บทที่ 3
การทดลอง

การทดลองนี้แบ่งเป็น 4 ตอน ตอนที่1 เป็นรายละเอียดของวัตถุดิบและสารเคมีที่ใช้ ตอนที่2 เป็นรายละเอียดการเตรียมสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตอันได้แก่ไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD) และโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล ตอนที่3 และตอนที่4 กล่าวถึงวิธีการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์จากสารตั้งต้นต่างๆ โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล และสุดท้ายตอนที่5 เป็นรายละเอียดการวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะอันประกอบไปด้วยการวิเคราะห์เฟสด้วย X-ray diffractometer (XRD , PHILPS : PW 1390/10 Jeol :JDX 3530 และ Shimad-zu XRD-6000) การวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด (Scanning electron microscopy หรือ SEM , JOEL JSM-6400) และการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน ด้วย Fourier-Transform Infrared Spectrometer (FT-IR , Perkin Elmer 1760X)

3.1 วัตถุดิบ ปะการังและสารเคมี

วัตถุดิบ

ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการสกัดเจลาตินจากกระดูกมีส่วนประกอบทางเคมีและผลวิเคราะห์ XRD ดังในผลการทดลองที่ 4.1 ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์โมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต และไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมไฮดรอกซีอะพาไทต์

ปะการัง

ปะการังสกุล (genus) Porites ซึ่งสามารถหาได้ในประเทศ รูปที่3-1 แสดงปะการังที่ใช้ในการทดลอง เป็นปะการังที่ใช้เป็น eye socket support ใส่ในเบ้าตามนุษย์ เป็นทรงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20 มิลลิเมตร มีน้ำหนัก 4.096 กรัม

สารเคมีที่ใช้ ได้แก่

1 กรดไนตริก (69.0-70.0% Actual Analysis, J.T. Baker)

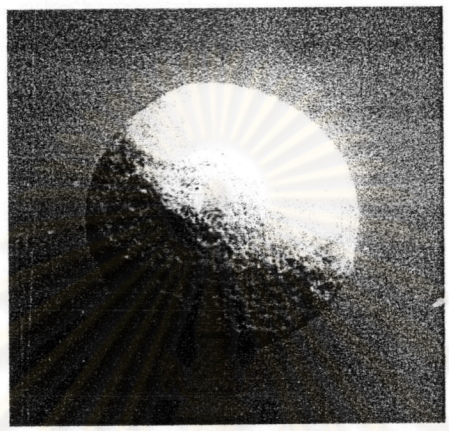
2 สารละลายแอมโมเนียม (35% NH_3, BDH AnalaR)

3 อะซีโตน (Actual Analysis, J. T. Baker)

4 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (> 96.0%, Fluka)

5 ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจน ออร์โทฟอสเฟต (> 98.0% , Analytical Reagent, Ajax)

6 กรดฟอสฟอริก (85.0%, BDH AnalaR)



รูปที่ 3-1 แสดงภาพปะการังที่ใช้ในการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การเตรียมสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล

สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล ได้แก่ ไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) ไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD) และโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (MCPM) เตรียมตามวิธีในรายการอ้างอิงลำดับที่ 4 วิธีการเตรียมสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่ใช้เป็นสารตั้งต้นได้กล่าวไว้ในหัวข้อดังต่อไปนี้

