

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA pH VÀ DUNG MÔI ETANOL ĐẾN SỰ HÌNH THÀNH CANXI HYDROXY APATIT TỪ CANXI NITRAT

Đào Quốc Hương*, Dương Thùy Linh

Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Liên hệ với tác giả: huongdao59@yahoo.com

Đến Toà soạn ngày: 18/11/2010; Nhận đăng ngày: 17/8/2011

1. MỞ ĐẦU

Các canxi photphat, nhất là canxi hydroxyapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (còn gọi là hydroxyapatit, HA) có vai trò rất quan trọng trong cơ thể người và động vật. Do có cùng bản chất và thành phần hoá học, HA tự nhiên và nhân tạo ở các dạng khác nhau đều có tính tương thích sinh học cao với các tế bào và mô trong cơ thể người [1, 2, 3]. Ở dạng màng và dạng khối xốp, HA có đặc tính giống như xương tự nhiên, có tính dẫn xương tốt do các lỗ xốp liên thông với nhau làm cho các mô sợi, mạch máu dễ dàng xâm nhập [4]. Cũng ở dạng khối xốp, HA còn có khả năng vận chuyển và phân tán thuốc [5]. Ở dạng bột kích thước nano (kích thước 20 - 100 nm), HA là dạng canxi photphat dễ được cơ thể hấp thu nhất với tỉ lệ Ca/P trong phân tử đúng như tỉ lệ trong xương và răng. HA vi tinh thể được dùng làm thực phẩm chức năng bổ sung canxi và thuốc chống loãng xương.

Các nghiên cứu về HA tập trung vào tổng hợp chúng ở các dạng bột, dạng khối xốp, dạng màng bằng các phương pháp khác nhau và khảo sát các đặc tính để nâng cao khả năng ứng dụng trong y sinh học và dược học [6, 7]. Ở trong nước, đã có một số nghiên cứu chế tạo HA ở các dạng bằng các phương pháp khác nhau [8] và thử nghiệm khả năng ứng dụng của chúng [9]. Để có thể dùng làm thực phẩm chức năng và bào chế thuốc chống loãng xương, ngoài các tiêu chuẩn dược học, HA tổng hợp bằng phương pháp hoá học cần phải đạt được nhiều chỉ tiêu, trong đó độ đơn pha và kích thước hạt có vai trò rất quan trọng. Tiếp theo các công bố [10, 11], bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của pH và dung môi etanol đến sự tạo thành HA và các pha khác từ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ và $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

2. PHẦN THỰC NGHIỆM

Chuẩn bị mẫu: Các hoá chất ban đầu $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và dung dịch NH_3 trong nước đều có độ tinh khiết loại PA của Trung Quốc. Lượng $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ và $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ dùng cho phản ứng được chuẩn bị theo tỉ lệ mol Ca/P bằng 1,67.

Quy trình tổng hợp HA được trình bày chi tiết trong [12].

Để khảo sát ảnh hưởng của pH trong phản ứng tổng hợp HA, dung dịch NH_3 25% trong nước được dùng để tạo ra các giá trị pH 5 - 6 (mẫu P1), 8 - 9 (mẫu P2) và 11 - 12 (mẫu P3).

Để khảo sát ảnh hưởng của dung môi, các hoá chất $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ được pha trong nước cất (mẫu D1), hỗn hợp nước-etanol theo tỉ lệ 1 : 1 (mẫu D2). Đối với phản ứng trong etanol 96%, do $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ khó hoà tan nên thí nghiệm được thực hiện bằng cách nhỏ dung dịch $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ trong etanol vào huyền phù $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ trong etanol (mẫu D3).

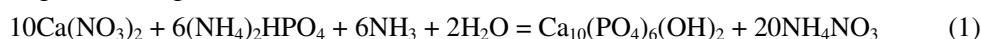
Sản phẩm phản ứng được khảo sát độ đơn pha và kích thước hạt bằng các phương pháp: nhiễu xạ tia X (XRD) trên thiết bị Siemens D5000, phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR) trên máy IMPACT 410-Nicolet và hiển vi điện tử quét (SEM) bằng thiết bị Hitachi S4800.

