระยะระหว่างความสูงของยอดกับความลึกของหลุม ทั้งหมด 5 ชุด โดยทดสอบเป็นช่วงเท่าๆ กัน 5 ช่วง แล้วนำค่าที่ได้มารวมกันหารด้วย 5 โดยที่ค่าของ  $R_z$  มีหน่วยเป็นไมโครเมตร



$$R_z = \frac{|Y_{p1} + Y_{p2} + Y_{p3} + Y_{p4} + Y_{p5}| + |Y_{v1} + Y_{v2} + Y_{v3} + Y_{v4} + Y_{v5}|}{5}$$

$Y_{p1}$  ,  $Y_{p2}$  ,  $Y_{p3}$  ,  $Y_{p4}$  ,  $Y_{p5}$  : Tallest 5 peaks within sample

รูปที่ 2.8 การหาค่าความหยาบผิวขนาดโดยเฉลี่ย 10 จุด (Roughness Ten-point mean :  $R_z$ )

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา งานวิจัยที่เกี่ยวกับการปรับปรุงผิวไทเทเนียมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมมีมากมาย โดยเฉพาะการปรับปรุงผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว โดยงานวิจัยส่วนหนึ่งจะเป็นการศึกษาผลของขนาดของผงขัดต่อสมบัติของพื้นผิวที่มีผลต่อการยึดเกาะกับกระดูก อาทิ งานวิจัยของ Hans Jacob Rønold และ Jan Eirik Ellingsen [27] ในปี 2002 ได้

ทำการศึกษาการพ่นชั้นผิวไทเทเนียมบริสุทธิ์ทางการค้าเกรด 2 (CpTi grade 2) ด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) ขนาดต่าง ๆ ดังรูปที่ 2.9 (ซ้าย) โดยได้แบ่งชิ้นงานออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ได้พ่นชั้นผิว

กลุ่มที่ 2 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 7.5 – 12.5 µm

กลุ่มที่ 3 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 22 – 28 µm

กลุ่มที่ 4 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 45 – 55 µm

กลุ่มที่ 5 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 70 – 80 µm

กลุ่มที่ 6 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 90 – 110 µm

กลุ่มที่ 7 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 180 – 220 µm

กลุ่มที่ 8 พ่นชั้นผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 270 – 330 µm

ลักษณะพื้นผิวที่ได้หลังจากพ่นชั้นผิวทั้ง 8 กลุ่ม แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มขนาดอนุภาคผงขัดจะทำให้ความหยาบผิวเพิ่มมากขึ้นดังตารางที่ 2.5 และทำให้ลักษณะของความขรุขระแตกต่างกัน แสดงดังรูปที่ 2.9 (ขวา) ผลจากการวิเคราะห์พื้นผิว ไม่พบธาตุอื่นนอกจากไทเทเนียม ออกซิเจนและคาร์บอน จึงสรุปว่าไม่มีผงขัดติดอยู่บนผิว ผงขัดเหล่านี้อาจหลุดออกไปตอนล้างชิ้นงานและตอนทำการฆ่าเชื้อ (sterile)

โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการฝังชิ้นงานลงบนกระดุกหน้าแข็งของกระต่ายเป็นเวลา 10 สัปดาห์เพื่อดูผลกระทบของความหยาบผิวต่อการยึดเกาะกับกระดุก Hans Jacob Rønold และ Jan Eirik Ellingsen สรุปไว้ว่า กลุ่มที่ 7 ที่ทำการพ่นชั้นผิวด้วยไทเทเนียมออกไซด์ขนาด 180 – 220 µm ให้ค่าการยึดเกาะติดกับกระดุกมากที่สุด

## ตารางที่ 2.5 ค่าความหยาบผิว

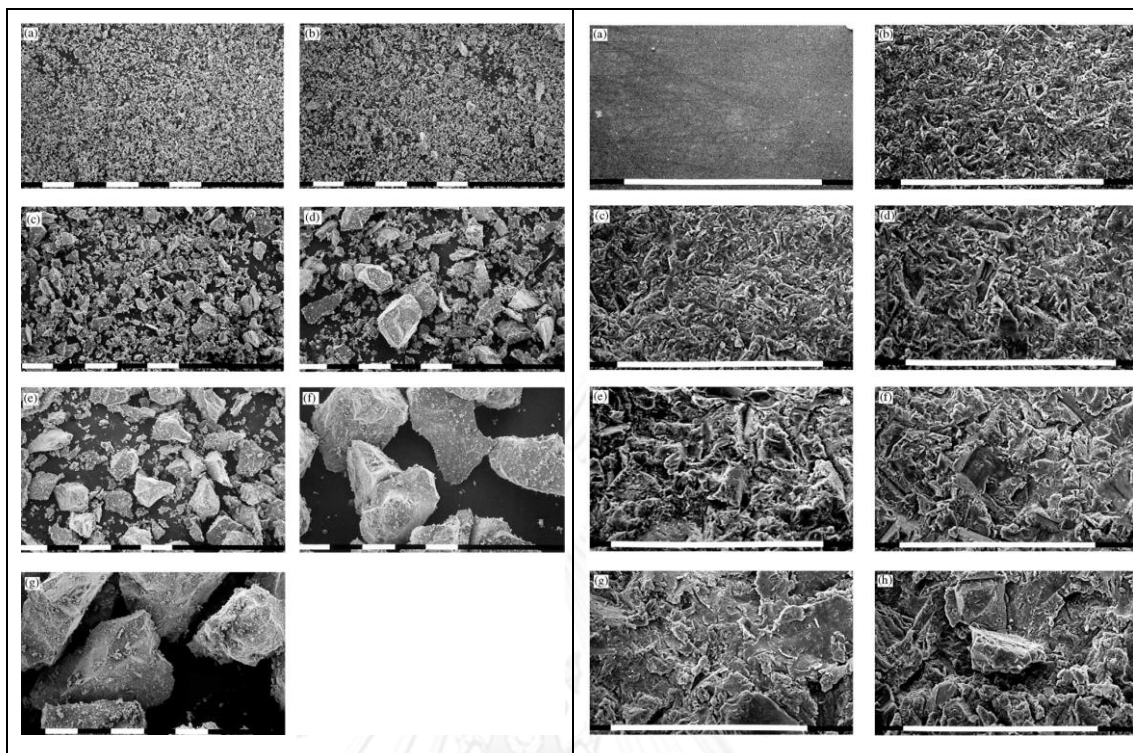
Confocal laser scanning measurements of the eight surfaces. The values are mean (SD) of five scanning on two different coins in each group

Group	Surface treatment	S <sub>a</sub> (µm) <sup>a</sup>	S <sub>t</sub> (µm) <sup>b</sup>	S <sub>dr</sub> <sup>c</sup>
1	Electropolished	0.63 (0.08)	15.44 (17.08)	1.02 (0.01)
2	7.5–12.5 µm TiO <sub>2</sub>	0.89 (0.06)	32.91 (20.70)	1.40 (0.04)
3	22–28 µm TiO <sub>2</sub>	1.25 (0.02)	39.29 (4.27)	1.52 (0.03)
4	45–55 µm TiO <sub>2</sub>	1.30 (0.06)	42.29 (6.61)	1.54 (0.05)
5	70–80 µm TiO <sub>2</sub>	1.80 (0.14)	59.90 (10.21)	1.64 (0.04)
6	90–110 µm TiO <sub>2</sub>	2.02 (0.21)	50.04 (3.11)	1.75 (0.08)
7	180–220 µm TiO <sub>2</sub>	3.62 (0.56)	76.28 (6.04)	2.08 (0.15)
8	270–330 µm TiO <sub>2</sub>	5.52 (0.74)	84.28 (6.37)	2.68 (0.57)

<sup>a</sup> Arithmetic mean deviation of the surface.

<sup>b</sup> Maximum peak to valley height of the surface.

<sup>c</sup> Developed surface area ratio.

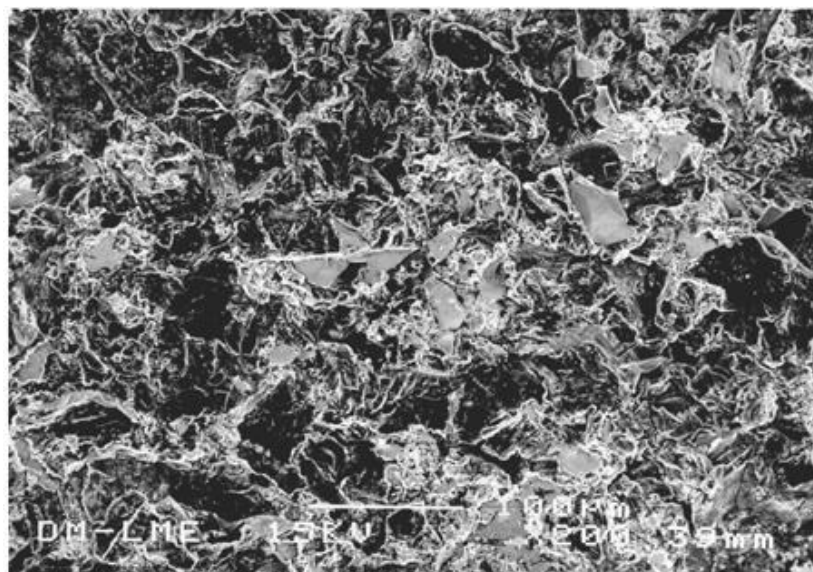


รูปที่ 2.9 ไทเทเนียมออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) ขนาดต่าง ๆ (ซ้าย) และลักษณะผิวที่ได้หลังจากการพ่นขัดผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ขนาดต่าง ๆ ที่ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า (ขวา)

นอกจากการศึกษาผลของขนาดของผงขัดต่อความหยาบผิวของชิ้นงานที่มีผลต่อการยึดเกาะกับกระดูกแล้ว ยังมีการศึกษาผลของชนิดของผงขัดที่มีผลต่อสมบัติทางพื้นผิวต่อการเติบโตของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ดังเช่นงานวิจัยในปี 2002 ของ C. Aparicio, F. J. Gil และ J. A. Planell [28] ที่ทำการศึกษาค้นคว้าผลของการพ่นขัดผิวไทเทเนียมบริสุทธิ์ทางการค้าเกรด 2 (CpTi grade 2) ด้วยอนุภาคซิลิคอนคาร์ไบด์ (SiC) (sample: Si) และอนุภาคอะลูมินา ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) (sample: Al) ที่มีขนาดเฉลี่ย 600 ไมโครเมตรเท่ากัน เปรียบเทียบกับชิ้นงานที่ไม่ได้พ่นขัดผิว (sample: Ti) รวมทั้งเปรียบเทียบกับชิ้นงานที่ทำการพ่นขัดผิวแล้วทำการปรับปรุงผิวทางเคมี (sample : Ti-2S, Al-2S, Si-2S) โดยการนำไปกัดด้วยกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่อุณหภูมิ  $60^\circ\text{C}$  เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลค่าความหยาบผิวแสดงดังตารางที่ 2.6 โดยจะพบว่าชิ้นงานที่ทำการพ่นขัดผิวจะให้ค่าความหยาบผิวมากกว่าชิ้นงานที่ไม่ได้พ่นขัดผิว แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างการพ่นขัดผิวโดยอนุภาคคนละชนิด รวมทั้งไม่มีความแตกต่างระหว่างชิ้นงานก่อนและหลังการปรับปรุงผิวทางเคมี แต่ผลการวิเคราะห์ธาตุบนผิวของงานวิจัยนี้ แตกต่างจากงานวิจัยของ Hans Jacob Rønold และ Jan Eirik Ellingsen คือ งานวิจัยนี้พบอนุภาคของผงขัดติดอยู่บนผิวของชิ้นงาน ทั้งอนุภาคซิลิคอนคาร์ไบด์ และอนุภาคอะลูมินา ดังรูปที่ 2.10 ที่แสดงอนุภาคอะลูมินาติดอยู่บนผิวอย่างชัดเจน

ตารางที่ 2.6 แสดงค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average:  $R_a$ ) ของทุกชิ้นงาน

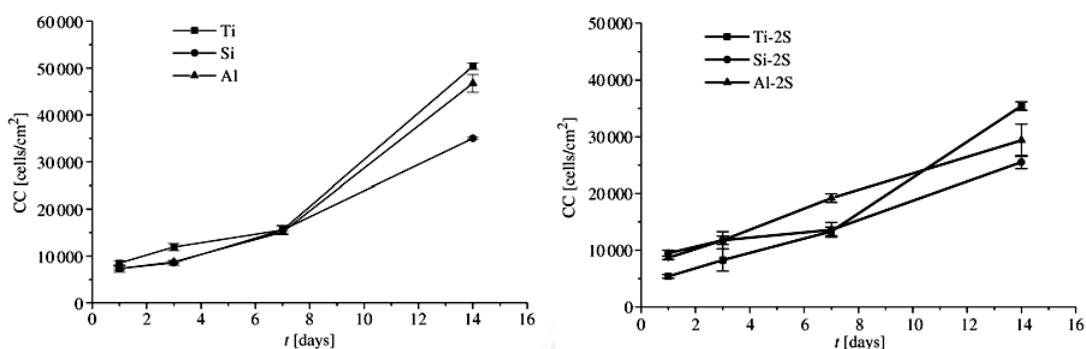
Group	Ti	Al	Si	Ti-2S	Al-2S	Si-2S
$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	0.07	3.99	3.66	0.07	3.93	3.59
S.D. [ $\mu\text{m}$ ]	0.02	0.31	0.27	0.03	0.21	0.21



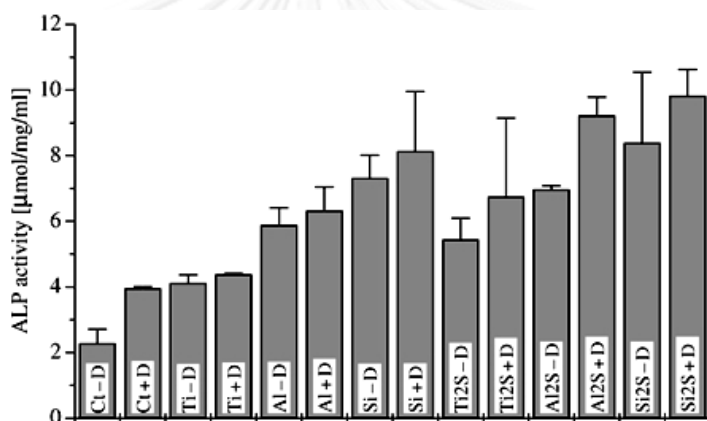
รูปที่ 2.10 พื้นผิวของชิ้นงานที่พ่นขัดผิวด้วยอนุภาคอะลูมินา ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

จากผลการวิเคราะห์สมบัติของผิวทั้งหมดพบว่า การพ่นขัดผิวด้วยผงขัดคนละชนิดที่มีขนาดเท่ากัน จะให้ค่าความหยาบผิวใกล้เคียงกัน แต่สิ่งที่ต่างกันคือส่วนผสมทางเคมีบนผิวของชิ้นงาน ซึ่งเมื่อนำชิ้นงานทั้งหมดไปทดลองเลี้ยงเซลล์ (cell culture) เพื่อดูการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) และการพัฒนาตัวของเซลล์ (cell differentiation) ดังรูปที่ 2.11 และรูปที่ 2.12 ตามลำดับ โดยการพัฒนาตัวของเซลล์ จะดูจากค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสแอกติวิตี้ (Alkaline phosphatase activity) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้วัดปริมาณเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (Alkaline phosphatase: ALP) ที่แตกตัวออกมาจากเซลล์ที่มีการพัฒนาแล้ว

จากรูปที่ 2.11 จะพบว่าชิ้นงานที่มีผิวละเอียดจะให้ค่าการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่าชิ้นงานที่มีผิวหยาบ ซึ่งตรงข้ามกับรูปที่ 2.12 ที่ชิ้นงานที่มีผิวหยาบจะให้ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสแอกติวิตี้สูงกว่า ซึ่งหมายถึงเซลล์มีการพัฒนาไปมากกว่า C. Aparicio, F. J. Gil และ J. A. Planell จึงสรุปว่าพฤติกรรมการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ดี จะเกิดจากค่าการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ต่ำ และค่าการพัฒนาของเซลล์ที่สูง หมายความว่า ชิ้นงานที่ทำการพ่นขัดผิวให้หยาบ และตามด้วยการปรับปรุงผิวทางเคมีให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) จะทำให้เซลล์ยึดเกาะและพัฒนาได้ดี



รูปที่ 2.11 กราฟแสดงการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) ของชิ้นงานที่ไม่ได้ปรับปรุงผิวทางเคมี (Ti, Al, Si) (ซ้าย) และชิ้นงานที่ปรับปรุงผิวทางเคมี (Ti-2S, Al-2S, Si-2S) (ขวา)



รูปที่ 2.12 กราฟแสดงค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเทสแอกติวิตี้ (Alkaline phosphatase activity: ALP) ของชิ้นงานที่มีการใส่วิตามินดี (+D) และไม่ใส่วิตามินดี (-D)

ต่อมาในปี 2004 R.V. Bathomarco, G. Solorzano, C.N. Elias และ R. Prioli [29] ได้นำกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอรัซ (Atomic force microscope, AFM) มาใช้ในการตรวจความหยาบผิวของไทเทเนียมบริสุทธิ์ทางการค้าเกรด 4 (CpTi grade 4) ที่ทำการปรับปรุงผิว 4 วิธี ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ได้ปรับปรุงผิว

กลุ่มที่ 2 กัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ตามด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) และกรดไนตริก (HNO<sub>3</sub>)

กลุ่มที่ 3 พ่นขัดผิวด้วยอนุภาคไทเทเนียมออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) ขนาด 50 μm

กลุ่มที่ 4 พ่นขัดผิวเหมือนกลุ่มที่ 3 ตามด้วยการกัดด้วยกรดเหมือนกลุ่มที่ 2

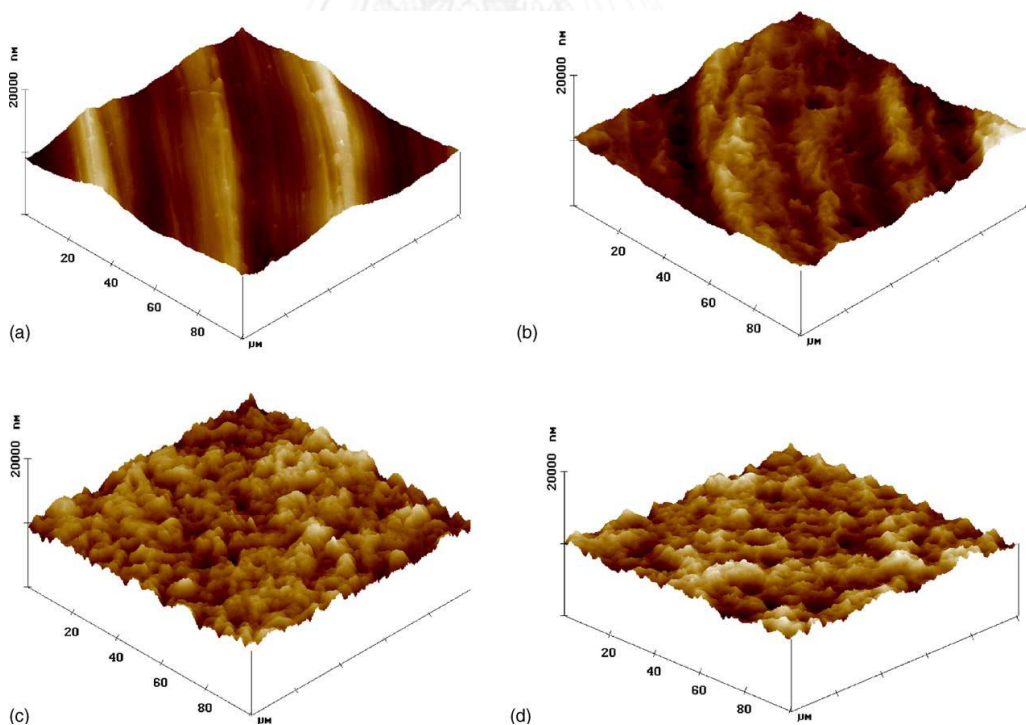
จากการวิเคราะห์ผิวของชิ้นงานด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอรัซ (Atomic force microscope, AFM) จะได้ค่าความหยาบผิวดัง

ตารางที่ 2.7 และได้ลักษณะพื้นผิวดังรูปที่ 2.13 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 4 วิธีมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ลักษณะของพื้นผิวแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยชิ้นงานในกลุ่มที่ 2 ยังมีลักษณะโดยรวมคล้ายกับชิ้นงานในกลุ่มที่ 1 ส่วนชิ้นงานในกลุ่มที่ 3 และ 4 แตกต่างจากกลุ่มที่ 1 และ 2 โดยสิ้นเชิง แสดงให้เห็นว่า การปรับปรุงผิวด้วยการกัดกรด จะทำให้ความหยาบผิวเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก โดยทำให้ค่าความหยาบผิวลดลง แต่การพ่นขัดผิว จะทำให้ค่าความหยาบผิวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่จะทำให้ลักษณะพื้นผิวเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมาก

ตารางที่ 2.7 ค่าความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 4 กลุ่ม

Surface treatment	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	Area ( $\mu\text{m}^2$ )
Machined	$0.458 \pm 0.096$	10190
Acid etched	$0.370 \pm 0.065$	10260
TiO <sub>2</sub> blasted	$0.484 \pm 0.042$	11500
Acid etched and TiO <sub>2</sub> blasted	$0.429 \pm 0.035$	10800

It can be noted that the roughness and area do not present the same trend.



รูปที่ 2.13 ผิวของชิ้นงานที่ (a) ไม่ได้ปรับปรุงผิว, (b) กัดด้วยกรด, (c) พ่นขัดผิวด้วย TiO<sub>2</sub> และ (d) พ่นขัดผิวและกัดกรด ทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิคฟอรัซ (Atomic force microscope, AFM)



อีกหลายปีต่อมา ยังคงมีการศึกษาผลของความหยาบผิวต่อการยึดเกาะของเซลล์อยู่ ดังงานวิจัยของ Rosales-Leal และคณะ [30] ในปี 2010 ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของความหยาบผิว ความสามารถในการเปียกน้ำ (wettability) และลักษณะของพื้นผิว (morphology) ต่อการยึดเกาะของเซลล์บนผิวของไทเทเนียมบริสุทธิ์ทางการค้าเกรด 2 (CpTi grade 2) ในงานวิจัยนี้ แบ่งชิ้นงานออกเป็น 4 กลุ่มได้แก่

กลุ่มที่ 1 (pTi) ขัดผิวละเอียดด้วยกระดาษทราย

กลุ่มที่ 2 (eTi) กัดด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก (HF) 5 นาที

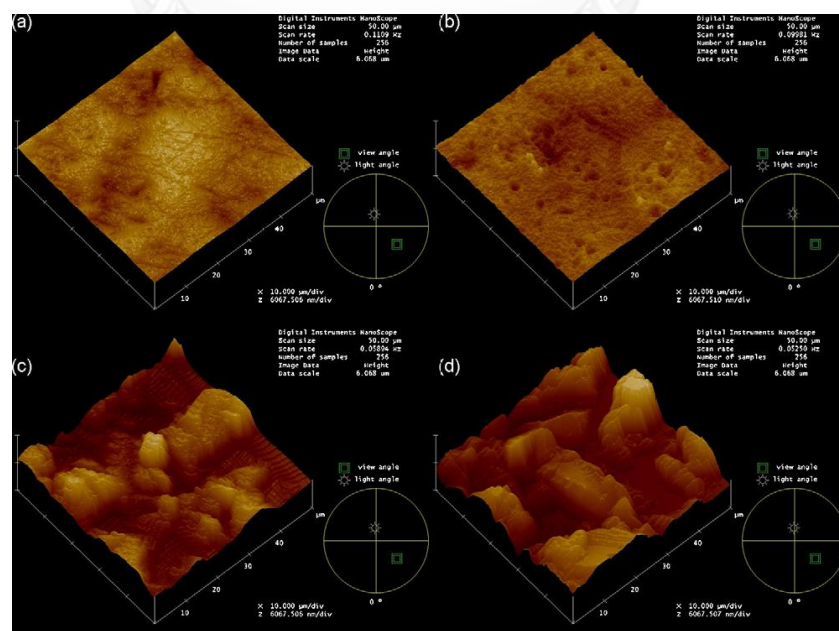
กลุ่มที่ 3 (bTi) ฟันขัดผิวด้วยอนุภาคอะลูมินา ขนาด 110  $\mu\text{m}$

กลุ่มที่ 4 (beTi) ฟันขัดผิวด้วยอนุภาคอะลูมินา ขนาด 250 – 500  $\mu\text{m}$  และกัดด้วยกรดไฮโดรฟลูออริกเหมือนกลุ่มที่ 2

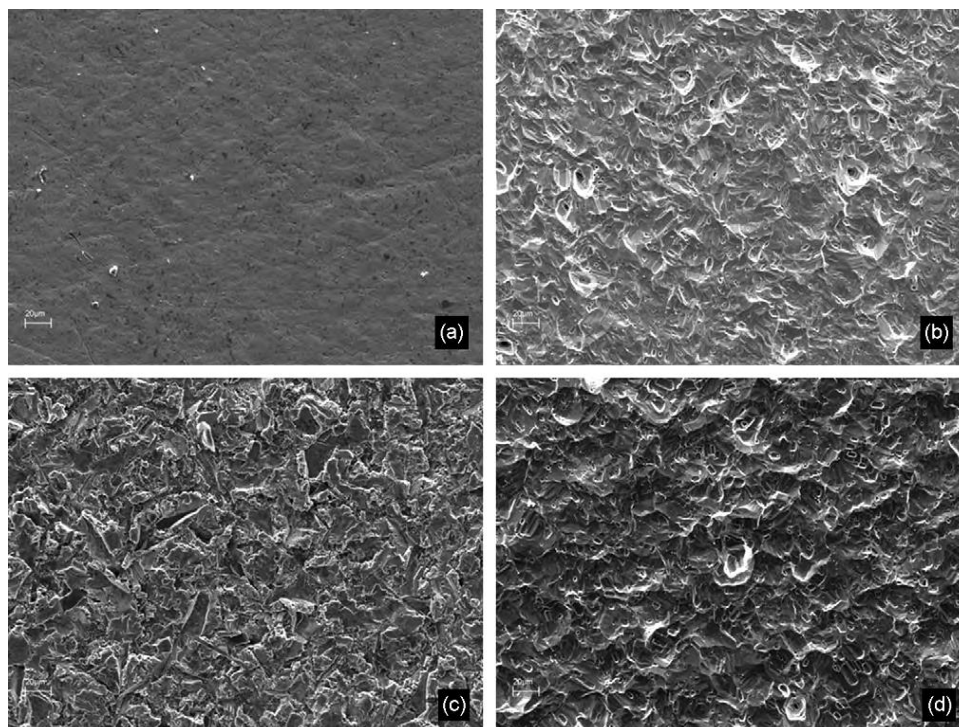
ผลการทดลองแสดงออกมาว่า ชิ้นงานในกลุ่มที่ 4 มีความหยาบผิวมากที่สุด (ตารางที่ 2.8) เนื่องจากทำการฟันขัดผิวด้วยอนุภาคขนาดใหญ่ ถึงแม้ว่าชิ้นงานกลุ่มนี้จะมีการกัดกรดด้วยก็ตาม (ดูรูปที่ 2.14 และรูปที่ 2.15 ประกอบ)

