

VẬT LIỆU AG/HYDROXYAPATITE KÍCH THƯỚC NANOMET: CHẾ TẠO VÀ ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH HÓA LÝ

NANOMETRE-SIZED AG/HYDROXYAPATITE MATERIALS: FABRICATION AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS

Phan Thị Lan Hương¹, Nguyễn Bá Hưng¹, Nguyễn Thị Thục Anh², Vũ Thị Trang^{1*}

¹Khoa Vật lý - Lý Sinh, Học viện Quân y, ²Viện Mô phôi lâm sàng quân đội, Học viện Quân y

Đến Tòa soạn ngày 12/09/2022, chấp nhận đăng ngày 06/10/2022

Tóm tắt: Hydroxyapatite kích thước nano là ứng viên sáng giá trong lĩnh vực kỹ thuật mô xương, do có thành phần tương tự với thành phần vô cơ trong xương tự nhiên. Ở dạng bột mịn, HAp với kích thước nano là dạng canxi photphat được cơ thể hấp thụ dễ dàng do tỷ lệ Ca/P trong phân tử HAp tương đồng tỷ lệ Ca/P trong xương và răng. Nano bạc kim loại là vật liệu có tác dụng kháng khuẩn, diệt virus, nấm... Sự kết hợp giữa nano HAp với nano Ag thể hiện các đặc tính kháng khuẩn ưu việt và là vật liệu sinh học thích hợp để điều trị các bệnh nhiễm trùng xương do vi khuẩn như viêm tủy xương. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã nghiên cứu chế tạo thành công vật liệu nano Ag/hydroxyapatite (Ag/HAp) với quy trình hai bước. Đặc trưng hóa lý của bột nano Ag/HAp được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ tia X, hình ảnh hiển vi điện tử quét, phổ hồng ngoại biến đổi Fourier, quang phổ huỳnh quang tia X và quang phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis... Kết quả phân tích cho thấy bột nano Ag/HAp có dạng hạt, kích thước hạt trung bình khoảng 75 nm, bột có cấu trúc xốp rỗng với các lỗ xốp phân bố khá đồng đều gần tương đồng với cấu trúc dạng xốp của xương tự nhiên.

Từ khóa: Bột Ag/hydroxyapatite, kích thước nano mét, cấu trúc xốp rỗng, vật liệu sinh học.

Abstract: Nanoscale hydroxyapatite is a promising candidate in the field of bone tissue engineering, due to its similar composition to the inorganic constituents found in natural bone. In fine powder form, nano-sized HAp is a calcium phosphate form that the body absorbed easily because the Ca/P ratio in the HAp molecule and in bones and teeth is similar. Metallic silver nano is a material that has antibacterial, antiviral, and fungal effects... The combination of nano HAp with nano-Ag exhibits superior antibacterial properties and is a suitable biomaterial for bacterial bone infection treatment such as osteomyelitis. In this study, we have successfully fabricated Ag/hydroxyapatite (Ag/HAp) nanomaterials with a two-step process. The physicochemical properties of Ag/HAp nanopowder were analyzed by such methods as X-ray diffraction, scanning electron microscopy, Fourier transforms infrared spectroscopy, X-ray fluorescence spectroscopy, and visible ultraviolet spectroscopy... The analysis results show that the Ag/HAp nanopowder has a granular shape, the average size is about 75 nm, and the powder has a hollow porous structure with fairly uniformly distributed pores, which is similar to the spongy structure of natural bone.

Keywords: Ag/hydroxyapatite powder, nanometer size, hollow porous structure, biomaterials.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay vật liệu sinh học được sử dụng rộng rãi trong điều trị, đánh giá, phục hồi và / hoặc

thay thế bất kỳ mô, cơ quan hoặc chức năng nào của cơ thể, từ đó cải thiện chất lượng và tuổi thọ của con người [1]. Vật liệu sinh học

cung cấp các giải pháp tiềm năng và có thể được sử dụng trong cơ thể người để thay thế hoặc hỗ trợ các bộ phận bị hư hỏng [2]. Các vật liệu gần giống với apatite sinh học dễ tiêu hóa và hòa tan trong mô vật chủ mà không xuất hiện tác dụng phụ nào. Do đó, các vật liệu có thành phần hóa học và cấu trúc phân tử tương tự như các mô sống tự nhiên sẽ có khả năng thay thế tốt. Những vật liệu này đã được chứng minh công dụng của chúng để thay thế hoặc phục hồi chức năng của mô cơ thể và có thể hoạt động liên tục hoặc gián đoạn khi tiếp xúc với chất lỏng cơ thể. Hydroxyapatite (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) là hợp chất CaP quan trọng nhất được tìm thấy dưới dạng pha khoáng trong các mô cứng tự nhiên. HAp hoạt động như một chất gia cố trong các mô cứng tự nhiên và chịu trách nhiệm về độ cứng của xương, men răng và ngà răng. HAp có thể được lấy từ nguồn tổng hợp hoặc tài nguyên thiên nhiên. HAp tổng hợp với thành phần cân bằng $\text{Ca/P} = 1,67$, đã thu hút nhiều sự quan tâm trong kỹ thuật mô cứng do nó tương đồng với các thành phần khoáng của xương và răng của động vật có vú [3]. Trên thực tế, các mô cứng của con người thường ở dạng nanocomposite vô cơ - hữu cơ [4]. Đặc biệt, các tính chất của vật liệu composite phụ thuộc vào kích thước và hình thái của các chất không đồng nhất, phân thể tích mà chúng chiếm giữ, và mặt phân cách giữa các thành phần [1]. Việc nhiễm trùng khi có vật liệu cấy ghép không chỉ gây bất lợi cho vật chủ mà còn có xu hướng làm bong tróc chính bộ phận cấy ghép [5].

Trong bài báo này, chúng tôi báo cáo quy trình tổng hợp và các phân tích thành phần, cấu trúc và hình thái học của vật liệu Ag/HAp từ đó hướng đến phát triển một vật liệu kháng khuẩn với tiềm năng giảm nhiễm trùng và thoái hóa do vi sinh vật gây ra tại vị trí cấy ghép xương [6].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và hóa chất

Canxi nitrat tetrahydrat ($\text{Ca} [\text{NO}_3]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 99,0%, Merck), diammonium hydro photphat ($[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$; 98%, Trung Quốc), amoni hydroxit (NH_4OH ; 28%, Trung Quốc). Hai thanh bạc khối (độ tinh khiết 99,99%, được đặt mua từ một công ty trang sức trong nước tại Hà Nội, Việt Nam) với kích thước $\text{D150} \times \text{R10} \times \text{D0,5 mm}$. Trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, sigma-aldrich). Nước cất hai lần.

2.2. Chế tạo nano HAp

Hòa tan $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,29 M và nguyên liệu tiền chất 0,24 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ trong 2 cốc riêng biệt trong dung môi nước hai lần. Nhỏ từ từ dung dịch NH_4OH để điều chỉnh pH trong mỗi cốc bằng 10,5. Sau đó thêm từng giọt $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ với tốc độ 50 giọt/1 phút vào dung dịch $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dung dịch này chuyển sang kết tủa trắng đục từ một dung dịch trong suốt. Hỗn hợp được khuấy trong 6 giờ và tiếp tục khuấy qua đêm. Kết tủa trắng đục sau đó được rửa năm lần để loại bỏ amoni hydroxit bằng nước cất sau đó làm khô ở 80°C trong 24 giờ, cuối cùng được nghiền bằng cối mã não đến dạng bột mịn.

2.3. Chế tạo dung dịch nano Ag

Hai thanh bạc đặt song song được cố định bằng giá đỡ và kẹp trong cốc thủy tinh đựng 500 mL nước cất hai lần, đặt cốc thủy tinh trên máy khuấy từ. Khoảng cách giữa hai điện cực là 6,5 cm và độ ngập sâu trong nước cất hai lần là 7 cm. Sau đó, trisodium citrate được thêm vào tạo dung dịch có nồng độ đạt 0,016% và khuấy từ được thực hiện trong 15 phút (tốc độ 340 vòng/phút). Một điện áp một chiều 12 V được cung cấp cho các thanh bạc trong 2 giờ với điều kiện khuấy từ liên tục 340 vòng/phút và ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, các

điện cực bạc, Ag_2O được loại bỏ sau quá trình tổng hợp; quá trình khuấy tiếp tục duy trì trong 30 phút. Cốc có chứa dung dịch ion Ag^+ được bảo quản trong bóng tối và sử dụng cho bước chế tạo Ag/HAP trong vòng 24 giờ.

2.4. Chế tạo vật liệu sinh học nano Ag/HAP

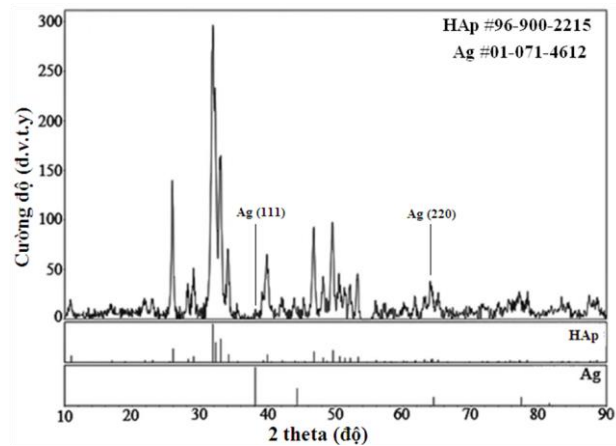
Sử dụng 3 gram bột HAP đã được làm khô trong không khí sau đó phân tán trong 500 mL dung dịch nano bạc vừa chế tạo (trong vòng 24 giờ sau khi điện hóa). Thực hiện khuấy 340 vòng/phút liên tục trong 48 giờ và ở nhiệt độ phòng. Sau đó để lắng, lọc rửa 3 lần bằng nước cất, sấy khô trong không khí ở nhiệt độ 80°C trong 24 giờ. Sử dụng cối mã não nghiền, rây mẫu trước khi tiến hành nung. Cuối cùng, vật liệu được nung trong không khí ở nhiệt độ 600°C trong 2 giờ. Hoàn tất quá trình chế tạo bột nano Ag/HAP.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

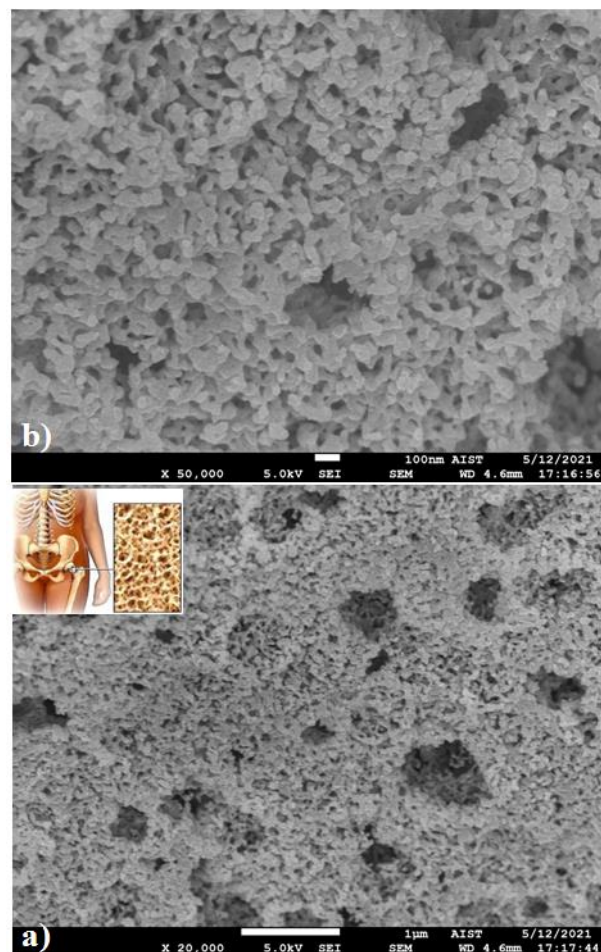
Cấu trúc tinh thể của mẫu nano Ag/HAP đã chế tạo được khảo sát đặc trưng hóa lý bằng cách sử dụng phương pháp nhiễu xạ tia X. Kết quả XRD của các mẫu bột được thể hiện trong hình 1, quan sát thấy có sự hiện diện các đỉnh phổ đặc trưng của pha hydroxyapatite và sự xuất hiện các đỉnh phổ của pha bạc kim loại. Cụ thể các đỉnh nhiễu xạ của mẫu HAP có sự tương đồng cao với các đỉnh phổ nhiễu xạ HAP của thẻ phổ chuẩn #96-900-2215. Từ hình 1, ta thấy giản đồ XRD của HAP xuất hiện các đỉnh đặc trưng tại $25,8^\circ$; $28,8^\circ$; $31,7^\circ$; $32,1^\circ$; $32,8^\circ$; $46,6^\circ$ và $49,4^\circ$ tương ứng với các mặt tinh thể (002), (210), (211), (112), (030), (222) và (213) của HAP khối.

Áp dụng phương trình Debye-Scherrer tính với đỉnh nhiễu xạ cực đại (211) thu được kích thước tinh thể là 80 nm. Ngoài ra, có thể quan sát thấy sự xuất hiện của 2 đỉnh phổ nhiễu xạ yếu của nano bạc kim loại với các mặt tinh thể

lần lượt là (111) và mặt (220), kết quả này hoàn toàn phù hợp với thẻ phổ chuẩn #01-071-4612, điều này chứng tỏ có sự hiện diện của nano Ag kim loại trong mẫu bột nano Ag/HAP chúng tôi đã chế tạo được.



Hình 1. Phổ nhiễu xạ tia X của mẫu Ag/HAP

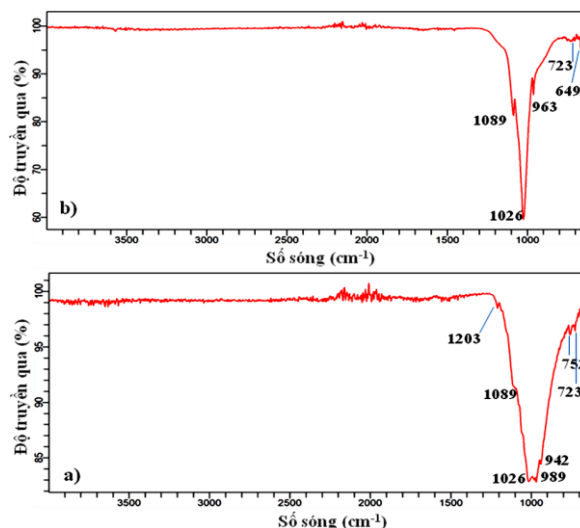


Hình 2. Hình ảnh hiển vi điện tử quét của mẫu Ag/Hap

Hình 2 là kết quả khảo sát hiển vi điện tử quét, SEM cung cấp thông tin về dạng hình học, mức độ phân bố đồng đều của hình dạng và kích thước tương đối trên bề mặt mẫu. Quan sát kết quả SEM (hình 2) của mẫu Ag/HAp ở thước đo 1 μm thấy rằng mẫu chế tạo được có dạng hạt, mức độ phân bố hình dạng tương đối đồng nhất. Đặc biệt ở hình 2a quan sát thấy rõ sự hình thành các lỗ rỗng phân bố khá đều, chứng tỏ các mẫu có cấu trúc xốp rỗng tương đối tốt khi so sánh với hình ảnh chụp cấu trúc xương người (hình nhỏ). Kết quả này phù hợp với mục tiêu chế tạo cấu trúc Ag/HAp có độ đồng đều về dạng hình học, cấu trúc xốp rỗng tương đương với cấu trúc xương tự nhiên. Ngoài ra quan sát trên Hình 2b có thể thấy mẫu HAp pha tạp Ag có dạng hạt tương đối đồng đều, đường kính trung bình khoảng 70-75 nm, kết quả này tương đương với báo cáo của J. Anita Lett và cộng sự [5].

Quang phổ biến đổi Fourier (FT-IR) được sử dụng nhằm xác định các nhóm chức của mẫu HAp và Ag/HAp đã chế tạo được. Phổ FT-IR của các mẫu HAp và Ag/HAp được thể hiện trong hình 3. Quan sát thấy có sự xuất hiện tất cả các đỉnh hấp thụ đặc trưng của hydroxyapatite. Hình 3a là kết quả phổ FT-IR của mẫu HAp, các cực đại cường độ cao nằm ở vùng có số sóng khoảng 1089 cm^{-1} , 1026 cm^{-1} và 989 cm^{-1} được gán cho biến dạng kéo giãn không đối xứng P–O (ν_3) của nhóm PO_4^{3-} [7]. Ngoài ra quan sát thấy dải phổ ở số sóng khoảng 723 cm^{-1} đến 752 cm^{-1} đặc trưng cho biến dạng uốn của nhóm OH^- . Hình 3b là phổ FT-IR của mẫu Ag/HAp có các cực đại cường độ cao nằm ở vùng số sóng 1089 cm^{-1} , 1026 cm^{-1} và 963 cm^{-1} được cho là biến dạng kéo giãn không đối xứng P–O của nhóm PO_4^{3-} tương đương với phổ FT-IR của mẫu HAp thuần. Các đỉnh khác được quan sát thấy

là một điểm kép trong phổ FT-IR, nằm trong khoảng $649\text{--}500\text{ cm}^{-1}$, được suy ra từ các biến dạng uốn suy biến bậc ba (ν_4) của các liên kết photphat O–P–O [8]. Một đỉnh nhọn nhỏ ở số sóng 723 cm^{-1} được cho là do sự hiện diện của nhóm HPO_4^{2-} trong mạng tinh thể [7].

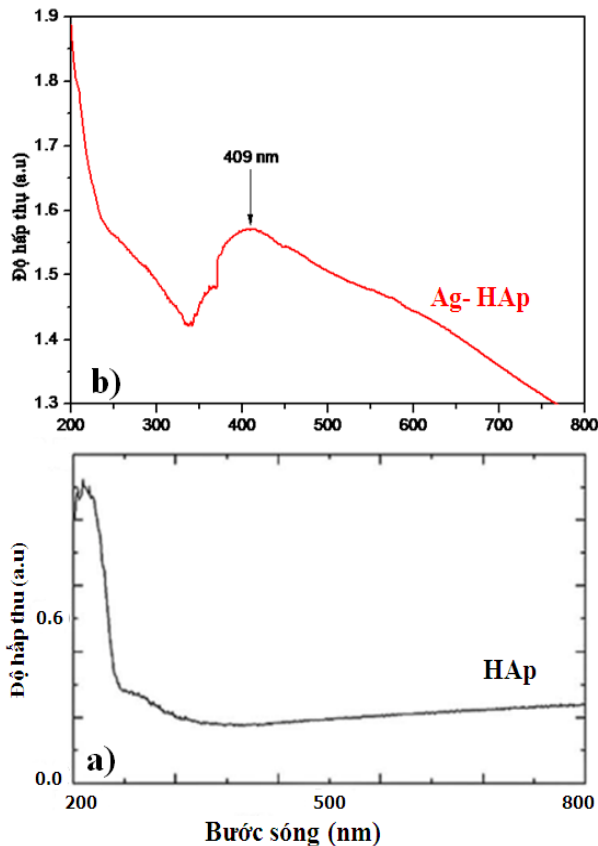


Hình 3. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (a) HAp và (b) Ag/HAp

Báo cáo của Sanosh cho biết hydroxyapatite khi ở kích thước nano chúng có diện tích bề mặt rất lớn cho phép hấp thụ đồng nhất bởi các tế bào hủy xương [9]. Do đó, vật liệu này gồm các hạt Ag/HAp có kích thước nano sẽ cải thiện độ kết tinh [10] đã được xác nhận bởi khảo sát XRD, kết quả này có thể tạo ra một bề mặt phù hợp cho sự tăng sinh của các tế bào xương.

Kết quả khảo sát phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis của mẫu HAp (a) và Ag/HAp (b) được thể hiện trong Hình 4. Trong phổ UV-Vis đối với mẫu Ag/HAp Hình 4b, quan sát thấy dải hấp thụ ở vùng bước sóng 409 nm được cho là do sự hấp thụ cộng hưởng plasmon bề mặt của các hạt nano bạc kim loại [11]. Trong khi đó ở Hình 4a đối với mẫu HAp thuần không quan sát thấy đỉnh hấp thụ cực đại nào ở vùng bước sóng tương tự. Kết

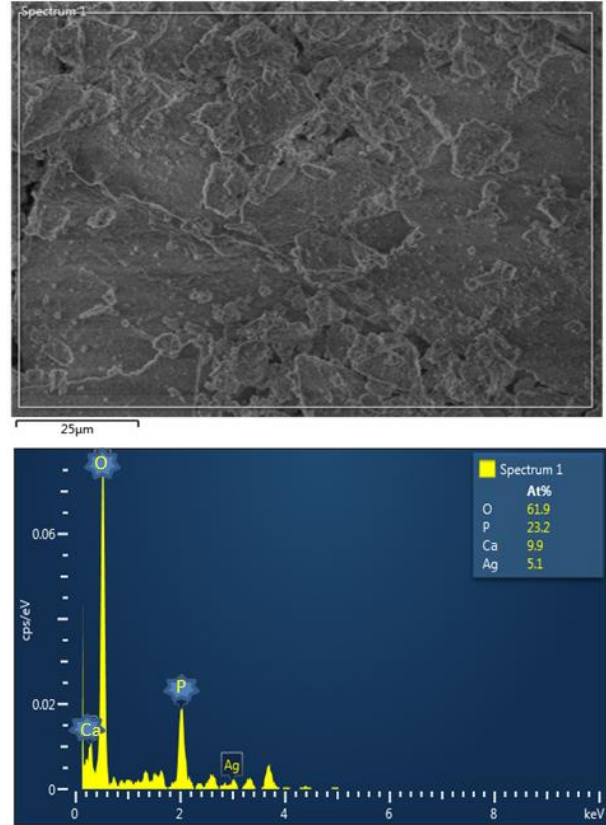
quả này chứng tỏ trong mẫu Ag/HAp có sự tồn tại của các nano bạc.



Hình 4. Phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis của (a) mẫu HAp và (b) mẫu Ag/HAp

Bên cạnh khảo sát nhiễu xạ tia X, quang phổ biến đổi Fourier, quang phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis nhằm tìm kiếm bằng chứng về sự hiện diện của nano Ag trong các mẫu Ag/HAp, chúng tôi tiến hành khảo sát quang phổ huỳnh quang tia X - EDS nhằm cung cấp thông tin phân tích thành phần nguyên tố có mặt trong mẫu. Kết quả khảo sát trong hình 5 chỉ ra sự hiện diện của tất cả các nguyên tố như Ca, P, C, O và một nguyên tố Ag bổ sung trong mẫu HAp pha tạp bạc và do đó xác nhận sự hình thành và hiện diện của Ag trong mẫu Ag/HAp. Kết quả này hoàn toàn phù hợp khi so sánh với kết quả khảo sát quang phổ huỳnh quang tia X của các mẫu HAp thuần trong phân tích trước đó của chúng tôi không tìm thấy sự xuất hiện của thành phần nguyên tố bạc trong mẫu.

Ngoài ra, theo Robertson và cộng sự lượng ion Ca^{2+} có thể trao đổi trong lớp hydrat hóa của HAp chỉ chiếm khoảng 4% tổng số ion Ca^{2+} trong tinh thể [12].



Hình 5. Phổ quang phổ huỳnh quang tia X của mẫu Ag/HAp

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thực hiện thành công quy trình chế tạo bột nano Ag/HAp bằng phương pháp kết tủa hóa ướt kết hợp quá trình nano hóa dung dịch ion bạc sau điện hóa, với các tiền chất dễ tìm như $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và bạc khối, các thông số chế tạo gồm: nano hóa ion bạc trong vòng 24 giờ sau điện hóa, pH = 10.5, nhiệt độ nung 600°C , thời gian nung 2 giờ. Kết quả khảo sát đặc trưng hóa lí bột nano Ag/HAp cho thấy vật liệu Ag/HAp có cấu trúc tinh thể, dạng hạt đồng đều, kích thước hạt trung bình khoảng 75 nm, có các liên kết đặc trưng cho gốc PO_4^{3-} , OH^- trong HAp. Đã tìm thấy sự tồn tại của nano bạc

trong mẫu Ag/HAp. Bột Ag/HAp giữ được đồng đều gần tương đồng với cấu trúc dạng cấu trúc xốp rỗng với các lỗ xốp phân bố khá xốp của xương tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Singh, R.P. Singh, and S.S. Jolly, "Customized hydroxyapatites for bone-tissue engineering and drug delivery applications: a review," *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 94, no. 3, pp. 505–530, 2020.
- [2] W. Suchanek and M. Yoshimura, "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants," *J. Mater. Res.*, vol. 13, no. 1, pp. 94–117, 1998.
- [3] L.L. Hench, "Bioceramics: from concept to clinic" *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 74, pp. 1487–1510, 1991.
- [4] F.Z. Cui, Y. Li, and J. Ge, "Self-assembly of mineralized collagen composites," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 57, no. 1–6, pp. 1–27, 2007.
- [5] J.A. Lett *et al.*, "Exploring the thumbprints of Ag-hydroxyapatite composite as a surface coating bone material for the implants," *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 9, no. 6, pp. 12824–12833, 2020.
- [6] Q.L. Feng *et al.*, "Antibacterial effects of Ag-HAp thin films on alumina substrates," *Thin Solid Films*, vol. 335, no. 1–2, pp. 214–219, 1998.
- [7] L.N. Wang and J.L. Luo, "Fabrication and formation of bioactive anodic zirconium oxide nanotubes containing presynthesized hydroxyapatite via alternative immersion method," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, no. 4, pp. 748–754, 2011.
- [8] H. Ye, X.Y. Liu, and H. Hong, "Cladding of titanium/hydroxyapatite composites onto Ti6Al4V for load-bearing implant applications," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 29, no. 6, pp. 2036–2044, 2009.
- [9] K.P. Sanosh, M.C. Chu, A. Balakrishnan, Y.J. Lee, T.N. Kim, and S.J. Cho, "Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulate teeth particle morphology and composition," *Curr. Appl. Phys.*, vol. 9, no. 6, pp. 1459–1462, 2009.
- [10] E.V. Pecheva, L.D. Pramatarova, M.F. Maitz, M.T. Pham, and A.V. Kondyuirin, "Kinetics of hydroxyapatite deposition on solid substrates modified by sequential implantation of Ca and P ions - Part I. FTIR and Raman spectroscopy study," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 235, no. 1–2, pp. 176–181, 2004.
- [11] H. Kim, S. Mondal, B. Jang, P. Manivasagan, M.S. Moorthy, and J. Oh, "Biomimetic synthesis of metal-hydroxyapatite (Au-HAp, Ag-HAp, Au-Ag-HAp): Structural analysis, spectroscopic characterization and biomedical application," *Ceram. Int.*, vol. 44, no. 16, pp. 20490–20500, 2018.
- [12] W.G. Robertson and D.B. Morgan, "Effect of pyrophosphate on the exchangeable calcium pool of hydroxyapatite crystals," *BBA - Gen. Subj.*, vol. 230, no. 3, pp. 495–503, 1971.

Thông tin liên hệ: **Vũ Thị Trang**

Điện thoại: 0983934089 - Email: vuthitrang@vmmu.edu.vn

Khoa Vật lý - Lý Sinh, Học viện Quân y.