



Tổng hợp và đặc trưng vật liệu composite hydroxyapatite/chitosan ứng dụng trong kỹ thuật y sinh

Bùi Xuân Vương*

Đại học Sài Gòn, 273 An Dương Vương, Quận 5, Thành phố Hồ Chí Minh

Nhận ngày 06 tháng 10 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 15 tháng 3 năm 2018; Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 3 năm 2018

Tóm tắt: Nghiên cứu này đi tổng hợp vật liệu composite HA-Chitosan ứng dụng trong kỹ thuật y sinh. Kết quả phân tích bằng phương pháp XRD và SEM khẳng định sự kết tủa và phân tán vật liệu HA trong cấu trúc polyme chitosan. Kích thước hạt HA kết tủa phụ thuộc nồng độ polyme chitosan trong thành phần vật liệu composite tổng hợp. Khối lượng riêng và độ bền nén của vật liệu composite HA-Chitosan có giá trị phụ thuộc lực ép tạo mẫu và tăng theo hàm lượng của polyme chitosan.

Từ khóa: Hydroxyapatite (HA), chitosan, đặc trưng, lực ép tạo mẫu, độ bền nén.

1. Đặt vấn đề

Hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HA) là vật liệu y sinh có ứng dụng trong phẫu thuật ghép xương, trám răng vì vật liệu này giống với thành phần vô cơ trong xương tự nhiên. Vật liệu HA được chứng minh có tính tương thích sinh học và hoạt tính sinh học. Tính tương thích sinh học (biocompatibility) là khả năng không bị đào thải khi được cấy ghép trong cơ thể con người. Hoạt tính sinh học của HA thể hiện ở chỗ sau khi cấy ghép trong cơ thể người, vật liệu sẽ tan ra do tương tác với môi trường, sau đó các ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} và OH^- trong môi trường sẽ kết tủa trên bề mặt vật liệu để hình thành một lớp khoáng HA mới làm cầu nối cho sự gắn kết

miếng ghép nhân tạo và xương tự nhiên, qua đó xương hỏng được tu sửa và làm đầy [1-4].

Chitosan $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N})_n$ là một polyme tự nhiên, có tính chất phân hủy sinh học và tính chất làm lành nhanh vết thương trong phẫu thuật [5]. Chitosan được biết đến như một tác nhân thu hút và kích thích sự phát triển của tế bào tạo xương osteoblast xung quanh vị trí cấy ghép, do vậy có tác dụng làm cho các vết thương về xương có thể được tái tạo nhanh [6].

Composite kết hợp giữa vật liệu xương vô cơ HA và Chitosan thể hiện các tính chất nổi bật của từng thành phần riêng ban đầu của HA và Chitosan. Mặt khác, HA kết hợp với chitosan tạo ra một dạng composite có thể dễ dàng tạo khuôn khác nhau cho miếng ghép xương trong quy trình phẫu thuật [7-8].

Nghiên cứu này đi xây dựng quy trình tổng hợp vật liệu composite HA/Chitosan. Bước đầu

* ĐT.: 84-1276517788.

Email: buixuanvuong@tdt.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4689>

đặc trưng một số tính chất về thành phần pha, cấu trúc, một số đặc tính về cơ học của vật liệu tổng hợp.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Hóa chất

- Chitosan (DA 90%) mua của hãng Sigma-Aldrich.

- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; NaOH mua của hãng Merck với độ tinh khiết 99,9%.

- Các dung môi phụ trợ khác.

2.2. Tổng hợp vật liệu composite HA/Chitosan

Dựa vào các tài liệu tham khảo [7-13], quy trình tổng hợp vật liệu composite HA/Chitosan được thực hiện như sau:

Cho chitosan vào becher chứa dung dịch axit axetic 1% (v/v-nồng độ theo thể tích), sử dụng máy khuấy từ khuấy đều hỗn hợp phản ứng trong 1h để thu được dung dịch trong suốt. Các hóa chất $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ được cho vào hỗn hợp phản ứng với tỷ lệ Ca/P = 1,67 đúng với tỷ lệ của Ca/P trong phân tử HA: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Các hóa chất này được nhỏ giọt lần lượt vào dung dịch chitosan nói trên. Máy khuấy từ được sử dụng để trộn đều các hóa chất vào dung dịch chitosan tạo thành hỗn hợp đồng nhất. Trong suốt quá trình khuấy, pH của hỗn hợp phản ứng được giữ ở giá trị 11 bằng cách thêm dung dịch NaOH. Hỗn hợp phản ứng đồng nhất sẽ bị tách lớp sau 2 giờ, bên dưới là composite mới hình thành, bên trên là lớp dung môi và bọt. Gạn bỏ lớp dung môi và bọt, rửa sạch vật liệu composite bằng nước cất. Vật liệu composite ẩm được làm khô ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ và sấy ở 150°C trong 24 giờ. Hai loại composite HA-Chitosan đã được tổng hợp theo tỷ lệ HA/Chitosan lần lượt là 80/20 và 60/40.

2.3. Đánh giá tính chất vật liệu

Phương pháp nhiễu xạ tia X: XRD (X ray diffraction) được sử dụng để xác định thành phần pha của vật liệu composite tổng hợp.

Hình thái bề mặt vật liệu được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét SEM (Scanning Electron Microscopy).

Khối lượng riêng của vật liệu composite được tính toán theo tỷ số m/V (m-khối lượng vật liệu; V-thể tích khối vật liệu). Giá trị này không phải là hằng số của vật liệu nói chung, mà phụ thuộc rất nhiều vào công nghệ chế tạo, hình dạng sản phẩm. Vật liệu composite đã tổng hợp lần lượt được cân khoảng $2 \pm 0,0x$ (g) ($x = 1-9$) để tạo thành mẫu hình trụ tròn với các áp lực ép lần lượt là 3, 4 và 5 Mpa. Các áp lực nhỏ hơn 3 Mpa không tạo hình tốt các mẫu hình trụ. Khối lượng riêng được tính theo thể tích thực tế của mỗi hình trụ tròn.

Độ bền nén là một trong những tính chất quan trọng của vật liệu cấy ghép. Thông số độ bền nén kết hợp với khối lượng riêng của vật liệu cho phép chế tạo ra các miếng ghép vật liệu xương nhân tạo phù hợp với vị trí, hình dáng và sự phân loại người bệnh.

Độ bền nén được định nghĩa như tỉ lệ giữa lực ép phá hủy vật liệu (F) và thiết diện (S) vuông góc với phương lực ép. Độ bền nén được tính theo công thức sau:

$$R_N = \frac{F}{S} \left(\frac{N}{m^2} \right)$$

$$\text{Với mẫu trụ: } S = \frac{\pi d^2}{4}$$

Trong đó: d là đường kính thiết diện.

3. Kết quả và thảo luận

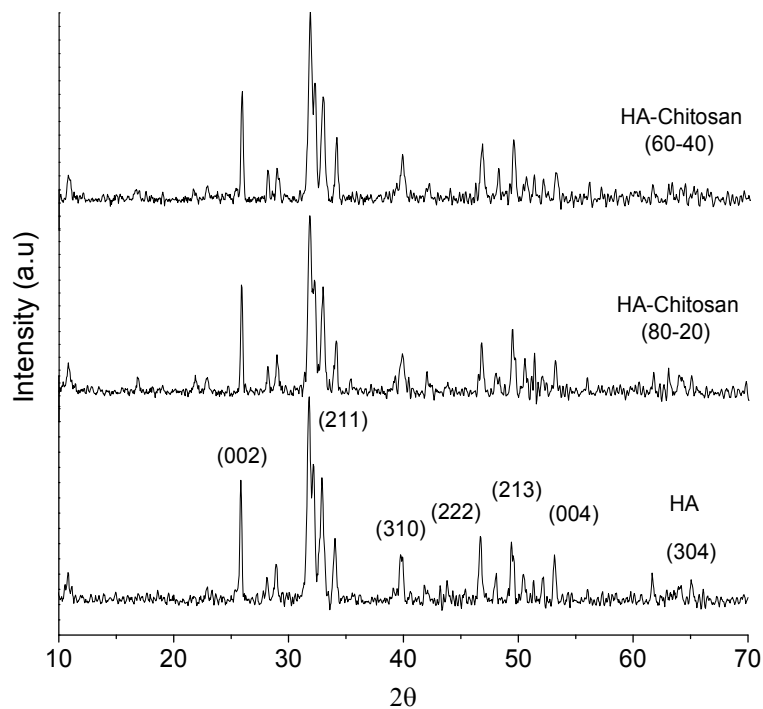
3.1. Phân tích thành phần pha vật liệu composite bằng phương pháp XRD

Hình 1 trình bày các giản đồ nhiễu xạ tia X của các mẫu composite tổng hợp, chúng được so sánh với giản đồ XRD của vật liệu HA nguyên chất [14]. Phân tích XRD cho thấy các pic nhiễu xạ của HA vẫn được giữ nguyên trong mẫu composite HA-Chitosan. Kết quả này chứng tỏ việc thêm chitosan để tổng hợp composite HA-Chitosan không làm biến đổi cấu trúc mạng tinh thể vật liệu HA. Như vậy,

những hạt vật liệu HA chỉ phân tán vào trong nền polymer chitosan hay nói cách khác chitosan như một vật mang các hạt vật liệu HA để tạo thành composite HA-Chitosan.

Có thể nhận thấy các pic (310) ; (004) trong HA tổng hợp nhợt, sắc nét nhưng khi thêm 20% và 40% chitosan thì pic này trở nên tù hơn. Theo [8], chitosan là một vật liệu polyme hữu

cơ có độ kết tinh mạng tinh thể kém, phổ XRD của nó chỉ thể hiện 1 pic tù ở 19° (2θ). Do vậy, việc thêm vật liệu với cấu trúc không có sự sắp xếp tuần hoàn trật tự trong mạng tinh thể (Chitosan) cản trở sự giao thoa của tia X cho vật liệu kết tinh mạng tinh thể (HA) dẫn tới sự giảm cường độ và tăng bề rộng của pic nhiều xạ.

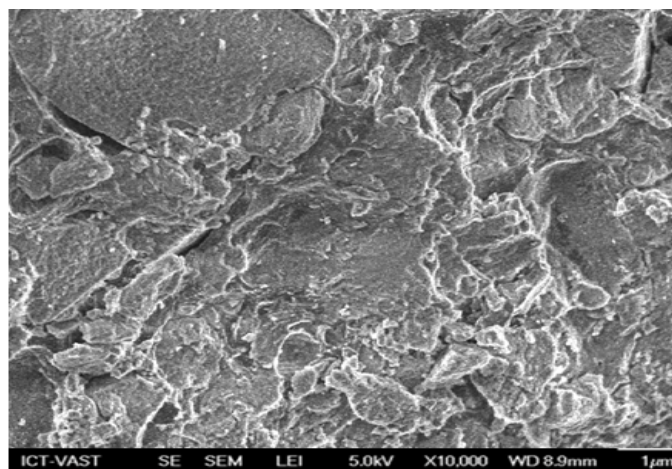


Hình 1. Giảm độ nhiễu xạ XRD của vật liệu composite HA-Chitosan.

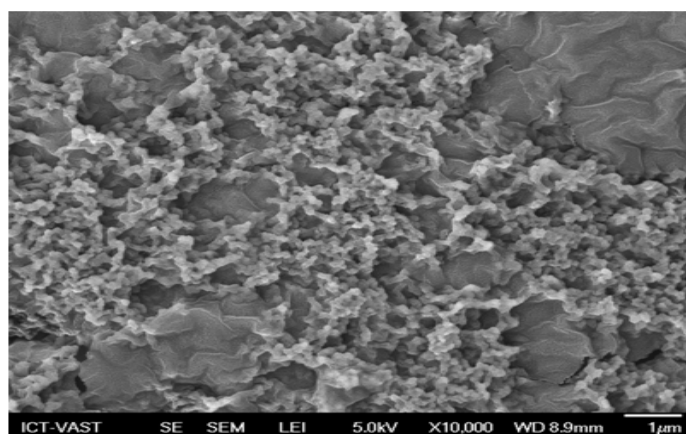
3.2. Ảnh SEM đánh giá hình thái cấu trúc vật liệu composite

Hình 2 trình bày ảnh SEM của vật liệu màng Chitosan tinh khiết và các vật liệu composite HA-Chitosan. Có thể nhận thấy chitosan tinh khiết cho cấu tạo dạng màng và bề mặt khá trơn trong khi đó ảnh SEM của các composite HA-Chitosan thể hiện cấu trúc xốp của vật liệu và các hạt HA phân tán vào màng vật liệu polyme chitosan. Khi tăng hàm lượng chitosan từ 20 lên 40% hầu như không làm xáo trộn cấu trúc lỗ xốp nhưng có thể nhận thấy sự mở rộng và tăng kích thước các lỗ xốp của vật

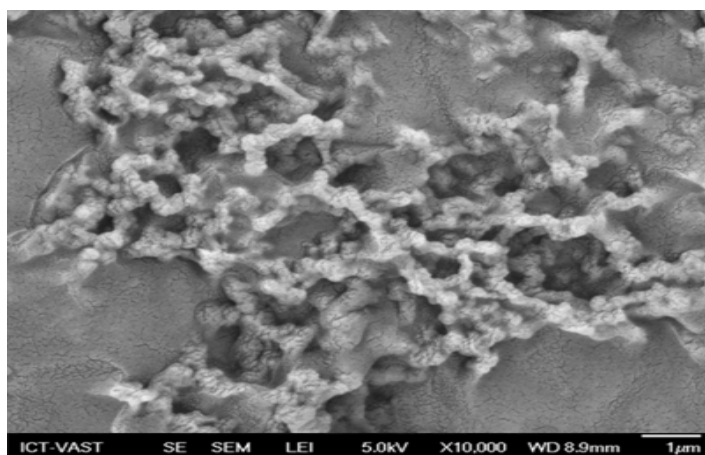
liệu composite HA-Chitosan. Kết quả này là do khi tăng hàm lượng chitosan thì độ nhớt và nồng độ dịch chitosan tăng trong khi đó hàm lượng HA giảm dẫn tới sự kết tủa các hạt vật liệu HA trong nền chitosan chậm hơn, các hạt HA phải liên kết với nhau mới hình thành nên các tập hợp bền với kích thước lớn hơn của kết tủa. Trong trường hợp nồng độ, độ nhớt của dung dịch chitosan thấp hơn và tác chất tạo HA với hàm lượng lớn sẽ cho phép sự kết tủa HA nhanh, bền tạo ra các tập hợp hạt vật liệu HA với kích thước nhỏ hơn phân tán trong nền polyme chitosan.



(a)



(b)



(c)

Hình 2. Ảnh SEM các mẫu vật liệu a) màng chitosan, b) composite HA-Chitosan 80/20 và c) composite HA-Chitosan 60/40.

3.3. Khảo sát khối lượng riêng và độ bền nén của vật liệu

Vật liệu xương nhân tạo có thể sử dụng ở dạng bột (trám răng) hoặc chế tạo thành các dạng hình khối tùy thuộc vào vị trí vết thương cần cấy ghép. Do vậy khối lượng riêng và độ bền nén theo kích thước, thành phần của vật liệu là những thông số có ý nghĩa quan trọng trong việc chế tạo miếng ghép phù hợp với mỗi người bệnh.

Bảng 1, 2 cho các kết quả về khối lượng riêng và độ bền nén của các mẫu vật liệu composite tổng hợp. Để thuận tiện cho việc đánh giá, composite HA-Chitosan 80/20 được ký hiệu là mẫu A và HA-Chitosan 60/40 được ký hiệu là mẫu B.

Kết quả Bảng 1 cho thấy khối lượng riêng trung bình của các mẫu composite A tăng từ 1,81 đến 1,96 g/cm³ khi áp lực nén tăng dần từ

3 đến 5 Mpa. Kết quả này hoàn toàn phù hợp vì khi áp lực nén tăng sẽ dẫn đến các hạt sét chặt lại gần nhau, làm giảm kích thước lỗ xốp do đó khối lượng riêng tăng. Kết quả tương tự cho các mẫu composite B khi khối lượng riêng trung bình tăng từ 2,00 đến 2,07 g/cm³.

Trong cùng một loại áp lực nén, khối lượng riêng của các mẫu có kết quả tương tự nhau, sai lệch không nhiều chứng tỏ cả hai loại composite tổng hợp đều có độ đồng đều về sự phân tán HA vào trong màng polyme chitosan. Trong đó composite B có độ đồng đều tốt hơn.

Kết quả cũng cho thấy giá trị khối lượng riêng của composite A nhỏ hơn so với giá trị này của composite B. Điều này là do các hạt composite A có hàm lượng chitosan kết dính ít hơn nên khả năng sét chặt khi tạo mẫu của chúng kém dẫn tới giá trị khối lượng riêng thấp hơn so với mẫu B.

Bảng 1. Khối lượng riêng của vật liệu composite HA-Chitosan

Áp lực nén tạo mẫu	Kí hiệu mẫu	Khối lượng (g)	Chiều cao (cm)	Đường kính (cm)	Thể tích (cm ³)	Khối lượng riêng (g/cm ³)	Khối lượng riêng trung bình (g/cm ³)
3	A11	1,93	0,91	1,22	1,06	1,80	1,81
	A12	1,90	0,91	1,22	1,06	1,78	
	A13	1,92	0,9	1,21	1,03	1,86	
4	A21	1,90	0,90	1,22	1,05	1,81	1,84
	A22	1,97	0,93	1,21	1,07	1,84	
	A23	1,91	0,89	1,21	1,02	1,87	
5	A31	2,00	0,90	1,21	1,03	1,93	1,96
	A32	1,97	0,84	1,22	0,98	2,01	
	A33	1,95	0,87	1,21	1,00	1,95	
3	B11	2,02	0,85	1,22	0,99	2,03	2,00
	B12	2,01	0,87	1,21	1,00	2,00	
	B13	2,01	0,87	1,22	1,02	1,98	
4	B21	2,02	0,82	1,21	0,94	2,14	2,05
	B22	2,02	0,88	1,22	1,03	1,96	
	B23	2,03	0,85	1,22	0,99	2,04	
5	B31	2,01	0,83	1,22	0,97	2,07	2,07
	B32	2,00	0,82	1,21	0,94	2,12	
	B33	2,02	0,87	1,21	1,00	2,02	

Bảng 2 trình bày kết quả đạt được về các giá trị độ bền nén của các composite A và B.

Các mẫu composite A có giá trị độ bền nén trung bình tăng từ 196,26 đến 198,92 kg/cm² khi áp lực nén tạo khuôn tăng từ 3 đến 5 Mpa. Khi áp lực ép tăng thì mật độ hạt trong mẫu trụ sẽ tăng, các hạt sít chặt vào nhau dẫn đến tăng độ bền cơ của vật liệu.

Kết quả tương tự cho các mẫu composite B khi độ bền nén tăng từ 204,3 đến 205,4. Ngoài ra, cường độ nén của các mẫu B có giá trị cao hơn so với mẫu A. Kết quả này phù hợp với các giá trị đạt được về khối lượng riêng khi mẫu B với hàm lượng chitosan cao hơn dẫn tới mẫu trụ tròn được tạo ra với sự sít chặt hơn của các hạt composite dẫn tới sự tăng về cường độ nén tức là áp lực nén phá hủy mẫu vật liệu hình trụ tròn tăng.

Bảng 2. Độ bền nén của vật liệu composite HA-Chitosan

Áp lực nén tạo mẫu	Kí hiệu	Khối lượng (g)	Chiều cao (cm)	Đường kính (cm)	Thể tích (cm ³)	Độ bền nén (kg/cm ²)	Độ bền nén trung bình (kg/cm ²)
3	A11	1,93	0,91	1,22	1,06	198,51	196,26
	A12	1,90	0,91	1,22	1,06	198,49	
	A13	1,92	0,9	1,21	1,03	191,79	
4	A21	1,90	0,90	1,22	1,05	199,27	196,46
	A22	1,97	0,93	1,21	1,07	197,40	
	A23	1,91	0,89	1,21	1,02	192,73	
5	A31	2,00	0,90	1,21	1,03	191,84	198,92
	A32	1,97	0,84	1,22	0,98	201,58	
	A33	1,95	0,87	1,21	1,00	203,35	
3	B11	2,02	0,85	1,22	0,99	204,10	204,30
	B12	2,01	0,87	1,21	1,00	203,90	
	B13	2,01	0,87	1,22	1,02	204,9	
4	B21	2,02	0,82	1,21	0,94	204,13	204,63
	B22	2,02	0,88	1,22	1,03	204,70	
	B23	2,03	0,85	1,22	0,99	205,06	
5	B31	2,01	0,83	1,22	0,97	205,94	205,4
	B32	2,00	0,82	1,21	0,94	205,70	
	B33	2,02	0,87	1,21	1,00	204,64	

4. Kết luận

Đã xây dựng được quy trình để tổng hợp thành công vật liệu composite HA/Chitosan. XRD chỉ ra các pic đặc trưng cho vật liệu HA kết tinh trong dung dịch chitosan. SEM khẳng định sự phân tán các hạt HA trên nền vật liệu polyme chitosan. Kích thước hạt HA phân tán phụ thuộc vào hàm lượng chitosan trong thành phần composite tổng hợp. Khối lượng riêng và độ bền nén của các mẫu composite HA/Chitosan cho các giá trị phụ thuộc cường độ ép tạo mẫu. Các giá trị này tăng theo cường độ ép tạo mẫu. Ngoài ra, khối lượng riêng và độ

bền nén trong composite chứa nhiều chitosan có giá trị cao hơn.

Tài liệu tham khảo

- [1] Hench LL. Bioceramics. J Am Ceram Soc 1998;81:1705–28.
- [2] D. F. Williams, Definitions in Biomaterials, Consensus Conference for the European Society for Biomaterials, Chester, UK, 1986.
- [3] L. Sopyan, R. Singh and M. Hamdi, “Synthesis of nano sized hydroxyapatite powder using sol - gel technique and its conversion to dense and porous bodies,” Indian Journal of Chemistry, vol.47A, pp. 1626-1631, Nov.2008.

- [4] A.K. Nayak, "Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview," International Journal of ChemTech Research, vol.2, pp. 903-907, Apr.2010.
- [5] Griffon DJ, Sedighi MR, Schaeffer DV, Eurell J, Johnson AL. Chitosan scaffolds: interconnectivity pore size and cartilage engineering. *Acta Biomater* 2006;2:313–20.
- [6] Wang X, Ma J, Wang Y, He B. Bone repairs in radii and tibias of rabbits with phosphorylated chitosan reinforced calcium phosphate cements. *Biomaterials* 2002;23:4167–76.
- [7] Johnson JW, Herschler A. A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/ polymer composites for applications in bone replacement and repair. *Acta Biomater* 2011;7:16–30.
- [8] Oliveira JM, Rodrigues MT, Silva SS, Malafaya PB, Gomes ME, Viegas CA, et al. Novel hydroxyapatite/chitosan bilayered scaffold for osteochondral tissueengineering applications: Scaffold design and its performance when seeded with goat bone marrow stromal cells. *Biomaterials* 2006;27:6123–37.
- [9] Khanna R, Katti KS, Katti DR. In situ swelling behavior of chitosanApolygalacturonic acid/hydroxyapatite nanocomposites in cell culture media. *Int J Polym Sci* 2010;10:12.
- [10] Albano C, Perera R, Catano L, Karam A, Gonzalez G. Prediction of mechanical properties of composites of HDPE/HA/EAA. *J Mech Behav Biomed Mat* 2011;4:467–75.
- [11] Trần Đại Lâm, Nguyễn Ngọc Thịnh. Tổng hợp nano tinh thể hydroxyapatit bằng phương pháp kết tủa. *Tạp chí KH&CN* 2007, Tập 45, số 1B, Tr.470-474.
- [12] 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* 2007, Tập 45, số 2, Tr.147-151.
- [13] Nguyễn Thu Phương, Nguyễn Thị Thu Trang, Ngô Thị Vân Anh, Phạm Thị Năm, Đinh Thị Mai Thanh. Khảo sát ảnh hưởng của thành phần dung dịch đến quá trình tổng hợp bột nano hydroxyapatit. *Tạp chí Khoa học Công nghệ* 50(3E), 2012, 1220-1227.
- [14] XRD pattern of HA: JCPDS PDF no. 09-432.

Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite/chitosan Composite Material for Medical Engineering Applications

Bui Xuan Vuong

Sai Gon University, 273 An Duong Vuong, 5 District, Ho Chi Minh City

Abstract: This study is to synthesize the HA-Chitosan composite materials for medical engineering applications. XRD and SEM analyses confirmed the precipitation and dispersion of HA on the structural network of chitosan polymer material. The dispersion of HA particles depended on the concentration of the chitosan solution. The volumetric mass density and Compressive strength of composite HA-Chitosan were also determined. These values increased as a function of modeling press. In addition, volumetric mass density and compressive strength in composite containing higher chitosan had higher values.

Keywords: Hydroxyapatite (HA), chitosan, characterization, modeling press, compressive strength.