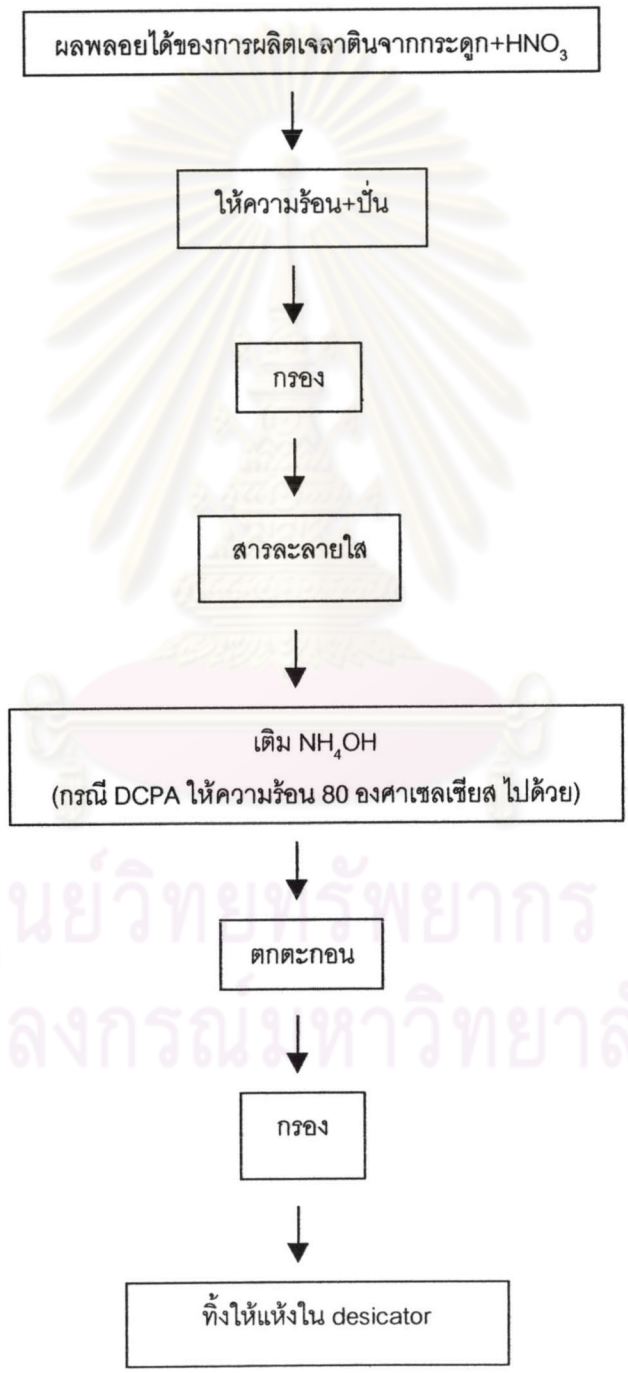
3.2.1 การเตรียมไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟออสเฟตไดไฮเดรต (DCPD)

3.2.2 การเตรียมโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (MCPM)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.1 การเตรียมไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD)

ไดแคลเซียมฟอสเฟสแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD) เตรียมจากวัตถุดิบที่ผ่านตะแกรงขนาด 140 เมช มาละลายในกรดไนตริกและตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ตามรายการอ้างอิงลำดับที่ 4 มีขั้นตอนดังรูปที่ 3-2