Các đặc trưng XRD và FTIR của mẫu được so sánh với mẫu HA chuẩn của Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia Mỹ (National Institute of Standards and Technology, NIST) [7].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phản ứng tổng hợp HA

Phương trình chung tạo HA như sau:



Trong hỗn hợp phản ứng có tồn tại các ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , OH^- , NO_3^- và NH_4^+ . Do ΔG của phản ứng trên ở 30 °C có giá trị rất âm (≈ -813 kJ/mol) và tích số tan của HA rất nhỏ ($T_{\text{HA}} = 10^{-128}$) nên phản ứng kết tủa giữa các ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} và OH^- tạo thành $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ được ưu tiên và xảy ra với tốc độ nhanh. Bản chất của phản ứng này là xuất phát từ các tiểu phân rất nhỏ dạng ion trong dung dịch để tạo thành sản phẩm kết tủa HA có kích thước lớn dần từ kích thước nano ban đầu. Do vậy, thay đổi các điều kiện phản ứng như nhiệt độ, độ pH, dung môi... có thể kiểm soát được độ đơn pha, kích thước và độ tinh thể của sản phẩm HA.

3.2. Ảnh hưởng của pH

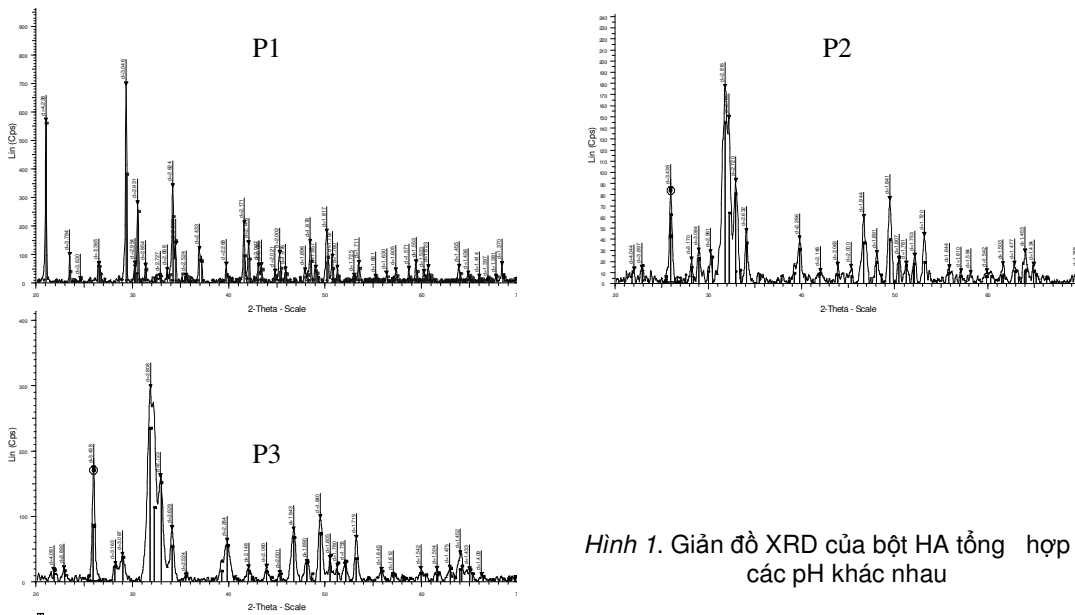
Giản đồ XRD của HA tổng hợp ở các pH khác nhau được chỉ ra trên hình 1.

Ở khoảng pH thấp và cho đến 5 - 6, trên giản đồ XRD (P1, hình 1) không thấy xuất hiện các vạch nhiễu xạ đặc trưng của HA mà xuất hiện các vạch nhiễu xạ của hai hợp chất canxi photphat, chủ yếu là $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và một lượng nhỏ CaHPO_4 .

Ở khoảng pH 8-9 (P2, hình 1), ngoài các vạch nhiễu xạ đặc trưng có cường độ mạnh của HA, trên giản đồ XRD còn xuất hiện một số vạch có cường độ rất yếu của $\text{Ca}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$, chứng tỏ có tồn tại một lượng rất nhỏ pha này trong sản phẩm.