ตารางที่ 2.8 ค่าความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 4 กลุ่ม ได้แก่ pTi, eTi, bTi และ beTi

Surface	$R_p$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_v$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_a$ (nm)	$R_q$ (nm)	$R_{max}$ ( $\mu\text{m}$ )
pTi	$0.47 \pm 0.21$	$-0.60 \pm 0.19$	$140 \pm 17$	$149 \pm 42$	$2.3 \pm 0.1$
eTi	$1.15 \pm 0.23$	$-1.60 \pm 0.25$	$209 \pm 19$	$268 \pm 43$	$3.1 \pm 0.1$
bTi	$3.0 \pm 0.9$	$-1.8 \pm 0.7$	$861 \pm 30$	$1022 \pm 45$	$5.7 \pm 0.3$
beTi	$5.1 \pm 1.6$	$-3.3 \pm 0.9$	$1370 \pm 78$	$1639 \pm 58$	$8.2 \pm 0.5$



รูปที่ 2.14 ผลการทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอรัซ (AFM)

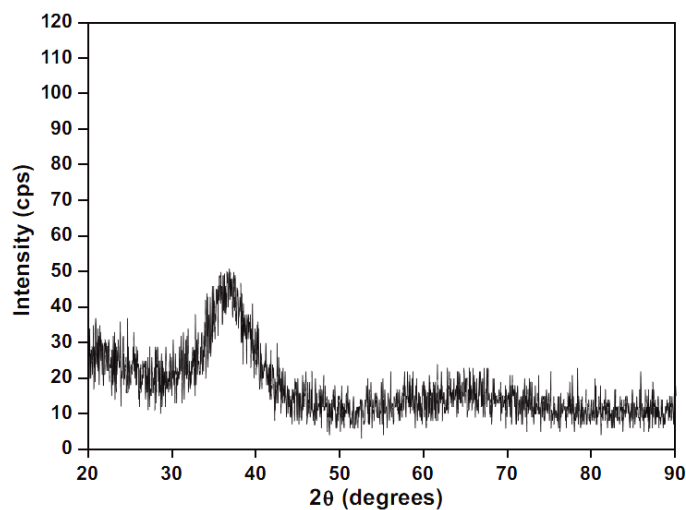


รูปที่ 2.15 ผิวของชิ้นงานที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วยกำลังขยาย 2000 เท่า (a) pTi, (b) eTi, (c) bTi และ (d) beTi

ในงานวิจัยที่ผ่านมา มีการศึกษาและปรับปรุงไทเทเนียมบริสุทธิ์และโลหะผสมไทเทเนียมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมอย่างมากมาย แต่ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา มีการพัฒนารัตนโลหะให้มาใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมด้วย โดยแสดงดังตารางที่ 2.4 ซึ่งเป็นรัตนโลหะที่ไม่มีธาตุที่เป็นพิษ เนื่องจากสมบัติที่ดีเยี่ยมอย่างทีกล่าวไว้ข้างต้น แต่ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาการปรับปรุงผิวรัตนโลหะด้วยวิธีการพ่นขัดผิวเพื่อนำมาใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม พบแต่เพียงการศึกษาการเพิ่มสภาพพลาสติก (plasticity) ของรัตนโลหะ  $Zr_{58.3}Cu_{18.8}Al_{14.6}Ni_{8.3}$  โดยใช้วิธีการพ่นขัดผิว ซึ่งเป็นงานวิจัยของ N.H. Tariq, M. Naeem, J.I. Akhter และ B.A. Hasan [31] ที่ทำการวิจัยในปี 2011 โดยได้ทำการพ่นขัดผิวรัตนโลหะ  $Zr_{58.3}Cu_{18.8}Al_{14.6}Ni_{8.3}$  ด้วยทรายซิลิกาขนาด  $250\ \mu m$  เป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที หลักจากนั้นนำไปทดสอบแรงอัด (compression test) และทดสอบความแข็งวิกเกอร์ระดับจุลภาค (Vicker's microhardness)

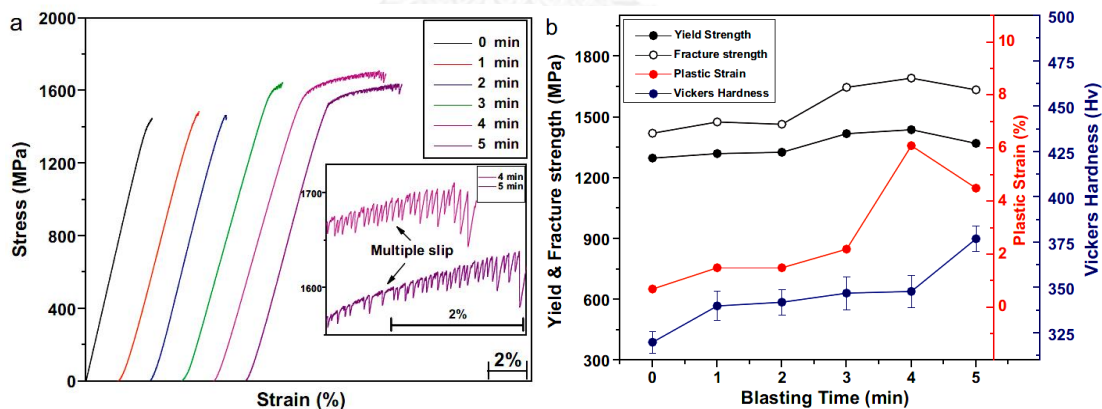
เมื่อสังเคราะห์ชิ้นงานรัตนโลหะได้แล้ว จะนำไปตรวจสอบโครงสร้างอัญฐานด้วยเครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer, XRD) จากรูปที่ 2.16 จะพบว่ารัตนโลหะชนิดนี้มีโครงสร้างอัญฐานทั้งหมด \_





รูปที่ 2.16 ผลการตรวจสอบโครงสร้างอัญฐานด้วยเครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ของ รัตนโลหะ  $Zr_{58.3}Cu_{18.8}Al_{14.6}Ni_{8.3}$

เมื่อนำไปทดสอบแรงอัด จะได้ผลดังรูปที่ 2.17 แสดงให้เห็นว่า การพ่นขัดผิวเป็นเวลา 4 และ 5 นาที สามารถเพิ่มสภาพพลาสติกที่ผิวชิ้นงานรัตนโลหะ  $Zr_{58.3}Cu_{18.8}Al_{14.6}Ni_{8.3}$  ได้ โดยไม่ทำให้ ความแข็งแรงของตัวมันเองลดลง นอกจากนี้การพ่นขัดผิวที่ระยะเวลามากขึ้น ทำให้ความแข็งแบบ วิกเกอร์เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย



รูปที่ 2.17 (a) กราฟความเค้น – ความเครียดของรัตนโลหะที่พ่นขัดผิวด้วยระยะเวลาต่าง ๆ และ (b) เปรียบเทียบค่าความแข็งแรง ณ จุดคราก (yield strength) ความแข็งแรงแตกหัก (fracture strength) ความเครียดพลาสติก (plastic strain) และค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ (Vicker hardness) ของรัตนโลหะที่พ่นขัดผิวด้วยระยะเวลาต่าง ๆ

จากงานวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมา จะพบว่า มีการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิวไทเทเนียมบริสุทธิ์และโลหะผสมไทเทเนียม เพื่อประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมอยู่มากมาย แต่ยังไม่มีการศึกษาการปรับปรุงผิวรัตนโลหะด้วยวิธีการพ่นขัดผิวเพื่อประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม ในงานวิจัยนี้ จึงต้องการศึกษาอิทธิพลของการพ่นขัดผิวต่อสมบัติทางพื้นผิวของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก โดยเปรียบเทียบสมบัติทางพื้นผิวกับโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ที่พ่นขัดผิวด้วยปัจจัยต่าง ๆ เหมือนกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่นำไปสู่การปรับปรุงและพัฒนาพื้นผิวของรากฟันเทียม นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มองค์ความรู้เกี่ยวกับการปรับปรุงพื้นผิวรัตนโลหะ



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## บทที่ 3

### ความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (Biocompatibility testing) สามารถแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อ [8] ได้แก่ การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (in-vitro) และการทดสอบกับสัตว์ทดลอง (in-vivo) โดยในบทนี้ จะกล่าวถึงการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (Ti-based metallic glass) ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น โดยเริ่มต้นตั้งแต่การเตรียมชิ้นงาน วิธีการทดสอบและผลการทดสอบทั้งด้านโลหะวิทยาและการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยส่วนผสมที่ใช้ในงานวิจัยนี้จะทำการปรับปรุงจากส่วนผสม  $Ti_{40}Zr_{10}Cu_{36}Pd_{14}$  ที่มีการวิจัยรายงานว่ามีความสมบัติที่ดี มีความสามารถในการกลายเป็นแก้ว (glass forming ability: GFA) ที่ดี [9, 10] ตามกฎ 3 ข้อที่ได้จากการทดลองของอิโนเอะ (Inoue's three empirical rules) [4] เกี่ยวกับรัตนโลหะ ที่กล่าวว่า

- 1) ธาตุที่นำมาผสม ต้องมีตั้งแต่สามธาตุขึ้นไป
- 2) ธาตุหลักที่นำมาผสมต้องมีขนาดของอะตอมแตกต่างกันมากกว่าร้อยละ 12 และ
- 3) ธาตุหลักที่ทำมาผสม ต้องมีค่าความร้อนที่เกิดจากการผสม (heat of mixing) น้อยกว่า ศูนย์

จากที่กล่าวมาข้างต้นว่ามีการรายงานว่าพบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast cell line) ของรัตนโลหะที่มีทองแดง (Cu) เป็นส่วนประกอบ [11, 12] จึงได้เลือกใช้โคบอลต์ (Co) แทนทองแดง (Cu) ในส่วนผสม  $Ti_{40}Zr_{10}Cu_{36}Pd_{14}$  เนื่องจากโคบอลต์มีขนาดของอะตอมใกล้เคียงกับนิกเกิล (Ni) และทองแดง ที่เป็นที่ยอมรับในการนำมาเป็นส่วนผสมในรัตนโลหะ โดยนิกเกิลและทองแดงมีรัศมีอะตอม 0.124 และ 0.128 นาโนเมตร ตามลำดับ ในขณะที่โคบอลต์มีรัศมีอะตอม 0.125 นาโนเมตร ถึงแม้ว่ามีการวิจัยที่บอกว่าไอออนของโคบอลต์แสดงความเป็นพิษ โดยการไปยับยั้งการสร้างคอลลาเจนชนิดที่หนึ่ง (type-I collagen) สารอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) และโปรตีนออสติโอแคลซิน (osteocalcin) [32] แต่ก็มีมีการนำโคบอลต์ไปเป็นส่วนผสมในวัสดุชีวภาพหลายชนิด เช่น โลหะผสมโคบอลต์ - โครเมียม (Co-Cr-based alloys) จุดประสงค์หลักของงานวิจัยที่กล่าวในบทนี้คือ การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบที่ไม่มีส่วนผสมของธาตุที่เป็นพิษ เช่น ทองแดง โดยใช้โลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V เป็นวัสดุอ้างอิง

### 3.1 การเตรียมชิ้นงาน

ชิ้นงานที่ใช้ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย ต้องมีลักษณะเป็นฟิล์มบางที่แสงสามารถทะลุผ่านได้บ้าง เพราะในการเตรียมเซลล์ การนับจำนวนเซลล์และการทดสอบต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงเซลล์นั้น จะใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับในการสังเกตลักษณะและพฤติกรรมของเซลล์ ถ้าใช้ฟิล์มหนาหรือชิ้นงานที่แสงไม่สามารถทะลุผ่านได้ จะทำให้ไม่สามารถเห็นเซลล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ได้เลย ดังนั้น ในการเตรียมรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักเพื่อทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายนี้ จะใช้วิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (Filtered cathodic vacuum arc; FCVA) เพื่อสร้างชิ้นงานให้เป็นฟิล์มบาง โดยมีขั้นตอนการเตรียมชิ้นงาน ดังนี้

#### 3.1.1 เตรียมก้อนโลหะผสมไทเทเนียม

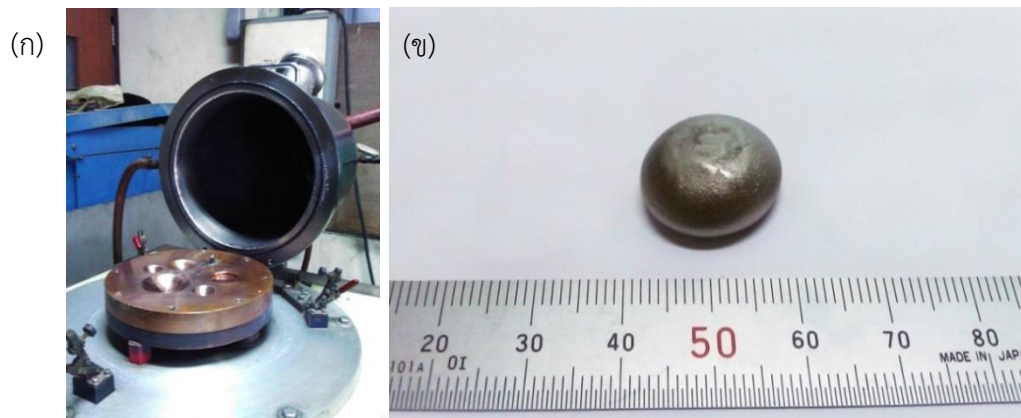
ตัดธาตุไทเทเนียม (Ti) เซอร์โคเนียม (Zr) และโคบอลต์ (Co) ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปล้างด้วยอะซิโตนและเอทิลแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic) จากนั้นนำไปชั่งตามส่วนผสมทางเคมีในรูปร้อยละโดยจำนวนอะตอม (at%) ดังตารางที่ 3.1 ส่วนแพลลาเดียม (Pd) มีลักษณะเป็นผง จึงต้องนำไปชั่งแล้วนำไปอัดเป็นก้อน ดังรูปที่ 3.1 จากนั้นนำส่วนผสมทางเคมีที่ชั่งได้มาหลอมรวมกันให้เป็นก้อนเดียว โดยใช้เตาอาร์คสุญญากาศ (Arc melting furnace: CENTORR) ในการเตรียมชิ้นงานแต่ละชิ้น จะทำการอาร์ค 3 – 4 รอบ รอบละ 1 นาที เพื่อให้ธาตุต่าง ๆ หลอมรวมเป็นเนื้อเดียวกัน ดังรูปที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมทางเคมีของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$

ชิ้นงาน	ส่วนผสมทางเคมี (ร้อยละโดยจำนวนอะตอม)			
	Ti	Zr	Pd	Co
$Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$	40	10	14	36

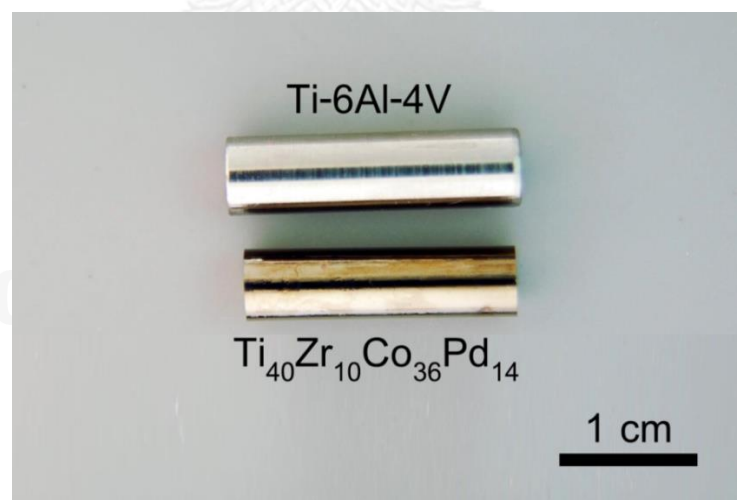


รูปที่ 3.1 ธาตุต่าง ๆ ก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นก้อน



รูปที่ 3.2 (ก) เตาอาร์คสุญญากาศและ (ข) ชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  หลังจากการหลอมเป็นก้อนเดียวกัน โดยเตาอาร์คสุญญากาศ

เมื่อหลอมธาตุต่าง ๆ ให้รวมเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว จึงนำก้อนชิ้นงานไปหลอมด้วยเตาอาร์คสุญญากาศอีกครั้ง โดยหลอมให้ลงแม่พิมพ์ทองแดง เพื่อให้มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปตัดให้มีความยาวประมาณ 20 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.3 ส่วนชิ้นงาน Ti-6Al-4V เตรียมโดยการกลึงให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 20 เซนติเมตรเช่นเดียวกัน โดยชิ้นงานนี้จะนำไปเป็นขั้วแคโทด (cathode) ในขั้นตอนการสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (Filtered Cathodic Vacuum Arc: FCVA)



รูปที่ 3.3 ชิ้นงานรูปทรงกระบอก ที่จะนำไปเป็นขั้วแคโทดในขั้นตอนการสร้างฟิล์ม

### 3.1.2 การสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (Filtered cathodic vacuum arc; FCVA) แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

#### 1) เตรียมชิ้นงาน

- เตรียมเป้ารับโดยนำแผ่นกระจกปิดสไลด์ (Cover glass) รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร มาติดบนแผ่นอลูมิเนียมด้วยเทปกาวอลูมิเนียม จากนั้นนำไปยึดติดบนเป้ารับ (target) ดังรูปที่ 3.4

- เตรียมแหล่งกำเนิดพลาสมา (source) โดยการประกอบชิ้นงานกับแท่นและฉนวนที่ทำจากเซรามิก (รูปที่ 3.5) ผ่นชิ้นส่วนเซรามิกด้วยแกรไฟท์หรือไส้ดินสอด 6B ให้ทั่วเพื่อลดความต้านทานระหว่างแอโนดและแคโทดให้ต่ำที่สุด วัดค่าความต้านทานระหว่างสองขั้วไฟฟ้าโดยใช้โอห์มมิเตอร์ ความต้านทานควรมีค่าไม่เกิน 2 k $\Omega$  เพราะอาจมีผลให้เกิดความไม่ต่อเนื่องระหว่างการสร้างชั้นฟิล์ม ประกอบชิ้นส่วนนี้กับแท่นของแหล่งกำเนิดพลาสมา (รูปที่ 3.6 (ข)) และวัดค่าความต้านทานระหว่างปลายตัวจับยึดกับสกรูด้านบนของแท่นของแหล่งกำเนิดพลาสมาอีกครั้ง ความต้านทานต้องมีค่าต่ำกว่า 2 k $\Omega$

- เตรียมตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์ (solenoid filter) ซึ่งทำจากท่อทองแดง เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.635 เซนติเมตร หนา 1 มิลลิเมตร ขดให้เป็นโซลินอยด์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ดัดให้มีรัศมีความโค้ง 9 เซนติเมตร และโค้งเป็น 90 องศา

#### 2) ใส่ชิ้นงานลงในเตาสุญญากาศ

- วางแท่นกำเนิดพลาสมาที่ปลายด้านหนึ่งของตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์และวางเป้ารับไว้อีกด้าน โดยวางเป้ารับห่างจากตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์ 10 cm ดังรูปที่ 3.6

- ต่อแท่นกำเนิดพลาสมา เป้ารับและตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์ตามวงจรไฟฟ้าในรูปที่ 3.7

- ปิดฝาเตาสุญญากาศ

#### 3) การทำสุญญากาศและการสร้างชั้นฟิล์ม

- เปิดปั๊มสุญญากาศโรตารี (Rotary pump) ดูดอากาศออกให้ได้ความดันบรรยากาศประมาณ  $2.0 \times 10^{-2}$  torr จากนั้นเปิดปั๊มสุญญากาศแบบดิฟฟิวชัน (Diffusion pump) ให้ได้ความดันบรรยากาศต่ำกว่า  $5.0 \times 10^{-5}$  torr

- สร้างชั้นฟิล์มโดยการปรับตัวแปรต่าง ๆ ตามตารางที่ 3.2 โดยรูปที่ 3.6 (ข) แสดงภาพภายในเตาสุญญากาศขณะที่ทำการอาร์คเพื่อสร้างชั้นฟิล์ม

- ภายหลังจากการสร้างชั้นฟิล์ม จะได้ชิ้นงานตามรูปที่ 3.8

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรต่าง ๆ ในการสร้างชั้นฟิล์มวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ

Parameters	Ti-6Al-4V	Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Co <sub>36</sub> Pd <sub>14</sub>
Distance (cm)	10	10
Deposition time (min)	40	80
Pressure (Torr)	$< 5.0 \times 10^{-5}$	$< 5.0 \times 10^{-5}$
Pulse (Hz)	~ 2.1-2.2	~ 2.1-2.2
Arc voltage (V)	600	600
Substrate Bias (kV)	1	1

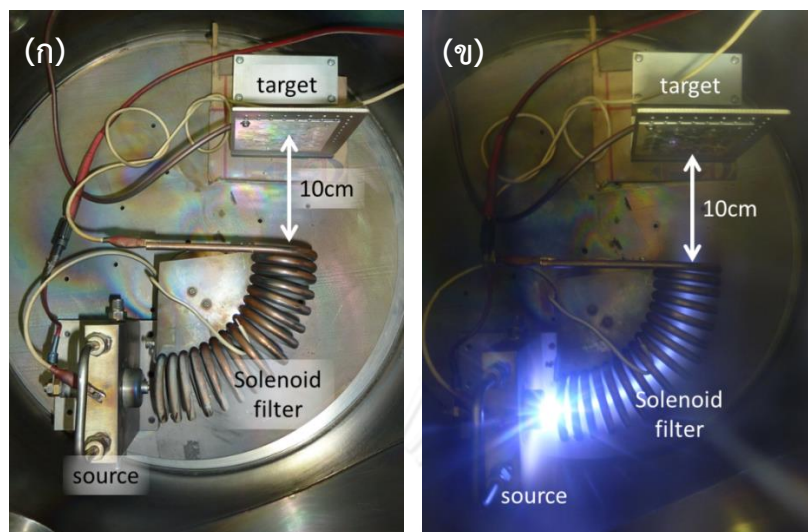


รูปที่ 3.4 (ก) เป้ารับที่ยึดติดแผ่นอลูมิเนียมที่มีแผ่นกระจกปิดสไลด์ (ข) แทนกำเนิดพลาสมา

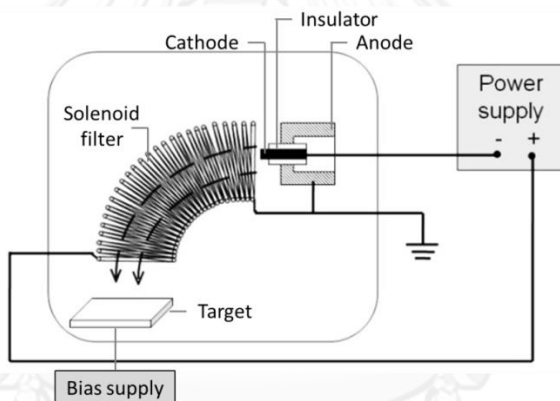


รูปที่ 3.5 ชิ้นงานและตัวจับยึดชิ้นงานที่ทำจากเซรามิก

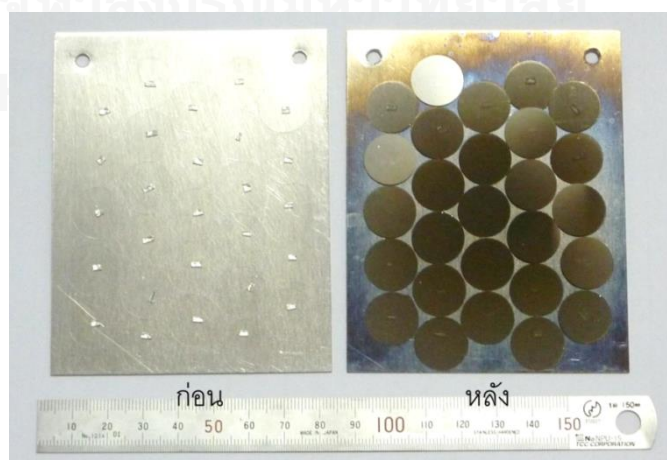




รูปที่ 3.6 (ก) การติดตั้งเป้ารับ แทนกำเนิดพลาสมาและตัวกรองแบบขดลวดโซลินอยด์  
(ข) ภายในเตาสัญญากาศขณะที่ทำการอาร์ค



รูปที่ 3.7 การต่อวงจรไฟฟ้าของสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ



รูปที่ 3.8 เป้ารับที่มีแผ่นกระจกปิดสไลด์รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ก่อนและหลังการสร้างชั้นฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ



### 3.2 วิธีการทดสอบทางโลหะวิทยา

การทดสอบทางโลหะวิทยาจะเน้นหลักที่การทดสอบทางพื้นผิวของฟิล์มบางบนกระจก โดยแบ่งออกเป็น 3 หัวข้อ ดังนี้ การทดสอบความหนาของชั้นฟิล์ม การทดสอบความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบาง และการทดสอบหองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิว

#### 3.2.1 ค่าความหนาของชั้นฟิล์ม

ความหนาของชั้นฟิล์ม วัดโดยการถ่ายภาพตัดขวาง (cross section) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดพิวดิอิมิสซัน (Field Emission Scanning Electron Microscope: FESEM) รุ่น JSM-7001F เตรียมชิ้นงานด้วยการใช้มีดตัดกระจก กรีดลงบนด้านหลังของชิ้นงาน จากนั้นจึงหักกระจก แล้วนำแผ่นกระจกที่มีชั้นฟิล์มอยู่ไปถ่ายภาพชั้นฟิล์ม

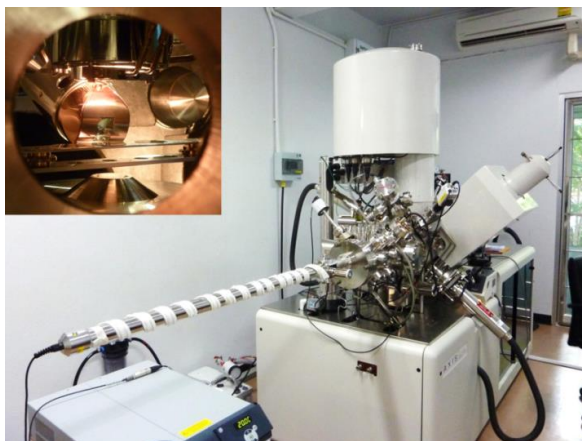
#### 3.2.2 ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว

นำชิ้นงานมาวัดค่าความหยาบผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกพอร์ซ (atomic force microscope: AFM) รุ่น Nanoscope IV, Veeco โดยแสกนพื้นที่  $1 \times 1$  ไมโครเมตร โดยวัดค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average:  $R_a$ ) ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง (Roughness root mean square :  $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม (Roughness total height :  $R_t$ )

#### 3.2.3 องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิว

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวของฟิล์มโดยใช้เครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (X-ray photoelectron spectrometer: XPS) รุ่น AXIS ULTRADLD ของบริษัท Kratos analytical ดังรูปที่ 3.9 โดยชิ้นงานจะถูกยิงด้วยรังสีเอกซ์พลังงานเดี่ยว พื้นที่  $700 \times 300$  ไมโครเมตร โดยรังสีเอกซ์พลังงานเดี่ยวนี้ ผลิตจากหลอดที่เป่าแอดที่ทำด้วยโลหะอลูมิเนียม (Al K $\alpha$ ) ให้รังสีเอกซ์ที่มีพลังงาน 1486.6 eV โดยให้กระแสไฟ 15 kV, 10 mA ที่เป่าแอด

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวของฟิล์มด้วยเครื่อง XPS นี้ แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ การวิเคราะห์แบบ survey คือการวิเคราะห์โดยรวม เพื่อค้นหาว่ามีธาตุใดบ้างในชิ้นงาน โดยวิเคราะห์ตั้งแต่ระดับพลังงาน 0 eV ถึง 1,200 eV จากนั้นเลือกช่วงระดับพลังงานที่สนใจ แล้วทำการวิเคราะห์แบบละเอียด เรียกว่าการวิเคราะห์แบบ high resolution ซึ่งช่วยวิเคราะห์หาลักษณะการสร้างพันธะระหว่างโมเลกุลนั้น ๆ โดยในงานวิจัยนี้ ทำการวิเคราะห์ธาตุทั้งหมด 7 ธาตุ ได้แก่ Ti, Zr, Co, Pd และ O สำหรับชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และธาตุ Ti, O, V และ Al สำหรับชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ใช้เป็นชิ้นงานอ้างอิง โดยก่อนที่จะวิเคราะห์หาลักษณะการสร้างพันธะจากกราฟแบบ high resolution พื้นของกราฟจะถูกลบออกด้วยวิธี Shirley-type background



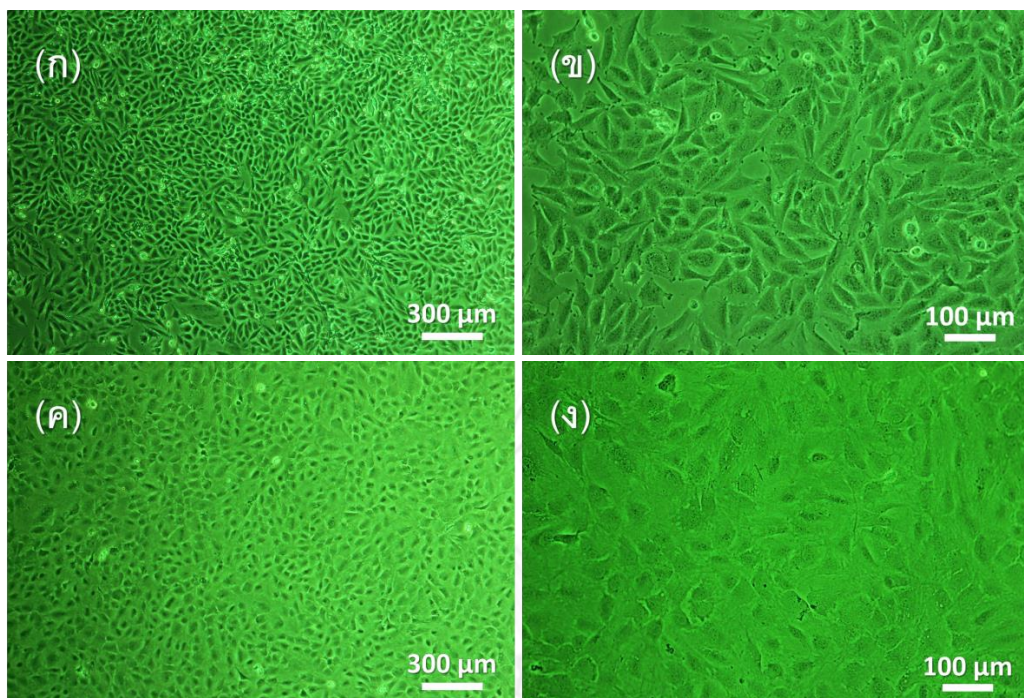
รูปที่ 3.9 เครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (X-ray photoelectron spectrometer: XPS)

### 3.3 วิธีการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย

ในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายของชิ้นงานฟิล์มบางนี้ จะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก ๆ ได้แก่ การทดสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation) และการทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์ (Cell differentiation) และการทดสอบการสะสมแร่ธาตุ (Cell mineralization) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

#### 3.3.1 ชนิดของเซลล์

เซลล์ที่ใช้ทดสอบมี 2 ชนิด (รูปที่ 3.10) ได้แก่ เซลล์ไลน์ที่ชื่อว่า SaOS-2 ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์ที่พัฒนามาจากเซลล์มะเร็งชนิดออสติโอซาร์โคมาของมนุษย์ (human osteoblast-like cells) และเซลล์ไลน์ที่ชื่อว่า MC3T3-E1 ซึ่งคือเซลล์อ่อนของเซลล์สร้างกระดูกของหนู (pre-osteoblast cell) แต่สามารถถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast cell) ได้ดี โดยเซลล์จะถูกเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 60 มิลลิเมตร โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ SaOS-2 คือ DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) และอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ MC3T3-E1 คือ  $\alpha$ -MEM ( $\alpha$ -Minimum Essential Medium Eagle) โดยอาหารทั้งสองชนิดจะเติมเซรัม FBS (fetal bovine serum) ร้อยละ 10, กลูตามีน (glutamine), เพนนิซิลิน (penicillin), สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) และแอมโฟเทอริซิน-บี (amphotericin B) เซลล์จะถูกเลี้ยงอยู่ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละร้อย และมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศร้อยละ 5 เมื่อเซลล์เจริญจนเต็มพื้นที่ในจานเลี้ยงเซลล์ จะมีการถ่ายเซลล์ไปยังจานเลี้ยงเซลล์ใหม่ โดยการใช้ทริปซิน (trypsin) เพื่อทำให้เซลล์หลุดออกจากพื้นจานเลี้ยงเซลล์ และจะมีการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 2 - 3 วัน โดยชิ้นงานทั้งหมดที่ใช้ จะต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยการอบไอน้ำภายใต้ความดันสูง (autoclave) ก่อนนำมาทดสอบ



รูปที่ 3.10 เซลล์ SaOS-2 ที่ (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูง และเซลล์ MC3T3-E1 ที่ (ค) กำลังขยายต่ำ (ง) กำลังขยายสูง

### 3.3.2 การทดสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation)

การวัดการเพิ่มจำนวนเซลล์ จะวัดด้วยวิธี MTT (Methylthiazol Tetrazolium assay) เริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์แต่ละชนิดความเข้มข้น 80,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน ( $n = 3$ ) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1, 3 และ 5 วัน หลังจากแต่ละช่วงเวลา ดูดอาหารเซลล์ออกแล้วล้างชิ้นงานด้วยสารละลาย PBS (phosphate-buffered saline) จากนั้นใส่สารละลาย MTT (0.5 mg/mL 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide ในอาหารเซลล์ที่ไม่มีสาร phenol red) จำนวน 300  $\mu$ L/well แล้วเอาไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา จึงดูดสารละลาย MTT ที่ทิ้งแล้วเติมตัวทำละลายออร์แกนิกสารละลายที่ผสมระหว่างสาร dimethylsulfoxide (DMSO) จำนวน 900  $\mu$ L/well และสาร glycine buffer (pH = 10) จำนวน 125  $\mu$ L/well เพื่อละลายผลึกฟอร์มazan จากนั้นนำไปวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 10 นาที เมื่อผลึกละลายหมดแล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density: O.D.) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น BioTek ELx800 โดยใช้ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ทั้งนี้ การทดสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์นี้ จะทดสอบบนชิ้นงานควบคู่กับการทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ที่ใช้เป็นชิ้นงานควบคุม

### 3.3.3 การทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์ (Cell differentiation)

การทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์ MC3T3-E1 จะวัดจากปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลต์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase: ALP) จึงเรียกวิธีการทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์ว่าวิธี ALP assay เริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 60,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน (n = 3) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate หลังจากบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 วัน จึงเปลี่ยนอาหารเซลล์เป็นอาหารเซลล์ที่เพิ่มสารเร่งการพัฒนาตัวของเซลล์ (50 µg/ml ascorbic acid, 5 mM  $\beta$ -glycerophosphate และ 250nM Dexamethasone) และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไปอีกเป็นเวลา 1, 5 และ 10 วัน หลังจากแต่ละช่วงเวลา ดูอาหารเซลล์ออกแล้วล้างชิ้นงานด้วยสารละลาย PBS (phosphate-buffered saline) เติม extract buffer ปริมาณ 100 µL/well แล้วขูดเซลล์ให้หลุดออกจากชิ้นงาน จากนั้นนำไปแช่ตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อทำให้เซลล์แตกหลังจากแช่ตู้เย็นจนสารต่าง ๆ แข็งหมดแล้วจึงนำออกมาละลาย จะได้สารละลายที่มีเซลล์แขวนลอย (extract cell solution) จากนั้นแบ่งสารละลายที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน เพื่อทดสอบการทำงานของเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยวัดปริมาณของสารเอแอลพีเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่เซลล์สร้างได้

วัดปริมาณโปรตีนโดยการแบ่งสารแต่ละหลุมออกมา 20 µL เติมสารละลาย BCA (BCA solution) ที่เป็นส่วนผสมระหว่าง reagent A และ reagent B (1 mL: 20 µL) ลงไปจำนวน 1 mL/well นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) โดยใช้ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

ส่วนการวัดปริมาณของสารเอแอลพี โดยนำสารละลายเซลล์แขวนลอยที่เหลืออยู่ในหลุมเดิม มาเติมส่วนผสมระหว่าง p-Nitrophenyl Phosphate (pNPP) และ 0.1M aminopropanol (10µL: 100µL) จำนวน 110 µL/well จากนั้นนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้เติม 0.1M NaOH ลงไปจำนวน 900 µL/well เพื่อหยุดปฏิกิริยา ปริมาณของเอแอลพี วัดจากสีที่เปลี่ยนไปของสารที่เติม pNPP โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น BioTek ELx800 โดยใช้ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ทั้งนี้ การทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์นี้ จะทดสอบบนชิ้นงานควบคุมการทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ที่ใช้เป็นชิ้นงานควบคุม

### 3.3.4 การทดสอบการสะสมแร่ธาตุ (Cell mineralization)

การทดสอบการสะสมแร่ธาตุ เป็นวิธีการย้อมสีเพื่อดูปริมาณแคลเซียมที่เกิดจากการพัฒนาตัวของเซลล์ MC3E3-E1 เริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 80,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน (n = 3) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate หลังจากบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 วัน จึงเปลี่ยนอาหารเซลล์เป็นอาหารเซลล์ที่เพิ่มสารเร่งการพัฒนาตัวของเซลล์ (50 µg/ml ascorbic acid,

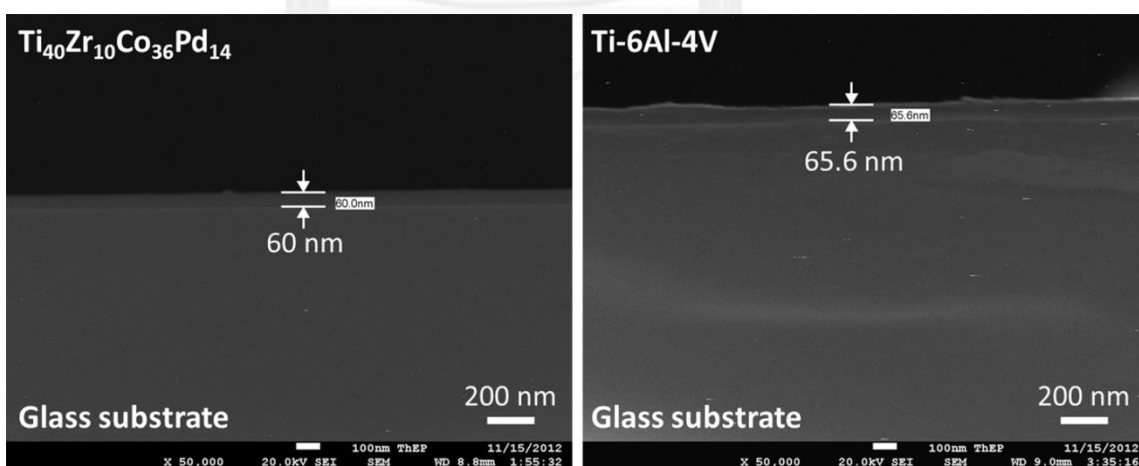
5 mM  $\beta$ -glycerophosphate และ 250nM Dexamethasone) และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไปอีกเป็นเวลา 15 และ 21 วัน หลังจากแต่ละช่วงเวลา ดูดอาหารเซลล์ออกแล้วล้างชิ้นงานด้วยสารละลาย PBS หลังจากนั้นเติมเมทานอลเย็น (cold methanol) แช่ไว้เป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อรักษาโครงสร้างของเซลล์ให้อยู่ในสภาพคงที่และติดแน่นอยู่บนชิ้นงาน แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ เติมสารอะลิซารินเรด (Alizarin red) 370  $\mu$ L/well แช่ทิ้งไว้ประมาณ 2 – 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ รอบจนน้ำกลั่นใส ทิ้งไว้จนชิ้นงานแห้งแล้วนำมาถ่ายรูป การทดสอบการพัฒนาตัวของเซลล์นี้ จะทดสอบบนชิ้นงานควบคุมคู่กับการทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์รูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ที่ใช้เป็นชิ้นงานควบคุม

### 3.4 ผลการทดสอบทางโลหวิทยา

ผลการทดสอบทางโลหวิทยาแบ่งออกเป็น 3 หัวข้อ ดังนี้ ผลการทดสอบความหนาของชั้นฟิล์ม ผลการทดสอบความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบาง และผลการทดสอบหาค่าประกอบทางเคมีบนพื้นผิว

#### 3.4.1 ค่าความหนาของชั้นฟิล์ม

ความหนาของชั้นฟิล์มที่วัดโดยการถ่ายภาพตัดขวางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (FESEM) แสดงดังรูปที่ 3.11 ฟิล์มของชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  มีความหนา 60 นาโนเมตรและฟิล์ม Ti-6Al-4V มีความหนา 65.6 นาโนเมตร โดยความหนาของชั้นฟิล์มนี้แปรผันตามระยะเวลาในการสร้างชั้นฟิล์ม (deposition time) ของกระบวนการสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ



รูปที่ 3.11 ภาพตัดขวางแสดงความหนาของชั้นฟิล์มของชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  และ Ti-6Al-4V

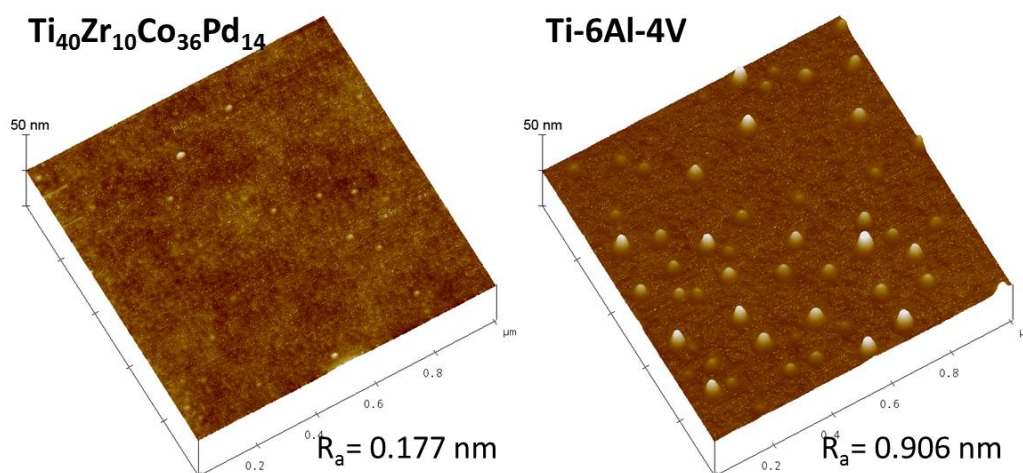


### 3.4.2 ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว

ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิวที่วัดจากกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอร์ซ แสดงดังตารางที่ 3.3 และรูปที่ 3.12 ตามลำดับ โดยพบว่าชิ้นงานทั้งสองมีลักษณะเรียบมากคือมีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิตไม่ถึง 1 นาโนเมตร โดยชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  มีค่าความหยาบผิวต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V อยู่เล็กน้อย คือชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต 0.177 นาโนเมตร ส่วนชิ้นงาน Ti-6Al-4V มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต 0.906 นาโนเมตร ส่วนทรงกลมเล็ก ๆ ที่พบบนผิวฟิล์มของชิ้นงาน Ti-6Al-4V คาดว่าจะเป็นคาร์บอนที่เกิดจากการแกรไฟท์ที่ใช้ในการเตรียมแหล่งกำเนิดพลาสมา ซึ่งเป็นสารปนเปื้อนที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ในกระบวนการสร้างฟิล์มด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ

ตารางที่ 3.3 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ) ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ของชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  และ Ti-6Al-4V

Samples	$R_a$ (nm)	$R_q$ (nm)	$R_t$ (nm)
$\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$	0.177	0.238	3.438
Ti-6Al-4V	0.906	1.928	22.295



รูปที่ 3.12 ลักษณะพื้นผิวฟิล์มของชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่วัดจากกล้องจุลทรรศน์แบบอะตอมมิกฟอร์ซ

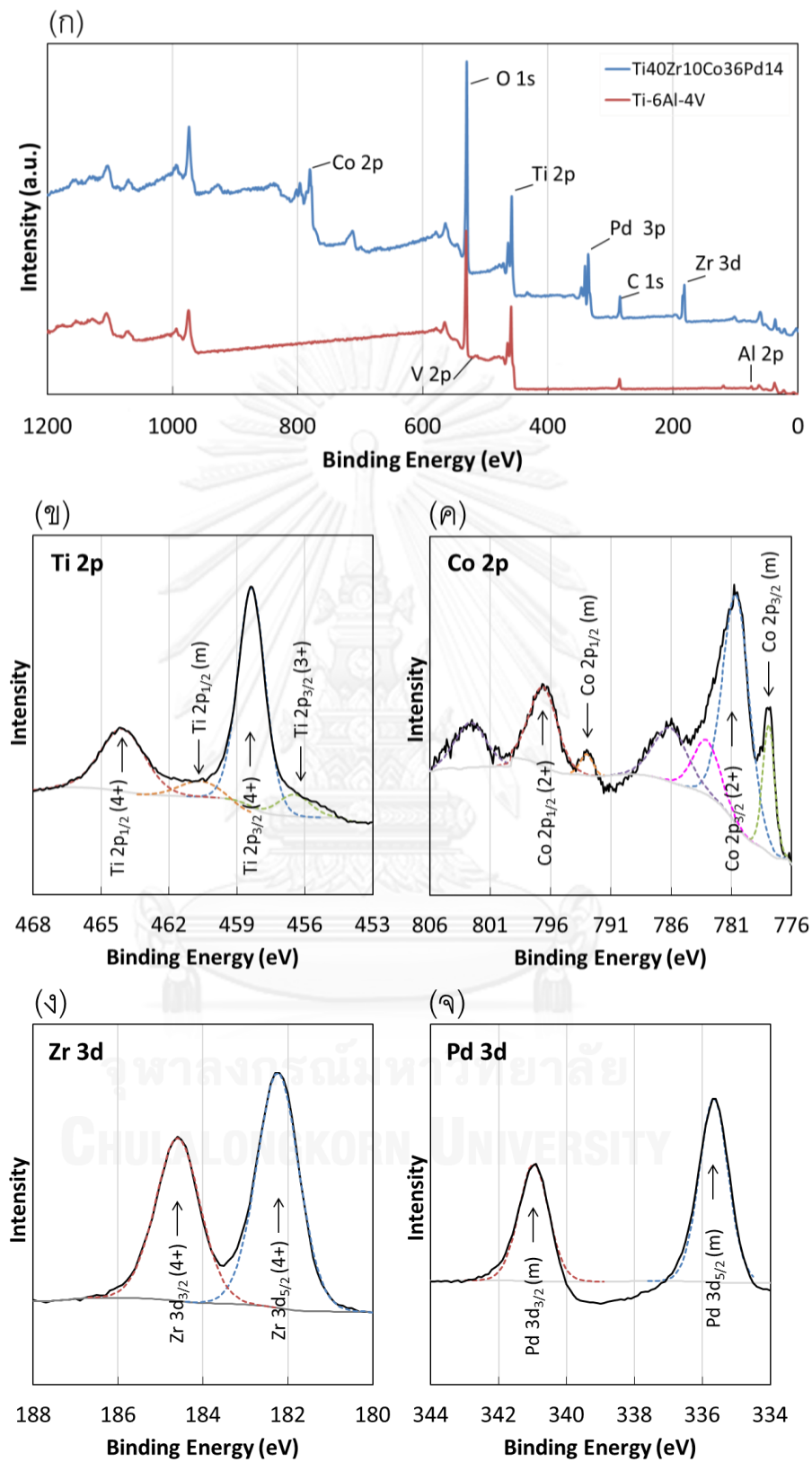
### 3.4.3 องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์ม

องค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (XPS) ดังแสดงในรูปที่ 3.13 โดยรูปที่ 3.13 (ก) แสดง

สเปกตรัมแบบโดยรวม (survey) ซึ่งพบธาตุไทเทเนียม เซอร์โคเนียม โคบอลต์ แพลลาเดียม ออกซิเจนและคาร์บอนในชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และพบธาตุไทเทเนียม วาเนเดียม อลูมิเนียม ออกซิเจนและคาร์บอนในชิ้นงาน Ti-6Al-4V ซึ่งคาร์บอนที่พบจากทั้งสองชิ้นงาน เกิดจากแกรไฟท์ที่ใช้ในการเตรียมแหล่งกำเนิดพลาสมา ซึ่งเป็นสารปนเปื้อนที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ โดยพบที่ระดับพลังงาน (binding energy) ประมาณ 285 eV ส่วนธาตุออกซิเจนที่พบจากสเปกตรัม O 1s เป็นออกซิเจนที่มาจากพันธะ metal-OH-, พันธะ metal-O-metal และ/หรือพันธะของออกซิเจนในน้ำ [33]

ส่วนรูปที่ 3.13 (ข) - (จ) แสดงสเปกตรัมแบบละเอียด (high resolution) ของ Ti 2p, Co 2p, Zr 3d และ Pd 3d ตามลำดับ จากชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  จากรูปที่ 3.13 (ข) สเปกตรัม Ti 2p พบสัญญาณที่ระดับพลังงานเป็นคู่ ได้แก่ Ti 2p<sub>3/2</sub> และ Ti 2p<sub>1/2</sub> เกิดที่ระดับพลังงาน 458.3 และ 464.1 eV ตามลำดับ ซึ่งเป็นสัญญาณที่แสดงสถานะเป็นออกไซด์ของ Ti<sup>4+</sup> นอกจากนี้ ยังมีสัญญาณที่แสดงสถานะเป็นโลหะของไทเทเนียม Ti<sup>0</sup> และออกไซด์ของ Ti<sup>3+</sup> เกิดที่ระดับพลังงาน 460.0 และ 456.4 eV ตามลำดับ จากรูปที่ 3.13 (ค) สเปกตรัม Co 2p พบสัญญาณที่ระดับพลังงานเป็นคู่เช่นเดียวกัน โดยพบ Co 2p<sub>3/2</sub> และ Co 2p<sub>1/2</sub> ที่ระดับพลังงาน 780.6 และ 796.6 eV ตามลำดับ ซึ่งเป็นสัญญาณที่แสดงสถานะเป็นออกไซด์ของ Co<sup>2+</sup> และพบคู่ของ Co 2p<sub>3/2</sub> และ Co 2p<sub>1/2</sub> ที่ระดับพลังงาน 777.9 และ 793.0 eV ตามลำดับ ซึ่งแสดงสถานะเป็นโลหะของโคบอลต์ Co<sup>0</sup> นอกจากนี้ ยังพบสัญญาณที่ระดับพลังงานสูงกว่าคู่ของสัญญาณที่กล่าวมาข้างต้น เรียกลักษณะการเกิดแบบนี้ว่า shake-up ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจาก Co<sup>2+</sup> ที่หมุนในระดับพลังงานที่สูงขึ้น (high-spin state) [34] รูปที่ 3.13 (ง) แสดงสเปกตรัมของ Zr 3d ที่ประกอบด้วยคู่ของ Zr 3d<sub>5/2</sub> and Zr 3d<sub>3/2</sub> ที่ระดับพลังงาน 182.2 และ 184.5 eV ตามลำดับ ซึ่งแสดงสถานะเป็นออกไซด์ของ Zr<sup>4+</sup> และรูปที่ 3.13 (จ) ซึ่งแสดงสเปกตรัมของ Pd 3d ที่ประกอบด้วยคู่ของ Pd 3d<sub>5/2</sub> and Pd 3d<sub>3/2</sub> ที่ระดับพลังงาน 335.6 และ 341.0 eV ตามลำดับ โดยแสดงสถานะเป็นโลหะของแพลลาเดียม Pd<sup>0</sup>

จากรูปที่ 3.13 ทั้งหมด จะพบว่าชิ้นงานประกอบไปด้วยออกไซด์ของธาตุไทเทเนียม เซอร์โคเนียมและโคบอลต์ แต่ไม่พบออกไซด์ของธาตุแพลลาเดียม ซึ่งแนวโน้มการเกิดออกไซด์ดูได้จากค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐาน (Standard Electrode Potential: SEP) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความสามารถในการกลายเป็นออกไซด์ของอะตอมของโลหะ [33] โดยเปรียบเทียบกับค่าไฮโดรเจนอิเล็กโทรดมาตรฐาน (Standard Hydrogen Electrode: SHE) โลหะที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานต่ำจะสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย โดยค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานของธาตุไทเทเนียม เซอร์โคเนียม โคบอลต์และแพลลาเดียม แสดงดังตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.13 สเปกตรัมจากเครื่อง XPS ประกอบด้วย (ก) สเปกตรัมแบบโดยรวมทั้งสองชิ้นงาน และ (ข - จ) สเปกตรัมแบบละเอียด Ti 2p, Co 2p, Zr 3d และ Pd 3d ตามลำดับ



ตารางที่ 3.4 ค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐาน [35]

ธาตุ	ปฏิกิริยา	ศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐาน (V)
ไทเทเนียม	$Ti^{4+} + 4e^- \leftrightarrow Ti(s)$	- 0.88
	$Ti^{3+} + 3e^- \leftrightarrow Ti(s)$	- 1.37
เซอร์โคเนียม	$Zr^{4+} + 4e^- \leftrightarrow Zr(s)$	- 1.45
โคบอลต์	$Co^{2+} + 2e^- \leftrightarrow Co(s)$	- 0.28
แพลลาเดียม	$Pd^{2+} + 2e^- \leftrightarrow Pd(s)$	0.951

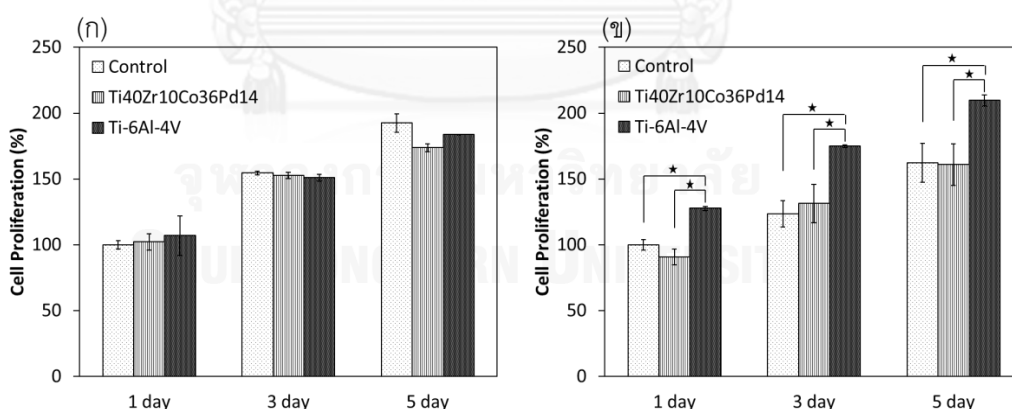
เมื่อฟิล์มของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  สัมผัสโดนอากาศ ไทเทเนียม เซอร์โคเนียม และโคบอลต์ที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานติดลบ จะเกิดชั้นออกไซด์ที่ผิวของชิ้นงาน ดังแสดงให้เห็นจากสเปกตรัมของเครื่องสเปกโตรสโคปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (XPS) (รูปที่ 3.13) ที่พบออกไซด์ของไทเทเนียม ( $Ti^{4+}$ ,  $Ti^{3+}$ ) เซอร์โคเนียม ( $Zr^{4+}$ ) และโคบอลต์ ( $Co^{2+}$ ) แต่ไม่พบออกไซด์ของแพลลาเดียม เพราะแพลลาเดียมมีค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานเป็นบวก ซึ่งมีหลายงานวิจัยที่รายงานผลคล้ายคลึงกัน เช่น การศึกษารัตนโลหะ Zr-Al-Co-Ag [33] และรัตนโลหะ Ti-Zr-Pd-Cu-Sn [36] ที่พบว่าโลหะมีสกุล (noble metals) เช่น เงิน (Ag) และแพลลาเดียม (Pd) จะอยู่ในตำแหน่งที่ต่ำลงไปจากผิววัสดุ ไม่ปรากฏไอออนบนผิวของชั้นฟิล์ม ซึ่งสอดคล้องกับค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานของโลหะมีสกุลเหล่านี้ที่มีค่าสูง

นอกจากนี้ สเปกตรัม Ti 2p ที่แสดงสเปกตรัมของ  $Ti^{4+}$ ,  $Ti^{3+}$  และ  $Ti^0$  ซึ่งสอดคล้องกลับสารประกอบไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide:  $TiO_2$ ), ไทเทเนียมเซสคิออกไซด์ (titanium sesquioxide:  $Ti_2O_3$ ) และอะตอมของไทเทเนียมในสถานะโลหะ (Ti metallic state) แล้ว ยังพบสารประกอบเซอร์โคเนียมไทเทเนียมออกไซด์ ( $Zr_{0.85}Ti_{1.15}O_4$ ) [37] ที่ระดับพลังงาน 464.1 eV อีกด้วย ส่วนสเปกตรัม Co 2p ที่พบสัญญาณ  $Co^{2+}$  และ  $Co^0$  แสดงถึงการมีอยู่ของสารประกอบโคบอลต์โมนอกไซด์ (cobalt monoxide: CoO) และอะตอมของโคบอลต์ในสถานะโลหะตามลำดับ แม้ว่า  $Ti^{4+}$  และ  $Co^{2+}$  สามารถเกิดเป็นสารประกอบโคบอลต์ไทเทเนียมออกไซด์ (Cobalt titanium oxide:  $CoTiO_3$ ) ได้ แต่บนผิวของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  นี้ก็ไม่พบสารประกอบดังกล่าว พบแต่สารประกอบเซอร์โคเนียมไทเทเนียมออกไซด์ อาจเนื่องมาจากค่าศักย์ไฟฟ้าอิเล็กโทรดมาตรฐานระหว่างไทเทเนียมและเซอร์โคเนียมมีค่าใกล้เคียงกันมากกว่าไทเทเนียมและโคบอลต์

### 3.5 ผลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย

การทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) และการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์ SaOS-2 และเซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ชิ้นงาน Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม แสดงดังรูปที่ 3.14 โดยวัดด้วยวิธี MTT ซึ่งเป็นวิธีการวัดด้วยการดูการเปลี่ยนแปลงของสี โดยมีหลักการว่า สารประกอบเกลือเตตราโซเลียม (tetrazolium salts) ในสารละลายเอ็มทีทีซึ่งมีสีเหลือง จะถูกรีดิวซ์โดยเอนไซม์ ไมโทคอนเดรีย ดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) ให้กลายเป็นสารฟอร์มazan (formazan) ซึ่งมีสีม่วง สารฟอร์มazan นี้ จะถูกทำลายได้ด้วยตัวทำละลายออร์แกนิก (organic solvent) และนำไปวัดปริมาณของสารฟอร์มazanที่เกิดขึ้น โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรนั้น ค่าที่วัดได้จะบ่งชี้ถึงจำนวนของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ เนื่องจากเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส จะทำงานเฉพาะในเซลล์ที่มีกิจกรรมเมตาบอลิก (metabolic activity) เท่านั้น

ภายหลังจากทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ลงบนชิ้นงานทั้งหมดเป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชิ้นงานทั้งสองชนิด คือ  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V กับชิ้นงานควบคุม แสดงให้เห็นว่าชิ้นงานทั้งสองชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้ง SaOS-2 (รูปที่ 3.14 (ก)) และ MC3T3-E1 (รูปที่ 3.14 (ข)) ในทั้งสามช่วงเวลาที่เหมาะสม คือ ที่ 1, 3 และ 5 วัน กล่าวคือเซลล์ทั้งสองชนิดสามารถเติบโตและเพิ่มจำนวนบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เทียบเท่ากับชิ้นงานควบคุม แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า เซลล์ MC3T3-E1 เมื่อเลี้ยงบนชิ้นงาน Ti-6Al-4V จะมีจำนวนเซลล์เพิ่มมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เลี้ยงบน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  อย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 3.14 ผลการทดสอบการเพิ่มจำนวนเซลล์ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ของ (ก) เซลล์ SaOS-2 และ (ข) เซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ , Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม กราฟจะแสดงเป็นร้อยละของวันที่ 1 ของชิ้นงานควบคุม และแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่า  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติคือ  $*p < 0.05$

แม้ว่าจะเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายว่าโคบอลต์เป็นธาตุที่มีพิษ แต่ก็มี การนำโคบอลต์ไปทำเป็นวัสดุชีวภาพ เช่น โลหะผสมที่มีโคบอลต์และโครเมียมเป็นหลัก (cobalt-chrome-based alloys) แต่ในช่วงปัจจุบัน มีนักวิจัยหลายกลุ่มที่พัฒนารัตนโลหะสูตรใหม่ ๆ โดยการใส่โคบอลต์ลงไป เพื่อใช้ทางการแพทย์ เช่น Takeshi Wada และคณะ [38] ได้ศึกษาคุณลักษณะทางโลหะและผลทางชีวภาพของรัตนโลหะกลุ่มเซอร์โคเนียม - อลูมิเนียม - โคบอลต์ (Zr-Al-Co BMGs) โดยได้ศึกษาการปลดปล่อยโคบอลต์ไอออนของรัตนโลหะ  $Zr_{56}Al_{16}Co_{28}$  เทียบกับโลหะผสมโคบอลต์ - โครเมียม - โมลิบดีนัม ( $Co_{65.1}Cr_{31.3}Mo_{3.6}$  at.%) โดยการแช่ชิ้นงานในสารละลายเกลือแบบสมดุลของแฮงส์ (Hanks' Balanced Salt Solution, HBSS) จำนวน 10 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 310 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน Wada และคณะพบว่าโคบอลต์ไอออนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากรัตนโลหะ  $Zr_{56}Al_{16}Co_{28}$  มีค่าน้อยกว่าโคบอลต์ไอออนที่ถูกปลดปล่อยจากโลหะผสมโคบอลต์ - โครเมียม - โมลิบดีนัมอย่างมีนัยสำคัญ คือรัตนโลหะกลุ่มเซอร์โคเนียม - อลูมิเนียม - โคบอลต์ ปลดปล่อยโคบอลต์ไอออน  $0.3 \text{ ng/mm}^2$  ส่วนโลหะผสมโคบอลต์ - โครเมียม - โมลิบดีนัมปลดปล่อยโคบอลต์ไอออน  $5.8 \text{ ng/mm}^2$

เนื่องจากรัตนโลหะมีลักษณะโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (amorphous) ที่ไม่พบความไม่สมบูรณ์ของผลึก (crystallographic defects) เช่น ดิสโลเคชัน (dislocation) และขอบเกรน (grain boundary) เป็นต้น ทำให้การกัดกร่อนเฉพาะจุดที่มักเกิดขึ้นบริเวณขอบเกรนในวัสดุที่มีโครงสร้างแบบผลึกมีน้อยลง การไม่พบความไม่สมบูรณ์ของผลึกในรัตนโลหะนี้ จึงช่วยอธิบายการลดอย่างมีนัยสำคัญของโคบอลต์ไอออนได้ จึงสามารถสรุปได้ว่า การไม่พบความเป็นพิษของฟิล์ม  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ต่อเซลล์ SaOS-2 และเซลล์ MC3T3-E1 เป็นสิ่งที่ช่วยยืนยันความไม่เป็นพิษของโคบอลต์ไอออนในรัตนโลหะ

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อ [8] ได้แก่ การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (*in-vitro*) และการทดสอบกับสัตว์ทดลอง (*in-vivo*) โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการจะประกอบไปด้วยการทดสอบความเป็นพิษและการทดสอบพฤติกรรมของเซลล์ ในขณะที่การทดสอบกับสัตว์ทดลอง เป็นการทดสอบความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและการทดสอบ

- (ก) ความไวต่อสิ่งรบกวนและการระคายเคือง (sensitization, irritation)
- (ข) การออกฤทธิ์ทั่วร่างกาย (systemic) ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังและเรื้อรัง (subchronic, and chronic toxicity)
- (ค) การก่อมะเร็ง (carcinogenicity)
- (ง) ความเป็นพิษต่อพันธุกรรม (genotoxicity)
- (จ) ผลกระทบต่อเลือดในร่างกาย (hemocompatibility)
- (ฉ) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (immune responses)

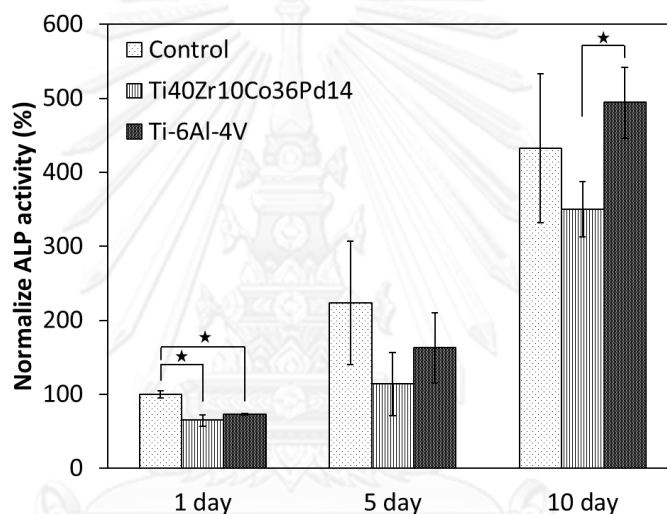
ตัวแปรหลักที่ช่วยพัฒนาการตอบสนองของเซลล์ (เช่น การยึดเกาะของเซลล์ การเพิ่มจำนวนเซลล์และลักษณะโครงสร้างของเซลล์) ได้แก่ ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว [39] โดยมีการศึกษาว่าความหยาบผิวระดับนาโนเมตรช่วยเพิ่มความสามารถในการยึดเกาะและเพิ่มจำนวนเซลล์ [39-42] P.K.C. Venkatsurya และคณะ [39] ศึกษาผลของพื้นผิวที่มีความหยาบระดับนาโนเมตร (nanogained/ultrafine-grained: NG/UFG) ต่อพฤติกรรมของเซลล์ โดยใช้กระบวนการกัดกรดทางไฟฟ้าเคมี (electrochemical etching) ทำให้ผิวของเหล็กกล้าไร้สนิมมีความหยาบในระดับนาโนเมตร แล้วนำชิ้นงานไปทดสอบเพาะเลี้ยงเซลล์ Venkatsurya และคณะพบว่าพื้นผิวที่มีความหยาบระดับนาโนเมตร ช่วยให้เซลล์สร้างกระดูกมีการยึดเกาะที่ดีขึ้น รวมทั้งทำให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ดีขึ้นเมื่อเทียบกับชิ้นงานที่มีผิวหยาบกว่า (coarse-grained) เนื่องจากร่องเล็ก ๆ ของพื้นผิวที่มีความหยาบระดับนาโนช่วยเพิ่มความหยาบผิว ส่งผลให้เพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสและเพิ่มการยึดเกาะทางกล (mechanical inter-locking) ของเซลล์

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่คล้ายคลึงกันของ S.K. Kim และคณะ [42] ที่ศึกษาพฤติกรรมของเซลล์ต่อฟิล์มบางไทเทเนียม (Ti), โครเมียมไนไตรด์ (CrN) และโครเมียมอลูมิเนียมซิลิกอนไนไตรด์ (CrAlSiN) ที่สร้างจากวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (FCVA) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซลล์สามารถยึดเกาะบนฟิล์มบางโครเมียมอลูมิเนียมซิลิกอนไนไตรด์ได้ดีกว่าฟิล์มบางชนิดอื่น ซึ่งอาจเป็นเพราะฟิล์มบางโครเมียมอลูมิเนียมซิลิกอนไนไตรด์มีค่าความหยาบผิว (1.086 นาโนเมตร) สูงกว่าฟิล์มบางไทเทเนียม (0.287 นาโนเมตร) และฟิล์มบางโครเมียมไนไตรด์ (0.725 นาโนเมตร)

ในการทดลองนี้ ฟิล์มของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.177 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าฟิล์มของชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยอยู่ที่ 0.907 นาโนเมตร ความแตกต่างของความหยาบผิวของชิ้นงานทั้งสองในการศึกษาครั้งนี้ จึงเป็นหนึ่งในเหตุผลที่ช่วยอธิบายผลการทดลองพฤติกรรมของเซลล์ต่อชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่พบว่าการเพิ่มจำนวนและการพัฒนาตัวของเซลล์ MC3T3-E1 บนฟิล์ม  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ดีกว่าบนฟิล์ม Ti-6Al-4V

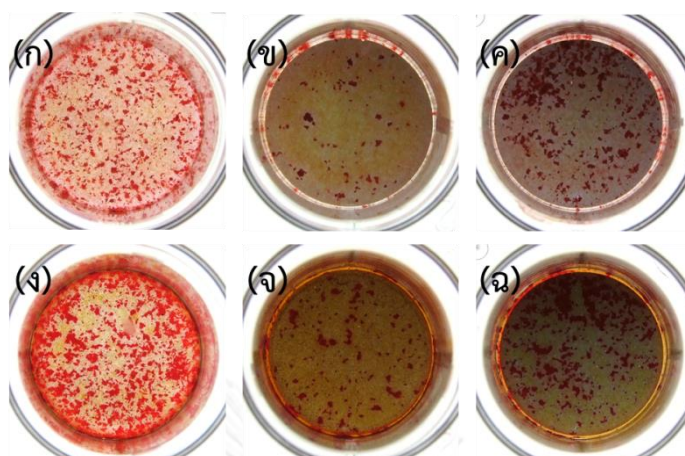
เอนไซม์อัลคาไลด์ฟอสฟาเตสเป็นเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในเซลล์ที่สามารถแปรสภาพเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็ง และระดับการแสดงออกจะเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่กระบวนการแปรสภาพ ดังนั้น การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์อัลคาไลด์ฟอสฟาเตสจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงการพัฒนาตัวของเซลล์สร้างกระดูก (Osteoblast) รวมไปถึงการสะสมแร่ธาตุ (mineralization) [43] ในการศึกษาการพัฒนาตัวของเซลล์ MC3T3-E1 ซึ่งเป็นเซลล์อ่อนของเซลล์สร้างกระดูกของหนู (pre-osteoblast cell) บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ชิ้นงาน Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม แสดงดังรูปที่ 3.15 ซึ่งพบว่าเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงบนชิ้นงานทั้งสามมีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเวลา แสดงให้เห็นว่าเซลล์ MC3T3-E1 สามารถพัฒนาตัวบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ได้อย่างปกติ (ภายในระยะเวลาการ

ทดลอง 10 วัน) แต่ทั้งนี้ การที่ระดับของเอนไซม์ของเซลล์บน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เพิ่มขึ้นน้อยกว่าอีกสองกลุ่ม แม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชิ้นงานควบคุมก็ตาม ในประการแรก อาจเกิดจากการที่เซลล์บน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ยังสามารถแบ่งตัวได้อยู่ จึงยังไม่เข้าสู่กระบวนการแปรสภาพ ซึ่งการทดลองครั้งนี้ ตรวจสอบเป็นเวลาเพียง 10 วัน การตรวจสอบความเป็นไปได้ในส่วนนี้จึงอาจจะต้องตรวจสอบในระยะเวลาที่นานขึ้น นอกจากนี้ การที่จำนวนเอนไซม์อัลคาไลด์ฟอสฟาเตสบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับจำนวนเอนไซม์อัลคาไลด์ฟอสฟาเตสบนชิ้นงาน Ti-6Al-4V อาจเกิดจากความแตกต่างของความหยาบผิวที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น ซึ่งจะต้องมีการทดลองยืนยันต่อไป



รูปที่ 3.15 ผลการทดสอบการพัฒนารูปร่างของเซลล์ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ของเซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$ , Ti-6Al-4V และชิ้นงานควบคุม กราฟจะแสดงเป็นร้อยละของวันที่ 1 ของชิ้นงานควบคุม และแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่า  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติคือ  $*p < 0.05$

ผลการทดสอบการสะสมแร่ธาตุ ที่ได้จากการย้อมด้วยสารอะลิซารินเรด (Alizarin red) ที่มีสีแดง เพื่อดูปริมาณแคลเซียมที่เกิดจากการพัฒนารูปร่างของเซลล์ MC3E3-E1 ที่ทดสอบเป็นเวลา 15 และ 21 วัน แสดงไว้ในรูปที่ 3.16 โดยพบว่าชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีปริมาณแคลเซียมน้อยกว่าชิ้นงานควบคุมและชิ้นงาน Ti-6Al-4V ทั้ง 2 ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการพัฒนารูปร่างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่แสดงไว้ในรูปที่ 3.15 แต่ทั้งนี้ ปริมาณแคลเซียมบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ก็มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเวลา แสดงให้เห็นว่าเซลล์ MC3T3-E1 บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ยังสามารถสะสมแร่ธาตุได้ตามปกติ



รูปที่ 3.16 ผลการทดสอบการสะสมแร่ธาตุ ที่ได้จากการย้อมด้วยสารอะลิซารินเรด (Alizarin red) เพื่อดูปริมาณแคลเซียมที่เกิดจากการพัฒนาตัวของเซลล์ MC3E3-E1 ที่ทดสอบเป็นเวลา 15 วันบน (ก) ชั้นงานควบคุม (ข) ชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  (ค) ชั้นงาน Ti-6Al-4V และทดสอบเป็นเวลา 21 วันบน (ง) ชั้นงานควบคุม (จ) ชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ (ฉ) ชั้นงาน Ti-6Al-4V

จากผลการทดลองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า ชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ไม่แสดงความเป็นพิษ โดยเซลล์ทั้งสองชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีบนชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เมื่อเทียบกับเวลา และเมื่อพิจารณาการเพิ่มจำนวนของเซลล์บนชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เซลล์ SaOS-2 สามารถเจริญเติบโตได้ดีเทียบเท่ากับชั้นงาน Ti-6Al-4V แต่เซลล์ MC3T3-E1 มีการเพิ่มจำนวนเซลล์และพัฒนาตัวของเซลล์รวมทั้งมีการสะสมแร่ธาตุบนชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ได้ช้ากว่าบนชั้นงาน Ti-6Al-4V แต่ทั้งนี้ ก็ยังสามารถสรุปได้ว่าชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย

## บทที่ 4

### ผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีการปรับปรุงและพัฒนาให้รากฟันเทียมยึดเกาะกับกระดูก (Osseointegration) ให้ดีขึ้น โดยงานวิจัยจำนวนมากได้เสนอว่าความหยาบผิว (surface roughness) เป็นหนึ่งในสาเหตุหลักที่มีผลต่อการยึดเกาะกันระหว่างกระดูกกับรากฟันเทียม [13, 14] ในบทนี้ จึงเป็นการศึกษาผลของความหยาบผิวของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (ที่ได้ศึกษาความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายจากในบทที่ 3 มาแล้ว) ต่อพฤติกรรมของเซลล์ ซึ่งจะทดสอบกับเซลล์ MC3T3-E1 ซึ่งเป็นเซลล์อ่อนของเซลล์สร้างกระดูกของหนู (pre-osteoblast cell) ที่สามารถถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast cell) ได้ดี โดยเริ่มต้นตั้งแต่การเตรียมชิ้นงาน วิธีการทดสอบและผลการทดสอบทั้งด้านโลหะวิทยาและการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยจะใช้วิธีการพ่นขัดผิวในการสร้างความหยาบผิวให้แก่ชิ้นงาน เนื่องจากการพ่นขัดผิวเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อนและสามารถให้ลักษณะพื้นผิวหลายรูปแบบ

#### 4.1 การเตรียมชิ้นงาน

การเตรียมชิ้นงานเพื่อศึกษาผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์นั้น แบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก ๆ ได้แก่ การสร้างชิ้นงานให้มีรูปร่างเป็นเหรียญ และการพ่นขัดผิวด้วยผงอะลูมินา (alumina:  $Al_2O_3$ ) ขนาดต่าง ๆ เพื่อให้ได้ชิ้นงานที่มีความหยาบแตกต่างกัน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

##### 4.1.1 การสร้างชิ้นงานให้เป็นรูปเหรียญ

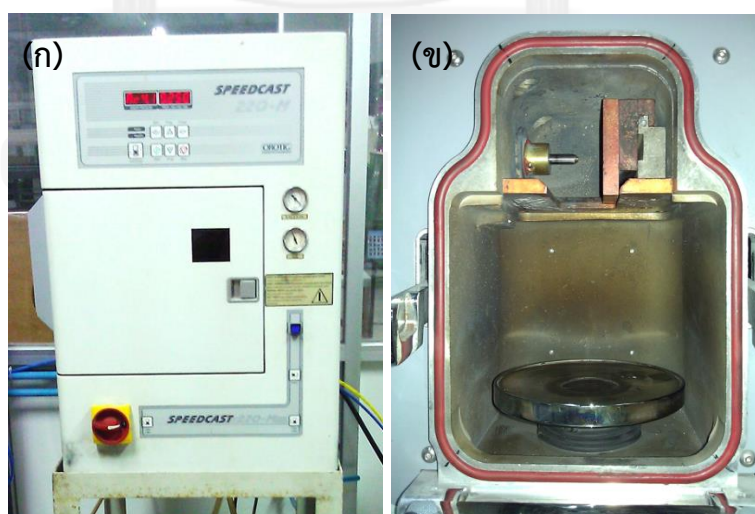
ชิ้นงานที่ใช้ในการทดสอบจะต้องมีความหนาเพียงพอสำหรับกระบวนการพ่นขัดผิว แต่ยังคงมีลักษณะที่เอื้อต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ ชิ้นงานที่ใช้ทดสอบนี้จึงกำหนดให้มีรูปร่างเป็นรูปเหรียญ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร หนาประมาณ 1 มิลลิเมตร โดยใช้เครื่องอาร์คสลุญญากาศแบบเหวี่ยง (Arc tilt melting furnace) แล้วให้ชิ้นงานเย็นในแม่พิมพ์ทองแดง มีรายละเอียดดังนี้

1. เริ่มต้นเตรียมชิ้นงานเหมือนชิ้นงานในบทที่ 3 คือตัดธาตุไทเทเนียม (Ti) เซอร์โคเนียม (Zr) และโคบอลต์ (Co) ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปล้างด้วยอะซิโตนและเอทิลแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก จากนั้นนำไปชั่ง ตามส่วนผสมทางเคมีในรูปร้อยละโดยจำนวนอะตอม (at%) ดังตารางที่ 3.1 โดยให้ส่วนผสมรวมมีน้ำหนักมากกว่าหรือเท่ากับ 8 กรัม ส่วนแพลลาเดียม (Pd) มีลักษณะเป็นผง จึงต้องนำไปชั่งแล้วนำไปอัดเป็นก้อน ดังรูปที่ 3.1

2. นำส่วนผสมทางเคมีที่ชั่งได้มาหลอมรวมกันให้เป็นก้อนเดียว โดยใช้เตาอาร์คสลุญญากาศ อาร์คซ้ำ 3 – 4 รอบ รอบละ 1 นาที เพื่อให้ธาตุต่าง ๆ หลอมรวมเป็นเนื้อเดียวกัน

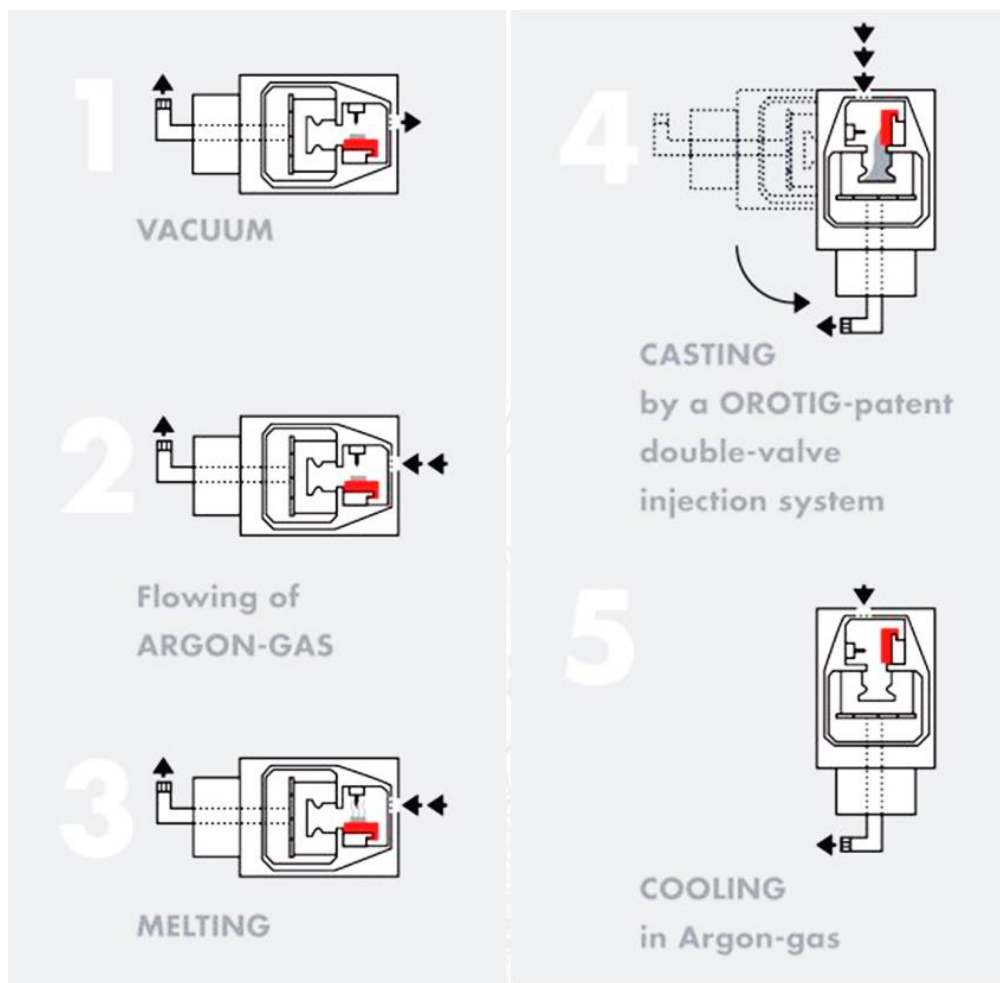
3. นำไปหล่อขึ้นรูปให้เป็นรูปเหรียญ เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร หนา 1 มิลลิเมตร โดยใช้เตาอาร์คสูญญากาศแบบเหวี่ยง (Arc tilt melting furnace: OROTIG Speedcast 220-M) (รูปที่ 4.1) ที่มีหลักการทำงานดังรูปที่ 4.2 โดยหล่อขึ้นรูปชิ้นงาน มีขั้นตอนดังนี้

- เตรียมแม่พิมพ์ทองแดงแบบแยก ให้มีรูปร่างเป็นเหรียญที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร หนา 1 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.3 (ก)
- นำแม่พิมพ์ทองแดงมาติดตั้งในเตาอาร์คสูญญากาศแบบเหวี่ยง โดยกะระยะให้ตรงกับกึ่งกลางของฐานรองอาร์คในเตา แล้วกด Grip lifter เพื่อยึดแม่พิมพ์ทองแดงไว้ให้แน่น
- กดปุ่ม Horiz บนเครื่องเพื่อเอียงแม่พิมพ์ทองแดงให้มาอยู่ในแนวนอน จากนั้นนำก้อนขึ้นงานที่ได้จากเตาอาร์คสูญญากาศมาวางบนฐานทองแดงสำหรับอาร์ค และปรับระดับแท่งทั้งสแตนให้อยู่สูงจากชิ้นงาน 5 - 8 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.3 (ข)
- ปิดฝาเตาแล้วดูอากาศออก จนได้ความดันประมาณ -1 บาร์ จึงเติมก๊าซอาร์กอนจนเต็มเตา แล้วดูคิกอาร์กอนออก ทำซ้ำ 2 รอบเพื่อกำจัดออกซิเจนออกให้ได้มากที่สุด
- ในการเติมก๊าซอาร์กอนรอบสุดท้าย ให้อาร์กขึ้นงานเป็นระยะเวลา 15 วินาที แล้วกดปุ่ม Vert./Cast. ทันที เพื่อเทน้ำโลหะหลอมเหลวลงแม่พิมพ์ทองแดงอย่างรวดเร็ว ในระหว่างนี้ให้เติมก๊าซอาร์กอนเพื่อทำให้ชิ้นงานเย็นตัวลง เมื่อชิ้นงานเย็นตัวแล้ว จะได้ชิ้นงานดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.1 (ก) ภายนอกและ (ข) ภายในเครื่องอาร์คสูญญากาศแบบเหวี่ยง(Arc tilt melting furnace)





รูปที่ 4.2 ขั้นตอนการทำงานของเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยง [44]



รูปที่ 4.3 (ก) แม่พิมพ์ทองแดงแบบแยกที่ใช้สร้างชิ้นงานทรงเหรียญด้วยเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยงและ (ข) การวางก้อนชิ้นงานและแม่พิมพ์ทองแดงแบบแยกภายในเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยง

4. นำชิ้นงานที่ได้จากการขึ้นรูปด้วยเตาอาร์คสุญญากาศแบบเหวี่ยงไปตัดทางน้ำโลหะส่วนที่เกินออกด้วยเครื่องตัดละเอียด (Struers Accutom-5) ใช้ความเร็วรอบการตัด 1000 รอบต่อนาที เคลื่อนชิ้นงานเข้าหาใบมีด 0.005 มิลลิเมตรต่อวินาที จะได้ชิ้นงานตามรูปที่ 4.4 ทั้งนี้ได้นำแท่งโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร มาตัดให้เป็นเหรียญที่มีความหนา 1 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องตัดละเอียดเช่นกัน เพื่อใช้เป็นชิ้นงานเปรียบเทียบ



รูปที่ 4.4 ชิ้นงานก่อนและหลังการขึ้นรูปให้เป็นเหรียญ

#### 4.1.2 การพ่นขัดผิวชิ้นงาน

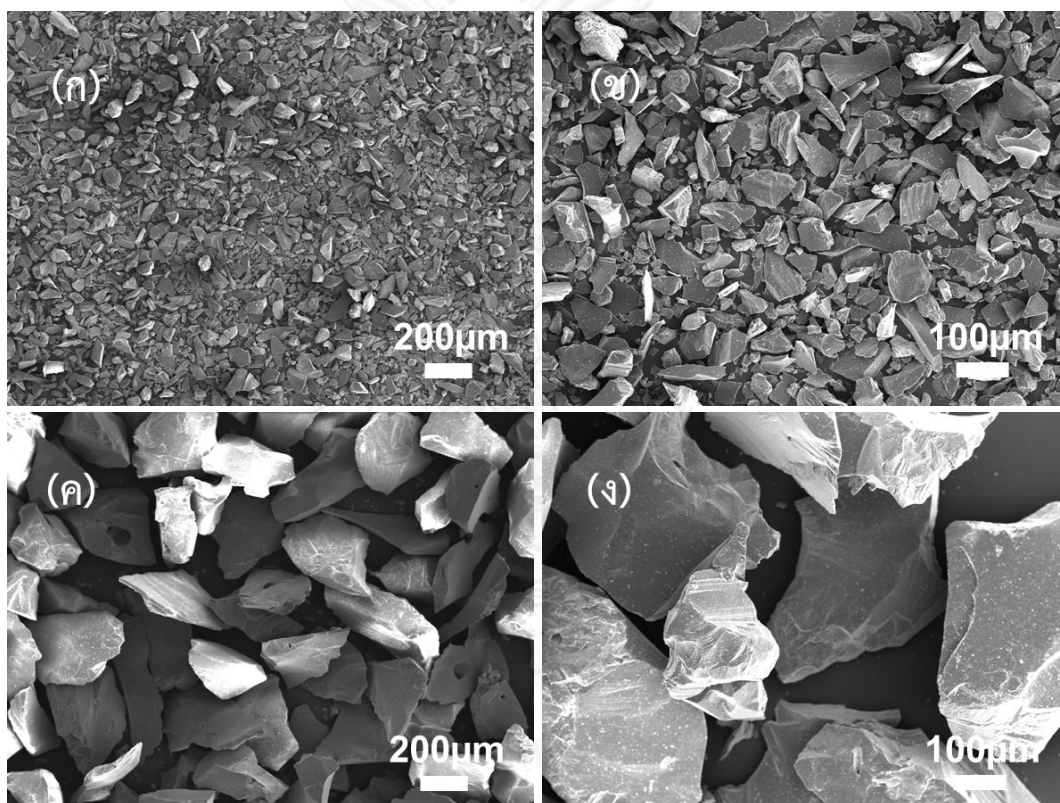
ก่อนนำชิ้นงานมาพ่นขัดผิว จะขัดชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ด้วยกระดาษทรายตั้งแต่เบอร์ 240, 400, 600, 800, 1000, 1500 จนถึงเบอร์ 2000 แล้วนำไปล้างด้วยอะซิโตนและเอทิลแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิค (Ultrasonic) จากนั้นนำชิ้นงานมาพ่นขัดผิว (blasting) ด้วยเครื่องพ่นขัดผิวรูปที่ 4.6 (ก) โดยใช้ผงอะลูมินา (alumina:  $Al_2O_3$ ) ขนาด 50 ไมโครเมตร และ 250 ไมโครเมตร ดังรูปที่ 4.5 ใช้ความดันในการพ่น 3 บาร์ หัวพ่นทำมุมกับชิ้นงาน 90 องศา ระยะห่างระหว่างชิ้นงานและหัวพ่น 9 เซนติเมตร ดังรูปที่ 4.6 (ข) และพ่นเป็นระยะเวลา 1 นาทีต่อ 1 ชิ้นงาน โดยชิ้นงานทั้งหมดถูกแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ชิ้นงาน ได้แก่

- 1) TiMG-untreated คือชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ขัดกระดาษทรายเท่านั้น ใช้เป็นชิ้นงานควบคุม
- 2) TiMG-50 คือชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ขัดกระดาษทรายและนำมาพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 ไมโครเมตร
- 3) TiMG-250 คือชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ขัดกระดาษทรายและนำมาพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 250 ไมโครเมตร
- 4) Ti64-untreated คือชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ขัดกระดาษทรายเท่านั้น ใช้เป็นชิ้นงานควบคุม

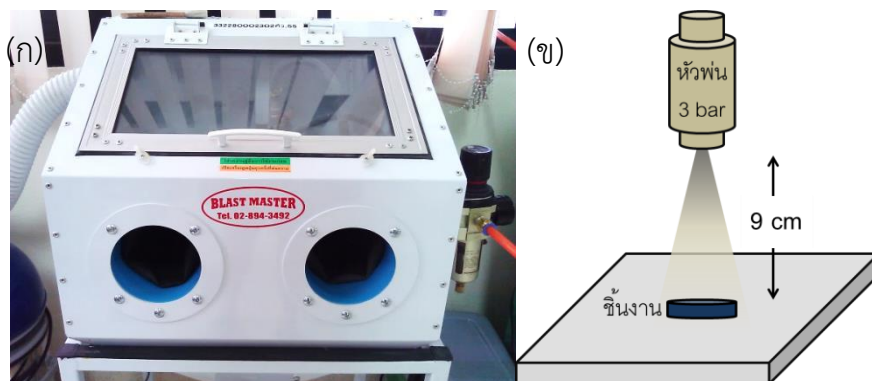
5) Ti64-50 คือชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ขัดกระดาษทรายและนำมาพ่นขัดผิวด้วย อะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 ไมโครเมตร

6) Ti64-250 คือชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ขัดกระดาษทรายและนำมาพ่นขัดผิวด้วย อะลูมินาขนาดเฉลี่ย 250 ไมโครเมตร

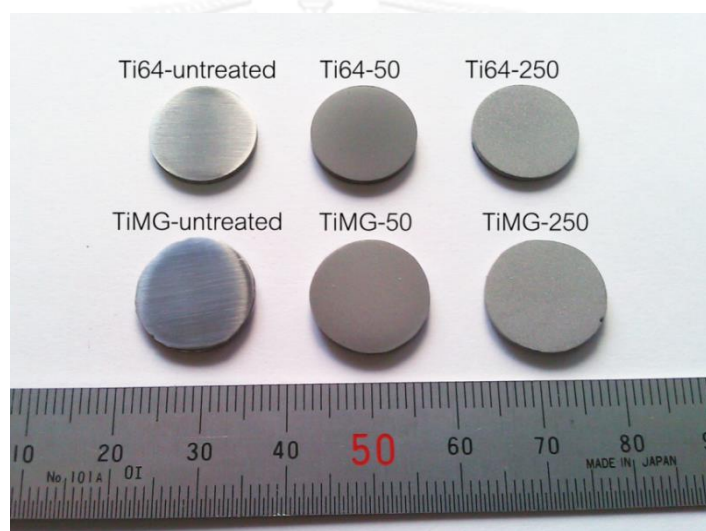
หลังจากการพ่นขัดผิว นำชิ้นงานไปล้างด้วยอะซิโตนและเอทิลแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง อัลตราโซนิค (Ultrasonic) ขั้นตอนละ 5 นาที เพื่อทำความสะอาดและกำจัดผงอะลูมินาที่ติดที่ผิว ของชิ้นงาน ตัวอย่างชิ้นงานทั้ง 6 กลุ่ม แสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.5 ผงขัดอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 ไมโครเมตรที่ (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูงและผงขัด อะลูมินาขนาดเฉลี่ย 250 ไมโครเมตรที่ (ค) กำลังขยายต่ำ (ง) กำลังขยายสูง



รูปที่ 4.6 (ก) เครื่องพ่นขัดผิวและ (ข) แบบจำลองการพ่นขัดผิวชิ้นงาน



รูปที่ 4.7 ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ  $Ti-6Al-4V$  ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วย อะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

## 4.2 วิธีการทดสอบทางโลหวิทยา

การทดสอบทางโลหวิทยาจะเน้นที่การทดสอบทางพื้นผิว โดยแบ่งออกเป็น 3 หัวข้อ ดังนี้ การทดสอบความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว การวัดค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ส (Vicker's hardness) และการทดสอบความสามารถในการเปียก (Wettability)

### 4.2.1 ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว

ความหยาบผิวของชิ้นงานทั้ง 6 กลุ่ม ทดสอบโดยใช้เครื่องวัดความหยาบผิว (surface profilometer) รุ่น Talyscan 150 ดังรูปที่ 4.8 โดยวัดเป็นพื้นที่  $500 \times 500 \mu m^2$  ใช้ความเร็วในการสแกน  $400 \mu m/s$  ใช้ระยะห่างในแนวนอน  $0.5 \mu m$  และระยะห่างในแนวตั้ง  $5 \mu m$  โดยวัดค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (Roughness average:  $R_a$ ) ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง

(Roughness root mean square:  $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม (Roughness total height:  $R_t$ ) นอกจากนี้ การทดสอบด้วยเครื่องวัดความหยาบผิว จะได้ภาพสามมิติเพื่อแสดงลักษณะพื้นผิวของชิ้นงานทั้งหมดด้วย รวมทั้ง มีการตรวจสอบพื้นผิวของชิ้นงานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) รุ่น JOEL JSM-6400 โดยใช้โหมดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron: SE) เพื่อดูลักษณะพื้นผิวของชิ้นงาน และใช้โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (back scattered electron: BSE) เพื่อตรวจสอบดูการฝังตัวของอนุภาคผงขัดบนพื้นผิวชิ้นงาน โดยคิดเป็นร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน (percentage of embedded particle: EP%)



รูปที่ 4.8 เครื่องวัดความหยาบผิว (surface profilometer) รุ่น Talyscan 150

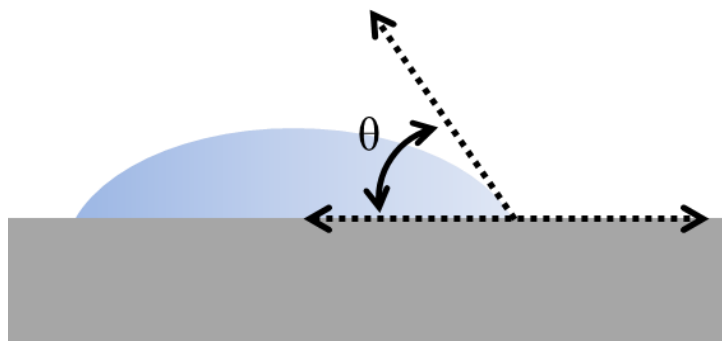
#### 4.2.2 ค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ส (Vicker's hardness)

วัดค่าความแข็งแบบวิกเกอร์สโดยใช้เครื่องทดสอบความแข็งผิวระดับไมโครเมตร (micro-hardness tester) รุ่น FM-700e Type D ของบริษัท Future-Tech โดยใช้น้ำหนัก 500 กรัม ใช้เวลาในการกด 15 วินาที และกดเป็นจำนวน 10 ครั้งต่อชิ้นงาน

#### 4.2.3 ความสามารถในการเปียก (Wettability)

ความสามารถในการเปียกของชิ้นงาน ดูจากค่ามุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างชิ้นงานและน้ำ โดยใช้วิธี sessile drop ด้วยเครื่อง DM-CE1 ของบริษัท Kyowa โดยใช้หลอดฉีดยาระดับไมโครเมตร (micrometric syringe) หยดน้ำปริมาณ 1 ไมโครลิตรลงบนผิวของชิ้นงานที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดมุมสัมผัส (contact angle) ซึ่งคือมุมระหว่างพื้นผิวของวัสดุกับเส้นสัมผัสที่มุมของหยดของเหลวที่ไม่เคลื่อนที่บนพื้นผิวของวัสดุ ดังรูปที่ 4.9 ทดสอบเป็นจำนวน 5 ครั้งต่อชิ้นงาน





รูปที่ 4.9 การวัดมุมสัมผัส

### 4.3 วิธีการทดสอบผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์

ในการทดสอบผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์ในบทรนี้ เป็นการดูรูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่เลี้ยงบนชิ้นงานที่มีความหยาบผิวแตกต่างกัน โดยใช้วิธีการย้อมดูแอกตินฟิลาเมนต์ (actin filaments) และนิวเคลียส โดยเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบคือเซลล์ MC3T3-E1 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

#### 4.1 ชนิดของเซลล์

เซลล์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เซลล์ไลน์ที่ชื่อว่า MC3T3-E1 ซึ่งเป็นเซลล์อ่อนของเซลล์สร้างกระดูกของหนู (pre-osteoblast cell) แต่สามารถถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast cell) ได้ดี โดยเซลล์จะถูกเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 60 มิลลิเมตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์คือ  $\alpha$ -MEM ( $\alpha$ -Minimum Essential Medium Eagle) ที่เติมเซรัม FBS (fetal bovine serum) ร้อยละ 10, กลูตามีน (glutamine), เพนนิซิลิน (penicillin), สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) และแอมโฟเทอริซิน-บี (amphotericin B) เซลล์จะถูกเลี้ยงอยู่ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละร้อย และมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศร้อยละ 5 เมื่อเซลล์เจริญจนเต็มพื้นที่ในจานเลี้ยงเซลล์ จะมีการถ่ายเซลล์ไปยังจานเลี้ยงเซลล์ใหม่ โดยการใช้ทริปซิน (trypsin) เพื่อทำให้เซลล์หลุดออกจากพื้นจานเลี้ยงเซลล์ และเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 2 – 3 วัน โดยชิ้นงานทั้งหมดที่ใช้ จะต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยการอบไอน้ำภายใต้ความดันสูง (autoclave) ก่อนนำมาทดสอบ

#### 4.2 ลักษณะโครงสร้างของเซลล์

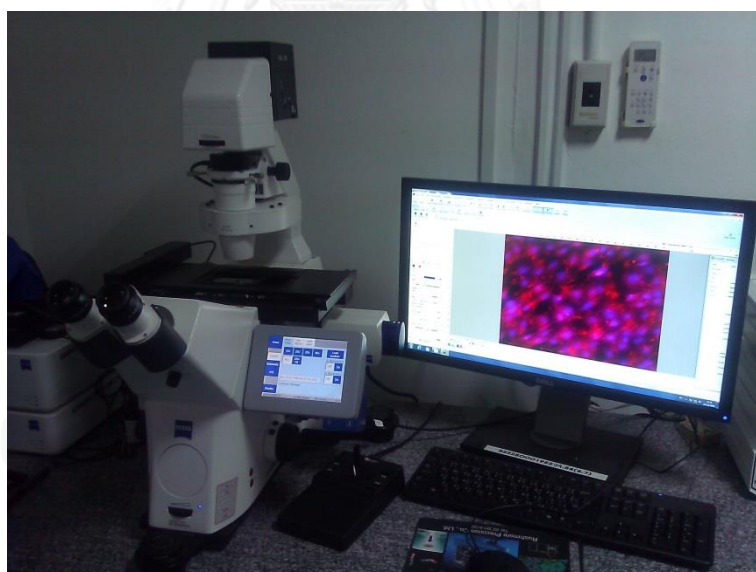
การตรวจสอบคุณลักษณะโครงสร้างของเซลล์ จะใช้วิธีการย้อมสีย้อมดูแอกตินฟิลาเมนต์ (actin filaments) และนิวเคลียส เพื่อดูปฏิกิริยาของเซลล์ต่อชิ้นงาน โดยเริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 60,000 cells/well ลงบนชิ้นงานที่ใส่ไว้ใน 24-well plate แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 และ 24 ชั่วโมง หลังจากแต่ละช่วงเวลา ดูอาหารเซลล์ออก ล้างชิ้นงานด้วยสารละลาย PBS (phosphate-buffered saline) 1 รอบ แล้วจึงใส่สาร 3% glutaraldehyde

จำนวน 300 ไมโครลิตร แช่ตู้เย็นเป็นเวลา 10 นาที เพื่อรักษาโครงสร้างของเซลล์ให้อยู่ในสภาพคงที่ และติดยึดอยู่บนชิ้นงาน จากนั้นนำมาล้างด้วยสารละลาย PBS อีก 2 รอบ แล้วจำนวนมาย้อมดูลักษณะโครงสร้างเซลล์ ดังนี้

1) การย้อมดูแอกตินฟิลาเมนต์ (actin filaments) ด้วยสารละลาย Rhodamine phalloidin เริ่มต้นด้วยการเตรียมสารละลายโดยการผสมสาร Rhodamine phalloidin กับสารละลาย PBS ด้วยอัตราส่วน 1:250 ดูดสารละลายที่ได้ใส่หลอด หลุมละ 600 ไมโครลิตร เก็บในที่มืดเป็นระยะเวลา 20 นาที แล้วล้างออกด้วยสารละลาย PBS 3 รอบ

2) การย้อมดูนิวเคลียส ด้วยสารละลาย Dapi เริ่มต้นด้วยการเตรียมสารละลายโดยการผสมสาร Dapi กับสารละลาย PBS ด้วยอัตราส่วน 1:1000 ดูดสารละลายที่ได้ใส่หลอด หลุมละ 600 ไมโครลิตร เก็บในที่มืดเป็นระยะเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยสารละลาย PBS 3 รอบ

เมื่อย้อมสีครบแล้ว ให้นำชิ้นงานออกมาคว่ำลงบนกระจกสไลด์ โดยยึดด้วย mounting solution แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (fluorescence microscope) รุ่น LSM 700 ของบริษัท ZEISS (รูปที่ 4.10) โดยใช้โปรแกรม AxioVs40 V 4.8.2.0



รูปที่ 4.10 กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (fluorescence microscope) รุ่น LSM 700 ของบริษัท ZEISS

#### 4.4 ผลการทดสอบทางโลหะวิทยา

ผลการทดสอบทางโลหะวิทยาแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อ ดังนี้ การทดสอบความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว และการทดสอบความสามารถในการเปียก

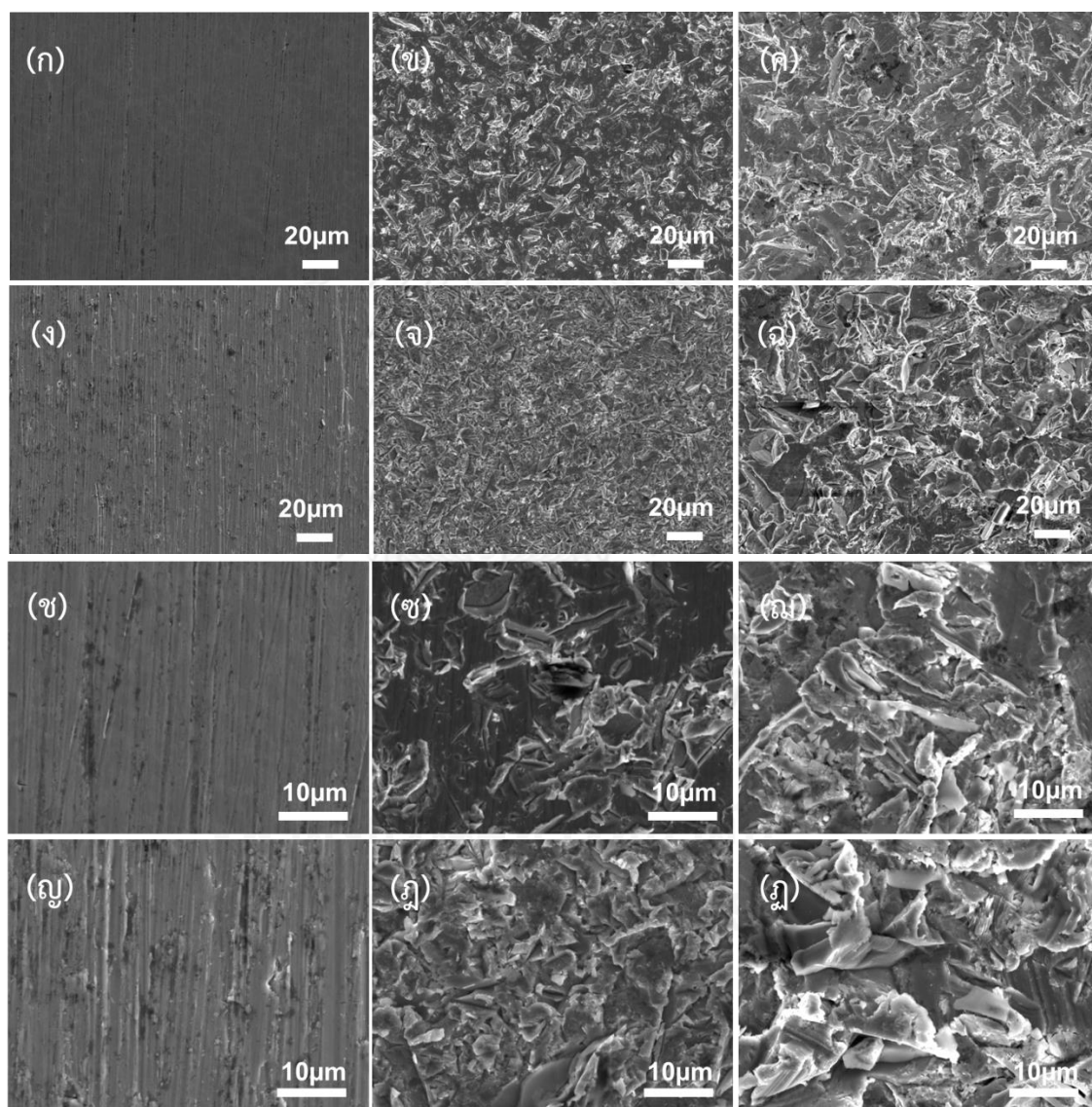
#### 4.4.1 ความหยาบผิวและลักษณะพื้นผิว

ลักษณะพื้นผิวของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร ที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในรูปที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่า ชิ้นงานที่ผ่านการพ่นขัดผิวจะเกิดการเสียรูปแบบพลาสติก (plastic deformation) ที่ผิว โดยเป็นการเสียรูปแบบนุ่ม ถึงแม้ว่าภายหลังการพ่นขัดผิวจะมีการทำงานสะอาดชิ้นงานด้วยอะซิโตนและเอทิลแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก ก็ยังพบอนุภาคอะลูมินาฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน ยืนยันด้วยภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) ที่แสดงในรูปที่ 4.12 ซึ่งเป็นภาพที่แปรผลจากเลขอะตอม (Atomic number) บริเวณใดมีธาตุที่มีเลขอะตอมต่ำจะแสดงออกเป็นพื้นที่สีเข้ม ส่วนบริเวณใดมีธาตุที่มีเลขอะตอมสูงจะแสดงออกเป็นพื้นที่สีอ่อน ดังนั้น พื้นที่สีเข้มที่กระจายตัวอยู่ทั่วชิ้นงานในรูปที่ 4.12 จึงสามารถบอกได้ว่าเป็นอนุภาคอะลูมินาที่ใช้ในการพ่นขัดผิว โดยได้คำนวณหาร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน (EP%) แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชิ้นงานทั้งสองกลุ่มที่พ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเท่ากัน โดยชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  (TiMG-50 และ TiMG-250) จะมีค่าร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V (Ti64-50 และ Ti64-250) นอกจากนี้ ชิ้นงานในกลุ่มเดียวกันที่พ่นขัดผิวด้วยอนุภาคขนาดใหญ่จะมีค่าร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวสูงกว่าชิ้นงานที่พ่นขัดผิวด้วยอนุภาคขนาดเล็ก ในงานวิจัยก่อนหน้านี้นี้ มีการศึกษาผลของการพ่นขัดผิวด้วยอนุภาคต่าง ๆ บนโลหะไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม [28, 45-47] ที่ให้ผลคล้ายคลึงกัน โดยมีงานวิจัยที่รายงานค่าร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวมีค่าประมาณร้อยละ 10 [45]

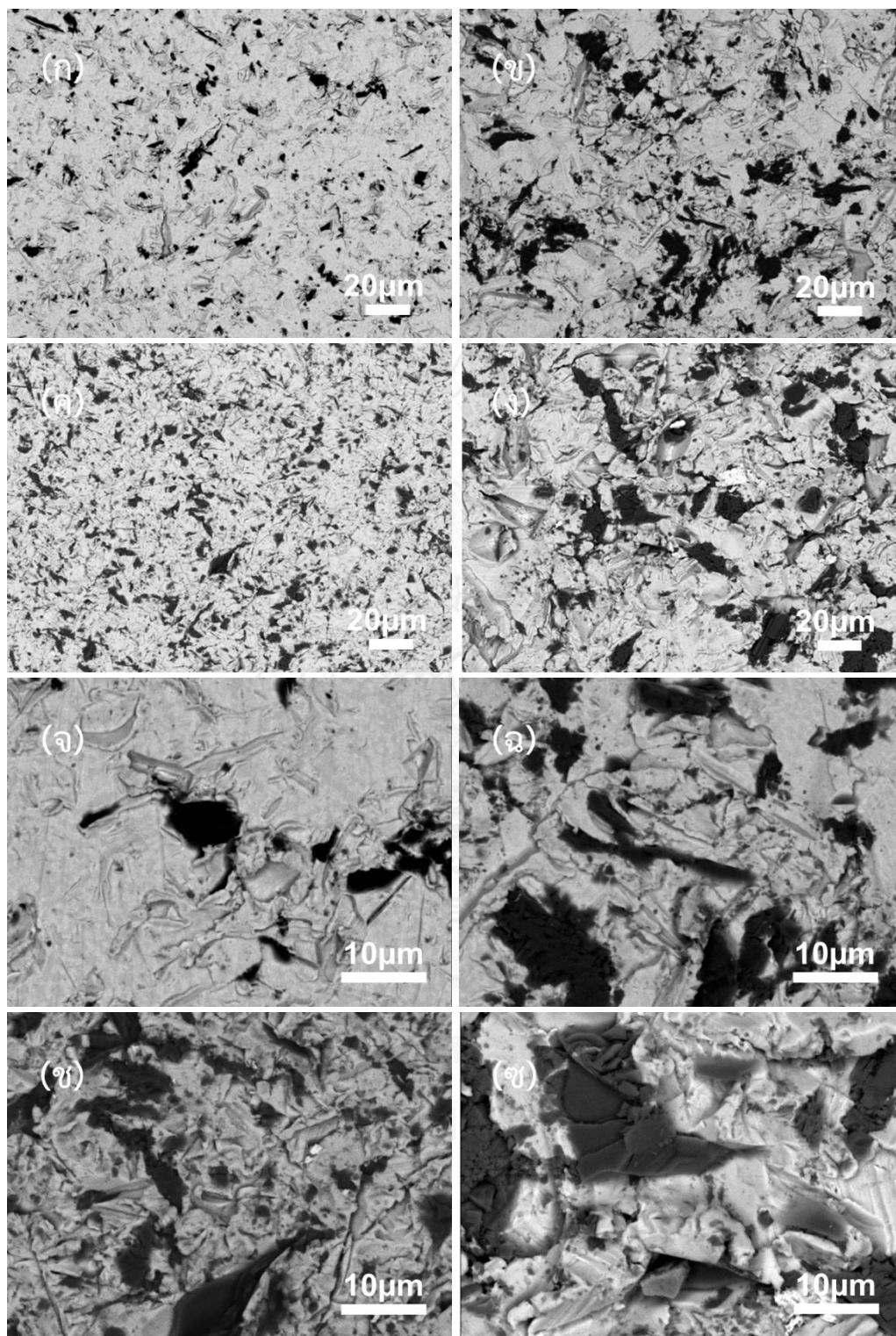
ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ), ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_z$ ) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร ในตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า ขนาดของอนุภาคพ่นขัดผิวมีผลต่อค่าความหยาบผิว โดยเมื่อใช้อะลูมินาขนาดใหญ่ขึ้น ค่าความหยาบผิวก็มีค่ามากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเดียวกัน ค่าความหยาบผิวของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าน้อยกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V ดังแสดงในรูปที่ 4.13 หนึ่งในเหตุผลที่ทำให้ชิ้นงานแสดงผลเช่นนี้ สามารถอธิบายด้วยค่าความแข็งของทั้งสองชิ้นงาน รูปที่ 4.14 แสดงค่าความแข็งของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V จะเห็นว่า ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าความแข็งเท่ากับ  $566.0 \pm 29.7$  HV0.5 ซึ่งมีค่าสูงกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่มีค่าความแข็งเท่ากับ  $292.7 \pm 11.1$  HV0.5 นอกจากนี้ ยังมีภาพสามมิติที่แสดงลักษณะพื้นผิวที่ได้จากเครื่องวัดความหยาบพื้นผิว (Profilometer) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V (รูปที่ 4.15) ซึ่งภาพนี้มีลักษณะที่สอดคล้องกับภาพที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



โหมตอเล็กตรอนทุติยภูมิ (รูปที่ 4.11) โดยแสดงให้เห็นว่า ชั้นงานที่พ่นฉีด้วยอะลูมินาขนาดใหญ่จะมีลักษณะพื้นผิวที่ขรุขระกว่าชั้นงานที่พ่นฉีด้วยอะลูมินาขนาดเล็ก รวมทั้งมีความขรุขระมากกว่าชั้นงานที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการพ่นฉีผิว แต่ทั้งนี้ ภาพจากเครื่องวัดความหยาบพื้นผิว ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างชั้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่พ่นฉีด้วยอะลูมินาขนาดเท่ากันออกจากกันได้อย่างชัดเจน



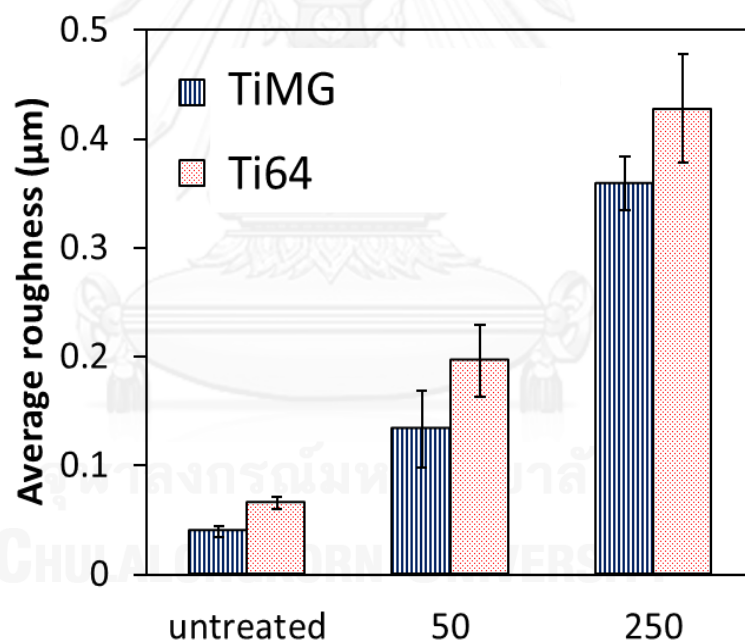
รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมตอเล็กตรอนทุติยภูมิ (SE) ที่กำลังขยายต่ำของ (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 และที่กำลังขยายสูงของ (ช) TiMG-untreated, (ซ) TiMG-50, (ฅ) TiMG-250, (ญ) Ti64-untreated, (ฎ) Ti64-50, (ฏ) Ti64-250



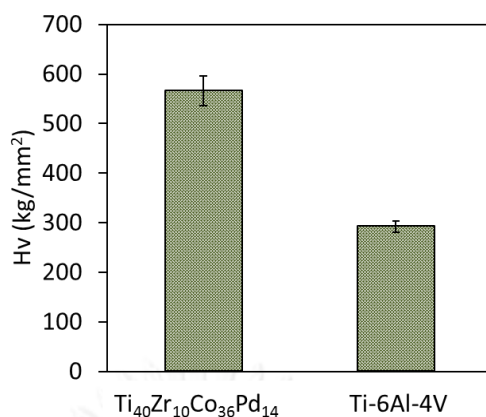
รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) ที่กำลังขยายต่ำของชิ้นงาน (ก) TiMG-50, (ข) TiMG-250, (ค) Ti64-50, (ง) Ti64-250 และที่กำลังขยายสูงของชิ้นงาน (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250, (ช) Ti64-50, (ซ) Ti64-250

ตารางที่ 4.1 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ), ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ร้อยยะของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน (EP%) และค่ามุมสัมผัสของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

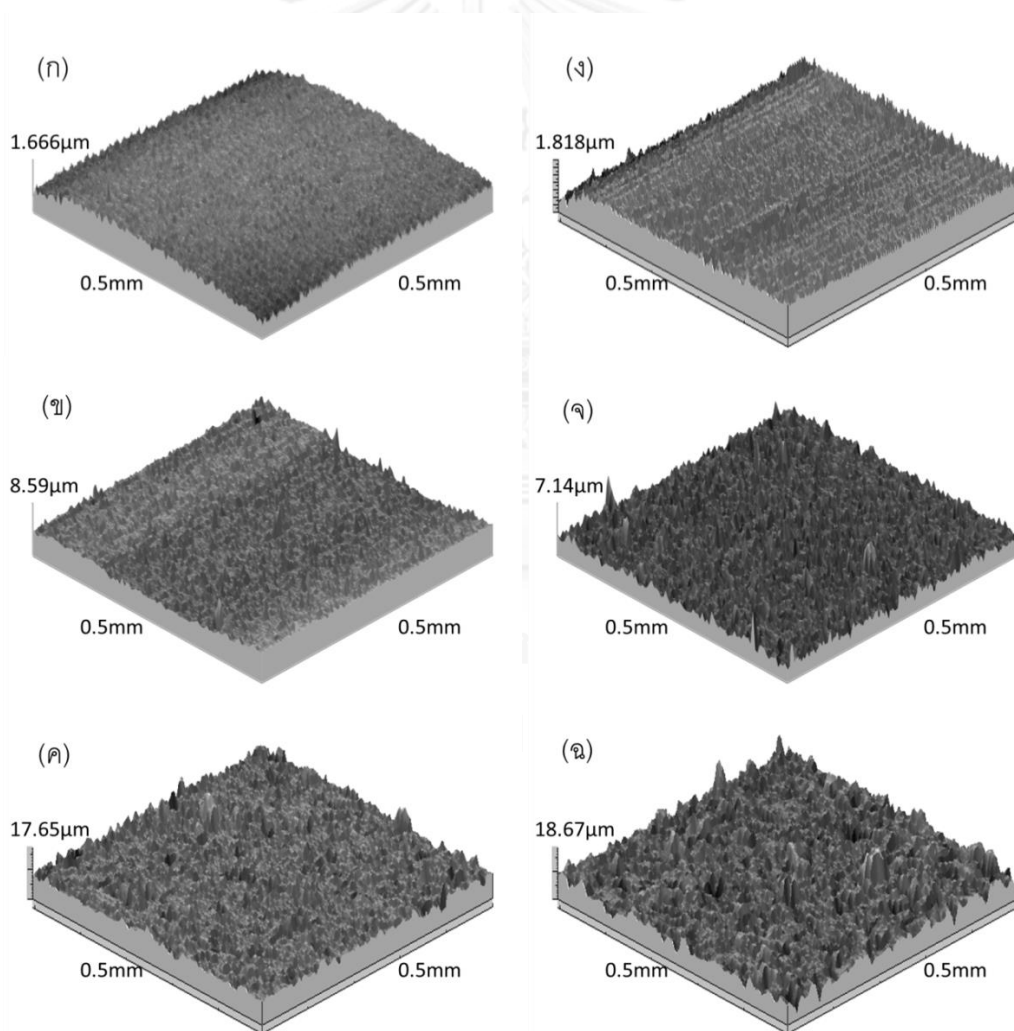
Material/surface	$R_a$ ( $\mu m$ )	$R_q$ ( $\mu m$ )	$R_t$ ( $\mu m$ )	EP%	Contact angle (deg.)
TiMG-untreated	0.04±0.01	0.05±0.01	0.32±0.10	-	77.1±1.9
TiMG-50	0.13±0.03	0.14±0.02	1.59±0.49	8.5%±3%	72.6±4.7
TiMG-250	0.36±0.02	0.45±0.03	3.21±0.49	16.9%±2%	90.5±10.9
Ti64-untreated	0.07±0.01	0.08±0.01	0.56±0.06	-	59.4±1.3
Ti64-50	0.20±0.03	0.24±0.04	1.72±0.38	14.2%±1%	87.3±8.4
Ti64-250	0.43±0.05	0.53±0.06	3.72±0.47	19.8%±2%	68.3±1.6



รูปที่ 4.13 ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิตของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร



รูปที่ 4.14 ค่าความแข็งของชิ้นงาน Ti<sub>40</sub>Zr<sub>10</sub>Co<sub>36</sub>Pd<sub>14</sub> และชิ้นงาน Ti-6Al-4V



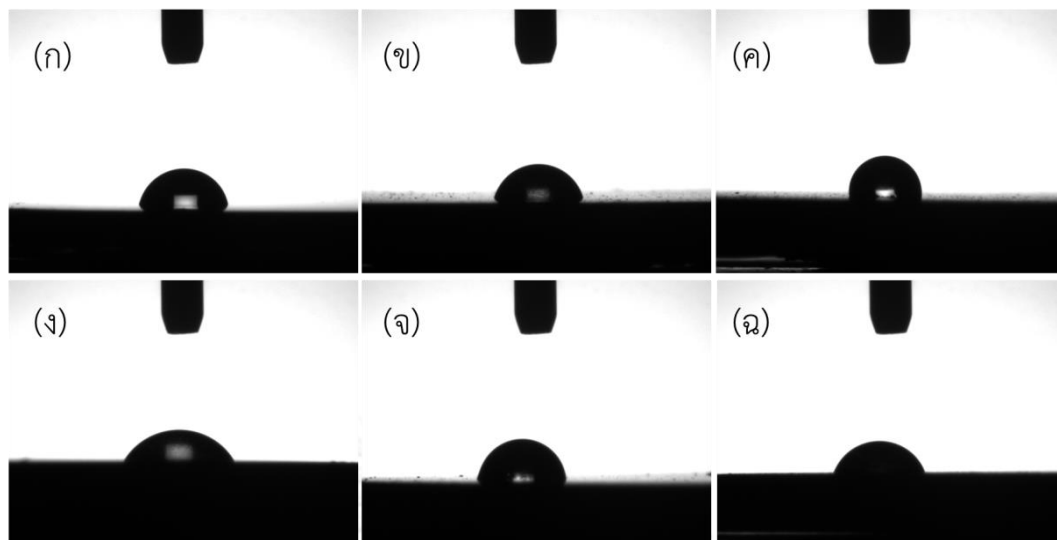
รูปที่ 4.15 ลักษณะพื้นผิวจากเครื่องวัดความหยาบพื้นผิว (Profilometer) ของชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50 และ (ฉ) Ti64-250

#### 4.4.2 ความสามารถในการเปียก (Wettability)

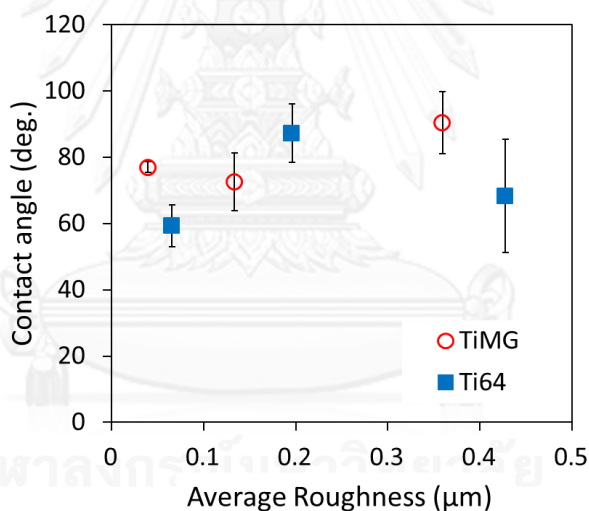
ความสามารถในการเปียกเป็นหนึ่งในสมบัติทางพื้นผิวที่สำคัญของวัสดุชีวภาพ เนื่องจากความสามารถในการเปียก มีผลต่อปฏิกิริยาระหว่างวัสดุกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นเนื้อเยื่อ คือมีผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) และการพัฒนาตัวของเซลล์ (Cell differentiation) [48, 49] ซึ่งส่งผลไปถึงการยึดเกาะกันระหว่างกระดูกและรากฟันเทียม (osseointegration) ได้ในอนาคต ซึ่งการวัดค่ามุมสัมผัส (contact angle) เป็นหนึ่งในวิธีการที่ใช้วัดความสามารถในการเปียก [30, 46, 49, 50] โดยค่ามุมสัมผัสต่ำ จะบ่งบอกถึงความสามารถในการเปียกที่สูงหรือเรียกว่ามีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) ในทางกลับกัน ค่ามุมสัมผัสสูงบ่งบอกถึงความสามารถในการเปียกที่ต่ำ

ค่ามุมสัมผัสของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และ Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และภาพการวัดมุมสัมผัสของชิ้นงานทั้งหมดแสดงในรูปที่ 4.16 พบว่าชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  แสดงแนวโน้มในการชอบน้ำต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V เล็กน้อยแต่ความแตกต่างนี้ไม่พบว่ามีนัยสำคัญ และเมื่อวิเคราะห์ค่ามุมสัมผัสของชิ้นงานทั้งหมดเปรียบเทียบกับค่าความหยาบผิวเฉลี่ย ( $R_a$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.17 พบว่า เมื่อชิ้นงานมีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นจาก 0.07 – 0.2 ไมโครเมตร ชิ้นงานมีความสามารถในการชอบน้ำต่ำลง แต่เมื่อค่าความหยาบผิวเฉลี่ยมากกว่า 0.36  $\mu m$  ชิ้นงานกลับแสดงผลตรงกันข้ามคือมีความสามารถในการชอบน้ำที่สูงขึ้น นอกจากนี้ ชิ้นงาน TiMG-untreated และชิ้นงาน Ti64-untreated มีค่าความหยาบผิวเฉลี่ยใกล้เคียงกัน แต่กลับพบว่าชิ้นงาน TiMG-untreated มีค่ามุมสัมผัสสูงขึ้นกว่าชิ้นงาน Ti64-untreated เนื่องจากชิ้นงาน TiMG-untreated มีผิวที่มีความมันเงามากกว่า จึงทำให้น้ำแพร่กระจายบนพื้นผิวได้ไม่ดีเท่ากับชิ้นงาน Ti64-untreated

มีหลายงานวิจัยที่ทำการศึกษาค่าความหยาบผิวต่อความสามารถในการเปียก [46, 48] โดยแสดงผลการทดลองว่า พื้นผิวที่มีความหยาบมากขึ้นจะช่วยเพิ่มความสามารถในการเปียก แต่งานวิจัยเหล่านั้นศึกษาค่าความหยาบผิวที่กว้างกว่างานวิจัยนี้ คือศึกษาตั้งแต่ระดับหลายร้อยนาโนเมตร จนถึงหลายไมโครเมตร แต่ในงานวิจัยนี้ ทำการศึกษาชิ้นงานที่มีค่าความหยาบผิวไม่เกิน 0.5 ไมโครเมตรเท่านั้น ซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถเห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่ามุมสัมผัสได้อย่างชัดเจน ส่งผลให้ค่ามุมสัมผัสที่วัดจากทุกชิ้นงานไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4.16 ภาพการวัดมุมสัมผัสของชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250, (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50 และ (ฉ) Ti64-250



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการเปียก (wettability) ซึ่งแสดงโดยมุมสัมผัสกับค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต (average roughness) ของชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V

#### 4.5 ผลการทดสอบผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์

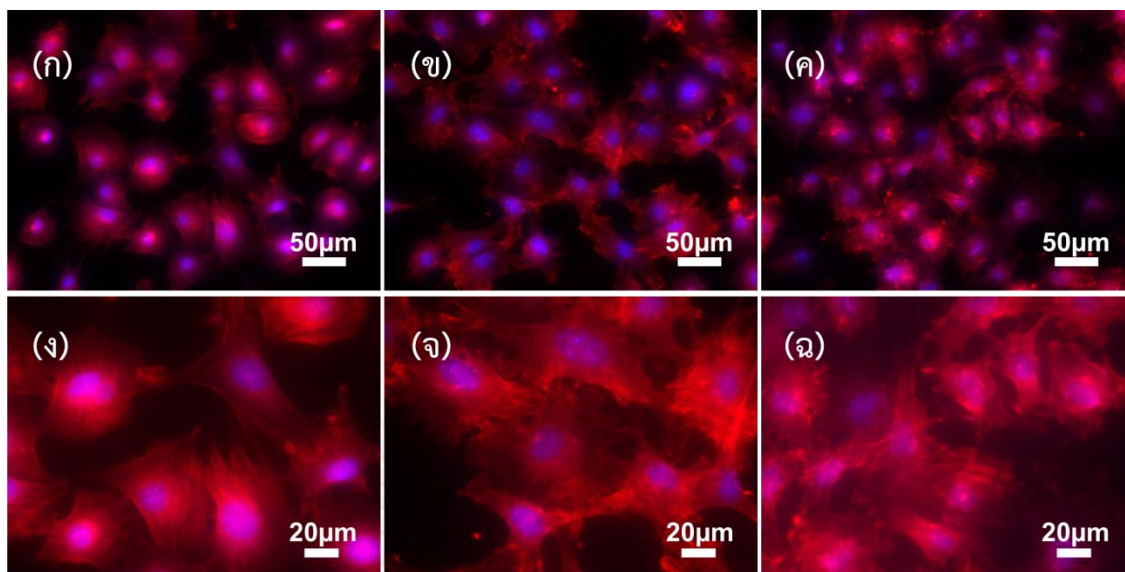
การศึกษาผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์ที่ทดสอบโดยการย้อมดูแอกตินฟิลาเมนต์ (actin filaments) และนิวเคลียสของเซลล์ MC3T3-E1 เมื่อเลี้ยงเซลล์บนชิ้นงาน  $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{10}\text{Co}_{36}\text{Pd}_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่มีความหยาบผิวแตกต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.18 ถึงรูปที่ 4.21 โดยรูปที่ 4.18 และรูปที่ 4.19 แสดงภาพรูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้บน



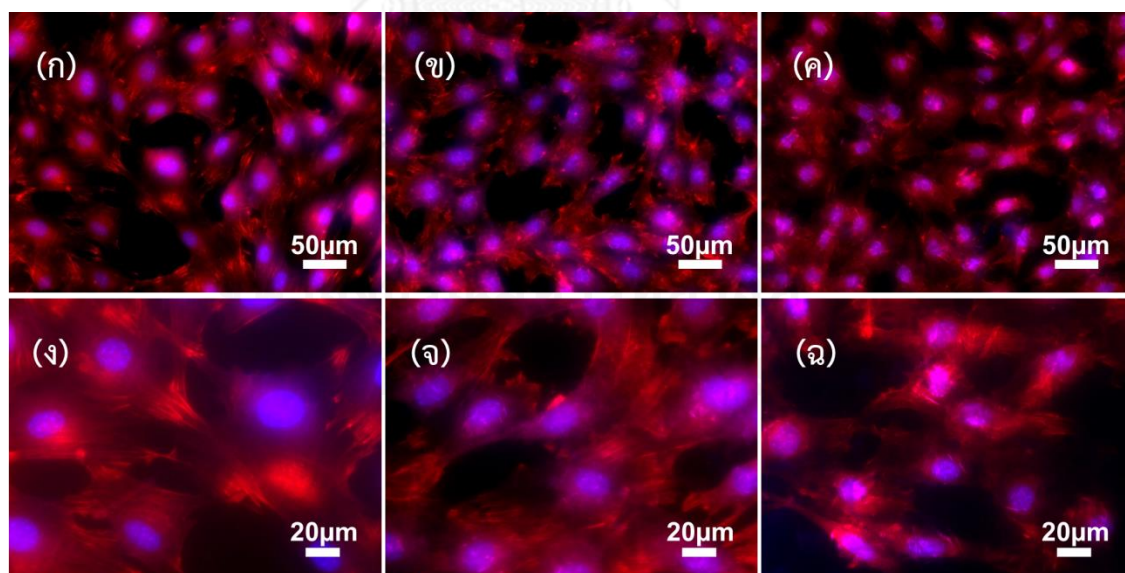
ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนรูปที่ 4.20 และ รูปที่ 4.21 แสดงภาพรูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้บนชิ้นงาน Ti-6Al-4V เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

แอกตินฟิลาเมนต์คือหนึ่งในส่วนประกอบสำคัญของโครงร่างของเซลล์ (cytoskeleton) ที่ช่วยแสดงให้เห็นความแข็งแรงของเซลล์ในการยึดเกาะกับผิววัสดุ [42] จากรูปทั้งหมดที่แสดงรูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ทั้งบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V พบว่าเซลล์ MC3T3-E1 สามารถเติบโต ปรากฏโครงร่างของแอกตินฟิลาเมนต์ที่ชัดเจน แสดงถึงการยึดได้ดีบนชิ้นงานทั้งสองกลุ่มในระยะเวลา 2 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง หมายความว่าชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  สามารถรองรับการยึดเกาะและแผ่ตัวของเซลล์ได้ดี คล้ายกับชิ้นงาน Ti-6Al-4V

เมื่อพิจารณารูปที่ 4.18 ที่แสดงภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าลักษณะโครงสร้างของเซลล์บนชิ้นงาน TiMG-50 (รูปที่ 4.18 (ข) และ (จ)) และ บนชิ้นงาน TiMG-250 (รูปที่ 4.18 (ค) และ (ฉ)) สามารถแผ่ตัวได้ดีกว่าเซลล์บนชิ้นงาน TiMG-untreated (รูปที่ 4.18 (ก) และ (ง)) แต่กลับไม่พบความแตกต่างกันระหว่างชิ้นงานทั้ง 3 เมื่อทำการทดสอบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 4.19 (ก) – (ฉ)) หมายความว่า ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ทำการพ่นขัดผิวสามารถสนับสนุนการยึดเกาะและการแผ่ของเซลล์ที่เร็วกว่าชิ้นงานที่ไม่ได้ทำการพ่นขัดผิว ส่วนลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงบนชิ้นงาน Ti-6Al-4V ก็ให้ผลคล้ายคลึงกันคือ ชิ้นงาน Ti64-250 (รูปที่ 4.20 (ค) และ (ฉ)) แสดงลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่แผ่ตัวได้ดีกว่าชิ้นงาน Ti64-50 (รูปที่ 4.20 (ข) และ (จ)) และชิ้นงาน Ti64-untreated (รูปที่ 4.20 (ก) และ (ง)) ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณารูปที่ 4.21 ซึ่งแสดงภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่เลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงบนชิ้นงาน Ti-6Al-4V กลับพบว่าชิ้นงาน Ti64-untreated (รูปที่ 4.21 (ก) และ (ง)) มีลักษณะโครงสร้างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป โดยเซลล์มีลักษณะยึดและยาวออก ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) [51] ไม่มีลักษณะกลมเหมือนลักษณะโครงสร้างของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) เหมือนที่พบในเซลล์บนชิ้นงาน Ti64-50 ในรูปที่ 4.21 (ข) และ (จ) และบนชิ้นงาน Ti64-250 ในรูปที่ 4.21 (ค) และ (ฉ) ที่แสดงลักษณะโครงสร้างของเซลล์บนชิ้นงานที่ผ่านการพ่นขัดผิว แสดงให้เห็นว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ไม่ได้ผ่านการพ่นขัดผิว (ผิวเรียบ) อาจจะไม่สามารถคงสภาวะของความเป็นเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ ชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ผ่านการพ่นขัดผิวจึงเหมาะกับการนำไปประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมมากกว่าชิ้นงานที่ไม่ได้ผ่านการพ่นขัดผิว ซึ่งแตกต่างกับชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ยังสามารถรักษารูปร่างของเซลล์ที่คล้ายเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ทั้งบนชิ้นงานที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นขัดผิว

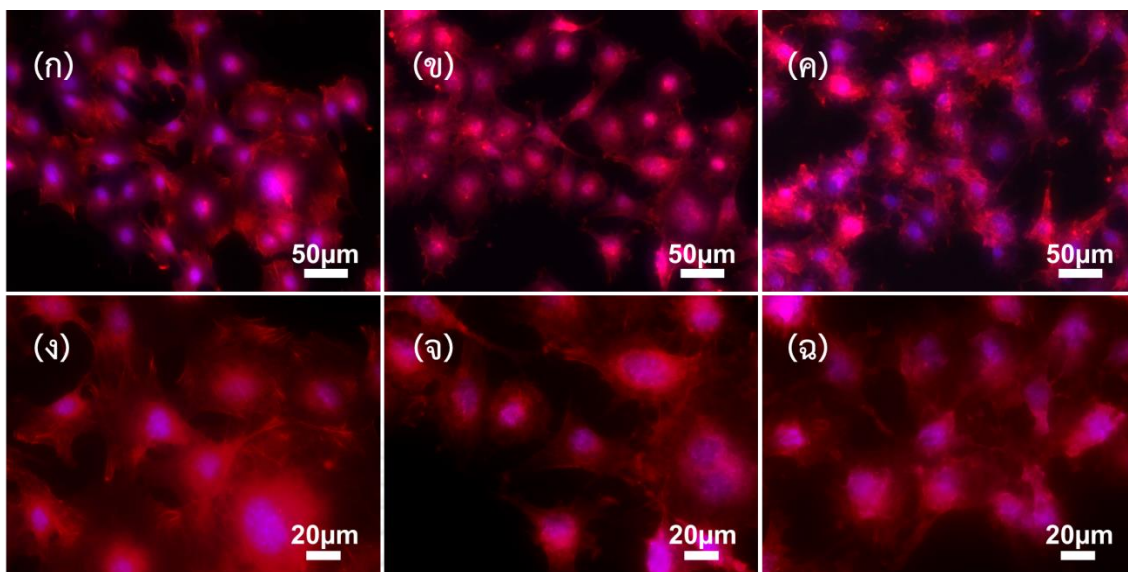


รูปที่ 4.18 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) TiMG-untreated, (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงาน TiMG-50 และชิ้นงาน TiMG-250 มากกว่าชิ้นงาน TiMG-untreated

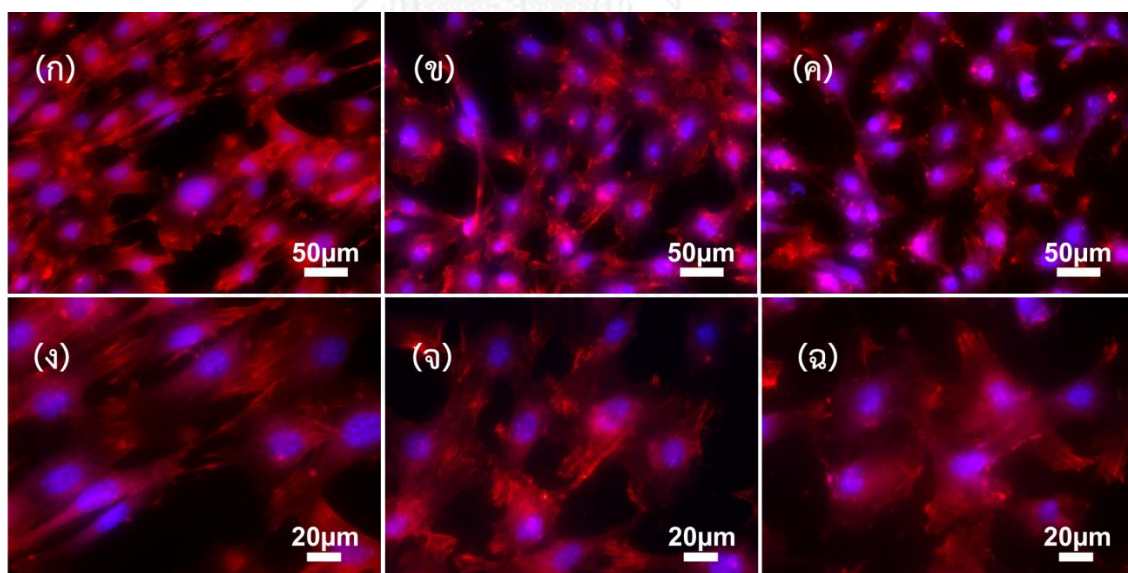


รูปที่ 4.19 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) TiMG-untreated, (ข) TiMG-50, (ค) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) TiMG-untreated, (จ) TiMG-50, (ฉ) TiMG-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะบนชิ้นงานทั้งสามกลุ่มได้ดีใกล้เคียงกัน





รูปที่ 4.20 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) Ti64-untreated, (ข) Ti64-50, (ค) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์สามารถแผ่ตัวและยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงาน Ti64-50 และชิ้นงาน Ti64-250 มากกว่าชิ้นงาน Ti64-untreated



รูปที่ 4.21 ภาพลักษณะโครงสร้างของเซลล์ MC3T3-E1 ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนชิ้นงาน (ก) Ti64-untreated, (ข) Ti64-50, (ค) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายต่ำ และบนชิ้นงาน (ง) Ti64-untreated, (จ) Ti64-50, (ฉ) Ti64-250 ซึ่งถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง โดยใช้กำลังขยายสูง โดยเซลล์มีลักษณะยึดและยาวออกคล้ายเซลล์สร้างเส้นใยบนชิ้นงาน Ti64-untreated

ถึงแม้ชิ้นงานที่ใช้ในการทดลองจะมีความหยาบผิวแตกต่างกัน แต่ผลการศึกษาโครงสร้างของ เซลล์บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  กลับไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เซลล์ยังคงสภาวะและ ลักษณะความเป็นเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะ 2 สาเหตุหลัก ๆ ได้แก่

1) ระยะเวลาในการทดลองสั้นเกินไป คือได้ศึกษาผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรม ของเซลล์เพียงแค่ 2 และ 24 ชั่วโมงเท่านั้น ทำให้ไม่สามารถเห็นผลของความแตกต่างของความหยาบ ผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์ได้

2) ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าความหยาบผิวใกล้เคียงกัน คือมีค่าความหยาบผิว เฉลี่ยอยู่ที่ 0.04 ไมโครเมตร 0.13 ไมโครเมตรและ 0.36 ไมโครเมตรเท่านั้น จึงทำให้ไม่สามารถเห็น ความแตกต่างระหว่างชิ้นงานที่ไม่พ่นขีดผิว และชิ้นงานที่พ่นขีดผิวด้วยอนุภาคอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร ซึ่งส่งผลให้ไม่สามารถเห็นอิทธิพลของความหยาบผิวต่อค่าความสามารถใน การเป็ยกที่เป็นสมบัติทางพื้นผิวที่สำคัญ ที่มีผลต่อปฏิกิริยาระหว่างวัสดุกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นเนื้อเยื่อ ด้วย

แต่ทั้งนี้ กลับมีงานวิจัยมากมายที่ได้ศึกษาผลของความหยาบผิวระดับนาโนเมตรต่อพฤติกรรม ของเซลล์ เช่น งานวิจัยของ Thomas J. Webster และ Jeremiah U. Ejiolor [52] ได้ศึกษา พฤติกรรมของเซลล์สร้างกระดูกต่อไทเทเนียมบริสุทธิ์ (Ti) โลหะผสม Ti-6Al-4V และโลหะผสม CoCrMo ที่มีค่าความหยาบผิวระดับนาโนเมตร และพบว่าชิ้นงานมีค่าความหยาบผิวระดับนาโนเมตร ช่วยให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกหลายชิ้น [41, 53-56] ที่บอกว่า พื้นผิวระดับนาโนเมตร ช่วยเพิ่มอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) และการพัฒนาตัวของ เซลล์ (differentiation) โดยกลไกที่คาดว่าเป็นตัวแปรสำคัญคือการดูดซับโปรตีน (protein adsorption) ที่จะเกิดขึ้นทันทีภายหลังที่ชิ้นงานสัมผัสกับเซลล์

ในปัจจุบัน ก็ยังคงมีงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาผลของความหยาบผิวต่อพฤติกรรมของเซลล์ เนื่องจากยังคงมีอีกหลายเหตุผลที่ยังไม่สามารถหาคำอธิบายได้อย่างชัดเจน เช่น กลไกใดที่ทำให้ พื้นผิวระดับนาโนเมตรมีผลช่วยเพิ่มอัตราการยึดเกาะของเซลล์ เพิ่มจำนวนเซลล์และเพิ่มอัตราการ พัฒนาตัวของเซลล์ บางงานวิจัย [41] กล่าวว่า การศึกษาพื้นผิวระดับนาโนเมตรมีความยากกว่า การศึกษาพื้นผิวระดับไมโครเมตรมาก เนื่องจากการศึกษาพื้นผิวระดับนาโนเมตรเป็นการศึกษาที่เข้าสู่ ระดับอะตอม ทำให้สมบัติทางพื้นผิวได้รับผลกระทบจากปรากฏการณ์ควอนตัม (quantum phenomena) ยิ่งทำให้การศึกษาพื้นผิวระดับนาโนมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ ยังมีปัจจัย อีกหลายอย่างที่มีผลกระทบต่อพฤติกรรมของเซลล์ เช่น ลักษณะพื้นผิว พลังงานพื้นผิว องค์ประกอบ เคมีบนพื้นผิว ความสามารถในการเป็ยก เป็นต้น ที่ควรจะทำการศึกษาต่อไป

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีการปรับปรุงและพัฒนาให้รากฟันเทียมยึดเกาะกับกระดูก (Osseointegration) ให้ดีขึ้น โดยงานวิจัยจำนวนมากได้เสนอว่าความหยาบผิว (surface roughness) เป็นหนึ่งในสาเหตุหลักที่มีผลต่อการยึดเกาะกันระหว่างรากฟันเทียมกับกระดูก แต่ในปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยใดสรุปว่าความหยาบผิวแบบใดที่จะทำให้รากฟันเทียมยึดเกาะกับกระดูกได้ดีที่สุด ทำให้มีการศึกษา ปรับปรุงและพัฒนาพื้นผิวของรากฟันเทียมกันมาอย่างต่อเนื่อง

ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา มีการพัฒนารัตนโลหะให้มาใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียมด้วย เนื่องจากรัตนโลหะเป็นโลหะประเภทใหม่ที่มีโครงสร้างอัญฐาน คือ ไม่มีขอบเกรน (grain boundary) ไม่มีดิสโลเคชัน (dislocation) รวมทั้งไม่มีระนาบการเลื่อน (slip plane) ทำให้รัตนโลหะเป็นโลหะที่มีสมบัติที่ดีเยี่ยม กล่าวคือ มีความแข็งแรงสูง มีความยืดหยุ่นสูง มีความต้านทานการกัดกร่อนสูง มีค่าความต้านทานการขัดสีสูง (Wear resistance) รวมทั้งมีความสามารถในการขึ้นรูปที่มีรูปแบบเฉพาะตัว แต่ทั้งนี้ยังไม่มีมีการศึกษาการปรับปรุงผิวรัตนโลหะด้วยวิธีการพ่นขัดผิวเพื่อนำมาใช้ในงานทันตกรรมรากฟันเทียม งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาและเปรียบเทียบส่วนผสมของรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก (Ti-Based Bulk metallic glass) ที่มีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย (Biocompatibility) รวมทั้งศึกษาอิทธิพลของการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว (particle blasting) ต่อสมบัติทางพื้นผิว (Surface properties) ของโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V และรัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลัก โดยได้ข้อสรุปดังต่อไปนี้

1) ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย โดยเซลล์ทั้งสองชนิด ได้แก่ เซลล์ SaOS-2 และเซลล์ MC3T3-E1 สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เมื่อเทียบกับเวลา และเมื่อพิจารณาการเพิ่มจำนวนของเซลล์บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เซลล์ SaOS-2 สามารถเจริญเติบโตได้ดีเทียบเท่ากับชิ้นงาน Ti-6Al-4V แต่เซลล์ MC3T3-E1 มีการเพิ่มจำนวนเซลล์และพัฒนาตัวของเซลล์บนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ได้ช้ากว่าบนชิ้นงาน Ti-6Al-4V

2) ชิ้นงานที่ผ่านการพ่นขัดผิวจะเกิดการเสียรูปแบบพลาสติก (plastic deformation) ที่ผิว โดยภายหลังการพ่นขัดผิวพบอนุภาคอะลูมินาฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน

3) ขนาดของอนุภาคพ่นขัดผิวมีผลต่อค่าความหยาบผิว โดยเมื่อใช้อะลูมินาขนาดใหญ่ขึ้น ค่าความหยาบผิวจะมีค่ามากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

4) เมื่อพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเดียวกัน ค่าความหยาบผิวของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าน้อยกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V รวมทั้งชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีค่าร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัว (EP%) ต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V เนื่องจากชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  มีความแข็งสูงกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V

5) ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  แสดงแนวโน้มในการชอบน้ำต่ำกว่าชิ้นงาน Ti-6Al-4V เล็กน้อยแต่ความแตกต่างนี้ไม่พบว่ามีนัยสำคัญ

6) รูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเซลล์ทั้งบนชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V พบว่าเซลล์ MC3T3-E1 สามารถเติบโต สร้างแอกตินฟิลาเมนต์และยึดเกาะได้ดีบนชิ้นงานทั้งสองกลุ่มในระยะเวลา 2 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง แต่ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ทำการพ่นขัดผิวสามารถสนับสนุนการยึดเกาะและการแผ่ของเซลล์ได้เร็วกว่าชิ้นงานที่ไม่ได้ทำการพ่นขัดผิว แต่ทั้งนี้ ชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ก็ยังสามารถรักษารูปร่างของเซลล์ที่คล้ายเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ทั้งบนชิ้นงานที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นขัดผิว ส่วนชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ไม่ได้ผ่านการพ่นขัดผิว ไม่สามารถรักษารูปร่างของเซลล์ที่คล้ายเซลล์สร้างกระดูกไว้ได้ โดยเซลล์มีลักษณะยึดและยาวออก ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast)

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษารัตนโลหะที่มีไทเทเนียมเป็นส่วนประกอบหลักกว่ามีความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายหรือไม่ โดยได้ศึกษารัตนโลหะที่มีส่วนผสม  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เปรียบเทียบกับโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V เพียงส่วนผสมเดียว จึงควรที่จะศึกษาเพิ่มเติมในส่วนผสมอื่น ๆ เพื่อที่จะทราบถึงอิทธิพลของการแทนที่ทองแดงด้วยโคบอลต์ต่อความสามารถในการเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกาย รวมทั้งควรศึกษาสมบัติทางกลเพิ่มเติมด้วย นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวิธีการพ่นขัดผิว (particle blasting) ของรัตนโลหะที่มีส่วนผสม  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  เปรียบเทียบกับโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V ต่อสมบัติทางพื้นผิว (Surface properties) ที่มีผลต่อพฤติกรรมของเซลล์ ได้แก่ ความหยาบผิว ลักษณะพื้นผิว ความแข็งที่ผิวและความสามารถในการเปียก ซึ่งยังคงมีสมบัติด้านอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อพฤติกรรมของเซลล์ซึ่งควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เช่น ชนิดและปริมาณไอออนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุเมื่อวัสดุสัมผัสกับเซลล์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในเรื่องของพฤติกรรมของเซลล์ที่มีต่อวัสดุ เพื่อให้ทราบและเข้าใจพฤติกรรมของเซลล์ต่อวัสดุอื่น ๆ จึงควรที่จะทำการวิจัยและศึกษาต่อไป

## รายการอ้างอิง

1. Schroers, J., et al., *Bulk Metallic Glasses for Biomedical Applications*. . Biomedical Materials and Devices, 2009. **Vol. 61 No. 9**: p. 21–29.
2. Wong, J.Y., *Biomaterials*, in *Biomedical Engineering Fundamentals*, J.D. Bronzino, Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton.
3. Qin, F., et al., *Ti-based Bulk Metallic Glasses for Biomedical Applications*, in *Biomedical engineering – trends in materials science*, e. Anthony N. Laskovski, Editor. 2011, InTech: Rijeka, Croatia. p. 249–268.
4. Inoue, A., X.M. Wang, and W. Zhang, *Developments and applications of bulk metallic glasses*. Reviews on Advanced Materials Science, 2008. **18**(1): p. 1–9.
5. Kumar, G., A. Desai, and J. Schroers, *Bulk Metallic Glass: The Smaller the Better*. Advanced materials, 2011. **Vol.23**: p. 461–476.
6. Yuan, Z.-Z., et al., *A new criterion for evaluating the glass-forming ability of bulk glass forming alloys*. Journal of Alloys and Compounds, 2008. **459**: p. 251–260.
7. Huang, L., et al., *Responses of bone-forming cells on pre-immersed Zr-based bulk metallic glasses: Effects of composition and roughness*. Acta Biomaterialia, 2011. **7**: p. 395–405.
8. Demetriou, M.D., et al., *Amorphous metal for hard-tissue prosthesis*. Journal of the Minerals, metals, and Materials, 2010. **Vol.62 No.2** p. 83–91.
9. Zhu, S.L., et al., *A new Ti-based bulk glassy alloy with potential for biomedical application*. Materials Science and Engineering A 2007. **459**: p. 233–237.
10. Zhu, S.L., X.M. Wang, and A. Inoue, *Glass-forming ability and mechanical properties of Ti-based bulk glassy alloys with large diameters of up to 1 cm*. Intermetallics, 2008. **16**: p. 1031–1035.
11. Buzzi, S., et al., *Cytotoxicity of Zr-based bulk metallic glasses*. Intermetallics, 2006. **14**: p. 729–734.
12. Elshahawy, W.M., I. Watanabea, and P. Kramerb, *In vitro cytotoxicity evaluation of elemental ions released from different prosthodontic materials*. Dental materials, 2009. **25**: p. 1551–1555.
13. Bagnò, A. and C.D. Bello, *Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials*. Journal of materials science: Materials in medicine 2004. **15**: p. 935–949.
14. Ballo, A.M., et al., *Dental Implant Surfaces – Physicochemical Properties, Biological Performance, and Trends*, in *Implant dentistry – a rapidly evolving practice*, I. Turkyilmaz, Editor. 2011, Intech: Rijeka, Croatia. p. 19 – 65.

15. Hench, L.L. and E.C. Erthridge, *Biomaterials —An Interfacial Approach*. Vol. 4. 1982, New York: Academic Press.
16. Williams, D.F., *Definitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England*. Vol. 4. 1986, New York: Elsevier.
17. Hoffman, A.S. and others, *Classes of Materials Used in Medicine*, in *Biomaterials science : an introduction to materials in medicine*, A.S.H. Buddy D. Ratner, Frederick J. Schoen and Jack E. Lemons, Editors, Editor. 2004, Elsevier: California. p. 67.
18. Park, J.B. and Y.K. Kim, *Metallic Biomaterials*, in *Biomedical Engineering Fundamentals*, J.D. Bronzino, Editor. 2006, Taylor & Francis: Boca Raton. p. 38-1 – 38-22.
19. Tutaneikai, A. *Metallic Glass*. [online] 2011 [cited 2012 March 16]; Available from: <http://www.highpants.com/cankler/?p=3043>.
20. Paffler, J.F.L., *Bulk metallic glasses*. *Intermetallics*, 2003. **11**: p. 529–540.
21. Oak, J.-J., D.V. Louzguine-Luzgin, and A. Inoue, *Investigation of glass-forming ability, deformation and corrosion behavior of Ni-free Ti-based BMG alloys designed for application as dental implants*. *Materials Science and Engineering C*, 2009. **29**: p. 322–327.
22. Ming-xu, X., et al., *Thermal stability and glass-forming ability of new Ti-based bulk metallic glasses*. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2005. **351**: p. 3747–3751.
23. Huang, Y.J., et al., *A new Ti-Zr-Hf-Cu-Ni-Si-Sn bulk amorphous alloy with high glass-forming ability*. *Journal of Alloys and Compounds*, 2007(427): p. 171–175.
24. Oshida, Y., *Bioscience and Bioengineering of Titanium Materials*. 2007, Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
25. Gu'ehennec, L.L., et al., *Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration*. *Dental materials*, 2007. **23**: p. 844–854.
26. สมาร์ททูล. ความหยาบผิวของสแตนเลสแผ่น. [online] 2012 [cited 2012 March 23]; Available from: <http://www.siamstainless.com/?p=1110>.
27. Rønold, H.J. and J.E. Ellingsen, *Effect of micro-roughness produced by TiO<sub>2</sub> blasting—tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants*. *Biomaterials* 2002. **23**: p. 4211–4219.
28. Aparicio, C., F.J. Gil, and J.A. Planell, *Human – osteoblast proliferation and differentiation on grit - blasted and bioactive titanium for dental applications*. *Journal of materials science: Materials in medicine*, 2002. **13**: p. 1105–1111.

29. Bathomarco, R.V., et al., *Atomic force microscopy analysis of different surface treatments of Ti dental implant surfaces*. Applied Surface Science, 2004. **233**: p. 29–34.
30. Rosales-Leal, et al., *Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 2010. **365**: p. 222–229.
31. Tariq, N.H., et al., *Plasticity enhancement in Zr based bulk metallic glass by sand blasting*. Materials Chemistry and Physics, 2011. **126**: p. 207–211.
32. allen, M.j., et al., *The effects of particulate cobalt, chromium and cobalt-chromium alloy on human osteoblast-like cells in vitro*. British Editorial Society of Bone and Joint Surgery, 1997. **Vol. 79-B, No. 3**: p. 475–482.
33. Hua, N., et al., *Corrosion behavior and in vitro biocompatibility of Zr–Al–Co–Ag bulk metallic glasses: An experimental case study*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2012. **358**: p. 1599–1604.
34. Huang, W., et al., *XPS and XRD investigation of Co/Pd/TiO<sub>2</sub> catalysts by different preparation methods*. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 2009. **173**: p. 88–95.
35. *CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005*, D.R. Lide, Editor. 2005, CRC Press: Boca Raton, FL.
36. Qin, C.L., et al., *XPS study on the surface films of a newly designed Ni-free Ti-based bulk metallic glass*. Acta Materialia, 2007. **55**: p. 2057–2063.
37. H., I., et al., *X-ray Photoelectron Spectroscopy Study of High- and Low-Temperature Forms of Zirconium Titanate*. Journal of the American Ceramic Society, 1991. **Vol. 74 Issue 6**: p. 1459–1462.
38. Wada, T., et al., *Formation and bioactivation of Zr-Al-Co bulk metallic glasses*. Journal of Material Research, 2009. **Vol. 24, No. 9**: p. 2941–2948.
39. Venkatsurya, P.K.C., et al., *The interplay between osteoblast functions and the degree of nanoscale roughness induced by grain boundary grooving of nanograined materials*. Materials Science and Engineering C, 2012. **32**: p. 330–340.
40. Wan, Y., et al., *Adhesion and proliferation of OCT-1 osteoblast-like cells on micro- and nano-scale topography structured poly(L-lactide)*. Biomaterials, 2005. **26**: p. 4453–4459.
41. Mendonça, G., et al., *Advancing dental implant surface technology – From micronto nanotopography*. Biomaterials, 2008. **29**: p. 3822–3835.
42. Kim, S.K., V.-H. Pham, and C.-H. Kim, *Cell adhesion to cathodic arc plasma deposited CrAlSiN thin films*. Applied Surface Science, 2012. **258**: p. 7202– 7206.



43. TJ, M., et al., *Osteoblasts: differentiation and function*, in *Handbook of experimental pharmacology*, M.T. Mundy JR, editors, Editor. 1993, Springer: Berlin. p. 149–83.
44. Orotig. *OROTIG SpeedCast 220MJ Catalogue*. [online] 2013 [cited 2013 May 19]; Available from: <http://pdf.medicaexpo.com/pdf/orotig-srl/speedcast-220mj/73540-77761.html>.
45. Aparicio, C., et al., *Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications*. *Biomaterials*, 2003. **24**: p. 263–273.
46. Pegueroles, M., et al., *The influence of blasting and sterilization on static and time-related wettability and surface-energy properties of titanium surfaces*. *Surface & Coatings Technology*, 2008. **202**: p. 3470–3479.
47. Koller, G., et al., *Surface modification of titanium implants using bioactive glasses with air abrasion technologies*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2007. **18**: p. 2291–2296.
48. Li, H.F., et al., *Osteoblast response on Ti- and Zr-based bulk metallic glass surfaces after sand blasting modification*. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 2012. **100B**(7): p. 1721–1728.
49. Elias, C.N., *Factors Affecting the Success of Dental Implants*, in *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, I. Turkyilmaz, Editor. 2011, InTech: Rijeka, Croatia. p. 319-364.
50. Mekayarajjananonth, T. and S. Winkler, *Contact Angle Measurement on Dental Implant Biomaterials*. *Journal of Oral Implantology*, 1999. **Vol.XXV**(No. Four): p. 230-236.
51. *Fibroblasts - General information*. [online] 2014 [cited 2014 April 17]; Available from: <http://fibroblast.org/fibroblast.html>.
52. Webster, T.J. and J.U. Ejiqfor, *Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo*. *Biomaterials*, 2004. **25**: p. 4731–4739.
53. J, G., et al., *Modification of TiO<sub>2</sub> grit blasted titanium implants by hydrofluoric acid treatment alters adherent osteoblast gene expression in vitro and in vivo*. *Biomaterials*, 2007. **28**: p. 5418–5425.
54. Oliveira, P.T.d. and A. Nanci, *Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells*. *Biomaterials*, 2004. **25**: p. 403–413.



