

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nung đến kích thước hydroxyapatite tách chiết từ xương bò

Hà Vân Linh^{1,*}, Mai Thị Ngọc Diễm², Cao Hữu Tiến²



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Xương bò có tiềm năng ứng dụng để sản xuất hydroxyapatite (HA hay HAP), một thành phần chính có trong xương và răng của động vật có xương sống. Các tác nhân trong quá trình tổng hợp được đánh giá có ảnh hưởng rất quan trọng đến tính chất của HA tách chiết từ xương bò. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá sự ảnh hưởng của ba nhiệt độ nung khác nhau lên kích thước và độ tinh khiết pha của tinh thể HA tạo thành. Nghiên cứu gồm hai giai đoạn sau: giai đoạn I là kết hợp phương pháp vật lý và hóa học để xử lý xương bò nhằm loại bỏ phần lớn các thành phần hữu cơ; giai đoạn II là tiếp tục nung xương ở các nhiệt độ 600°C, 700°C và 800°C để tạo ra các tinh thể HA trong hạt xương bò với kích thước khác nhau. Thành phần sản phẩm và kích thước tinh thể HA hình thành được xác định bằng các phương pháp TGA, XRD, FTIR, SEM, EDX. Các kết quả chỉ ra kích thước tinh thể và độ tinh khiết pha có thể được kiểm soát và tăng dần theo nhiệt độ nung. Đặc biệt, kích thước tinh thể HA không thay đổi đáng kể trong khoảng 600°C nhưng tăng gấp 10 lần khi nung đến trên 700°C. HA đơn tinh thể được dự đoán hình thành trong khoảng 600 – 700°C. Ở nhiệt độ nung 600°C, các hợp chất hữu cơ đã phân hủy hoàn toàn. Song hai nguyên tố vi lượng là Na và Mg không bị loại bỏ hoàn toàn như hầu hết các trường hợp khác mà vẫn được giữ lại bên trong hạt xương. Ngoài ra, tỉ lệ Ca/P là 1,63 tương đồng với tỉ lệ Ca/P trong có trong xương người. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nhiệt độ nung không quá cao vẫn tạo ra kích thước tinh thể lớn bằng cách kết hợp sử dụng các dung môi và nhiệt độ nung trong 2 giai đoạn nêu trên.

Từ khóa: hydroxyapatite, tinh thể HA, nhiệt độ, xương bò, nung

¹Khoa Khoa học và Công nghệ Vật liệu, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

²Khoa Răng Hàm Mất, Trường Đại học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch

Liên hệ

Hà Vân Linh, Khoa Khoa học và Công nghệ Vật liệu, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

Email: halinh0508@gmail.com

Lịch sử

- Ngày nhận: 30-10-2020
- Ngày chấp nhận: 23-12-2020
- Ngày đăng: 02-2-2021

DOI: 10.32508/stdjns.v5i1.967



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Hydroxyapatite (viết tắt là HA hoặc HAP) là vật liệu sinh học tổng hợp có thành phần hóa học và cấu trúc sinh học giống với khoáng chất trong xương và mô cứng của động vật. Thành phần chính của khoáng xương là hydroxyapatite (HA) với công thức hóa học là $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ¹⁻³. Trong thực tế, HA là một vật liệu được sử dụng trong việc phục hồi xương và tái tạo mô do HA tự nhiên có tất cả các tính năng đặc trưng của vật liệu sinh học, chẳng hạn như hoạt tính sinh học, tạo xương, không gây viêm, tương thích sinh học, không độc hại và không gây miễn dịch. Hơn nữa, sự tương đồng của HA với các thành phần canxi photphat trong xương người đã hấp dẫn các nhà nghiên cứu sử dụng HA cho các ứng dụng y sinh khác nhau^{4,5}. HA được xem đóng một vai trò tích cực cho nhiều ứng dụng⁶ như phục hồi các khiếm khuyết hộp sọ⁷, phục hồi khuyết tật xương diện tích lớn⁸, làm khung sườn cho kỹ thuật mô xương⁹⁻¹¹, giúp loại bỏ kim loại nặng và phân phối thuốc¹². Kết hợp với các polyme tự nhiên hoặc nhân tạo để tạo ra các vật liệu composite có nhiều đặc điểm ưu việt như collagen, chitosan, PVC, PLA...

HA tách chiết từ xương bò chứa các ion vi lượng có giá trị (như Na^+ , Mg^{2+}) đóng một vai trò quan trọng trong quá trình tái tạo xương và thúc đẩy quá trình hình thành xương. Sự có mặt của các ion này có một vai trò quyết định trong vòng đời mô cứng, ảnh hưởng trực tiếp đến các phản ứng sinh hóa liên quan đến sự trao đổi chất của xương. Ngược lại, sự thiếu vắng hai nguyên tố này có thể làm suy yếu cấu trúc dẫn đến tình trạng mất xương^{13,14}. Hiện tại có khá ít sản phẩm HA chứa các nguyên tố vi lượng cần thiết.

Tính chất, độ thuần khiết pha, và kích thước hạt HA tách chiết từ xương bò phụ thuộc vào kỹ thuật tách chiết, nhiệt độ canxi hóa, và bản chất xương¹. Độ bền nhiệt của HA tinh thể pha tinh khiết tách chiết từ xương đùi các động vật nằm trong khoảng 600 – 1000°C. Nhiệt độ canxi hóa từ 1100°C trở lên làm tăng độ kết tinh của HA nhưng có xu hướng loại bỏ các gốc chức năng OH^- của HA và dẫn đến sự hình thành các pha như α -tricalcium phosphate (α -TCP), β -tricalcium phosphate (β -TCP) và tetracalcium phosphate (TCP), có xu hướng làm giảm mật độ và tính chất cơ lý của HA^{15,16}.

Trong nhiều ứng dụng, hình dạng, kích thước, độ thuần khiết và độ đồng nhất của HA là tính chất rất

Trích dẫn bài báo này: Linh H.V, Diễm M.T.N, Tiến C.H. **Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nung đến kích thước hydroxyapatite tách chiết từ xương bò.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(1):1005-1014.

quan trọng cho chức năng của nó. Với kích thước từ 20-100 nm, HA được hấp thụ vào cơ thể mà không cần chuyển hóa thêm, thường được dùng để chữa trị bệnh loãng xương. Các hạt nano HA có kích thước khoảng 16nm được bổ sung vào các loại nước uống thể thao, giải phóng ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} và OH^- ức chế tác dụng của acid citric lên men răng, ngăn ngừa sự ăn mòn răng¹⁷. Trong lĩnh vực môi trường, hạt nanocomposite từ tính HA/ Fe_3O_4 được dùng trong hấp phụ các kim loại nặng trong nước như chì, coban, niken, đồng...¹⁸ Các hạt HA có kích thước tinh thể nano thường được dùng trong chữa lành các tổn thương, khiếm khuyết của xương, thay thế khớp¹⁹.

Mục tiêu của nghiên cứu này là chế tạo các hạt HA đơn pha bằng cách kết hợp giữa xử lý với các hóa chất và nhiệt độ nhằm rút ngắn thời gian và hạ thấp nhiệt độ nung. Xương được khảo sát ở ba nhiệt độ nung khác nhau để chọn khoảng nhiệt độ thấp có thể loại bỏ toàn bộ các thành phần hữu cơ và tạo được các hạt HA thuần khiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nhiệt độ nung không quá cao (600 – 700°C) nhưng vẫn tạo ra kích thước tinh thể đủ lớn và đơn pha. Bên cạnh đó, kết quả giúp dự đoán sự thay đổi về kích thước tinh thể HA trong hạt xương tại các nhiệt độ nung cao hơn (>700°C)

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu, hóa chất

Xương đùi của bò trưởng thành mua từ chợ được loại bỏ mô mềm, tủy xương sau đó phân thành nhiều mẫu kích thước khoảng 3 cm x 3 cm.

Nước cất hai lần, chloroform, ethanol có xuất xứ Việt Nam (nhà sản xuất Chemsol) và natri hypochlorite xuất xứ từ Tây Ban Nha (nhà sản xuất Scharlau)

Phương pháp

Quy trình gồm hai giai đoạn là loại các thành phần hữu cơ và tạo tinh thể HA.

Giai đoạn I là loại các thành phần hữu cơ: xương được nấu trong 24 giờ, sau đó sấy khô ở 60°C trong 12 giờ rồi nghiền thành bột mịn. Bột xương được xử lý với dung môi chloroform: ethanol = 1:1 với tỉ lệ 1g xương : 20 mL dung môi. Tiếp tục xử lý bột xương với dung dịch sodium hypochlorite nhằm loại các thành phần protein. Sau đó, xương được rửa bằng nước, sấy khô để loại bỏ các hóa chất tồn dư và nghiền mịn bằng cối (M00). Giai đoạn II là tạo tinh thể HA: nung bột xương ở các nhiệt độ 600°C (M01), 700°C (M02), 800°C (M03).

Trong nghiên cứu này, mẫu M00 được phân tích nhiệt (DTA-TGA) với tốc độ nâng nhiệt 10°C/phút trong Nitơ, được đo bằng máy TGA Q500 (TA-Mỹ)

tại Trung tâm Hỗ trợ và Phát triển doanh nghiệp thành phố Hồ Chí Minh. Phổ FTIR của các mẫu được ghi trên máy TENSPE 27 (Bruker, Đức), tại Trung tâm INOMAR. Khảo sát đo XRD trên máy SIEMEN D5000 (Bruker, Đức), tại Trung tâm Nghiên cứu Vật liệu Cấu trúc Nano và Phân tử (INOMAR), ĐHQG-Tp.HCM với bức xạ Cu - K α có bước sóng $\lambda = 1,5406$ Å, góc quét $2\theta = 10 \div 60$. Bằng phần mềm origin, chọn 3 đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2 theta lần lượt là: 26,11°; 32,02°; 40,2° ta có thể tính được kích thước tinh thể của các mẫu theo phương trình Scherrer: $D = k \cdot \lambda / B \cdot \cos\theta$ với D là kích thước tinh thể trung bình (nm), θ là góc nhiễu xạ, B là độ rộng vạch nhiễu xạ đặc trưng (radian) lấy giá trị bằng nửa cường độ cực đại (tại vị trí góc $2\theta = 25,88^\circ$ đối với HA), $\lambda = 1,5406$ Å là bước sóng của tia tới, k là hằng số Scherrer phụ thuộc vào hình dạng của tinh thể và chỉ số Miller của vạch nhiễu xạ (đối với HA lấy k = 0,9). Khảo sát cấu trúc hạt trên thiết bị FE SEM Hitachi S4800 (Nhật Bản) tại Khu công nghệ cao Tp.HCM và được phủ Pt/Au để tăng độ nét của ảnh SEM.

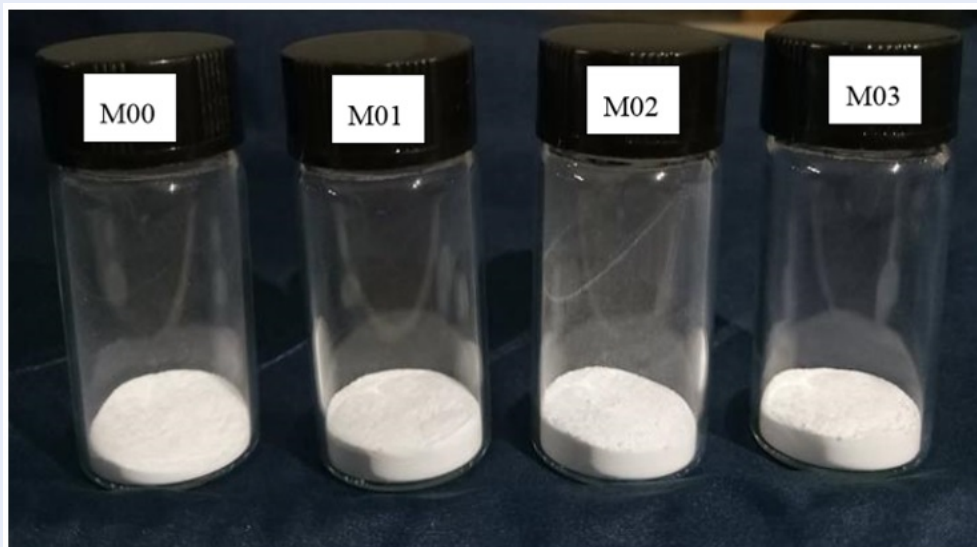
Hai sản phẩm thương mại Geistlich Bio-Oss[®] và IngeniOsTM HA được sử dụng làm mẫu để so sánh đánh giá độ trắng sáng bằng mắt thường, kết quả đo nhiễu xạ tia X (XRD) và hình ảnh quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nhiệt độ canxi hóa hạt xương là một yếu tố ảnh hưởng đến tính chất, hiệu quả, độ tinh khiết pha và kích thước của HA tách từ hạt xương. Nhiệt độ cần được lựa chọn cẩn thận để vừa loại bỏ các thành phần hữu cơ và mầm bệnh, tăng cường độ kết tinh của HA, trong khi tránh được sự phân hủy nhiệt của sản phẩm HA. Nhiệt độ nung càng cao ($\geq 1100^\circ\text{C}$) sẽ hình thành CaO hoặc pha thứ hai như β -TCP. Trong nghiên cứu này, các hạt xương được nung từ 600°C đến 800°C nhằm thu được sản phẩm mục tiêu là các hạt xương chứa các tinh thể HA tinh khiết, không lẫn các pha khác. Một số nghiên cứu cũng cho thấy độ kết tinh không tăng lên khi nhiệt độ nung trên 900°C. Ngoài ra, hạ thấp nhiệt độ nung giúp giảm năng lượng, chi phí và giảm độ phức tạp cho quy trình sử dụng¹

Các mẫu bột xương đều có màu trắng, không mùi ở các nhiệt độ nung khác nhau, tương đồng với sản phẩm thương mại Bio-Oss (Hình 1 và Hình 2). Bột xương nung ở nhiệt độ càng cao thì độ trắng sáng, độ mịn, độ xốp càng tăng. Ở nhiệt độ nung từ 600°C trở lên, bột xương bắt đầu trở nên mịn và xốp hơn.

Trong nghiên cứu Kusriani và cộng sự (2012), bột xương chỉ chuyển sang màu trắng đến khi nung xương



Hình 1: Bột xương qua giai đoạn I và chưa nung (M00); bột xương sau khi xử lý bằng phương pháp vật lý-hóa học và nung ở các nhiệt độ lần lượt là 600°C (M01), 700°C (M02) và 800°C (M03)

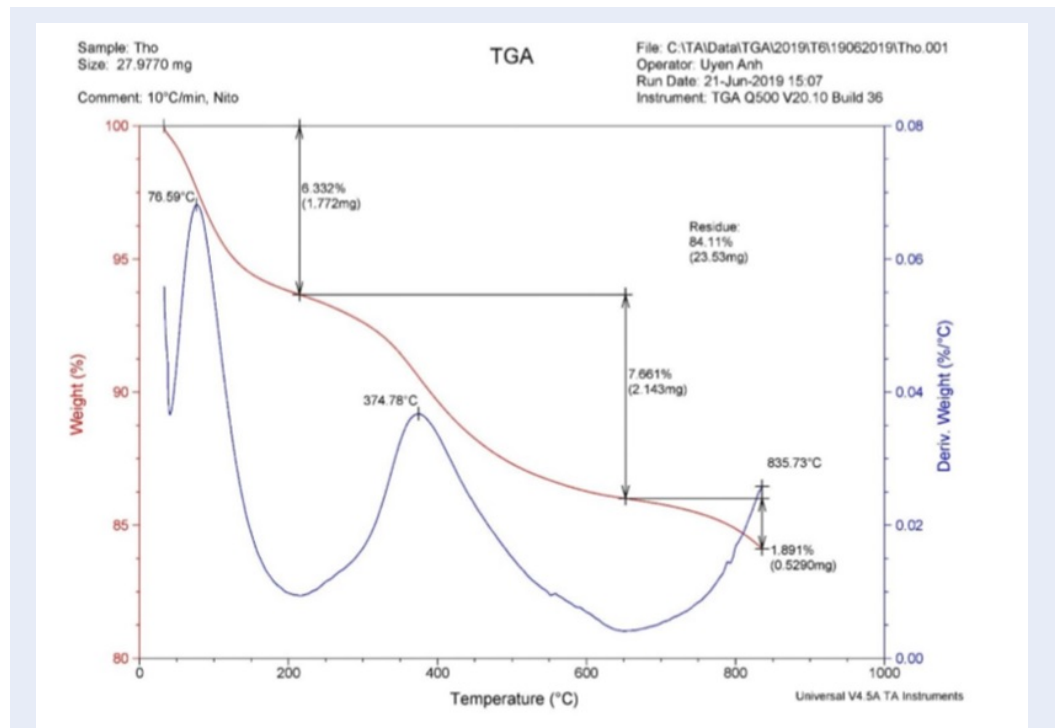
đến 900°C trở lên. Sự tăng nhiệt độ nung được cho là dẫn đến sự thay đổi màu của xương và sản phẩm có màu tối chỉ ra sự tồn dư của hợp chất hữu cơ^{3,20}. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, xương trải qua giai đoạn một đã có màu trắng, không còn mùi (M00). Dự đoán các thành phần hữu cơ bên trong hạt xương có thể đã bị phân hủy hoàn toàn sẽ được kiểm chứng bởi các phép đo sau đây.

Giản đồ DTA-TGA thể hiện quá trình giảm khối lượng của mẫu M00 theo nhiệt độ gồm 3 giai đoạn. Giai đoạn I, khối lượng mẫu giảm 6,332% do hiện tượng mất nước ẩm. Giai đoạn II, khối lượng mẫu giảm 7,661% do các quá trình phân hủy nhiệt của các hợp chất hữu cơ bên trong trong xương. Trong giai đoạn III, khối lượng mẫu giảm chậm dần (1,891%) được xem là quá trình phân hủy của CO_3^{2-} và sự chuyển pha hay tái kết tinh của tinh thể HA. (Hình 3) Như vậy, mẫu M00 sau khi xử lý với hóa chất và chưa trải qua giai đoạn nung còn chứa khoảng 16% nước và các hợp chất hữu cơ. Trong đó, 14% lượng nước và các hợp chất hữu cơ trong mẫu M00 đã bị loại bỏ (bay hơi hoặc phân hủy) khi nhiệt độ nung lên khoảng 600°C. Kết quả trong nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Masud rana và cộng sự (2017) cho thấy quá trình mất nước và phân hủy các hợp chất hữu cơ diễn ra khi nâng dần nhiệt độ đến 600°C²¹. Trong nghiên cứu này, hạt xương được nung từ 600 đến 800°C, đối chiếu với giản đồ TGA của mẫu M00, hạt xương thu được có khả năng cao đã được loại bỏ hoàn toàn nước ẩm, các thành phần hữu cơ, đồng thời hình thành các tinh thể HA bên trong.

Kết quả quang phổ FTIR cho thấy có sự hiện diện của dải collagen trong mẫu M00. Khi nung tới 600°C (M01), các chất hữu cơ đã bị loại bỏ vì các dải collagen và đỉnh H-O-H biến mất. Sự tồn tại các mũi đặc trưng của CO_3^{2-} của bột xương được xử lý dưới 600°C có thể là canxi carbonat. Khi tăng nhiệt độ lên 700 và 800°C, chỉ còn lại các dao động đặc trưng của nhóm phosphate (PO_4^{3-}) và hydroxyl (OH^-) đại diện cho cấu trúc tinh thể HA đơn pha (Hình 4). Sự biến mất của các dấu vết hữu cơ sau khi nung mẫu đến nhiệt độ 600°C trong phổ FTIR hoàn toàn phù hợp với kết quả của phương pháp DTA-TGA ở trên.

Ngoài ra, phổ FTIR của mẫu M00 tồn tại các đỉnh đặc trưng của chloroform (CHCl_3) bao gồm: $\text{C}=\text{C}$ ở 1506 cm^{-1} , dao động biến dạng hóa trị của C-H ở 3019 cm^{-1} và dao động biến dạng uốn của C-H ở 1215 cm^{-1} . Tuy nhiên, các đỉnh phổ trên gần như biến mất khi mẫu được nung ở 600°C, 700°C và 800°C. Điều này đồng nghĩa với sự tồn dư của chloroform trong hạt xương sau khi rửa nhiều lần với nước cất chỉ được loại bỏ khi nung xương từ 600°C trở lên. Không tồn tại các đỉnh phổ đặc trưng của NaOCl trong tất cả các mẫu xương trước và sau khi nung

Trong nghiên cứu của Kusrini & Sontang (2012) cho thấy sự hình thành tinh thể HA mới bên trong hạt xương bò diễn ra ở 1225-1227°C và các thành phần hữu cơ (collagen và protein) chỉ bị loại bỏ hoàn toàn khi nung đến 900-1100°C²⁰. Trong nghiên cứu này sự chuyển pha trong HA được dự đoán xảy ra trong khoảng nhiệt độ từ 600 – 700°C. Điều này được minh chứng qua kết quả đo nhiễu xạ tia X (XRD).



Hình 2: Giản đồ DTA-TGA thể hiện quá trình giảm khối lượng của mẫu M00 theo nhiệt độ gồm 3 giai đoạn. Giai đoạn I, từ nhiệt độ phòng đến 200°C, khối lượng mẫu giảm 6,332%. Giai đoạn II, từ 200 đến 650°C, khối lượng mẫu giảm 7,661%. Trong giai đoạn III, từ 650 đến 835°C, khối lượng mẫu giảm chậm dần khoảng 1,891%.

Kết quả đo nhiễu xạ tia X (XRD) cho thấy sự tăng dần độ sắc nét của các đỉnh nhiễu xạ tương ứng với sự tăng trưởng của các tinh thể HA ở các nhiệt độ khác nhau, đồng thời chứng minh sự ảnh hưởng của nhiệt độ lên kích thước tinh thể HA. Mẫu M00 và M01 có góc phổ rộng hơn mẫu M02 và M03 nên kích thước tinh thể có thể nhỏ hơn và độ tinh khiết không cao. Góc phổ rộng có thể do mẫu còn chứa các chất hữu cơ chưa bị loại bỏ hoàn toàn làm cản trở sự giao thoa của tia X dẫn tới sự giảm cường độ và tăng bề rộng của đỉnh nhiễu xạ. Kết quả mẫu M02 và M03 có đỉnh cao nhất ở mặt (211), các mũi phổ nhọn và sắc trong khi độ rộng đỉnh hẹp chứng tỏ độ kết tinh tốt, độ tinh khiết cao của tinh thể HA khi mẫu được nung ở 700°C và 800°C. Góc phổ ở dạng 2 hẹp, không bị nhiễu do các hợp chất hữu cơ đã bị phân hủy hoàn toàn. Bên cạnh đó, nhiệt độ dưới 600°C không ảnh hưởng đến kích thước tinh thể HA. Kết quả nghiên cứu phù hợp với quan điểm kích thước tinh thể HA tăng khi nhiệt độ nung tăng trong nghiên cứu của Kusrini (2012).

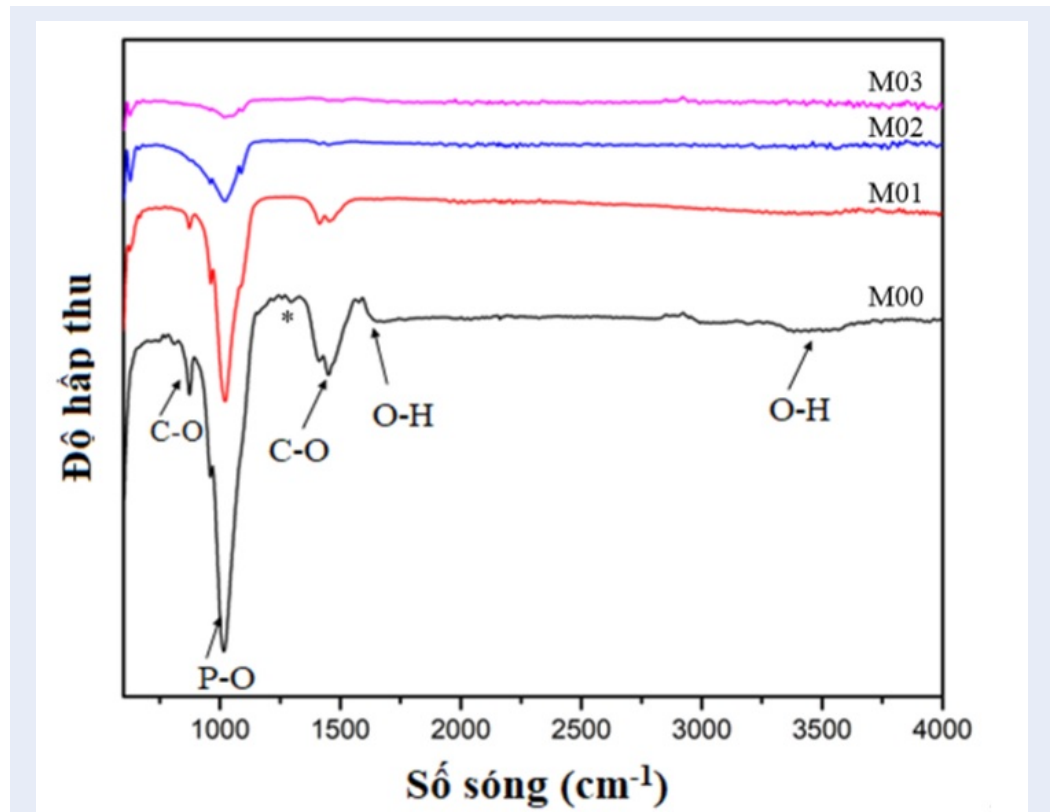
Giản đồ XRD biểu diễn các đỉnh nhiễu xạ ở các mặt (002), (211), (310), (222), (213), (004) của HA sản phẩm tương đồng với giản đồ XRD thu nhận từ mẫu Bio-OssTM và IngeniOsTM trong nghiên cứu của Greenspan, David C (2012)²² đều là các đỉnh nhiễu

xạ đặc trưng của tinh thể HA.

Ở nhiệt độ nung dưới 600°C thì kích thước tinh thể không có thay đổi nhiều so với chưa nung mẫu, kích thước trung bình khoảng 5 nm. Nhiệt độ nung càng cao, kích thước tinh thể thu được càng lớn. Khi nung ở 700 – 800°C kích thước tinh thể tăng 10 lần so với nhiệt độ thấp hơn (Bảng 1).

Hình ảnh quan sát dưới kính hiển điện tử quét (SEM) cho thấy khi sử dụng phương pháp nung, tinh thể HA có dạng que tương tự như nghiên cứu của Barakat và cộng sự (2008)²³. Ở nhiệt độ 600°C, tinh thể có kích thước nhỏ và vẫn tồn tại các biên hạt rõ ràng. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ nung lên 700-800°C, biên hạt giữa chúng vẫn tồn tại nhưng ngày càng mờ đi, có nghĩa là sự liên kết giữa các tinh thể HA dần dần chặt chẽ hơn đã tạo ra các tinh thể HA với kích thước lớn hơn (Hình 5).

Hình ảnh quan sát dưới kính hiển điện tử quét, một số mẫu xương khi nung ở 600°C có một cấu trúc dạng màng còn tồn tại trong xương, liên kết chặt chẽ với nhau tạo thành một khung xốp với các lỗ xốp liên thông có bề mặt gồ ghề, lồi chõm (Hình 6). Đặc điểm này dự đoán sản phẩm chế tạo có tiềm năng hỗ trợ khả năng bám dính của tế bào, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tái sinh của xương.



Hình 3: Phổ FTIR của các 4 mẫu đều chứa các dao động hóa trị đặc trưng của PO_4^{3-} ở số sóng 1005 cm^{-1} . Ở mẫu M00 và M01, các dải hấp thụ ở 873 cm^{-1} (dao động biến dạng) và các mũi dùi ở $1415, 1455 \text{ cm}^{-1}$ đặc trưng dao động hóa trị cho nhóm CO_3^{2-} . Mẫu M00 có chứa dải hấp thụ của collagen hữu cơ tại vị trí đánh dấu * và có chứa nhóm -OH với dao động biến dạng đặc trưng tại 1700 và $\sim 3500 \text{ cm}^{-1}$

Bảng 1: Kích thước tinh thể trung bình tại các nhiệt độ nung khác nhau được tính theo công thức Scherrer bằng phần mềm origin

Mẫu	M00	M01	M02	M03
Kích thước tinh thể trung bình (nm)	4,95	4,48	34,54	42,35

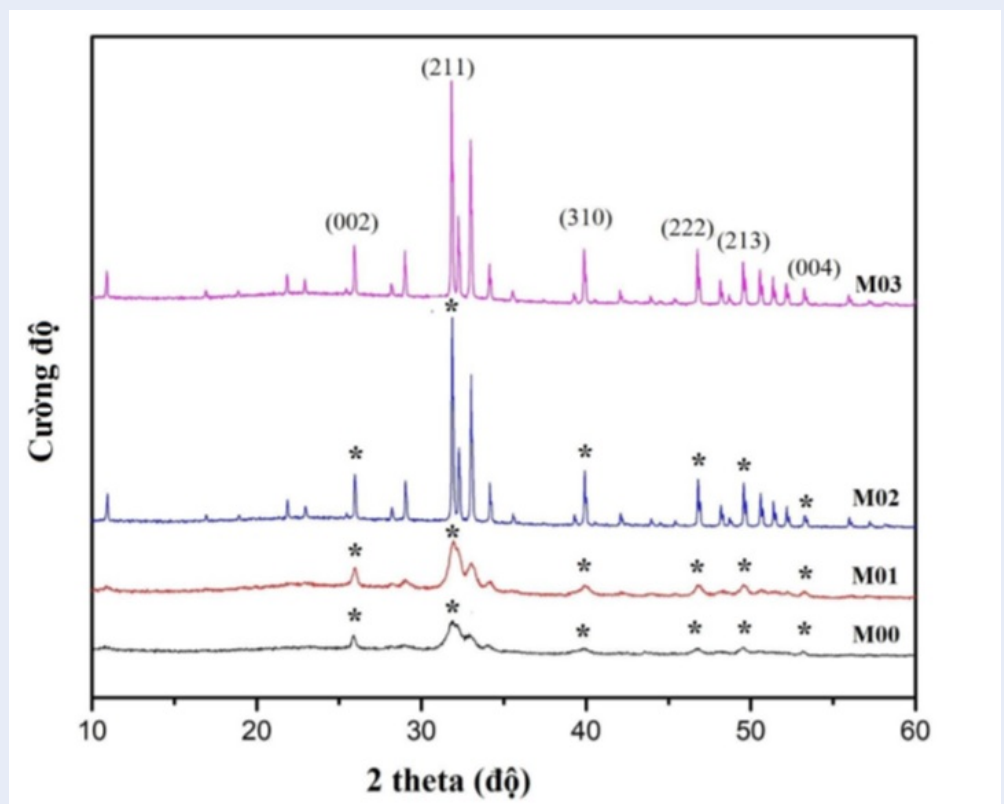
Phân tích nhiễu xạ tia X (EDX) của mẫu M01 cho biết thành phần nguyên tố của sản phẩm được xác định bao gồm 5 nguyên tố là Oxy (O), Natri (Na), Magie (Mg), Photpho (P) và Canxi (Ca) (Hình 7). Không tìm thấy các nguyên tố như Carbon (C) hay Nitơ (N), có nghĩa là không còn thành phần hữu cơ trong mẫu. Kết quả EDX của mẫu M01 và M02 tương đồng với nhau, đều chứa năm nguyên tố đã nêu. Tuy nhiên, phổ EDX của mẫu M03, hạt xương khi nung ở 800°C không thấy xuất hiện Na, Mg. Kết quả các nguyên tố tương đồng với phổ EDX của sản phẩm Bio-Oss trong nghiên cứu của Greenspan, David C (2012)²² và nghiên cứu của Kusriani & Sontang (2012) và tỉ lệ Ca/P của nghiên cứu này khá quan trọng²⁰.

Trong nghiên cứu của Bano và cộng sự (2017), sau khi nung xương từ $600-1100^\circ\text{C}$, các tinh thể HA kích

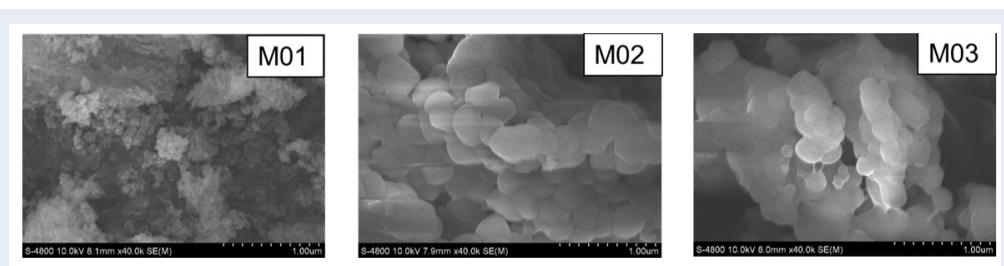
thước micro có tỉ lệ Ca/P thu được cao hơn 1,75 và đạt 1,67 ở 1000°C . Tỉ lệ Canxi/photpho trung bình trong nghiên cứu này là Ca/P = 1,63 gần với tỉ lệ Ca/P xương người (1,67). Kết quả này có thể do các nguyên tố vi lượng Na và Mg chèn vào các nút mạng trong tinh thể HA, dẫn đến tỉ lệ Ca/P thấp hơn 1,67. HA với tỉ lệ Ca/P là 1,67 đã được chứng minh tính tương thích sinh học và hoạt tính sinh học đặc biệt. Hai nguyên tố Na và Mg vi lượng đóng vai trò tích cực trong các quá trình sinh lí của cơ thể, góp phần đẩy nhanh quá trình hồi phục của xương trong các ứng dụng ghép xương¹.

KẾT LUẬN

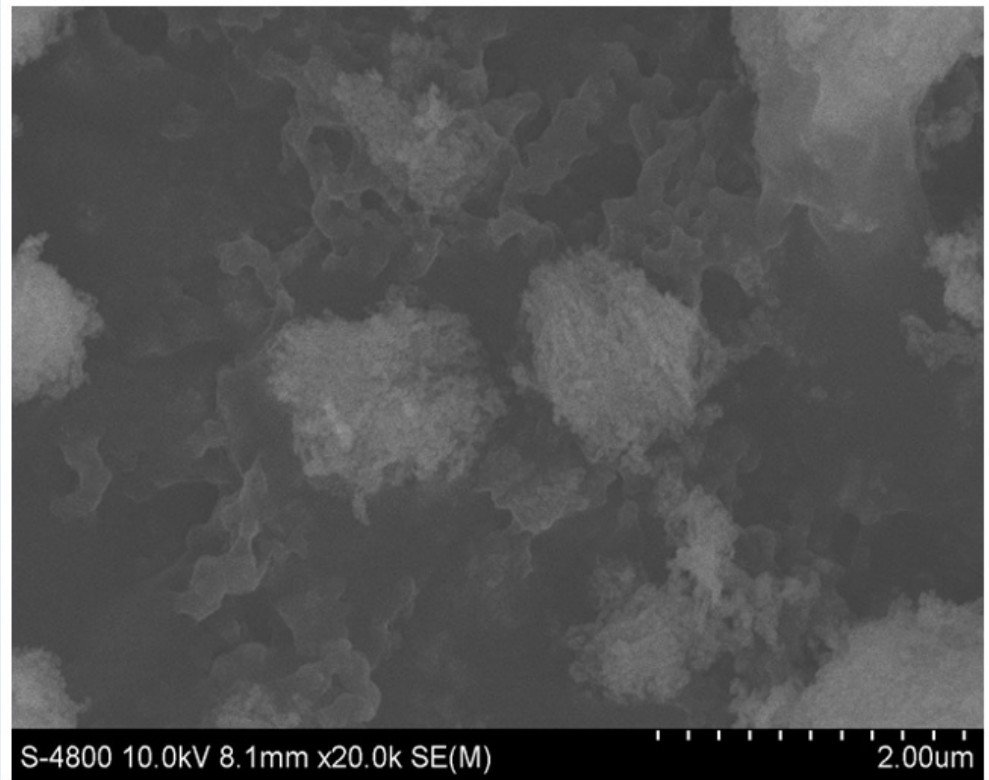
Ở nhiệt độ nung 600°C , các tinh thể HA đã có dấu hiệu hình thành. Từ 700°C trở lên, sản phẩm chỉ chứa



Hình 4: Phổ XRD kết hợp của các mẫu M00, M01, M02, M03 cho thấy 2 dạng phổ khác nhau rõ rệt. Dạng 1 là phổ của mẫu M00 và M01 có cường độ các đỉnh nhỏ trong khi độ rộng đỉnh lớn. Dạng 2 là phổ của mẫu M02 và M03, có cường độ đỉnh lớn với kích thước đỉnh hẹp.



Hình 5: Ảnh chụp SEM của các mẫu M01, M02 và M03 với độ phóng đại 40K. Các tinh thể HA trong mẫu M01 có dạng que và dạng hạt, kích thước tương đối đồng đều trong khoảng từ 40 – 60 nm. Tinh thể HA trong M02 và M03 có dạng hạt tương đối giống nhau và kích thước hạt tăng rõ rệt nhưng không đồng đều, trong khoảng từ 150 – 250 nm.



Hình 6: Ảnh chụp SEM của các mẫu M01 với độ phóng đại 20K xuất hiện dạng màng tồn tại trong hạt xương, liên kết chặt chẽ với nhau tạo thành một khung xốp.

pha tinh thể HA. Các hợp chất hữu cơ đã bị loại hoàn toàn khi mẫu được nung tới 600°C. Phân tích thành phần nguyên tố cho thấy sản phẩm chứa các nguyên tố chính cấu tạo nên tinh thể HA là (O), (P), (Ca); hai nguyên tố vi lượng (Na), (Mg) và tỉ lệ Ca/P là 1,63. Ở 600°C hoặc thấp hơn, kích thước tinh thể HA nhỏ (gần như không thay đổi so với mẫu chưa nung) làm cho vật liệu dễ hấp thu hơn. Ngược lại, khi mẫu được xử lý trên 700°C, tinh thể HA thu được ở dạng đơn pha, có độ thuần khiết cao hơn nhưng kích thước lại tăng lên. Mẫu hạt xương nung dưới 600°C sẽ bị cơ thể hòa tan nhanh hơn có tiềm năng ứng dụng làm xi măng xương. Trong khi mẫu xương được nung từ 700°C trở lên sẽ bị phân hủy chậm hơn có thể ứng dụng cho các tổn thương xương lớn cần nhiều thời gian để phục hồi. Cần tiến hành thêm các nghiên cứu để khảo sát và đánh giá hoạt tính sinh học của sản phẩm HA, mở ra những hướng ứng dụng thực tiễn trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ đề tài mã

số T2019-36.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

HA/HAP: Hydroxyapatite
FTIR: Fourier Transform Infrared
XRD: The X-ray powder diffraction method
SEM: Scanning Electron Microscope
EDX: Energy dispersive X-ray spectroscopy

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả tuyên bố họ không có xung đột lợi ích.

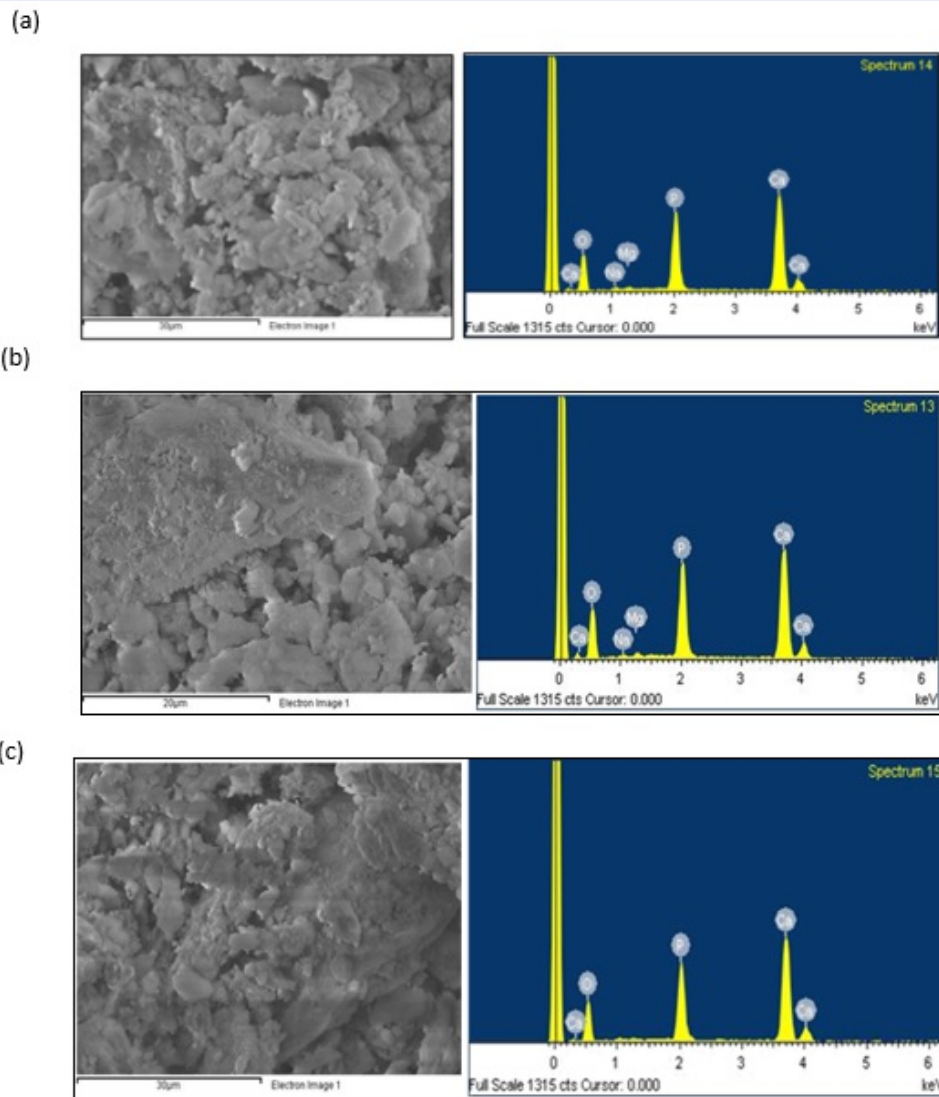
ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Hà Văn Linh và Mai Thị Ngọc Diễm tiến hành thiết kế thí nghiệm, thu thập số liệu, xử lý kết quả và tham gia viết bài.

Caο Hữu Tiến tham gia thiết kế thí nghiệm và phân tích kết quả

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Akram M, Ahmed R, Shakir I, Ibrahim WAW, Hussain R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. *Journal of Materials Science*. 2013;49(4):1461-75. ;Available from: <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7864-x>.



Hình 7: Ảnh SEM của các mẫu M01 (a), M02 (b) và M03 (c). Bề mặt chụp EDX (ảnh trái) và phổ EDX tương ứng (ảnh phải) cho thấy sự hiện diện các nguyên tố vi lượng khác.

- Tram BNT, Nguyen T-H, Van Toi V. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Biomaterials from Bio Wastes. 5th International Conference on Biomedical Engineering in Vietnam. IFMBE Proceedings 2015. p. 336-8. ;Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-319-11776-8_82.
- Accorsi-Mendonça T, Conz MB, Barros TC, Sena LÁd, Soares GdA, Granjeiro JMJ. Physicochemical characterization of two deproteinized bovine xenografts. 2008;22(1):5-10. ;PMID: 18425238. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1806-83242008000100002>.
- Chen G, Ushida T, Tateishi TJMS, C E. Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering. 2001;17(1-2):63-9. ;Available from: [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(01\)00338-1](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(01)00338-1).
- Wan YZ, Huang Y, Yuan CD, Raman S, Zhu Y, Jiang HJ, et al. Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. Materials Science and Engineering: C. 2007;27(4):855-64.;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.10.002>.
- Bano N, Jikan SS, Basri H, Bakar SAA, Nuhu AHJJoS, Technology. Natural hydroxyapatite extracted from bovine bone. 2017;9(2),.
- Tang PF, Li G, Wang JF, Zheng QJ, Wang Y. Development, characterization, and validation of porous carbonated hydroxyapatite bone cement. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009;90(2):886-93.;PMID: 19353574. Available from: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31360>.
- Liu Y, Ming L, Luo H, Liu W, Zhang Y, Liu H, et al. Integration of a calcined bovine bone and BMSC-sheet 3D scaffold and the promotion of bone regeneration in large defects. Biomaterials. 2013;34(38):9998-10006. ;PMID: 24079891. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.09.040>.
- Nair MB, Suresh Babu S, Varma HK, John A. A triphasic ceramic-coated porous hydroxyapatite for tissue engineering application. Acta Biomater. 2008;4(1):173-81. ;PMID: 17804309. Avail-

- able from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.07.004>.
10. Dorozhkin S. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials*. 2009;2(2):399-498. ;Available from: <https://doi.org/10.3390/ma2020399>.
 11. Coughlin MJ, Grimes JS, Kennedy MPJF, international a. Coralline hydroxyapatite bone graft substitute in hindfoot surgery. 2006;27(1):19-22. ;PMID: 16442024. Available from: <https://doi.org/10.1177/107110070602700104>.
 12. McGrellis S, Serafini J-N, JeanJean J, Pastol J-L, Fedoroff MJS, technology P. Influence of the sorption protocol on the uptake of cadmium ions in calcium hydroxyapatite. 2001;24(1-2):129-38. ;Available from: [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(00\)00223-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(00)00223-9).
 13. Lam TD. *Vật liệu Nano sinh học: Nhà xuất bản khoa học và công nghệ Hà Nội*; 2015.;
 14. P.W. Brown BC, editors. *Hydroxyapatite and Related Materials*. America: America: CRC Press; 1994.;
 15. Herliansyah MK, Hamdi M, Ide-Ektessabi A, Wildan MW, Toque JA. The influence of sintering temperature on the properties of compacted bovine hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*. 2009;29(5):1674-80. ;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.01.007>.
 16. Toque JA, Herliansyah MK, Hamdi M, Ide-Ektessabi A, Wildan MW. The effect of sample preparation and calcination temperature on the production of hydroxyapatite from bovine bone powders. 3rd Kuala Lumpur International Conference on Biomedical Engineering 2006. IFMBE Proceedings2007. p. 152-5. ;Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-540-68017-8_39.
 17. Min JH, Kwon HK, Kim BI. The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. *J Dent*. 2011;39(9):629-35.;PMID: 21763390. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.07.001>.
 18. Vahdat A, Ghasemi B, Yousefpour M. Mechanical properties of the hydroxyapatite and magnetic nanocomposite of hydroxyapatite adsorbents. *South African Journal of Chemical Engineering*. 2020;33:90-4. ;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.05.007>.
 19. Shavandi A, Bekhit AE-DA, Sun ZF, Ali A. A Review of Synthesis Methods, Properties and Use of Hydroxyapatite as a Substitute of Bone. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*. 2015;25:98-117. ;Available from: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JBBBE.25.98>.
 20. Kusriani E, Sontang M. Characterization of x-ray diffraction and electron spin resonance: Effects of sintering time and temperature on bovine hydroxyapatite. *Radiation Physics and Chemistry*. 2012;81(2):118-25.;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.10.006>.
 21. Rana M, Akhtar N, Rahman S, Jamil H, Asaduzzaman SJJCAM. Extraction of hydroxyapatite from bovine and human cortical bone by thermal decomposition and effect of gamma radiation: a comparative study. 2017;8(3):1-10. ;Available from: <https://doi.org/10.15406/ijcam.2017.07.00263>.
 22. Greenspan DCJZDI. Comparison of a synthetic and bovine derived hydroxyapatite bone graft substitute. 2012:1-4.;
 23. Barakat NA, Khalil K, Sheikh FA, Omran A, Gaihre B, Khil SM, et al. Physicochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: extraction of biologically desirable HA_p. 2008;28(8):1381-7. ;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.03.003>.

The variable size consideration of hydroxyapatite extracted from bovine bone at different temperature furnaces

Linh Van Ha^{1,*}, Diem Ngoc Thi Mai², Tien Huu Cao²



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Current bone regeneration surgeries focus on regenerating damaged bone tissue structures rather than replacing them. Bone-derived hydroxyapatite (HAP) is a natural bone component with good bone resilience, emerging and a promising bone graft material. Factors in the synthesis process are very important to the properties of hydroxyapatite. The purpose of this study is to assess the effect of three different furnace temperatures on the size and phase purity of the HA crystal. The research consists of the following two stages: after combining physical and chemical methods in the first period to eliminate most of the organic components; bones continue to be heated at temperatures of 600°C, 700°C and 800°C to create the various size of HA crystals in bone particles. Product composition and size of HA crystal are determined by TGA, XRD, FTIR, SEM, EDX methods. The results show that crystal size and phase purity can be controlled and increased with the temperature. In particular, the HA crystal size did not change significantly in the range of 600°C but increased 10-times above 700°C. Single crystal HA is expected to form in the range of 600 - 700°C. After the sample was heated to 600°C, the organic compounds such as blood and bone marrow were completely burned. In addition, two trace elements, Na and Mg, were not completely removed as in other cases but were still retained inside the bone particle. The Ca/P ratio is 1.63 is similar to the Ca/P ratio found in human bones.

Key words: Hydroxyapatite, HA crystal particle, bovine bone, temperature, furnace

¹Faculty of Materials Science and Technology, Ho Chi Minh University of Science, VNU-HCM, HCMC, Vietnam.

²Faculty of Dentistry, Pham Ngoc Thach University of Medicine, HCMC, Vietnam.

Correspondence

Linh Van Ha, Faculty of Materials Science and Technology, Ho Chi Minh University of Science, VNU-HCM, HCMC, Vietnam.

Email: halinh0508@gmail.com

History

- Received: 30-10-2020
- Accepted: 23-12-2020
- Published: 02-2-2021

DOI : 10.32508/stdjns.v5i1.967



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Ha L V, Mai D N T, Cao T H. **The variable size consideration of hydroxyapatite extracted from bovine bone at different temperature furnaces.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(1):1005-1014.