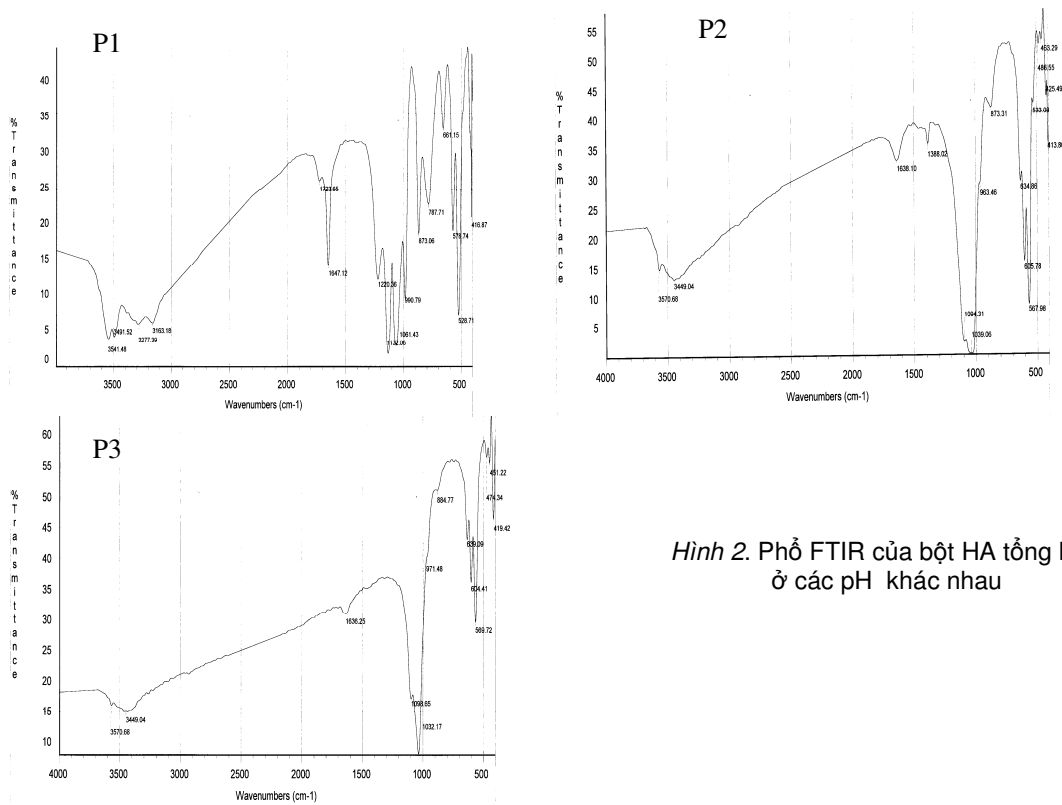
Ở khoảng pH 11 - 12 (P3, hình 1), giản đồ XRD của mẫu chỉ có các vạch nhiễu xạ đặc trưng của HA, không xuất hiện các vạch của các pha khác và phù hợp với mẫu HA chuẩn của NIST. Điều này cho phép kết luận, sản phẩm thu được là HA đơn pha.

Nghiên cứu ảnh hưởng của pH và dung môi etanol đến sự hình thành canxi hydroxy apatit ...



Hình 1. Giản đồ XRD của bột HA tổng hợp ở các pH khác nhau

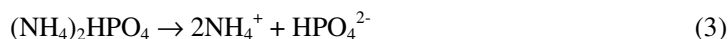
Phổ FTIR (hình 2) cũng cho kết quả tương tự.



Hình 2. Phổ FTIR của bột HA tổng hợp ở các pH khác nhau

Các mẫu thu được ở khoảng pH 5 - 6 (P1, hình 2) có các vân hấp thụ với cường độ mạnh trong vùng từ 1700 đến 1600 và từ 1200 đến 500 cm^{-1} , đặc trưng cho nhóm HPO_4^{2-} . Ở khoảng pH 8 - 9 (P2, hình 2), các mẫu có dải hấp thụ có cường độ tương đối mạnh ở vị trí 1388 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm CO_3^{2-} được gán cho $\text{Ca}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$. Đối với mẫu ở pH 11 - 12 (P3, hình 2), trên phổ xuất hiện các vân đặc trưng cho HA và phù hợp với mẫu HA chuẩn của NIST. Vân đặc trưng cho nhóm HPO_4^{2-} ở vị trí 873 cm^{-1} chỉ xuất hiện với cường độ rất yếu, chứng tỏ sự có mặt không đáng kể của CaHPO_4 .

Trong dung dịch, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và NH_4OH phân li thành các ion:



Trong môi trường có độ pH 11 - 12, nồng độ ion OH^- lớn, cân bằng (4) dịch chuyển mạnh sang bên phải, nồng độ ion PO_4^{3-} lớn hơn rất nhiều nồng độ ion HPO_4^{2-} . Do có tích số tan trong nước rất nhỏ ($T_A=10^{-128}$) nên kết tủa HA dễ dàng được tạo thành với hiệu suất cao nhất từ các ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} và OH^- theo phương trình:



Ở pH thấp hơn, cân bằng (4) sẽ dịch chuyển sang trái, nồng độ HPO_4^{2-} tăng lên. Do vậy, bên cạnh phản ứng kết tủa HA theo phương trình (6), còn có hiện tượng kết hợp của ion Ca^{2+} với ion HPO_4^{2-} tạo thành CaHPO_4 theo phương trình:



Ngoài ra trong môi trường pH thấp hơn, ion HPO_4^{2-} sẽ tiếp tục kết hợp với ion H^+ tạo thành ion H_2PO_4^- và H_3PO_4 theo các cân bằng:



Khi đó, sản phẩm của phản ứng là các canxi photphat có thành phần thay đổi

$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ (Calcium-Deficient HA, CDHA), ví dụ như: $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$; $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{4.5}\text{H}_2\text{O}$; CaHPO_4 và $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Lượng rất nhỏ $\text{Ca}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ tồn tại trong sản phẩm có thể do CO_2 trong không khí bị hấp thụ trong quá trình phản ứng, lọc rửa và bảo quản mẫu.

Như vậy, pH có ảnh hưởng đến độ đơn pha của sản phẩm trong phản ứng tổng hợp HA nêu trên. Dung dịch NH_3 trong nước đóng vai trò rất quan trọng, có tác dụng duy trì môi trường phản ứng ở pH cao để tạo ra HA đơn pha.

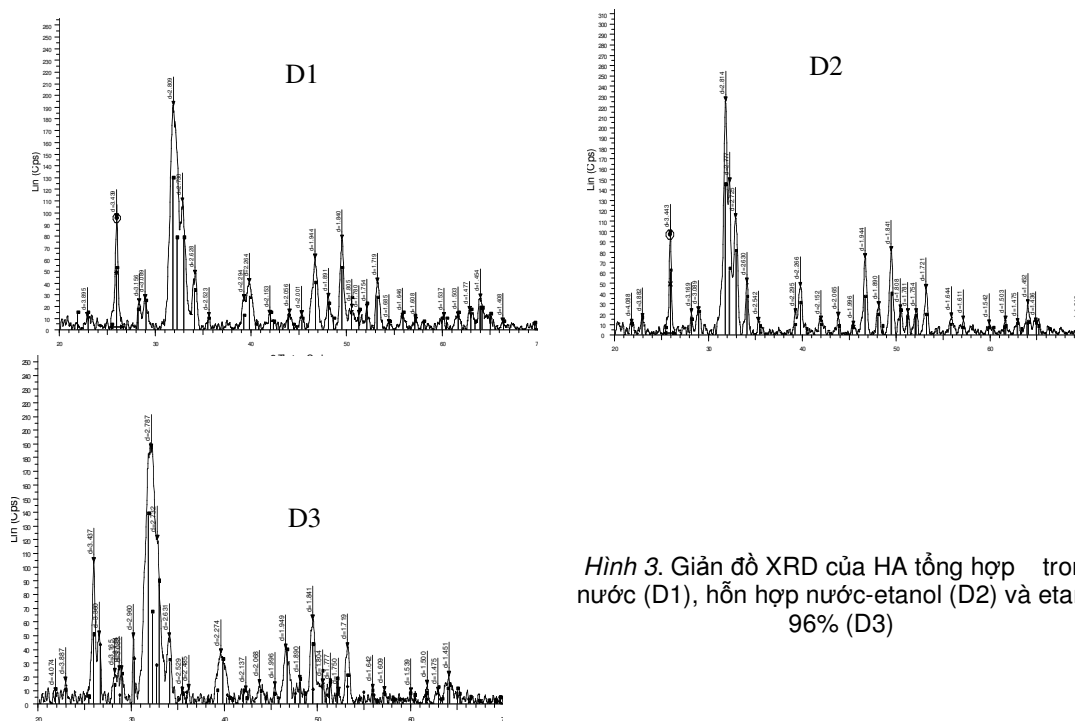
3.3. Ảnh hưởng của dung môi etanol

Trong nước và trong hỗn hợp nước-etanol, các giản đồ XRD (D1 và D2, hình 3) của sản phẩm phản ứng chỉ có các vạch nhiễu xạ đặc trưng của HA và trùng hợp với mẫu HA chuẩn của NIST. Như vậy, HA đơn pha đã được tạo thành trong môi trường nước và trong hỗn hợp nước-etanol.

Trong dung môi etanol 96% (D3, hình 3), ngoài các vạch nhiễu xạ đặc trưng với cường độ rộng như các mẫu HA thu được trong môi trường nước và trong hỗn hợp nước-etanol, còn xuất hiện các vạch nhiễu xạ của CaHPO_4 với cường độ tương đối mạnh.

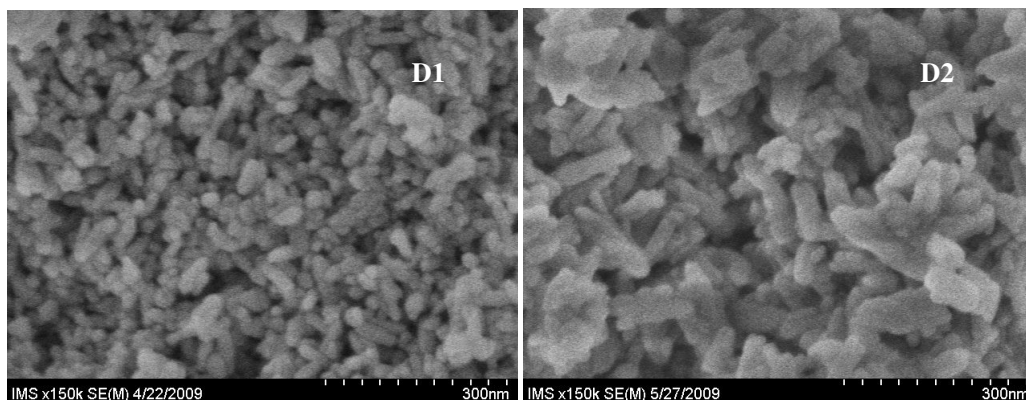
Kết quả khảo sát phổ FTIR của các mẫu sản phẩm cũng tương tự như kết quả XRD. Bên cạnh các vân hấp thụ đặc trưng cho các nhóm PO_4^{3-} và OH^- trong cấu trúc của HA, còn xuất hiện vân hấp thụ ở 875 cm^{-1} của nhóm HPO_4^{2-} với cường độ khá mạnh.

Để phản ứng kết tủa HA diễn ra, các chất đầu là $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và NH_4OH phải được phân li hoàn toàn thành các ion trong dung môi trong suốt quá trình phản ứng. Nước và hỗn hợp nước-etanol đã tạo điều kiện cho các quá trình phân li và kết tủa nói trên. Trong etanol 96%, mặc dù $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ không tan trong etanol nhưng chính lượng nước trong dung dịch NH_3 25% được dùng để điều chỉnh pH trong suốt quá trình phản ứng cũng đã tạo môi trường cho $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ phân li và HA kết tủa. Tuy nhiên, etanol đã làm giảm khả năng phân li của các chất, dẫn đến hình thành sản phẩm phụ là CaHPO_4 bên cạnh sản phẩm chính HA.



Hình 3. Giảm đồ XRD của HA tổng hợp trong nước (D1), hỗn hợp nước-etanol (D2) và etanol 96% (D3)

Sự có mặt của etanol cũng ảnh hưởng đến kích thước hạt của sản phẩm HA. Hình 4 là ảnh SEM của HA được tổng hợp ở các thí nghiệm khác nhau.



Hình 4. Ảnh SEM của HA tổng hợp trong nước (D1) và trong nước-etanol (D2)

Ảnh SEM cho thấy các hạt HA tạo thành trong hỗn hợp nước-etanol (D2, hình 4) có kích thước lớn hơn hạt HA tạo thành trong nước (D1, hình 4). Điều này có thể là do: trong thí nghiệm với etanol, khi nhỏ dung dịch nước chứa các ion NH_4^+ , H^+ và PO_4^{3-} , xảy ra hiện tượng kết tinh cục bộ thành $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ trong dung môi chứa etanol. Sau đó trong quá trình khuấy, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ lại phân li từ từ để tham gia phản ứng kết tủa với các ion Ca^{2+} và OH^- . Do đó, quá trình tạo thành HA xảy ra chậm hơn, dẫn đến hạt HA có kích thước lớn hơn so với HA hình thành trong nước.

Như vậy, dung môi etanol không chỉ ảnh hưởng đến độ đơn pha mà còn ảnh hưởng đến kích thước hạt của tinh thể HA.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp và khảo sát ảnh hưởng của pH và dung môi etanol đến sự hình thành HA trong phản ứng kết tủa từ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và dung dịch NH_3 trong nước.

Độ pH của hỗn hợp trong suốt quá trình là yếu tố quyết định đến độ đơn pha của sản phẩm và có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất của phản ứng. Giá trị pH 11-12 là thích hợp nhất cho sự hình thành HA đơn pha với hiệu suất phản ứng cao.

Dung môi có ảnh hưởng đến sự đơn pha và kích thước hạt của sản phẩm. Sử dụng etanol làm dung môi sẽ góp phần tạo thành sản phẩm phụ CaHPO_4 và làm tăng kích thước hạt của sản phẩm chính HA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ferraz M. P., Monteiro F. J., Manuel C. M. - Hydroxyapatite Nanoparticles: A Review of Preparation Methodology, *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics* **2** (2004) 74-80
2. Liu H. S., Chin T. S., Lai L. S., Chiu S. Y., Chung K. H., Chang C. S., Lui M. T. - Hydroxyapatite Synthesized by a Simplified hydrothermal Method, *Ceramics International* **23** (1997) 19-25.

3. Shinha M., Qadri S. B., Singh P. S. - Preparation and Application of Nanoparticles of Ultra-pure Hydroxyapatite, 10th Foresight Conferences on Molecular Nanotechnology, 2002, www.foresight.org
4. Kazue Yamagishi, Kazuo Onuma, Takashi Suzuki, Fumio Okada, Junji Tagami, Masayuki Otsuki, Pisol Senawangse - Materials chemistry: A synthetic enamel for rapid tooth repair; Nature **433** (2005) 819.
5. Paul W., Sharma Ch. - Porous hydroxyapatite nanoparticles for intestinal delivery of insulin, Trends in Biomaterials & Artificial Organs **14** (2001) 37-38.
6. Bouyer E., Gitzhofer F., Boulose M. I. - Morphological Study of Hydroxyapatite Nanocrystal Suspension, Journal of Materials Science: Materials in Medicine **11** (2000) 523-531.
7. Markovic M., Fowler B. O., Tung M. S. - Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite Reference Materials, Journal Research of the National Institute of Standards and Technology **109** (6) (2004) 553-568.
8. Trần Đại Lâm, Nguyễn Ngọc Thịnh - Tổng hợp nano tinh thể hydroxyapatite bằng phương pháp kết tủa, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **45** (1B) (2007) 470-474.
9. Đỗ Ngọc Liên - Nghiên cứu quy trình tổng hợp bột và chế thử gốm xốp hydroxyapatite, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ Khoa học và Công nghệ, Hà Nội, 2006.
10. Đào Quốc Hương, Phan Thị Ngọc Bích - Tổng hợp bột hydroxyapatite kích thước nano bằng phương pháp kết tủa hoá học, Tạp chí Hoá học **45** (2) (2007) 147-151.
11. Vũ Duy Hiền, Đào Quốc Hương, Phan Thị Ngọc Bích - Tổng hợp và khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến kích thước hạt hydroxyapatite bằng phương pháp kết tủa hoá học, Tạp chí Hoá học **45** (6A) (2007) 21-25.
12. Dương Thuỳ Linh - Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng bột hydroxyapatite kích thước nano tổng hợp từ canxi nitrat, Luận văn Thạc sỹ hoá học, Khoa Hoá học, Đại học Sư phạm Hà Nội, 2009.

SUMMARY

STUDY OF INFLUENCES OF pH AND ETHANOL ON FORMATION OF CALCIUM HYDROXYAPATITE

The influences of different pH values and ethanol in the precipitation reaction of HA from $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and NH_3 were studied. The obtained samples were characterized by using methods such as XRD, FTIR, DTA/TGA and SEM. The results indicate, the pH values and ethanol play the important roles in the precipitation of single phase HA and their effectivity. Low pH values (< 7) lead to form the CaHPO_4 phase, beside HA phase. The single phase HA formation can reach for the highest effectivity by 11 - 12 pH values. The high ethanol contents can also lead to CaHPO_4 formation and increase the crystalline dimensions of HA particles.

Keywords. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, CaHPO_4