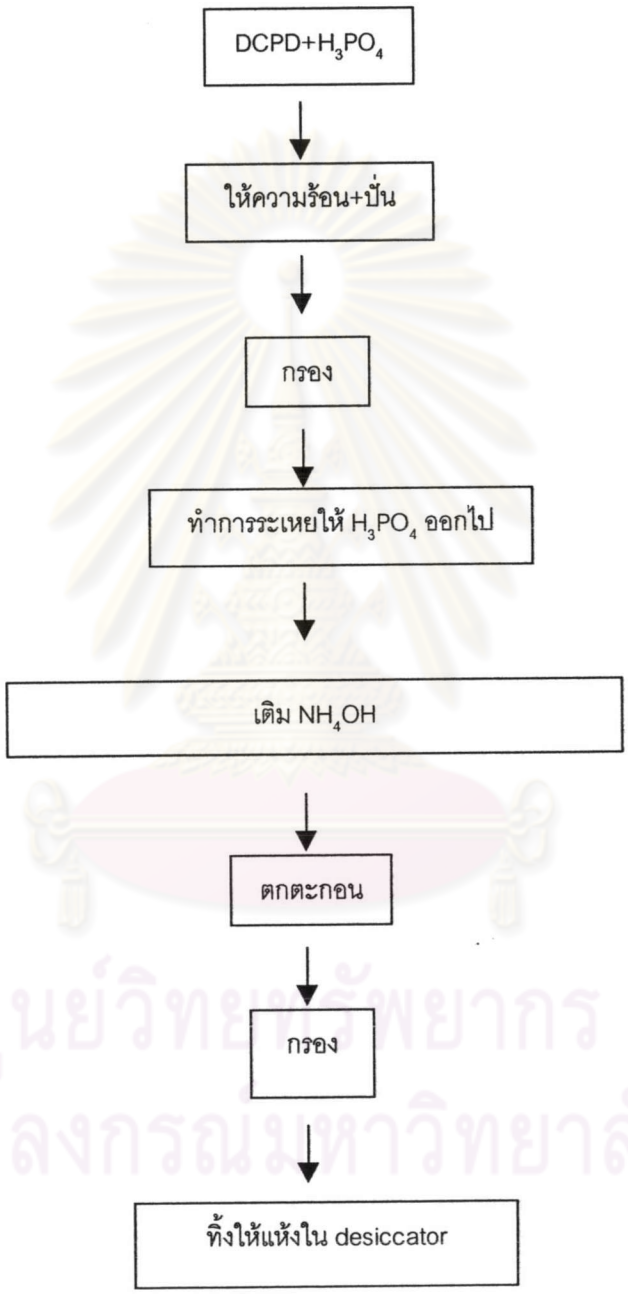


รูปที่ 3-2 ขั้นตอนการเตรียม DCPA และ DCPD

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 การเตรียมโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (MCPM)

โมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตเตรียมจากไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรตละลายในกรดฟอสฟอริกและให้ความร้อนเพื่อให้โมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตตกตะกอน ตามวิธีในรายการอ้างอิงลำดับที่ 4 โดยมีขั้นตอนดังที่สรุปเป็นแผนภูมิในรูปที่ 3-3



รูปที่ 3-3 ขั้นตอนการเตรียม MCPM

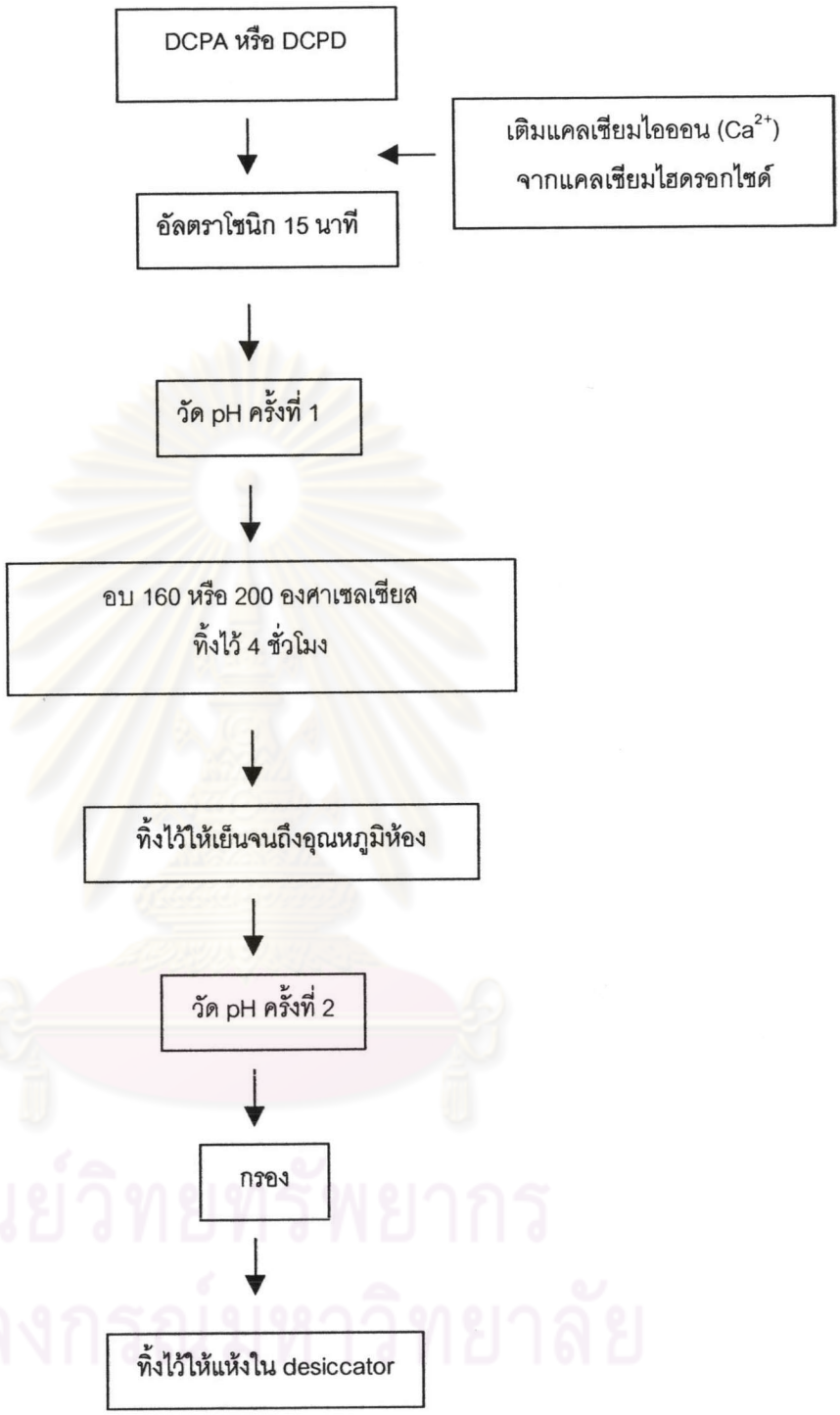
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์จากไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่มีอัตราส่วน Ca/P เป็น 1.5 และ 1.67 สังเคราะห์โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัลจากสารตั้งต้น 2 ตัว คือไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD) ซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่เตรียมจากผลพลอยได้ของการผลิตเจลาตินจากกระดูกตามวิธีที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 3.2.1 ขั้นแรกนำไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) หรือไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (DCPD) มาตามปริมาณตามที่ได้กำหนดไว้ในตารางที่ 3-1 และเติมแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ซึ่งมาจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) ในปริมาณต่างๆ ตามตารางที่ 3-1 เช่นเดียวกัน ลงในขวดเทฟลอน จากนั้นเติมน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตร นำไปอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาที วัด pH ครั้งที่ 1 และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดเทฟลอนใส่ออโตเคลฟ (autoclave) เข้าเตาอบที่อุณหภูมิ 160 และ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้จนเย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่า pH ครั้งที่ 2 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นและอะซีโตนทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องใน desiccator