55. Teng, F.-Y., et al., *A Comparison of Epithelial Cells, Fibroblasts, and Osteoblasts in Dental Implant Titanium Topographies*. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2011. **2012**: p. 1-9.
56. Kunzler, T.P., et al., *Systematic study of osteoblast and fibroblast response to roughness by means of surface-morphology gradients*. *Biomaterials*, 2007. **28**: p. 2175–2182.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ภาคผนวก ก

ตารางแสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีบนพื้นผิวฟิล์มของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่สร้างด้วยวิธีฟิลเตอร์แคโทดิกอาร์คในสุญญากาศ (Filtered Cathodic Vacuum Arc: FCVA) วิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยด้วยรังสีเอกซ์ (XPS)

Peak	Position BE (eV)	FWHM (eV)	Raw Area (cps eV)	RSF	Atomic Mass	Atomic Conc %	Mass Conc %
$Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$							
Ti 2P	457.6	2.425	510345.9	2.001	47.878	12.77	20.66
Zr 3d	181.6	4.056	175274.4	2.576	91.225	3.5	10.78
Co 2p	780.6	6.395	1023994	3.59	58.933	13.34	26.57
Pd 3d	335.6	1.981	141254.3	5.356	106.534	1.37	4.93
O 1S	529.6	2.512	802138.5	0.78	15.999	50.58	27.35
Si 2p	101.6	3.553	26342.1	0.328	28.086	4.08	3.87
C 1S	284.6	2.283	75740	0.278	12.011	14.37	5.84
Ti-6Al-4V							
Ti 2p	458.2	2.646	458832	2.001	47.878	21.17	44.77
Al 2p	74.2	2.186	4791.1	0.193	26.982	2.28	2.71
V 2p	512.2	5.939	20457.2	2.116	50.942	0.88	1.98
O 1s	530.2	2.732	505855.8	0.78	15.999	58.83	41.57
N 1s	400.2	2.248	1790	0.477	14.007	0.35	0.22
C 1s	285.2	2.731	47078.5	0.278	12.011	16.49	8.75

ตารางแสดงค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ), ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

No.	TiMG-untreated			TiMG-50			TiMG-250		
	$R_a$	$R_q$	$R_t$	$R_a$	$R_q$	$R_t$	$R_a$	$R_q$	$R_t$
1	0.0438	0.0556	0.4944	0.101	0.128	1.128	0.3711	0.4519	3.522
2	0.0391	0.0486	0.2774	0.1606	0.2053	1.941	0.398	0.4911	3.358
3	0.0322	0.0402	0.2297	0.1247	0.1551	2.019	0.3342	0.4338	3.653
4	0.0391	0.0486	0.2774	0.1899	0.2323	2.145	0.3698	0.4571	3.26
5	0.0464	0.0568	0.3721	0.1043	0.1332	1.055	0.3422	0.4351	3.208
6	0.0368	0.0462	0.283	0.1202	0.1538	1.261	0.3406	0.4141	2.27
average	0.0396	0.0493	0.3223	0.1335	0.168	1.5915	0.3593	0.4472	3.2118
SD	0.005	0.0062	0.0962	0.0349	0.0417	0.4946	0.0246	0.0263	0.4902

ตารางแสดงค่าความหยาบผิวเฉลี่ยเลขคณิต ( $R_a$ ), ค่าความหยาบผิวเฉลี่ยกำลังสอง ( $R_q$ ) และค่าความหยาบผิวขนาดโดยรวม ( $R_t$ ) ของชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

No.	Ti64-untreated			Ti64-50			Ti64-250		
	$R_a$	$R_q$	$R_t$	$R_a$	$R_q$	$R_t$	$R_a$	$R_q$	$R_t$
1	0.0637	0.0813	0.5224	0.1775	0.2193	1.626	0.4247	0.5335	3.754
2	0.0685	0.0862	0.549	0.153	0.1935	1.267	0.4058	0.4888	3.242
3	0.0703	0.087	0.5242	0.1998	0.2439	1.653	0.3748	0.4796	3.649
4	0.0588	0.0764	0.5523	0.2036	0.2534	1.669	0.3988	0.4958	3.513
5	0.0603	0.0782	0.5337	0.1907	0.2385	1.708	0.4452	0.5331	3.555
6	0.0721	0.0914	0.6784	0.2516	0.3186	2.417	0.5168	0.6436	4.621
average	0.0656	0.0834	0.56	0.196	0.2445	1.7233	0.4277	0.5291	3.7223
SD	0.0055	0.0057	0.0593	0.0328	0.0421	0.376	0.0497	0.0605	0.4726

ตารางแสดงการวัดค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ส (Vicker's hardness) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ทดสอบโดยเครื่องทดสอบความแข็งผิวระดับไมโครเมตร (micro-hardness tester) รุ่น FM-700e Type D ของบริษัท Future-Tech ใช้น้ำหนัก 500 กรัม ใช้เวลาในการกด 15 วินาที และกดเป็นจำนวน 10 ครั้งต่อชิ้นงาน

No.	$Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$				Ti-6Al-4V			
	D1	D2	$D_{avg}$	Hv	D1	D2	$D_{avg}$	Hv
1	39.72	37.72	38.72	618.45	57.42	57.42	57.42	281.22
2	42.77	41.46	42.12	522.76	57.76	56.20	56.98	285.58
3	41.08	40.89	40.99	551.98	58.01	57.64	57.83	277.30
4	41.97	41.06	41.52	537.98	55.16	55.13	55.15	304.90
5	39.13	41.76	40.45	566.82	58.28	55.55	56.92	286.23
6	41.83	41.63	41.73	532.45	55.93	57.52	56.73	288.15
7	39.93	40.32	40.13	575.90	55.69	54.04	54.87	308.02
8	39.60	39.53	39.57	592.31	55.65	54.61	55.13	305.07
9	40.23	39.66	39.95	581.10	57.60	55.59	56.60	289.48
10	39.51	40.44	39.98	580.23	56.37	54.62	55.50	301.07
Average				566.00				292.70
SD				29.72				11.05

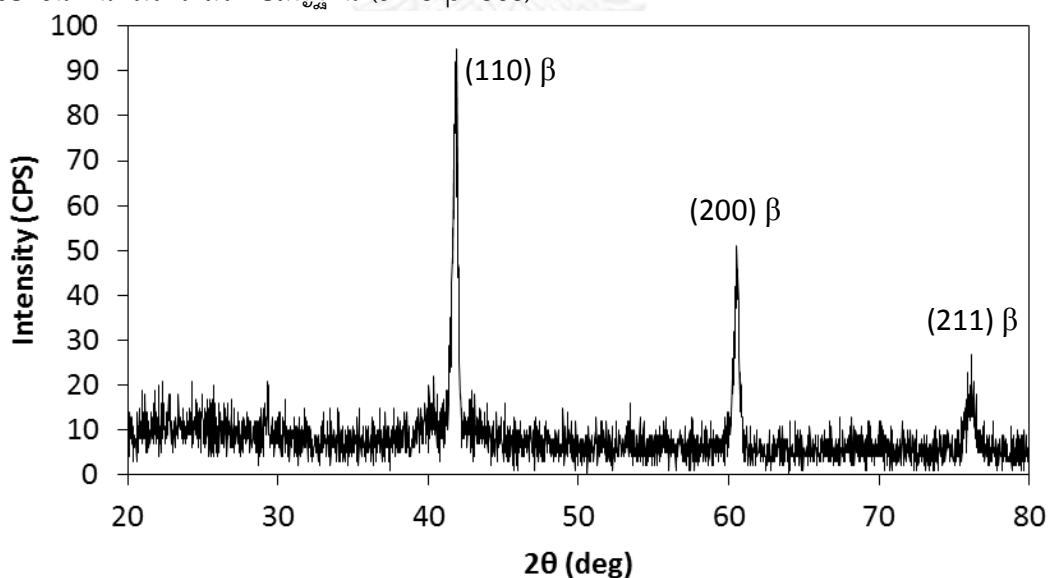
ตารางแสดงการคำนวณร้อยละของจำนวนอนุภาคที่ฝังตัวอยู่บนผิวชิ้นงาน (percentage of embedded particle: EP%) จากภาพถ่ายที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) (รูปที่ 4.12) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ผ่านการพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินาขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

Samples	White area (Pixel)	Black area (Pixel)	Total (Pixel)	%black area#1	%black area#2	Average	SD
TiMG-50	188769	12542	201311	6.23%	10.83%	8.53%	3.25%
TiMG-250	169888	29620	199508	14.85%	18.76%	16.80%	2.77%
Ti64-50	173739	26875	200614	13.40%	14.98%	14.19%	1.12%
Ti64-250	163511	36744	200255	18.35%	21.32%	19.83%	2.10%

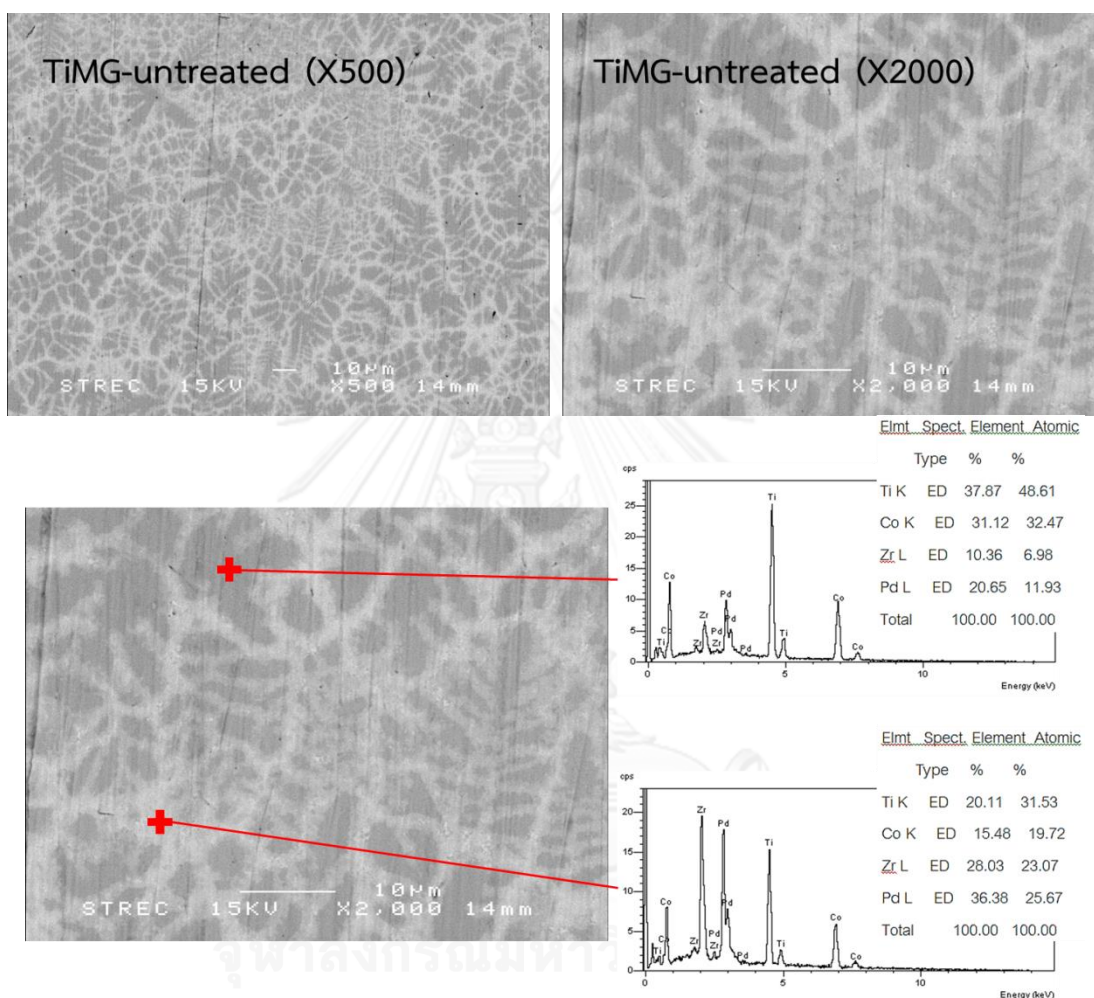
ตารางแสดงการวัดค่ามุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างชิ้นงานและน้ำ โดยใช้วิธี sessile drop ด้วยเครื่อง DM-CE1 ของบริษัท Kyowa โดยใช้หลอดฉีดยาระดับไมโครเมตร (micrometric syringe) หยดน้ำปริมาณ 1 ไมโครลิตรลงบนผิวของชิ้นงานที่อุณหภูมิห้อง ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  และชิ้นงาน Ti-6Al-4V ที่ผ่านการขัดกระดาษทรายและพ่นขัดผิวด้วยอะลูมินา ขนาดเฉลี่ย 50 และ 250 ไมโครเมตร

Samples	Contact angle (deg.)						
	#1	#2	#3	#4	#5	Average	SD
TiMG-untreated	78.1	78.4	83.6	78.8	66.6	77.1	6.3
TiMG-50	65.4	74.9	62.1	84.3	76.1	72.6	8.9
TiMG-250	101.6	99.9	98.1	92.4	60.5	90.5	17.1
Ti64-untreated	60.2	58.8	59.5	61.3	57.0	59.4	1.6
Ti64-50	77.5	80.8	91.2	99.5	87.5	87.3	8.7
Ti64-250	77.4	67.7	78.0	62.0	56.5	68.3	9.4

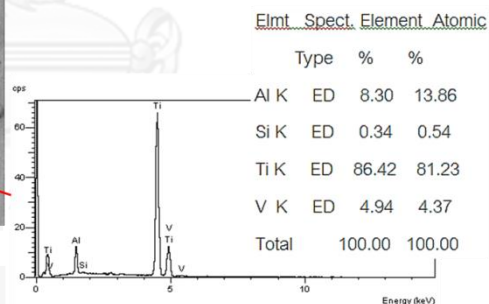
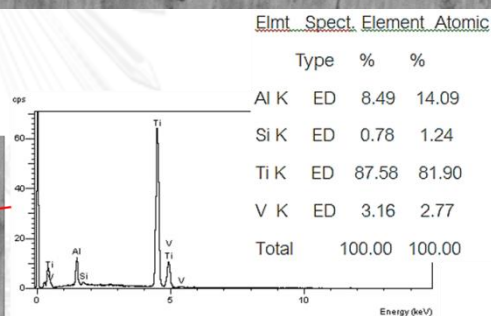
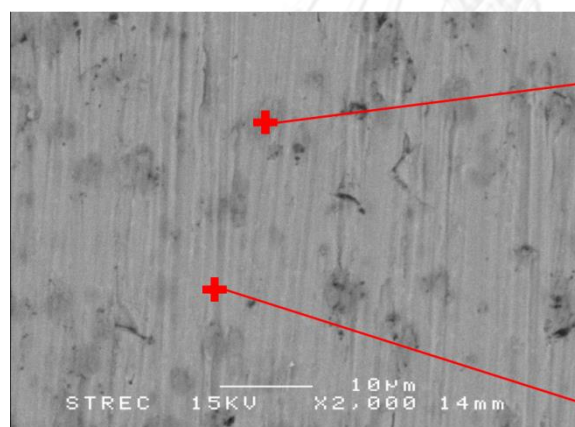
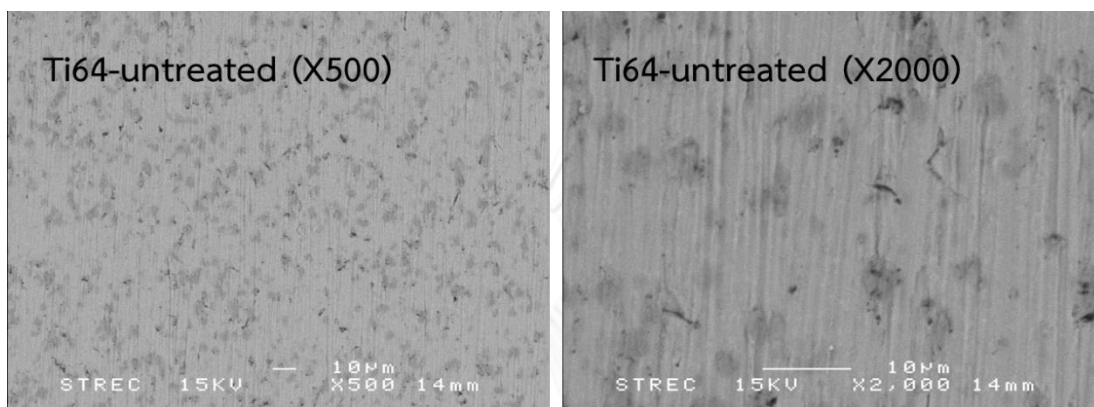
ผลการทดสอบด้วยเครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer, XRD) ของชิ้นงาน  $Ti_{40}Zr_{10}Co_{36}Pd_{14}$  ที่หล่อขึ้นรูปให้เป็นรูปเหรียญ เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ทน 1 มิลลิเมตร โดยใช้เตาอาร์คสลุญอากาศแบบเหวี่ยง (Arc tilt melting furnace: OROTIG Speedcast 220-M) ซึ่งพบเฟสเบต้าของไทเทเนียม แสดงให้เห็นว่าชิ้นงานนี้ยังมีโครงสร้างผลึกอยู่ แต่ทั้งนี้ พบลักษณะของพีคที่กว้าง (broad peak) ที่ส่วนล่างของพีค แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีบางส่วนของชิ้นงานที่มีโครงสร้างอสัณฐาน (amorphous)



ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) แสดงให้เห็นโครงสร้างและเฟสของชิ้นงาน TiMG-untreated ที่กำลังขยาย X500 และ X2000 และได้วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (Energy Dispersive X-Ray Spectrometer; EDS) เพื่อวิเคราะห์เฟสของโครงสร้างสีเทาอ่อนและเทาเข้ม



ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โหมดอิเล็กตรอนแบบกระเจิงกลับ (BSE) แสดงให้เห็นโครงสร้างของชิ้นงาน Ti64-untreated ที่กำลังขยาย X500 และ X2000 และได้วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (Energy Dispersive X-Ray Spectrometer; EDS) เพื่อวิเคราะห์เฟสของโครงสร้างสีเทาอ่อนและเทาเข้ม



CHULALONGKORN U

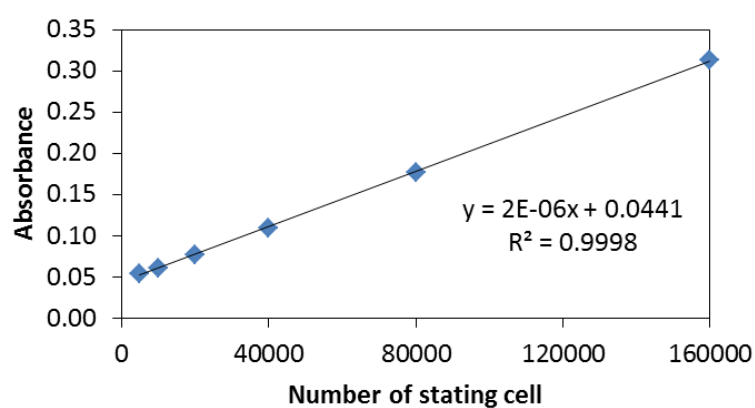


## ภาคผนวก ข

ตารางและกราฟแสดงโค้งมาตรฐาน (Standard curve) ของเซลล์ SaOS-2

Absorbance	Number of stating cell					
	5000	10000	20000	40000	80000	160000
OD# 1	0.056	0.054	0.078	0.110	0.178	0.309
2	0.053	0.068	0.077	0.108	0.176	0.317
Average	0.055	0.061	0.078	0.109	0.177	0.313
SD	0.002	0.010	0.001	0.001	0.001	0.006

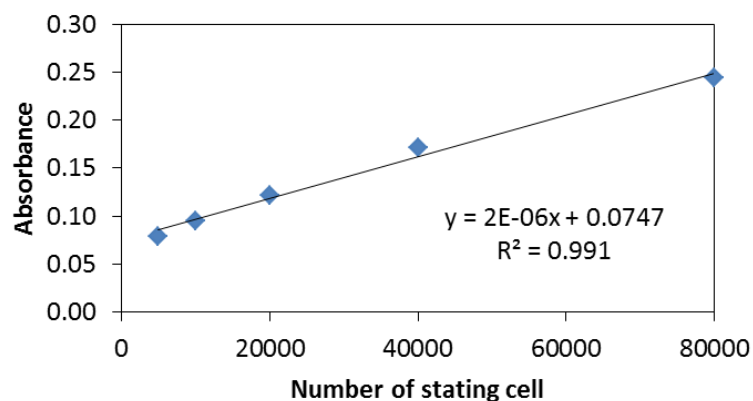
Standard curve of SaOS-2



ตารางและกราฟแสดงโค้งมาตรฐาน (Standard curve) ของเซลล์ MC3T3-E1

Absorbance	Number of stating cell				
	5000	10000	20000	40000	80000
ID# 1	0.077	0.091	0.121	0.165	0.232
2	0.076	0.096	0.118	0.162	0.239
3	0.085	0.099	0.125	0.187	0.262
Average	0.079	0.095	0.121	0.171	0.244
SD	0.005	0.004	0.004	0.014	0.016

Standard curve of MC3T3-E1



ตารางแสดงการวัดการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation) ของเซลล์ SaOS-2 ด้วยวิธี MTT (Methylthiazol Tetrazolium assay) โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 80,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน (n = 3) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1, 3 และ 5 วัน ค่า O.D. (optical density) จะบ่งชี้ถึงจำนวนของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น BioTek ELx800 โดยใช้ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

Absorbance	Samples								
	Cover glass			Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Co <sub>36</sub> Pd <sub>14</sub>			Ti-6Al-4V		
	1 day	3 days	5 days	1 day	3 days	5 days	1 day	3 days	5 days
OD# 1	0.548	0.861	1.046	0.547	0.836	0.98	0.537	0.832	1.024
2	0.578	0.87	1.100	0.609	0.862	0.956	0.656	0.852	-
3	0.547	0.854	-	0.554	0.856	-	-	-	-
Average	0.558	0.862	1.073	0.570	0.851	0.968	0.597	0.842	1.024
SD	0.018	0.008	0.038	0.034	0.014	0.017	0.084	0.014	0.000
No. cell	58333	210333	316000	64500	205167	263500	77750	200500	291500

ตารางแสดงการวัดการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation) ของเซลล์ MC3T3-E1 ด้วยวิธี MTT (Methylthiazol Tetrazolium assay) โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 80,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน (n = 3) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1, 3 และ 5 วัน ค่า O.D. (optical density) จะบ่งชี้ถึงจำนวนของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น BioTek ELx800 โดยใช้ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

Absorbance	Samples								
	Cover glass			Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Co <sub>36</sub> Pd <sub>14</sub>			Ti-6Al-4V		
	1 day	3 day	5 day	1 day	3 day	5 day	1 day	3 day	5 day
ID# 1	0.316	0.425	0.545	0.297	0.427	0.560	0.399	0.554	0.670
2	0.302	0.365	0.458	0.264	0.363	0.461	0.406	0.549	0.652
3	0.328	0.379	0.532	0.298	0.453	0.502	-	-	-
Average	0.315	0.390	0.512	0.286	0.414	0.508	0.403	0.552	0.661
SD	0.013	0.031	0.047	0.019	0.046	0.050	0.005	0.004	0.013
No.cell	120317	157483	218483	105817	169817	216483	163900	238400	293150

ตารางแสดงการวัดค่าการพัฒนาตัวของเซลล์ (Cell differentiation) ของเซลล์ MC3T3-E1 ด้วยวิธี ALP (Alkaline phosphatase assay) โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 60,000 cells/well ลงบนชิ้นงาน (n = 3) ที่ใส่ไว้ใน 24-well plate แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1, 5 และ 10 วัน ค่า O.D. (optical density) จะบ่งชี้ถึงปริมาณของ ALP เทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่เซลล์สร้างได้ ซึ่งวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) โดยใช้ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรเพื่อวัดปริมาณ ALP และใช้ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรเพื่อวัดปริมาณโปรตีน

Normalize =ALP/Protein

ALP(x)=Absorbance(y)/0.019

Protein(x)=Absorbance(y)/0.008

Samples			Absorbance					
			ID#				Average	SD
			1	2	3	4		
Cover glass	1 day	ALP	0.356	0.250	0.325	0.345	0.319	0.048
		Protein	0.169	0.124	0.147	0.156	0.149	0.019
		<b>Normalize</b>	<b>0.887</b>	<b>0.849</b>	<b>0.931</b>	<b>0.931</b>	<b>0.899</b>	<b>0.040</b>
	5 day	ALP	1.216	0.569	1.203	1.092	1.020	0.306
		Protein	0.213	0.266	0.201	0.208	0.222	0.030
		<b>Normalize</b>	<b>2.404</b>	<b>0.901</b>	<b>2.520</b>	<b>2.211</b>	<b>2.009</b>	<b>0.750</b>
	10 day	ALP	3.367	2.581	1.481	2.639	2.517	0.778
		Protein	0.300	0.263	0.239	0.271	0.268	0.025
		<b>Normalize</b>	<b>4.726</b>	<b>4.132</b>	<b>2.609</b>	<b>4.100</b>	<b>3.892</b>	<b>0.902</b>
Ti <sub>40</sub> Zr <sub>10</sub> Co <sub>36</sub> Pd <sub>14</sub>	1 day	ALP	0.217	0.204	0.217	0.205	0.211	0.007
		Protein	0.149	0.177	0.143	0.145	0.154	0.016
		<b>Normalize</b>	<b>0.613</b>	<b>0.485</b>	<b>0.639</b>	<b>0.595</b>	<b>0.583</b>	<b>0.068</b>
	5 day	ALP	0.730	0.538	0.364	0.550	0.546	0.150
		Protein	0.206	0.195	0.248	0.279	0.232	0.039
		<b>Normalize</b>	<b>1.492</b>	<b>1.162</b>	<b>0.618</b>	<b>0.830</b>	<b>1.025</b>	<b>0.383</b>
	10 day	ALP	2.089	1.423	1.712	1.941	1.791	0.290
		Protein	0.276	0.225	0.211	0.245	0.239	0.028
		<b>Normalize</b>	<b>3.187</b>	<b>2.663</b>	<b>3.416</b>	<b>3.336</b>	<b>3.150</b>	<b>0.339</b>
Ti-6Al-4V	1 day	ALP	0.276	0.227	0.281	-	0.261	0.030
		Protein	0.177	0.147	0.178	-	0.167	0.018
		<b>Normalize</b>	<b>0.657</b>	<b>0.650</b>	<b>0.665</b>	-	<b>0.657</b>	<b>0.007</b>
	5 day	ALP	0.841	1.040	0.762	-	0.881	0.143
		Protein	0.243	0.231	0.307	-	0.260	0.041
		<b>Normalize</b>	<b>1.457</b>	<b>1.896</b>	<b>1.045</b>	-	<b>1.466</b>	<b>0.425</b>
	10 day	ALP	3.150	3.229	2.530	-	2.970	0.383
		Protein	0.270	0.312	0.262	-	0.281	0.027
		<b>Normalize</b>	<b>4.912</b>	<b>4.358</b>	<b>4.066</b>	-	<b>4.445</b>	<b>0.430</b>

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

น.ส.สุภารัตน์ อุดมเลิศปรีชา เกิดเมื่อวันอังคารที่ 28 ตุลาคม 2529 ที่จังหวัดนครราชสีมา จบการศึกษาชั้นมัธยมจากโรงเรียนสุนรรีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2548 แล้วได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรีที่ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในปี พ.ศ. 2551 ได้รับทุน Japan Student Services Organization (JASSO) ได้เป็นนักศึกษาแลกเปลี่ยน ไปศึกษาและทำงานวิจัยที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีแห่งนาగాโอกะ (Nagaoka University of Technology) เป็นระยะเวลา 1 ปี และกลับมาสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโทที่ภาควิชาวิศวกรรมโลหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2553



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY