

Tổng hợp và đặc trưng của vật liệu hydroxyapatite từ xương lợn bằng phương pháp thủy nhiệt

Trần Nguyễn Phương Lan^{1*}, Nguyễn Thanh Tỷ², Mai Thị Thu Sương², Ngô Trương Ngọc Mai², Nguyễn Minh Nhật², Cao Lưu Ngọc Hạnh², Lê Phan Hưng³, Phạm Thị Năm⁴

¹Khoa Kỹ thuật Cơ khí, Trường Đại học Cần Thơ, khu II, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

²Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Cần Thơ, khu II, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

³Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật TP Hồ Chí Minh, 1 Võ Văn Ngân, phường Linh Chiểu, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/1/2023; ngày chuyển phản biện 13/1/2023; ngày nhận phản biện 8/2/2023; ngày chấp nhận đăng 10/2/2023

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, hydroxyapatite (HA) được tổng hợp bằng phương pháp thủy nhiệt ở tỷ lệ Ca/P=1,67, pH 10, nhiệt độ phản ứng 150°C, thời gian phản ứng 12 giờ với nguồn tiền chất từ xương lợn. Tính chất của nguồn nguyên liệu xương lợn và sản phẩm HA tạo thành được đánh giá bằng các phương pháp phân tích hiện đại như phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD), phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR), phương pháp Brunauer-Emmett-Teller (BET) và phương pháp quang phổ huỳnh quang tia X (XRF). Bên cạnh đó, nguồn tiền chất giàu Ca và P được thu hồi từ xương lợn được hòa tan bằng dung dịch HNO₃ 0,3125 M trong 30 phút, với phần trăm xương lợn được hòa tan là 87,90%. Điểm thú vị của nghiên cứu này là HA tạo thành có độ kết tinh 89,23%, kích thước tinh thể trung bình 13,98 nm, không có sự xuất hiện của các pha tạp và không cần già hóa sau phản ứng. Ngoài ra, độ kết tinh và kích thước tinh thể trung bình của HA được tổng hợp từ xương không nung lần lượt là 76,88% và 8,49 nm.

Từ khóa: độ kết tinh cao, hydroxyapatite, phương pháp thủy nhiệt, xương lợn.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.5, 2.9

Synthesis and characterisation of hydroxyapatite from pig bone using hydrothermal method

Nguyen Phuong Lan Tran^{1*}, Thanh Ty Nguyen², Thi Thu Suong Mai², Truong Ngoc Mai Ngo², Minh Nhat Nguyen², Luu Ngoc Hanh Cao², Phan Hung Le³, Thi Nam Pham⁴

¹Faculty of Mechanical Engineering, Can Tho University, Campus II, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

²Faculty of Chemical Engineering, Can Tho University, Campus II, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

³Ho Chi Minh University of Technology and Education, 1 Vo Van Ngan Street, Linh Chieu Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Institute for Tropical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 10 January 2023; revised 8 February 2023; accepted 10 February 2023

Abstract:

In this study, hydroxyapatite (HA) was synthesised using the hydrothermal method at a molar ratio of Ca/P=1.67, pH 10, at 150°C for 12 hours with the feedstock from the pig bone. The characteristic properties of pig bone and HA products were evaluated via many advanced analysis methods, such as X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Brunauer-Emmett-Teller (BET) and X-ray fluorescence (XRF) methods. Besides, the precursor-rich calcium and phosphorus could be recovered from pig bone and dissolved using a 0.3125 M HNO₃ solution within 30 minutes and 87.9% of pig bone was fully dissolved. The interesting point in this study was to generate HA with a crystallinity of 89.23%, an average crystal size of 13.98 nm, no appearance of other phases in products, and without ageing. Moreover, the crystallinity and average crystal size of HA synthesising from bones without calcination were 76.88% and 8.49 nm, respectively.

Keywords: high crystalline, hydrothermal method, hydroxyapatite, pig bone.

Classification numbers: 2.4, 2.5, 2.9

*Tác giả liên hệ: Email: tnplan@ctu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, vật liệu nano được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực đặc biệt như y sinh, xử lý các chất ô nhiễm và điện tử, trong đó, HA được biết như vật liệu có các ứng dụng đa dạng trong hấp phụ các chất ô nhiễm trong môi trường nước và y sinh. HA được tổng hợp từ các nguồn nguyên liệu và phương pháp tổng hợp khác nhau sẽ ảnh hưởng đến độ tinh khiết, diện tích bề mặt riêng và hình dạng của chúng. HA được tổng hợp từ vỏ sò biển có dạng hình que và kích thước tinh thể ~101 nm [1]. Để kiểm soát hình thái và kích thước hạt HA, dịch chiết trái cây có thể được bổ sung trong quá trình tổng hợp [2]. Với nguồn tiền chất từ hỗn hợp bột xương cá da trơn và xương động vật đã tạo ra HA có độ kết tinh và kích thước tinh thể trung bình là 80,42% và 27,3 nm [3]. Vỏ trứng cũng được sử dụng để tổng hợp HA bằng phương pháp thủy nhiệt kết hợp vi sóng ở công suất 800 W, vật liệu thu được có dạng hình que [4]. Các ion Ca^{2+} và OH^- của HA có khả năng trao đổi ion và tạo phức nên HA được sử dụng như chất hấp phụ các ion Pb^{2+} , Cu^{2+} , F^- , Cl^- và thuốc nhuộm [5, 6]. HA cũng đã được chứng minh là có khả năng xử lý kim loại nặng như Cu, Fe, Ni và Cr trong đất [7]. Ngoài ra, HA được pha tạp nhôm và ứng dụng xử lý ion F^- trong nước, với hiệu suất trên 90% [8]. Cu-HA được tổng hợp thành công theo phương pháp trao đổi ion và điện hóa với hiệu quả diệt khuẩn đối với vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* là 89 và 98% [9]. Vật liệu composite của HA cũng đã được nghiên cứu và ứng dụng xử lý kim loại nặng như Zn^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} và Cd^{2+} . Khả năng xử lý các chất ô nhiễm phụ thuộc vào diện tích bề mặt riêng của vật liệu, với diện tích bề mặt riêng càng cao thì khả năng hấp phụ càng tốt. Ngoài ra, diện tích bề mặt có mối quan hệ tỷ lệ thuận với độ kết tinh của vật liệu. Vì vậy, khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến độ kết tinh của HA được thực hiện để cải thiện diện tích bề mặt riêng của chúng [10-12].

Các kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy nguồn nguyên liệu, nhiệt độ phản ứng và tính chất của các thành phần pha tạp ảnh hưởng đến hình dạng và kích thước của HA. Qua quá trình lược khảo tài liệu, có rất ít công trình nghiên cứu tổng hợp HA từ xương lợn được thực hiện ở Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm tổng hợp HA với độ kết tinh cao bằng phương pháp thủy nhiệt từ tiền chất xương lợn với các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành HA như nồng độ nitric acid để tạo tiền chất calcium nitrate, pH của dung dịch, thời gian phản ứng, nhiệt độ phản ứng và thời gian giã hóa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Xương lợn được thu gom ở các quán ăn tại TP Cần Thơ. Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu này gồm sodium hydroxide (96%, Xilong), nitric acid (65-68%, Xilong), diammonium hydrogen phosphate (99,5%, Guanghua), ammonium hydroxide (25-28%, Xilong).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xương lợn được rửa để loại bỏ tạp chất và đun với dung dịch NaOH 1 M trong 2 giờ [13]. Xương được rửa sạch, sấy 60°C và nung 900°C, 1 giờ, được nghiền mịn và rây ở kích thước nhỏ hơn 0,42 mm bằng rây 35 Mesh. Bột xương được hòa tan trong HNO_3 ở các nồng độ khác nhau và được lọc để loại bỏ chất rắn, thu được dung dịch tiền chất giàu Ca và P. Nitric acid hòa tan bột xương được khảo sát ở các nồng độ 0,03-1,25 M. Bột xương lợn không nung cũng được sử dụng để tạo dung dịch tiền chất giàu Ca và P như mẫu đối chứng. Phần trăm hòa tan của bột xương sau nung được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ hòa tan} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

Với m_1 và m_2 lần lượt là khối lượng bột xương nung ban đầu (g) và khối lượng chất rắn sau khi hòa tan với HNO_3 (g).

Quy trình tổng hợp HA bằng phương pháp thủy nhiệt và có cải tiến [14]. Dung dịch tiền chất giàu Ca và P được thêm từ từ vào dung dịch $(NH_4)_2HPO_4$ ở tỷ lệ mol Ca/P=1,67, tạo dung dịch huyền phù. Giá trị pH của dung dịch được điều chỉnh bằng NH_4OH (25%) và tiến hành phản ứng ở các giá trị thời gian và nhiệt độ khác nhau. Sau khi kết thúc phản ứng thủy nhiệt, bình phản ứng được giải nhiệt đến nhiệt độ phòng và giã hóa hỗn hợp ở các thời gian khác nhau. Sau khi giã hóa, hỗn hợp được lọc và rửa nhiều lần đến pH trung tính. Chất rắn được sấy ở 60°C đến khối lượng không đổi, sản phẩm là bột HA. Các yếu tố khảo sát trong thí nghiệm này gồm: pH 9-12, nhiệt độ ($t=150, 175$ và $200^\circ C$), thời gian phản ứng (2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 và 24 giờ) và thời gian giã hóa ($T_2=0; 12$ và 24 giờ).

Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) dùng để xác định cấu trúc của vật liệu, kích thước tinh thể, kiểm tra sự đơn pha, hằng số mạng tinh thể, độ kết tinh của vật liệu. Hằng số mạng tinh thể HA được tính theo định luật Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta \quad (2)$$

với $n=1$: số bậc nhiễu xạ; $\lambda=1,5043$ Å: bước sóng tia X; θ : góc nhiễu xạ (rad); d : khoảng cách giữa các mặt.

Phần trăm kết tinh (%) được xác định:

$$\% \text{ kết tinh} = \frac{\sum I_{HA}}{\sum I_T} \times 100 \quad (3)$$

trong đó: $\sum I_{HA}$: tổng diện tích peak HA; $\sum I_T$: tổng diện tích peak mẫu.

Kích thước tinh thể trung bình (nm) được xác định:

$$D = \frac{0,9\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (4)$$

với β là một nửa bề rộng của peak.

Các nhóm chức và các liên kết hóa học của sản phẩm được xác định bằng phương pháp FTIR, sử dụng thiết bị FTIR Thermo Nicolet 6700, với số sóng 400-4000 cm^{-1} . Thành phần oxide của bột xương được xác định bằng XRF với thiết bị ARL ADVANT'X (Thermo). Diện tích bề mặt riêng và kích thước lỗ rỗng của HA được phân tích bằng thiết bị BET 201A (Porous Materials Inc, Mỹ).

3. Kết quả và bàn luận

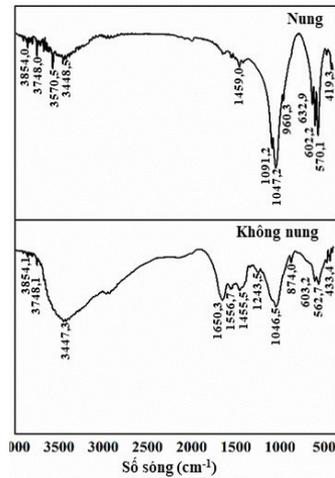
3.1. Đặc trưng của dung dịch tiền chất từ bột xương lợn

Kết quả FTIR của xương không nung và xương nung được thể hiện ở hình 1. Đối với bột xương không nung, dãy hấp thụ tại 1650,3; 1556,7 và 1243,5 cm^{-1} lần lượt là các liên kết C=O, C-N và N-H của nhóm amide [15-17]. Số sóng ở 1455,5 cm^{-1} là của liên kết C-O của $CaCO_3$ và dao động ở 874,0 cm^{-1} là dao động của liên kết Ca-O [18]. Liên kết O-P-O của nhóm PO_4^{3-} cũng được thể hiện ở số sóng 1046,5 cm^{-1} [19]. Các kết quả cho thấy, quy trình tiền xử lý ban đầu với NaOH 1 M không thể loại bỏ hoàn toàn các tạp chất hữu cơ trong xương. Đối với bột xương nung, không tìm thấy sự tồn tại của các dãy hấp thụ đặc trưng cho liên kết trong nhóm amide, chứng tỏ các tạp chất hữu cơ đã bị phân hủy ở nhiệt độ cao. Dao động ở 3447,3 cm^{-1} là liên kết O-H của nước được tìm thấy ở xương nung và không nung. Dãy xuất hiện ở 1092,1; 602,2; 570,1 và 472,1 cm^{-1} là các dao động của liên kết P-O, O-P-O trong bột xương nung. Số sóng

1047,2 và 960,3 cm^{-1} lần lượt là dao động kéo giãn không đối xứng của nhóm PO_4^{3-} và dao động kéo giãn của nhóm PO_4^{3-} [16, 20]. Liên kết Ca-O được xác định ở các số sóng 3648 và 419,3 cm^{-1} [19]. Dao động ở số sóng 3570 và 632,9 cm^{-1} là liên kết O-H trong nhóm hydroxyl [20]. Sự xuất hiện của các dao động đặc trưng cho nhóm phosphate và hydroxyl cho thấy sự tồn tại của HA tự nhiên [18, 20].

Kết quả phân tích XRF (bảng 1) cho thấy, hàm lượng CaO và P_2O_5 lần lượt là 71 và 26,7%. Ngoài ra, bột xương còn chứa một số thành phần khác có hàm lượng nhỏ như MgO, Na_2O và SiO_2 . Sau khi hòa tan với dung dịch HNO_3 , có sự thay đổi của thành phần bột xương so với bột xương trước khi hòa tan. Nồng độ HNO_3 được sử dụng để hòa tan bột xương là 0,0625-1,25 M, ở nhiệt độ phòng (bảng 2).

Phần trăm hòa tan bột xương trong dung dịch HNO_3 giảm dần khi giảm nồng độ acid. Ở nồng độ 1,25 M, bột xương gần như được hòa tan hoàn toàn (96,90%). Khi nồng độ dung dịch HNO_3 giảm từ 0,625-0,0312 M, phần trăm hòa tan giảm 91,06% (96,20-8,60%). Ở 0,3125 M, khoảng 87,90% bột xương lợn được hòa tan và giảm 9,29% so với



Hình 1. Giản đồ FTIR của bột xương nung và không nung; điều kiện nung: 900°C và 1 giờ.

Bảng 1. Thành phần các oxide trong bột xương.

Thành phần oxide	CaO	P_2O_5	Na_2O	MgO	SrO	ZnO	SiO_2	Khác
Bột xương ban đầu* (%)	71,00	26,70	1,24	0,71	0,14	0,11	0,10	-
Bột xương không tan** (%)	66,90	30,40	1,46	0,58	0,12	-	0,13	0,43

*bột xương trước khi hòa tan với HNO_3 ; **bột xương sau khi hòa tan với HNO_3 0,3125 M.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ HNO_3 đến phần trăm hòa tan bột xương.

Nồng độ HNO_3 (M)	Thời gian khuấy (phút)	Thể tích HNO_3 (ml)	Khối lượng bột xương (g)	Khối lượng chất rắn ¹ (g)	Phần trăm hòa tan (%)
1,2500				0,031±0,001	96,90±0,071
0,6250				0,038±0,002	96,20±0,212
0,3125	30	50	1	0,121±0,010	87,90±1,002
0,0625				0,804±0,002	19,60±0,141
0,0312				0,914±0,002	8,60±0,212

¹khối lượng chất rắn sau khi hòa tan với HNO_3 ở những nồng độ khác nhau.

phần trăm bột xương lợn được hòa tan ở nồng độ 1,25 M. Mặc dù lượng acid sử dụng giảm 4 lần (1,25-0,3125 M) nhưng phần trăm hòa tan giảm không đáng kể, do đó nồng độ 0,3125 M được lựa chọn.

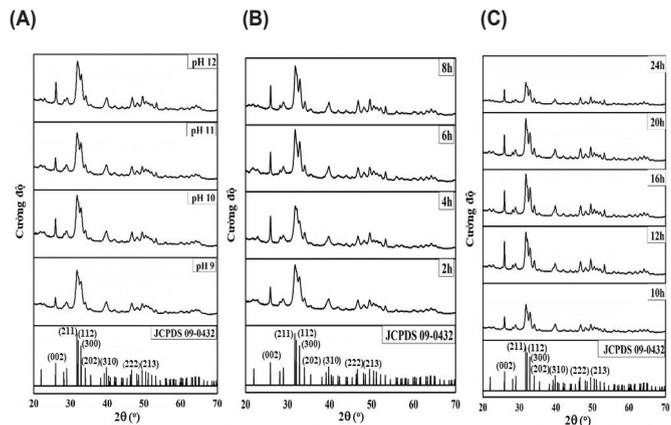
3.2. Tổng hợp hydroxyapatite

Giá trị pH không ảnh hưởng đến sự kết tinh HA nhưng ảnh hưởng đến hình dạng và kích thước hạt [21]. Các mầm HA bị che phủ bởi nhóm OH⁻ trong hỗn hợp, phát triển theo hướng không có sự hiện diện của nhóm OH⁻ và những mặt phẳng đã bị nhóm OH⁻ bám vào sẽ ngừng phát triển. Trong nghiên cứu này, các peak của HA được so sánh với thẻ chuẩn JCPDS 09-0432 [22]. HA đơn pha được tạo thành ở pH 9 nhưng cường độ các peak thấp và không tồn tại của các peak tạp (hình 2). Các peak xuất hiện ở góc $2\theta=25,92; 31,72; 32,16; 32,85; 33,97; 39,78; 46,80$ và $50,47^\circ$, tương ứng với các mặt phẳng (002), (211), (112), (300), (202), (310), (222) và (213) [11]. HA đơn pha được tạo thành ở pH 9, mặt phẳng (300) phân tách rõ ràng và mặt phẳng (112) có xu hướng tách ra khỏi mặt phẳng (211) tại pH 10 (hình 2A).

Tuy nhiên, ở pH 11 và 12, cường độ peak tăng không đáng kể, do đó pH của dung dịch sẽ không ảnh hưởng đến độ kết tinh của HA. Khi giá trị pH tăng thì cường độ peak tăng dần và không có pha tạp [23]. Sự hình thành pha HA và pha β -TCP ở pH 9 và HA đơn pha tạo thành ở pH 11 [4]. Hằng số mạng tinh thể theo cấu trúc hexagonal và độ kết tinh của HA được trình bày ở bảng 3.

Tinh thể HA phát triển theo nhóm không gian $\text{P6}_3/\text{m}$, có cấu trúc lục phương với $a=b=9,42 \text{ \AA}$ và $c=6,88 \text{ \AA}$, $\alpha=\beta=90^\circ$ và $\gamma=120^\circ$ [24]. Tại pH 10, hằng số mạng tinh thể đạt giá trị gần nhất ($a=b=9,422\pm 0,021$, $c=6,88$). Phần trăm kết tinh tăng 11,56% (từ 63,99 đến 71,39%) tại pH 9-10 và tăng không đáng kể ở pH 10-12. Kích thước tinh thể trung bình tăng 15,53% (pH 9-10) và 11,08% (pH 10-12). Sản phẩm kết tinh tốt và không xuất hiện các pha tạp nên pH 10 được chọn cho quá trình tổng hợp HA.

Thời gian phản ứng ảnh hưởng đến sự tạo thành và phát triển của HA. Các thành phần thứ cấp sẽ tạo thành khi kéo dài thời gian phản ứng và giảm độ tinh khiết của sản phẩm [25]. Hình 2B và 2C cho thấy sự hình thành đơn pha HA và không có sự xuất hiện các pha tạp. Thời gian phản ứng 2-10 giờ, cường độ peak thấp [26, 27]. Cường độ peak ở 12 và 20 giờ cao hơn 2-10 giờ và không có sự xuất hiện của các peak tạp, nhưng nhiễu xạ ở góc $2\theta=32,20^\circ$ bị che bởi nhiễu xạ ở góc $2\theta=31,82^\circ$.



Hình 2. Giản đồ XRD của HA, pH 9-12 (A) và thời gian 2-8 giờ (B); 10-24 giờ (C); điều kiện phản ứng 150°C, không giã hóa.

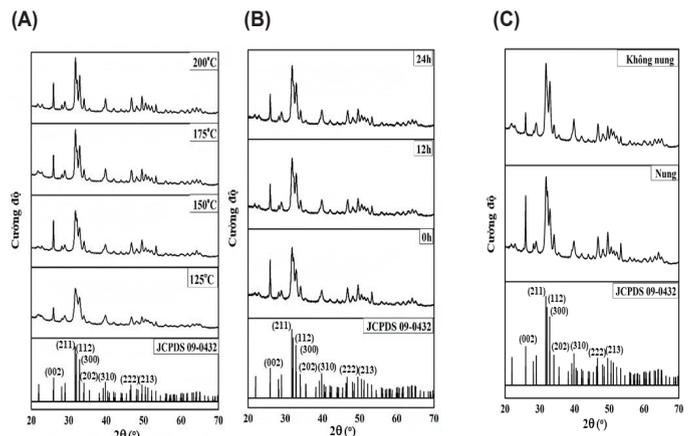
Bảng 3. Hằng số mạng, phần trăm kết tinh và kích thước tinh thể trung bình của HA.

Giá trị	Hằng số mạng		Phần trăm kết tinh (%)	Kích thước tinh thể trung bình (nm)
	a = b (Å)	c (Å)		
pH				
9	9,428±0,034	6,880	63,99	8,27
10	9,422±0,021	6,880	71,39	9,79
11	9,443±0,032	6,880	70,97	8,52
12	9,424±0,026	6,880	72,19	11,01
Thời gian phản ứng (giờ)				
2	9,422±0,021	6,880	71,39	9,79
4	9,416 ± 0,026	6,869	89,20	11,27
6	9,417 ± 0,009	6,872	89,29	11,79
8	9,400 ± 0,018	6,863	90,51	13,33
10	9,420±0,007	6,873	89,35	13,61
12	9,420±0,017	6,880	90,73	13,98
16	9,422±0,025	6,870	90,06	13,46
20	9,418±0,013	6,877	90,63	14,07
24	9,418±0,012	6,877	89,86	15,07
Nhiệt độ phản ứng (°C)				
125	9,420±0,015	6,870	88,61	8,39
150	9,420±0,017	6,880	89,23	13,88
175	9,416±0,010	6,880	88,83	14,81
200	9,414±0,011	6,880	88,61	18,28
Thời gian già hóa (giờ)				
0	9,420±0,017	6,880	89,23	13,98
12	9,404±0,015	6,870	88,60	13,50
24	9,408±0,014	6,880	88,76	14,11

Ở 24 giờ, cường độ peak thấp hơn so với 12-20 giờ, các peak chồng lên nhau và độ kết tinh thấp. Sự xuất hiện pha tạp monetite đã được nghiên cứu ở thời gian phản ứng 48 và 72 giờ [25]. Độ kết tinh của HA tăng tuyến tính theo thời gian là do sự tạo mầm tinh thể trong môi trường quá bão hòa. Giai đoạn đầu tiên, mầm tinh thể của HA chưa tạo thành. Khi độ quá bão hòa của môi trường tăng lên và đạt một giá trị nhất định, sự tạo mầm xảy ra một cách tự phát, làm độ quá bão hòa giảm xuống. Tiếp theo, sự tạo mầm tinh thể xảy ra đồng thời với sự phát triển tinh thể nên độ quá bão hòa giảm mạnh. Khi gần kết thúc phản ứng, tinh thể HA tiếp tục phát triển và hoàn thiện. Do phản ứng diễn ra trong môi trường ổn định, nên sự hòa tan của các tiền chất vào nhau dễ dàng hơn, và phản ứng vẫn tiếp diễn cho đến khi độ quá bão hòa ổn định [28]. Thời gian phản ứng ngắn (2-8 giờ) chưa đủ để phản ứng diễn ra hoàn toàn, mầm tinh thể HA chưa phát triển toàn diện nên độ kết tinh thấp. Hằng số mạng tinh thể ở các thời gian phản ứng khác nhau đều gần với hằng số mạng của HA (bảng 3).

Phần trăm kết tinh và kích thước tinh thể trung bình của HA tăng ở thời gian phản ứng 2-8 giờ. Từ 8-24 giờ, phần trăm kết tinh gần như không thay đổi nhưng kích thước tinh thể tăng từ 13,33 đến 15,07 nm. Khi kéo dài thời gian phản ứng, độ kết tinh HA thay đổi không đáng kể, cường độ các peak có xu hướng tăng và không sai lệch với các peak ở thể chuẩn [27]. Tùy thuộc vào hướng ứng dụng của HA, thời gian phản ứng được lựa chọn phù hợp.

Khi nhiệt độ phản ứng thấp, tinh thể HA tạo thành không hoàn toàn và lẫn các tạp chất như β -TCP, Ca(OH)_2 ... nên độ tinh khiết thấp [29]. Pha HA kết tinh với hằng số mạng $a=b=9,418$, $c=6,88$ và không có sự xuất hiện của tạp chất. Các peak rộng và cường độ thấp cho thấy độ kết tinh kém ở 125°C (hình 3A). Khi nhiệt độ tăng từ 150 đến 200°C, sự phát triển của tinh thể, phần trăm kết tinh tăng và kích thước tinh thể tăng (bảng 3). Khi tăng nhiệt độ thủy nhiệt, cường độ peak tăng, các peak nhọn và phân tách rõ ràng hơn [30]. Hằng số mạng tinh thể không chênh lệch lớn cho thấy sự tạo thành đơn pha HA. Giá trị hằng số mạng của HA tổng hợp ở 150°C xấp xỉ giá trị hằng số mạng của HA ($a=b=9,42$ Å và $c=6,88$ Å). Phần trăm kết tinh của HA ở các nhiệt độ từ 125°C đến 200°C không có sự thay đổi lớn nhưng cường độ peak có cải thiện. Kích thước tinh thể trung bình tăng khi nhiệt độ từ 125-175°C và đạt kích thước lớn nhất là 18,23 nm ở 200°C. Khi nhiệt độ phản ứng tăng, phản ứng giữa calcium và phosphate diễn ra nhanh, các mầm tinh thể được tạo ra và phát triển do năng lượng bề mặt của mầm lớn, dẫn đến kích thước tinh thể tăng [31, 32]. Ở 150-200°C, diện tích bề mặt riêng giảm khoảng 32% từ 95 đến 64 m²/g là do kích thước tinh thể tăng tuyến tính theo nhiệt độ phản ứng. Ở 125°C, các peak HA không phân tách rõ ràng và cường độ các đỉnh nhiễu xạ thấp, chứng tỏ sự phát triển chưa hoàn chỉnh của tinh thể HA. Tuy nhiên, HA có cường độ peak cao và sự phân tách rõ ràng ở 150°C.



Hình 3. Giản đồ XRD của HA ở nhiệt độ 125-200°C (A) và thời gian già hóa 0-24 giờ (B) ở pH 10 và 12 giờ; giản đồ XRD của HA được tổng hợp từ bột xương không nung và xương nung (C) ở pH 10, 12 giờ, 150°C, không già hóa.

Già hóa nhằm thúc đẩy sự phát triển và hoàn thiện tinh thể, không hình thành các pha tạp khác, và các hạt sẽ có kích thước lớn hơn do sự hòa tan và kết tinh diễn ra liên tục [33]. Cường độ peak tăng ở góc $2\theta=32,90^\circ$, tương ứng với mặt phẳng (300) ở 12 giờ và không thay đổi ở 24 giờ (hình 3B). Tổng hợp HA bằng phương pháp kết tủa và sol-gel, già hóa là cần thiết để cải thiện tốc độ phản ứng và HA có độ kết tinh cao [24, 34]. Phản ứng thủy nhiệt không cần già hóa vì nó được thực hiện trong thời gian dài. Hằng số mạng tinh thể ở thời gian già hóa 0-24 giờ dao động trong khoảng $a=9,404-9,420$ (Å) và $c=6,87-6,88$ (Å) (bảng 4). Khi kéo dài thời gian già hóa, kích thước tinh thể trung bình và phần trăm kết tinh HA không thay đổi nhiều. Hình 3C trình bày kết quả XRD của HA tổng hợp từ bột xương không nung và bột xương nung. Đối với bột xương không nung, không có sự tồn tại của pha tạp trong sản phẩm. Trong quá trình hòa tan với HNO_3 , các thành phần hữu cơ trong bột xương có thể bị hòa tan và hiện diện trong phản ứng tạo HA, gây cản trở hiện tượng giao thoa tia X với tinh thể HA, do đó cường độ peak giảm

[1]. Giá trị hằng số mạng không có sự thay đổi lớn và gần với hằng số mạng của HA. Phần trăm kết tinh tăng 13,90% và kích thước tinh thể trung bình của HA (bột xương không nung) tăng 39,27% so với bột xương nung (bảng 4). Trong nghiên cứu này, bột xương nung được chọn để tổng hợp HA nhằm hạn chế sự xuất hiện của các pha tạp và cải thiện độ tinh khiết của sản phẩm.

Bảng 4. Hằng số mạng, phần trăm kết tinh và kích thước tinh thể trung bình HA của bột xương nung và không nung.

Bột xương	Hằng số mạng		Phần trăm kết tinh (%)	Kích thước tinh thể trung bình (nm)
	a=b (Å)	c (Å)		
Không nung	9,421±0,007	6,870	76,88	8,49
Nung	9,420±0,017	6,880	89,23	13,98

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã tổng hợp thành công HA từ xương lợn bằng phương pháp thủy nhiệt ở pH 10, trong 12 giờ, nhiệt độ 150°C và không giải hóa. Sản phẩm tạo thành có độ kết tinh và kích thước tinh thể trung bình lần lượt là 89,23% và 13,98 nm, không có sự xuất hiện của các pha tạp khác. HA tổng hợp có hằng số mạng tinh thể phù hợp với hằng số mạng của HA (a=b=9,42 Å và c=6,88 Å). Bên cạnh đó, dung dịch HNO₃ 0,3125 M được sử dụng để tạo thành nguồn tiền chất giàu Ca và P từ xương lợn trong 30 phút và phần trăm xương được hòa tan là 87,90%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam trong đề tài mã số TĐVLTT.01/21-23. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Santhosh, S.B. Prabu (2013), "Thermal stability of nano hydroxyapatite synthesised from sea shells through wet chemical synthesis", *Materials Letters*, **97**, pp.121-124, DOI: 10.1016/j.matlet.2013.01.081.

[2] M.B. Vásquez, C.P.O. Orozco (2018), "Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods using a fruit extract template", *Dyna*, **85(204)**, pp.283-288, DOI: 10.15446/dyna.v85n204.65773.

[3] O.A. Osuchukwu, A. Salih, I. Abdullahi, et al. (2022), "Synthesis and characterisation of sol-gel derived hydroxyapatite from a novel mix of two natural biowastes and their potentials for biomedical applications", *Materials Today: Proceedings*, **62(6)**, pp.4182-4187, DOI: 10.1016/j.matpr.2022.04.696.

[4] M.A.M. Castro, T.O. Portela, G.S. Correa, et al. (2020), "Synthesis of hydroxyapatite by hydrothermal and microwave irradiation methods from biogenic calcium source varying pH and synthesis time", *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, **61(1)**, pp.35-41, DOI: 10.1016/j.bsecv.2020.06.003.

[5] Y. Guesmi, H. Agougui, R. Lafi, et al. (2018), "Synthesis of hydroxyapatite-sodium alginate via a co-precipitation technique for efficient adsorption of methylene blue dye", *Molecular Liquids*, **249**, pp.912-920, DOI: 10.1016/j.molliq.2017.11.113.

[6] A. Ghedjemis, R. Ayeche, A. Benouadah, et al. (2021), "A new application of hydroxyapatite extracted from dromedary bone: Adsorptive removal of Congo red from aqueous solution", *Applied Ceramic and Technology*, **18(3)**, pp.590-597, DOI: 10.1111/ijac.13677.

[7] N.T.L. Huong, D.V. Dat, M.B. Dung, et al. (2018), "Reduction of heavy metals residue in soil for planted ipomoea aquatica using nano-sized calcium-deficient hydroxyapatite", *Journal of Science Technology*, **36A**, pp.19-21 (in Vietnamese).

[8] L.T. Hoan, N.T. Phuong, K.Q. Son, et al. (2014), "Synthesis and characterisation of nano hydroxyapatite doped with aluminum by precipitation method", *Journal of Chemistry*, **52(6)**, pp.677-678, DOI: 10.15625/0866-7144.2014-0053 (in Vietnamese).

[9] P.T. Nam, N.T. Thom, N.T. Phuong, et al. (2018), "Synthesis, characterisation and antimicrobial activity of copper doped hydroxyapatite", *Vietnam Journal of Chemistry*, **56(6)**, pp.672-678, DOI: 10.1002/vjch.201800068.

[10] G. Ryu, H.R. Khalid, N. Lee, et al. (2020), "The effects of NaOH concentration on the hydrothermal synthesis of a hydroxyapatite-zeolite composite using blast furnace slag", *Minerals*, **11(1)**, DOI: 10.3390/min11010021.

[11] K.C. Hui, N.A. Kamal, N.S. Sambudi, et al. (2021), "Magnetic hydroxyapatite for batch adsorption of heavy metals", *E3S Web of Conferences*, **287**, DOI: 10.1051/e3sconf/202128704005.

[12] A. Vahdat, B. Ghasemi, M. Yousefpour (2022), "Production of hydroxyapatite-based adsorbent for the removal of cobalt ions from the aqueous solution", *International Journal of Applied Ceramic Technology*, **19(3)**, pp.1397-1404, DOI: 10.1111/ijac.13958.

[13] H.Q. Phong, P.D. Khoi, H.L. Huong, et al. (2020), "Study on extraction of hydroxyapatite from striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) bone", *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, **56(2)**, pp.199-211, DOI: 10.22144/ctu.joi.2020.056 (in Vietnamese).

[14] Z. Yan, X. Lingling, L. Chenhui, et al. (2018), "Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals by hydrothermal method", *AIP Advances*, **8(8)**, DOI: 10.1063/1.5034441.

[15] A.G. Betancur, D.G.E. Arbelaz, A.R. López, et al. (2013), "Comparison of physicochemical properties of bio and commercial hydroxyapatite", *Current Applied Physics*, **13(7)**, pp.1383-1390, DOI: 10.1016/j.cap.2013.04.019.

[16] J.P. Kumar, N. Bhardwaj, B.B. Mandal (2016), "Cross-linked silk sericin-gelatin 2D and 3D matrices for prospective tissue engineering applications", *RSC Advances*, **6(107)**, pp.105125-105136, DOI: 10.1039/C6RA18654H.

[17] H. Krzysztof, B.M. Miroslaw, J.B. Miecznik, et al. (2006), "Natural hydroxyapatite-its behaviour during heat treatment", *Journal of the European Ceramic Society*, **26(4-5)**, pp.537-542, DOI: 10.1016/j.jeurceramsoc.2005.07.033.

[18] S. Ramesh, Z.Z. Loo, C.Y. Tan, et al. (2018), "Characterization of biogenic hydroxyapatite derived from animal bones for biomedical applications", *Ceramics International*, **44(9)**, pp.10525-10530, DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.03.072.

[19] P.D. Chavan, S. Data, S. Saha, et al. (2017), "Methanolysis of *Jatropha curcas* oil using K₂CO₃/CaO as a solid base catalyst", *Turkish Journal of Chemistry*, **41(6)**, pp.845-861, DOI: 10.3906/kim-1701-13.

[20] I.H. Lee, J. Lee, J.H. Lee, et al. (2020), "Effects of pH and reaction temperature on hydroxyapatite powders synthesised by precipitation", *Journal of the Korean Ceramic Society*, **57(1)**, pp.56-64, DOI: 10.1007/s43207-019-00004-0.

[21] V.R. Lugo, T. Karthik, D.M. Anaya, et al. (2018), "Wet chemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite flakes: Effect of pH and sintering temperature on structural and morphological properties", *Royal Society Open Science*, **5(8)**, DOI: 10.1098/rsos.180962.

[22] W. Wei, L. Yang, W. Zhong, et al. (2015), "Fast removal of methylene blue from aqueous solution by adsorption onto poorly crystalline hydroxyapatite nanoparticles", *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **10(4)**, pp.1343-1363.

[23] Y. Qi, J. Shen, Q. Jiang, et al. (2015), "The morphology control of hydroxyapatite microsphere at high pH values by hydrothermal method", *Advanced Powder Technology*, **26(4)**, pp.1041-1046, DOI: 10.1016/j.apt.2015.04.008.

[24] N.M. Pu'ad, P. Koshy, H.Z. Abdullah, et al. (2019), "Syntheses of hydroxyapatite from natural sources", *Heliyon*, **5(5)**, DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01588.

[25] J. Earl, D. Wood, S. Milne (2006), "Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite", *Journal of Physics: Conference Series*, **26**, pp.268-271, DOI: 10.1088/1742-6596/26/1/064.

[26] A. Lemos, J.H.G. Rocha, S.S.F. Quaresma, et al. (2006), "Hydroxyapatite nano-powders produced hydrothermally from nacreous material", *Journal of the European Ceramic Society*, **26(16)**, pp.3639-3646, DOI: 10.1016/j.jeurceramsoc.2005.12.011.

[27] S.C.J. Loo, Y.E. Siew, S. Ho, et al. (2008), "Synthesis and hydrothermal treatment of nanostructured hydroxyapatite of controllable sizes", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **19(3)**, pp.1389-1397, DOI: 10.1007/s10856-007-3261-9.

[28] M.S. Shojai, M. Atai, A. Nodehi (2011), "Design of experiments (DOE) for the optimisation of hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanoparticles", *Journal of The Brazilian Chemical Society*, **22(3)**, pp.571-582, DOI: 10.1590/S0103-50532011000300023.

[29] A. Yusuf, N.M. Muhammad, A.R. Noviyanti, et al. (2020), "The effect of temperature synthesis on the purity and crystallinity of hydroxyapatite", *Key Engineering Materials*, **860**, pp.228-233, DOI: 10.4028/www.scientific.net/kem.860.228.

[30] Z. Stojanović, L. Veselinović, S. Marković, et al. (2009), "Hydrothermal synthesis of nanosized pure and cobalt-exchanged hydroxyapatite", *Materials Manufacturing Processes*, **24(10-11)**, pp.1096-1103, DOI: 10.1080/10426910903032113.

[31] N.M. Lozano, M.A. Castro, K.M. Soto, et al. (2022), "Effect of temperature on crystallite size of hydroxyapatite powders obtained by wet precipitation process", *Journal of Saudi Chemical Society*, **26(4)**, DOI: 10.1016/j.jscs.2022.101513.

[32] N.T.K. Thanh, N. Maclean, S. Mahiddine (2014), "Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution", *Chemical Reviews*, **114(15)**, pp.7610-7630, DOI: 10.1021/cr400544s.

[33] L.R. Lorenzo, M.V. Regí (2000), "Controlled crystallisation of calcium phosphate apatites", *Chemistry of Materials*, **12(8)**, pp.2460-2465, DOI: 10.1021/cm001033g.

[34] G. Ma (2019), "Three common preparation methods of hydroxyapatite", *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, **688**, DOI: 10.1088/1757-899X/688/3/033057.