

<b>Thesis Title</b>	Preparation of Hydroxyapatite-Chitosan Composites for Use as Scaffolds in Bone Tissue Regeneration
<b>Author</b>	Miss Wipada Nacharoen
<b>Degree</b>	Master of Science (Chemistry)
<b>Thesis Advisor</b>	Dr. Robert Molloy

### ABSTRACT

This research project has been concerned with the preparation, characterisation and property testing of hydroxyapatite-chitosan (HA-CTS) composites for use as scaffolds for bone tissue regeneration. Two different commercial chitosan (CTS) products were compared, namely: CTS prepared from  $\alpha$ -chitin from shrimp waste (Seafresh) and from  $\beta$ -chitin from squid waste (Ta Ming).

From their characterisation, it was found that the CTS (Ta Ming) had a higher molecular weight than the CTS (Seafresh) but a lower degree of deacetylation. Both CTS products had moisture contents of about 10% by weight.

HA was synthesized via the reaction between orthophosphoric acid,  $H_3PO_4$ , and calcium hydroxide,  $Ca(OH)_2$ , yielding a product with a Ca/P atomic ratio of 1.76,

higher than the theoretical value of 1.67 calculated from the HA molecular formula of  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . This high Ca/P was possibly due to contamination with unreacted  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  from the synthesis reaction. The HA product was obtained in the form of a finely divided white powder.

HA-CTS (1:1 w/w) composites were prepared by a chemical co-precipitation method. In this method, the CTS was precipitated from solution in dilute aqueous acetic acid at the same time that the HA was formed and co-precipitated in the same mixture. Scanning electron microscopy (SEM) results showed that the HA-CTS composites were not just HA/CTS particulate mixtures but were genuine composite materials with the HA particles embedded in the CTS matrix. Both composites could be conveniently transformed into putty-like materials by adding an equal weight of 20% w/v aqueous citric acid solution and mixing and moulding by hand. Their setting times were of the order of 20-30 mins with the HA-CTS (Ta Ming) slightly faster than the HA-CTS (Seafresh) composite.

Finally, *in vitro* hydrolytic degradation experiments carried out on compressed discs immersed in a simulated body fluid solution at 37 °C for a period of 12 weeks showed that, after the fast initial weight loss of citric acid, CTS degradation from the composite was relatively slow with HA-CTS (Seafresh) slightly faster than the HA-CTS (Ta Ming). Both composites showed evidence from SEM that, following CTS loss from the surface, the exposed HA particles then formed a less hydrophilic surface which slowed down further weight loss.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การเตรียมวัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซานสำหรับใช้

เป็นโครงในการงอกใหม่ของเนื้อเยื่อกระดูก

ผู้เขียน

นางสาว วิภาดา นาเจริญ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. โรเบิร์ต มอลลอย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับการเตรียม การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะ และทดสอบสมบัติของ วัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซานสำหรับใช้เป็นโครงในการงอกใหม่ของเนื้อเยื่อกระดูก โดยผลิตภัณฑ์โคโคซานทางการค้าที่แตกต่างกันสองชนิดถูกนำมาศึกษาเปรียบเทียบกันคือ โคโคซานที่เตรียมจากแอลฟา-โคโคตินจากกากกุ้ง (ซีเฟรช) และโคโคซานที่เตรียมจากเบต้า-โคโคตินจากกากปลาหมึก (ต้าหมิง) จากการวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะพบว่าโคโคซาน (ต้าหมิง) มีมวลโมเลกุลสูงกว่า

โคโคซาน (ซีเฟรช) แต่มีดีกรีของการดัดอะเซทิเลตต่ำกว่า ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์โคโคซานทั้งสองชนิดมีความชื้นประมาณ 10% โดยน้ำหนัก

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ถูกสังเคราะห์จากปฏิกิริยาระหว่างกรดออร์โทฟอสฟอริกและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ได้ผลผลิตที่มีอัตราส่วนจำนวนอะตอมของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ

1.76 มีค่ามากกว่าค่าทางทฤษฎีซึ่งเท่ากับ 1.67 จำนวนได้จากสูตรโมเลกุลของ ไฮดรอกซีอะพา

ไทต์คือ  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  อัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสที่สูงกว่าอาจจะเนื่องมาจากการ

ปนเปื้อนของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ไม่ทำปฏิกิริยาจากการสังเคราะห์ ผลิตภัณฑ์ไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่ได้อยู่ในรูปผงละเอียดสีขาว

วัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซาน (ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก) ถูกเตรียมจากการตกตะกอนร่วมทางเคมี วิธีนี้โคโคซานถูกตกตะกอนจากสารละลายกรดอะซิติกเจือจาง ในขณะที่เดียวกับที่ไฮดรอกซีอะพาไทต์ถูกสร้างขึ้นและตกตะกอนร่วมในสารผสมเดียวกัน จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าวัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซานไม่ได้เป็นเพียงสารผสมของอนุภาคของไฮดรอกซีอะพาไทต์กับโคโคซานเท่านั้น แต่เป็นวัสดุผสมแท้ที่มีอนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์ฝังในเนื้อเยื่อโคโคซาน วัสดุผสมทั้งสองสามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็นวัสดุคล้ายปูนได้โดยการเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมให้เข้ากันและปั่นด้วยมือ พบว่าเวลาในการแข็งตัวอยู่ในช่วง 20-30 นาที โดยการแข็งตัวของวัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซาน (ต้าหมิง) เร็วกว่าวัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซาน (ซีเฟรช) เล็กน้อย

จากการทดลองการสลายตัวแบบไฮโดรไลติกภายนอกในร่างกายโดยนำแผ่นวัสดุผสมแซงใน

สารละลายจำลองของเหลวในร่างกายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าช่วงแรกมีการลดลงอย่างรวดเร็วของน้ำหนักเนื่องจากการลดลงของกรดซัลฟิวริกและโคโคซานมีการสลายตัวอย่างช้าๆ โดยอัตราการสลายตัวของวัสดุผสมไฮดรอกซีอะพาไทต์-โคโคซาน (ซีเฟรช) เร็วกว่า (ต้าหมิง) เล็กน้อย เมื่อวิเคราะห์วัสดุผสมทั้งสองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงการสลายตัวของโคโคซานที่ผิวและปรากฏอนุภาคไฮดรอกซีอะพาไทต์ซึ่งทำให้มีความชอบน้ำน้อยลงซึ่งสอดคล้องกับอัตราการลดลงของน้ำหนักที่ช้าลง