ตารางที่ 3-1 แสดงปริมาณสารตั้งต้นและสภาวะที่ใช้ในการทดลอง 3.2.3

สารตั้งต้น	อัตราส่วน Ca/P	น้ำหนักสารตั้งต้น (กรัม)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	เวลาอัลตราโซนิก (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)/ เวลาที่คงไว้ (นาที)
DCPA+$Ca(OH)_2$	1.5	0.79, 0.21	10	15	160, 200/4
DCPA+$Ca(OH)_2$	1.67	0.73, 0.27	10	15	160, 200/4
DCPD+$Ca(OH)_2$	1.5	0.82, 0.18	10	15	160, 200/4
DCPD+$Ca(OH)_2$	1.67	0.78, 0.22	10	15	160, 200/4



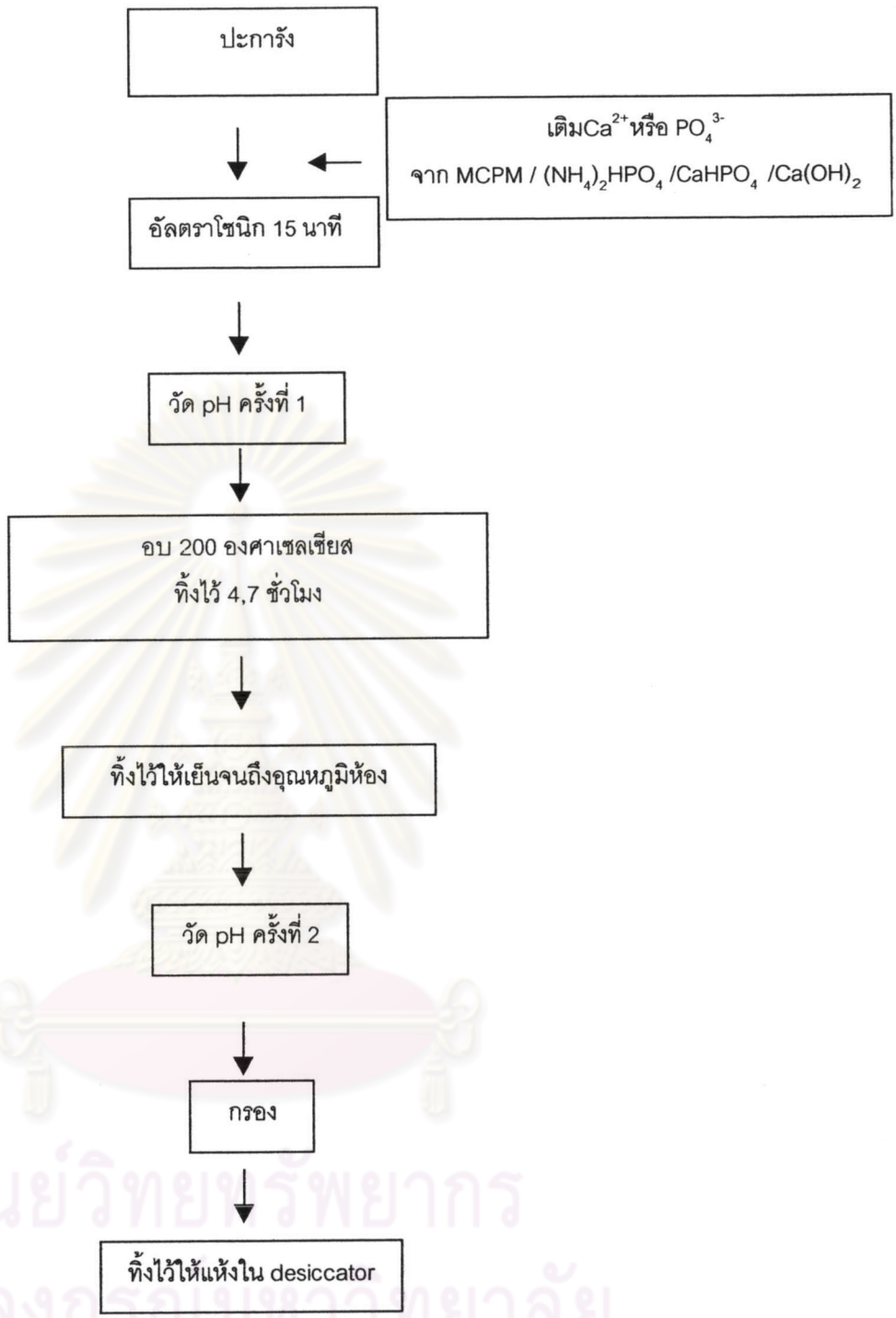
รูปที่ 3-4 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์จากไดแคลเซียมฟอสเฟตแอนไฮดรัส (DCPA) และไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต โดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์บนผิวปะการังโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล

ไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์บนผิวปะการังโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล โดยนำปะการัง และสารตั้งต้น คือโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (MCPM) หรือสารละลายได-แอมโมเนียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต($(NH_4)_2HPO_4$ solution) หรือสารละลายไดแคลเซียมฟอสเฟต ($CaHPO_4$ solution) ที่ละลายใน 1M H_3PO_4 หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) ใส่ลงในขวดเทฟลอน นำไปอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาที วัด pH ครั้งที่ 1 และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดเทฟลอนใส่ออโตเคลฟ เข้าเตาอบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 และ 7 ชั่วโมง ทิ้งไว้จนเย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่า pH ครั้งที่ 2 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นและอะซีโตนทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องใน desiccator ขั้นตอนการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์บนผิวปะการังโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัลด้วยสารตั้งต้นต่างๆแสดงไว้ในรูปที่ 3-5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3-5 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไฮดรอกซีอะพาไทต์บนผิวปะการังโดยวิธีไฮโดรเทอร์มัล

3.5 การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะ

3.5.1 เฟส

เฟสของสารตั้งต้นและสารที่สังเคราะห์ได้ทำการวิเคราะห์ด้วย X-ray diffractometer (XRD)

ดังต่อไปนี้

1 PHILIPS : PW 1390/10 2θ 4-80° Range 4.10^2 c/s,scanning speed 2°/min, time constant 1 sec

2 Jeol : JDX 3530 2θ 5-80° step angle 0.05° count time 1.5 sec

3 Shimad-zu XRD-6000 2θ 5-80° step angle 0.05° count time 1.5 sec

3.5.2 ลักษณะโครงสร้างจุลภาค

ลักษณะโครงสร้างจุลภาคของสารตั้งต้นและสารที่เตรียมได้ ทดสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกวาด (Scanning electron microscopy หรือ SEM)

(JOEL JSM-6400)

3.5.3 หมู่ฟังก์ชัน

ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของสารตั้งต้นและสารที่เตรียมได้ด้วย Fourier-Transform Infrared Spectrometer (FT-IR , Perkin Elmer 1760X) ตั้งแต่ความถี่ 400-4000 เซนติเมตร$^{-1}$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย