

## TỔNG HỢP BỘT HIĐROXYAPATIT KÍCH THƯỚC NANO BẰNG PHƯƠNG PHÁP KẾT TỦA HÓA HỌC

Đến Tòa soạn 10-4-2006

ĐÀO QUỐC HƯƠNG, PHAN THỊ NGỌC BÍCH

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

### SUMMARY

*Hydroxyapatite (HA) powder was synthesized by simple precipitation method using  $H_3PO_4$  and  $Ca(OH)_2$  at the different temperatures. The obtained HA samples were examined using methods of XRD, SEM, FTIR and TGA. The investigations indicated that precipitating at ambient temperature can create the single phase HA powder with the particle size under 100 nm.*

### I - MỞ ĐẦU

Hydroxyapatit  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  là một loại gốm sinh học, có nhiều ứng dụng trong y sinh học do các đặc tính quý giá của chúng: có hoạt tính và độ tương thích sinh học cao với các tế bào và các mô, không bị cơ thể đào thải, tồn tại ở nhiều trạng thái tập hợp,... [1 - 3].

Hydroxyapatit (HA) là khoáng chất chính trong khung xương người và động vật, ở các dạng xốp và dạng mịn (kích thước 20 - 100 nm). Do vậy, HA được dùng để cung cấp canxi và photphat ngăn ngừa chứng loãng xương ở người. Một lớp HA mịn, mỏng phủ trên xương nhân tạo có tác dụng tăng cường khả năng liên kết với mô và xương tự nhiên hoặc tạo thành lớp men răng mới cứng chắc, hoàn toàn giống men răng tự nhiên [4]. Mới đây, người ta còn phát hiện HA dạng xốp có khả năng vận chuyển và phân tán insulin trong ruột [5, 6].

Trên thế giới, việc nghiên cứu chế tạo HA bằng các phương pháp khác nhau và khảo sát các đặc tính của chúng đang rất phát triển [1, 2]. Trong nước, các hợp chất vô cơ có khả năng ứng dụng làm vật liệu sinh học nói chung và HA nói riêng còn chưa được chú ý nhiều. Bài báo này trình bày quá trình tổng hợp HA bằng con đường kết tủa đơn giản, từ các hóa chất cơ bản

$Ca(OH)_2$ ,  $H_3PO_4$ , và khảo sát sản phẩm thu được bằng các phương pháp: nhiễu xạ tia X (XRD), hiển vi điện tử quét (SEM), hấp thụ hồng ngoại (FTIR) và phân tích sự thay đổi khối lượng theo nhiệt độ (TGA). Các đặc trưng đã xác định cũng được so sánh với số liệu của mẫu HA chuẩn của Viện tiêu chuẩn và công nghệ quốc gia Mỹ (NIST) [7, 8].

### II - THỰC NGHIỆM

Chuẩn bị mẫu: Bột HA được điều chế bằng phương pháp kết tủa hóa học từ dung dịch  $H_3PO_4$  và huyền phù  $Ca(OH)_2$  trong nước. Các hóa chất sử dụng đều là loại tinh khiết phân tích của Trung Quốc.

$Ca(OH)_2$  và  $H_3PO_4$  được chuẩn bị trong nước cất với nồng độ 0,05M và 0,03 M tương ứng. Lượng dung dịch sử dụng ứng với tỉ lệ Ca/P = 1,70.

Dung dịch  $H_3PO_4$  được nhỏ từ từ từng giọt vào cốc đựng huyền phù  $Ca(OH)_2$  trên máy khuấy từ. Kết thúc quá trình thêm  $H_3PO_4$ , tiếp tục khuấy hỗn hợp trong khoảng 2h tại nhiệt độ đã định. Sau đó, gạn bớt phần dung dịch trong, thêm nước cất vào khuấy tiếp khoảng 2h nữa để loại  $Ca(OH)_2$  dư. Kết tủa tạo thành sau phản ứng được lọc, rửa nhiều lần bằng nước cất, cuối cùng

rửa bằng dung dịch  $H_3PO_4$  0,001 M đến pH trung tính và sấy khô ở 75 - 80°C.

Quá trình tổng hợp được thực hiện tại ba nhiệt độ: 30°C, 60°C và 90°C.

Một phần mẫu sau đó được nung đến 600° và 1100°C.

Thành phần pha được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD), trên máy Siemens D5000 (CHLB Đức).

Hình dạng và kích thước hạt được xác định từ ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) trên thiết bị Hitachi S4800 (Nhật Bản). Đồng thời, kích thước bên trong của hạt cũng được tính từ giản đồ XRD.

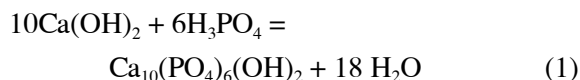
Khảo sát tính chất nhiệt bằng phương pháp TGA trong môi trường khí  $N_2$ , thiết bị phân tích Shimadzu TGA-50H (Nhật Bản).

Mẫu cũng được đặc trưng bằng phương pháp phổ hồng ngoại (FTIR), trên máy IMPACT 410-Nicolet (CHLB Đức).

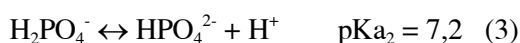
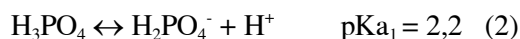
### III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Tổng hợp HA

Bằng phương pháp điều chế đã chọn, quá trình diễn ra theo phản ứng [9]:



Trong quá trình điều chế, yếu tố pH đóng vai trò quan trọng. Độ pH 9 - 10 được điều chỉnh bằng cách thêm từ từ  $H_3PO_4$  vào  $Ca(OH)_2$ .  $H_3PO_4$  là một axit có độ mạnh trung bình, phân ly thành 3 giai đoạn [9]:



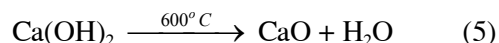
Như vậy, nếu thêm  $H_3PO_4$  với tốc độ cao, pH của dung dịch sẽ giảm đột ngột, dẫn đến sự phân ly axit không hoàn toàn, tạo ra các ion  $HPO_4^{2-}$  và  $H_2PO_4^-$ . Điều đó có thể dẫn đến việc lẫn một phần kết tủa chứa các ion này (chẳng hạn  $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$ ) trong thành phần HA tổng hợp được.

Tỉ lệ Ca/P ban đầu được lấy dư (1,70) so với

thành phần tỉ lượng trong công thức của HA (1,67) cũng là để đảm bảo môi trường pH 9 - 10 cho quá trình phản ứng.

#### 2. Thành phần pha

Trên giản đồ XRD, vạch nhiễu xạ cường độ 100% của  $Ca(OH)_2$  ở vị trí  $2\theta = 34^\circ$  (JCPDS #4-0733), trùng với vạch cường độ 24% của HA ( $2\theta = 34,05^\circ$ , JCPDS #24-0033). Do vậy, để có thể khẳng định trong sản phẩm HA tạo thành có còn tồn tại chất đầu  $Ca(OH)_2$  hay không, trước khi đo XRD, mẫu được nung đến 600°C. Đến nhiệt độ này,  $Ca(OH)_2$  chuyển thành CaO theo phản ứng [9]:



Các vạch nhiễu xạ mạnh của CaO (JCPDS #37-1497) đều ở vị trí tách biệt so với HA.

Giản đồ XRD của mẫu HA tổng hợp ở 30°C (mẫu ngay sau tổng hợp và mẫu nung) được đưa ra trên hình 1. Các mẫu tổng hợp ở các nhiệt độ khác cũng cho kết quả XRD tương tự. Trên giản đồ XRD của tất cả các mẫu nung đến 600°C chỉ xuất hiện các vạch nhiễu xạ đặc trưng cho HA, không thấy sự có mặt của các chất đầu hay tạp chất chẳng hạn như các muối canxi photphat khác. Có thể nói rằng, HA đơn pha đã được tạo thành.

So với giản đồ XRD của mẫu HA không nung, trên giản đồ của các mẫu HA nung đến 600° và 1100°C, các vạch nhiễu xạ trở nên hẹp hơn, một số vạch ( $2\theta = 32,19, 32,87, 34,05^\circ, \dots$ ) thể hiện rõ hơn với cường độ tương đương trong giản đồ của mẫu chuẩn. Điều này cho thấy độ tinh thể của mẫu ngay sau tổng hợp chưa cao và quá trình tinh thể hóa tiếp tục xảy ra khi nung mẫu đến nhiệt độ cao.

So với mẫu chuẩn NIST, đặc trưng XRD của mẫu tổng hợp là hoàn toàn trùng khớp.

#### 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến hình dạng và kích thước hạt

Ảnh SEM của mẫu HA tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau được chỉ ra trên hình 2.

Mẫu tổng hợp ở 90°C: hạt khá đồng đều với dạng hình trụ, dài khoảng 200 - 300 nm, đường kính dưới 50 nm.

Mẫu tổng hợp ở 60°C: so với mẫu tổng hợp ở 90°C, kích thước hạt nói chung giảm, các hạt co ngắn hơn, nhiều hạt có chiều dài dưới 100 nm, đường kính trung bình khoảng 30 - 40 nm.

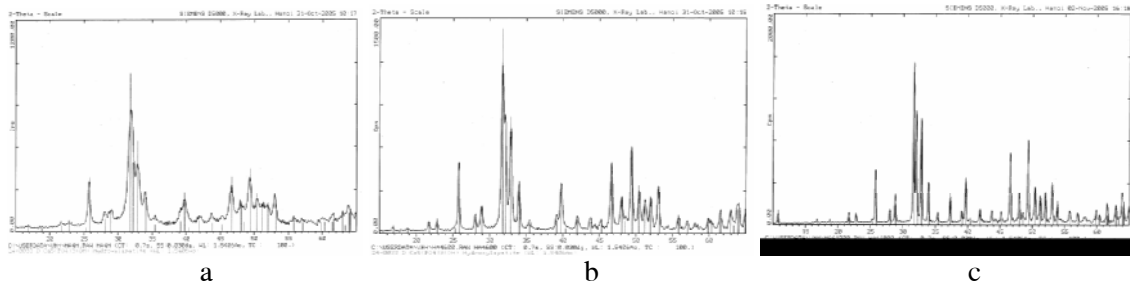
Mẫu tổng hợp ở 30°C: kích thước hạt giảm đáng kể, hạt trở nên cân đối hơn, chiều dài còn khoảng 50 nm, đường kính khoảng 20 nm.

Như vậy, khi tổng hợp ở nhiệt độ thấp, xung quanh nhiệt độ phòng có thể thu được bột HA khá mịn với kích thước trung bình dưới 50 nm.

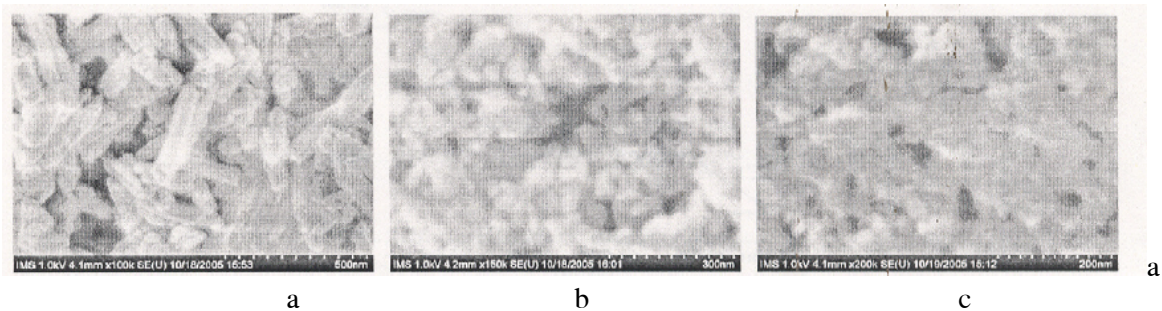
Đối với mẫu được tạo ra ở 30°C, kích thước hạt bên trong (hiểu theo nghĩa là các domen tinh

thể, mỗi hạt thông thường bao gồm nhiều domen tinh thể nhỏ) cũng được xác định từ giản đồ nhiễu xạ tia X. Bằng phương pháp Warren-Averbach [10], từ độ rộng vạch nhiễu xạ  $2\theta = 25,88^\circ$ , ứng với phản xạ (002), giá trị kích thước hạt theo khái niệm trên được xác định nằm trong khoảng 11-13 nm. Giá trị này như vậy cũng phù hợp với kích thước hạt xác định bằng phương pháp SEM.

Mẫu HA chuẩn cũng có dạng hình trụ, dài khoảng 100 - 300 nm và đường kính 50 - 150 nm.



Hình 1: Giản đồ XRD mẫu HA không nung (a), nung ở 600°C (b) và nung ở 1100°C (c)



Hình 2: Ảnh SEM của các mẫu HA được tổng hợp ở (a) 90°C, (b) 60°C và (c) 30°C

#### 4. Đặc trưng nhóm phân tử bằng phổ hồng ngoại

Phổ hồng ngoại của mẫu HA (hình 3) thể hiện các vân hấp thụ đặc trưng cho nhóm  $\text{PO}_4^{3-}$  (ở vùng 1030 - 1100, 960, 560 - 600, 470  $\text{cm}^{-1}$ ), nhóm OH (630, 3570  $\text{cm}^{-1}$ ) của HA và một vân hấp thụ của  $\text{H}_2\text{O}$  tự do ở vùng 3430 và 1630  $\text{cm}^{-1}$ . Ngoài ra, trên phổ còn xuất hiện vân hấp thụ đặc trưng cho nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$  ở 1410 - 1470  $\text{cm}^{-1}$  và ở khoảng 870  $\text{cm}^{-1}$ . Điều này chứng tỏ trong quá trình tổng hợp,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  đã bị cacbonat hóa một phần, tạo thành nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$ , thay thế cho nhóm  $\text{PO}_4^{3-}$  hoặc nhóm OH<sup>-</sup> trong thành phần của HA

(khối lượng nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$  chiếm khoảng 0,032% khối lượng toàn bộ mẫu HA tiêu chuẩn [7]).

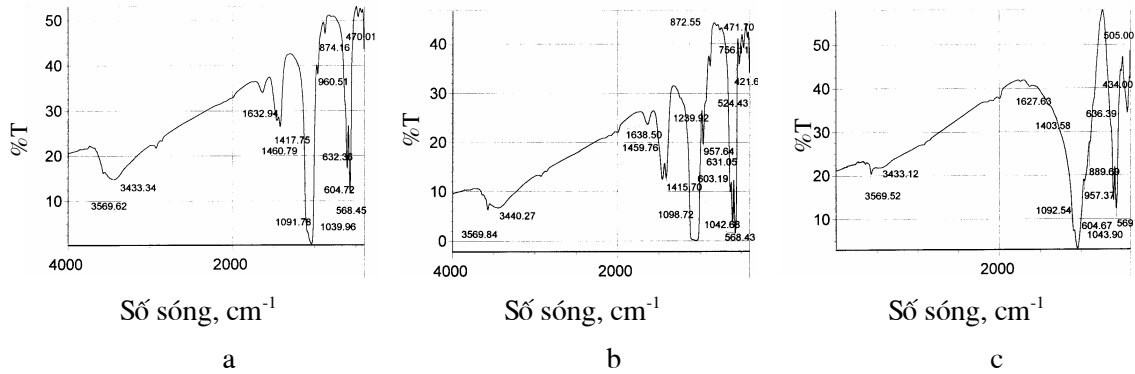
Phổ IR của mẫu tổng hợp về cơ bản cũng phù hợp với phổ của mẫu chuẩn NIST.

#### 5. Đặc trưng nhiệt của các mẫu HA

Giản đồ TGA tương tự nhau đối với tất cả các mẫu HA (một mẫu đại diện được thể hiện trên hình 4). Sự thay đổi khối lượng thể hiện rất rõ qua hai giai đoạn, từ nhiệt độ phòng đến khoảng 400°C và trên 700° đến 1000°C. Giai đoạn giảm khối lượng thứ nhất có thể xem là ứng với sự mất nước tự do (nước ẩm) và một

phần của nước hấp thụ trong tinh thể. Giai đoạn thứ hai là sự tiếp tục mất nước kết tinh và có thể liên quan đến quá trình decacbonat hoá, phân huỷ phần nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$  có mặt trong mẫu. Có thể cho rằng, sau  $600^\circ\text{C}$  quá trình mất nước vẫn tiếp

tục vì phổ IR của mẫu HA nung đến  $600^\circ\text{C}$  vẫn thể hiện một vân hấp thụ rộng của nước ở khoảng  $3430\text{ cm}^{-1}$ , trong khi đó vân phổ này không còn xuất hiện trên phổ IR của mẫu nung đến  $1100^\circ\text{C}$ .



Hình 3: Phổ IR của mẫu HA không nung (a), nung ở  $600^\circ\text{C}$  (b) và nung ở  $1100^\circ\text{C}$  (c)

Cũng trên phổ IR của mẫu nung đến  $1100^\circ\text{C}$  (hình 3c), vân hấp thụ đặc trưng cho nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$  đã biến mất. Điều này kết hợp với sự xuất hiện của CaO trên giản đồ XRD của chính mẫu HA này (các vạch đặc trưng với  $2\theta = 37,35, 53,85^\circ$ ) đã chứng minh cho sự decacbonat hóa mẫu như đã thể hiện trên đường TGA.

nữa, trên giản đồ TGA, phần giảm khối lượng trong khoảng  $700^\circ\text{C}$  đến  $1000^\circ\text{C}$ , vừa do mất nước vừa liên quan đến quá trình phân huỷ này, chỉ chiếm khoảng 1,4% tổng khối lượng mẫu. Như vậy, có thể xem mẫu HA tổng hợp bên đến nhiệt độ đã nung là  $1100^\circ\text{C}$ .

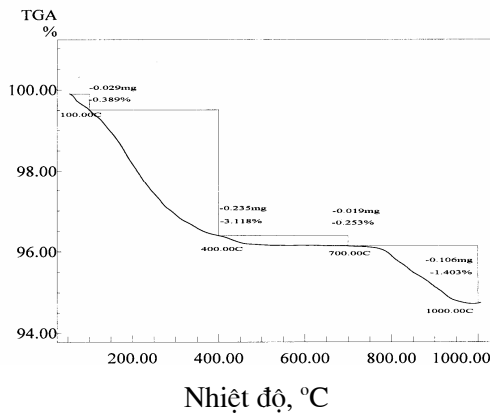
#### IV - KẾT LUẬN

Bằng phương pháp kết tủa đơn giản từ  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  và  $\text{H}_3\text{PO}_4$  đã tổng hợp được hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  đơn pha, tương đối mịn với kích thước hạt dưới 100 nm và bền nhiệt đến  $1100^\circ\text{C}$ . Các kết quả nghiên cứu đã khẳng định nhiệt độ và độ pH trong quá trình tổng hợp là những thông số quan trọng, có ảnh hưởng quyết định đến chất lượng và kích thước hạt HA.

Các đặc trưng của mẫu HA tổng hợp về cơ bản là phù hợp với mẫu chuẩn NIST.

Các phương pháp hóa học tổng hợp HA từ các chất ban đầu khác nhau đang được tiến hành nghiên cứu.

*Các tác giả cảm ơn Giáo sư Đặng Vũ Minh (Chương trình nghiên cứu cơ bản 2005-2006) và Viện Hóa học (Đề tài cơ sở chọn lọc 2005) đã hỗ trợ kinh phí thực hiện công trình này.*



Hình 4. Giản đồ TGA của mẫu HA1

Vì trên giản đồ XRD của mẫu HA nung đến  $1100^\circ\text{C}$  (hình 1c), chỉ có mặt pha HA và pha CaO, không có tricanxi photphat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , nên có thể cho rằng, phần CaO tạo thành chỉ liên quan đến sự decacbonat hóa nhóm  $\text{CO}_3^{2-}$  có mặt trong mẫu, chứ không liên quan đến sự phân huỷ HA tạo thành CaO và  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  [11]. Thêm

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. P. Ferraz, F. J. Monteiro, C. M. Manuel. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics* 2, P. 74 - 80 (2004).
2. H. S. Liu, T. S. Chin, L. S. Lai, S. Y. Chiu, K. H. Chung, C. S. Chang & M. T. Lui. *Ceramics International* 23, P. 19 - 25 (1997).
3. M. Sinha, S. B. Qadri, et al. 10th Foresight Conference on Molecular Nanotechnology (2002), [www.foresight.org](http://www.foresight.org)
4. Kazue Yamagishi, Kazuo Onuma, Takashi Suzuki, Fumio Okada, Junji Tagami, Masayuki Otsuki, Pisol Senawangse. *Nature*, Vol. 433, P. 819 (2005).
5. Li-yun Cao, Chuan-bo Zhang, Jian-feng Huang, Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation, *Ceramics Inter.* (2005) (in press).
6. W. Paul, Ch. Sharma. Porous hydroxyapatite nanoparticles for intestinal delivery of insulin, *Trends in Biomaterials & Artificial Organs.*, Vol. 14, P. 37 - 38 (2001).
7. M. Markovic, B. O. Fowler, Ming S. Tung. *J. Research of the National Ins. of Standards and Technology*, Vol. 109, No. 6, P. 553 - 568 (2004).
8. E. Bouyer, F. Gitzhofer, M. I. Boulose. *Materials in Medicine* 11, P. 523 - 531 (2000).
9. Lê Thị Cát Tường. Luận án tiến sĩ, Hà Nội (2005).
10. Zhengwen Yanga, Yinshan Jianga, YuJie Wang, Liyan Ma, Fangfei Li. *Materials Letters* 58, P. 3586 - 3590 (2004).