

EFFECT OF REACTION TIME ON THE GROWTH OF HYDROXYAPATITE CRYSTAL NANO-RODS SYNTHESIS FROM SHELLS OF YELLOW FLOWER CLAM BY HYDROTHERMAL METHOD

Nguyen Ngoc Minh

School of Materials Science and Engineering - Hanoi University of Science and Technology

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 31/3/2025	Hydroxyapatite is one of the important minerals and it is applied widely in biomedical fields because of its high biocompatibility with living organisms. In this study, hydroxyapatite crystal nano-rods were synthesized using a hydrothermal method, utilizing the calcium-rich source of shells of yellow flower clam. The effect of hydrothermal reaction time on the size of the hydroxyapatite crystal nanorods was evaluated in the range of 2 hours to 12 hours at a reaction temperature of 140 °C. The morphology and size of the nanorods were determined using Field emission scanning electron microscopy, while the phase composition of the hydroxyapatite product was identified by X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy was used to determine the chemical bonding groups present in the resulting product. The results showed that the hydrothermal reaction time affected the size and length of the obtained hydroxyapatite nanorods. Under the experimental conditions, with the aim of synthesizing hydroxyapatite crystal nano-rods for applications in coating fabrication on biomedical alloys, the minimum time required to achieve uniformity among the nano-rods was 10 hours. This result help guide the timeframe for future syntheses of similar hydroxyapatite.
Revised: 14/6/2025	
Published: 15/6/2025	
KEYWORDS	
Hydroxyapatite	
Yellow flower clam	
Biomaterials	
Nano-rod	
Hydrothermal method	

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN PHẢN ỨNG ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN THANH NANO TINH THỂ HYDROXYAPATITE ĐƯỢC TỔNG HỢP TỪ VỎ NGAO HOA BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦY NHIỆT

Nguyễn Ngọc Minh

Trường Vật liệu - Đại học Bách khoa Hà Nội

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 31/3/2025	Hydroxyapatite là một trong những khoáng chất quan trọng và được ứng dụng nhiều trong các lĩnh vực y sinh do có tính tương thích sinh học cao của nó với cơ thể sống. Trong nghiên cứu này, các thanh nano tinh thể hydroxyapatite được tổng hợp bằng phương pháp thủy nhiệt với việc tận dụng nguồn nguyên liệu giàu calcium là vỏ ngao hoa. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng thủy nhiệt đến kích thước các thanh nano hydroxyapatite đã được đánh giá trong khoảng 2 giờ đến 12 giờ ở nhiệt độ phản ứng 140 °C. Hình thái và kích thước thanh nano được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường, trong khi thành phần pha của sản phẩm hydroxyapatite được xác định bằng phép đo nhiễu xạ tia X và phổ hồng ngoại được sử dụng để xác định các nhóm liên kết hóa học có trong sản phẩm tạo thành. Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy, thời gian thủy nhiệt có ảnh hưởng đến kích thước và chiều dài các thanh nano hydroxyapatite thu được. Trong điều kiện nghiên cứu, với mục đích tổng hợp được các thanh tinh thể nano hydroxyapatite ứng dụng trong lĩnh vực chế tạo màng phủ trên hợp kim y sinh, thời gian tối thiểu cần thiết để nhận được sự tương đồng giữa các thanh là 10 giờ. Kết quả này giúp định hướng về khoảng thời gian với các tổng hợp hydroxyapatite tương tự trong tương lai.
Ngày hoàn thiện: 14/6/2025	
Ngày đăng: 15/6/2025	
TỪ KHÓA	
Hydroxyapatite	
Ngao hoa	
Vật liệu y sinh	
Thanh nano	
Phương pháp thủy nhiệt	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12437>

Email: minh.nguyennhoc@hust.edu.vn

<http://jst.tnu.edu.vn>

198

Email: jst@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Một số vật liệu gốm sinh học trên cơ sở Ca-P đã chứng minh được sự tương thích sinh học rất tốt do có sự tương đồng khá cao về mặt hóa học khi so sánh về thành phần khoáng của một bộ phận trong cơ thể người như răng và xương. Điển hình trong nhóm vật liệu này phải kể đến là hydroxyapatite (HAp), $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$ [1]. HAp là pha vô cơ tự nhiên, chiếm tỷ lệ cao trong xương, răng động vật có vú và chủ yếu bao gồm hợp chất calcium phosphate có tỷ lệ Ca/P dao động trong khoảng 1,50 đến 2,13 [2]. Do có đặc tính tương thích sinh học cao, nên HAp thường được ứng dụng làm chất độn xương, lớp phủ trên bề mặt các chi tiết cấy ghép, v.v. trong lĩnh vực y sinh [3] - [5]. Trong tự nhiên, hydroxyapatite có thể được tổng hợp từ các nguồn giàu calcium như, chẳng hạn như vỏ các loài nhuyễn thể như vỏ trai, vỏ hào và vỏ sò [6], xương động vật có vú như xương bò, lạc đà và ngựa [7], và từ các nguồn khoáng chất như đá vôi [8].

Nhiều phương pháp tổng hợp HAp đã được công bố như sol-gel, thủy phân, kết tủa hóa học, thủy nhiệt, v.v. [9] - [11]. Trong đó, thủy nhiệt là một phương pháp phổ biến nhất để thu được hydroxyapatite dưới dạng tinh thể dài và cho phép kiểm soát hiệu quả hình thái HAp [12]. Quá trình thủy nhiệt được thực hiện bằng phản ứng của các hóa chất trong dung dịch nước ở nhiệt độ và áp suất cao. Quá trình này cho phép nhận được các thanh nano tinh thể HAp với chiều dài phụ thuộc vào thời gian phản ứng trong bình thủy nhiệt.

Trong nghiên cứu này, tinh thể nano HAp được tổng hợp từ vỏ ngao hoa (nguồn giàu calcium) với thời gian phản ứng trong bình thủy nhiệt thay đổi trong khoảng 2 ÷ 12 giờ. Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy, cần tối thiểu thời gian phản ứng là 10 giờ để tổng hợp được các thanh tinh thể nano HAp có kích thước tương đồng ứng dụng chế tạo màng phủ trên hợp kim y sinh.

2. Thực nghiệm

Nguyên liệu sử dụng là vỏ ngao hoa được thu nhặt, làm sạch và rửa bằng nước cất, sau đó sấy khô ở 80 °C trong 7 giờ. Tiếp theo, nghiền vỏ ngao thành bột mịn bằng thiết bị nghiền bi với buồng nghiền bằng thép không gỉ, thể tích 350 mL trong thời gian 5 giờ với tốc độ quay 200 vòng/phút. Hóa chất triethyl phosphate (độ tinh khiết > 99,8%) và dung dịch axit acetic (độ tinh khiết > 99,5%) đều được nhập khẩu từ hãng Himedia (Ấn Độ). Dung dịch amonia (28%) được lựa chọn từ hãng Vietchem (Việt Nam).

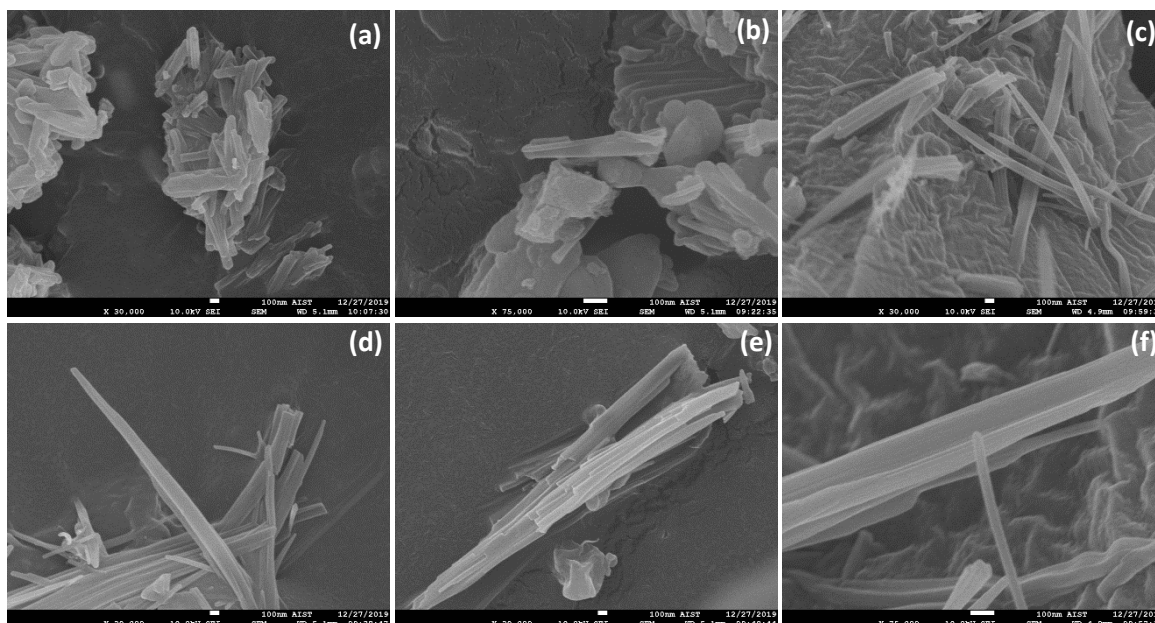
Để tổng hợp được tinh thể nano HAp, cân 0,4 g bột mịn vỏ ngao và hòa tan trong 35 mL dung dịch axit acetic bằng máy khuấy từ. Sau khi bột vỏ ngao hòa tan hoàn toàn, thêm tiếp dung dịch triethyl phosphate vào sao cho tỷ lệ Ca:P duy trì ở mức 1,67. Cuối cùng, dung dịch amonia được thêm nhỏ giọt để duy trì ổn định giá trị pH của hỗn hợp trong khoảng 8÷9. Để dung dịch ổn định trong 15 phút, sau đó chuyển toàn bộ dung dịch vào cốc teflon, đặt trong bình kín bằng thép không gỉ và thực hiện thủy nhiệt ở 140 °C trong các khoảng thời gian 2, 4, 6, 8, 10 và 12 giờ nhằm thu nhận được tinh thể nano HAp. Sau khi kết thúc thời gian phản ứng, để nguội bình phản ứng đến nhiệt độ phòng. Lọc, rửa kết tủa bằng nước cất 3-5 lần, sau đó sấy khô ở 80 °C trong 3 giờ. Sản phẩm sau đó được bảo quản và phân tích đánh giá các tính chất.

Để quan sát hình thái và kích thước của tinh thể nano HAp, kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FE-SEM, JEOL JSM-6500F) đã được sử dụng. Thiết bị nhiễu xạ tia X (D8-Advance) giúp đánh giá thành phần pha tinh thể và thiết bị quang phổ hồng ngoại FT-IR (FT/IR-6300 TypeA) được sử dụng để phân tích các nhóm liên kết hóa học của sản phẩm.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường

Quan sát ảnh FE-SEM của các mẫu HAp tổng hợp được trên Hình 1 cho thấy, sử dụng phương pháp thủy nhiệt trong điều kiện nghiên cứu đã thu nhận được các thanh tinh thể kích thước nano.



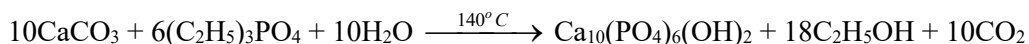
Hình 1. Ảnh FE-SEM của các mẫu HAP tổng hợp với thời gian thủy nhiệt khác nhau tại 140 °C: (a) 2 giờ; (b) 4 giờ; (c) 6 giờ; (d) 8 giờ; (e) 10 giờ; và (f) 12 giờ

So sánh những mẫu tổng hợp trong các thời gian phản ứng khác nhau có thể thấy: khi thời gian phản ứng ngắn dưới 4 giờ (Hình 1a - 1b), các thanh nano tinh thể HAP đã bắt đầu hình thành. Tuy nhiên, sự phát triển chiều dài các thanh là chưa đáng kể và kích thước chưa tương đồng. Khi thời gian phản ứng dài hơn từ 6 – 8 giờ (Hình 1c - 1d), sự phát triển nhanh theo chiều dài các thanh nano đã được thể hiện rõ rệt khi kết quả đo chỉ ra chiều dài các thanh có thể đạt tới hàng trăm μm . Mặc dù vậy, sự phát triển theo chiều rộng của các thanh vẫn còn có sự khác biệt rõ rệt. Sau cùng, với các mẫu có thời gian phản ứng đủ lớn (10 giờ, Hình 1e - 1f), sự tương đồng về cả chiều dài và bề rộng các thanh đều đã được ghi nhận. Như vậy, trong điều kiện thực nghiệm, để nhận được các thanh nano HAP tương đồng cả về chiều dài và bề rộng, thời gian phản ứng thủy nhiệt tối thiểu cần ở mức 10 giờ. Bề rộng các thanh HAP thu nhận được sau 10 giờ thủy nhiệt nằm trong khoảng 50-60 nm và chiều dài đạt tới vài μm .

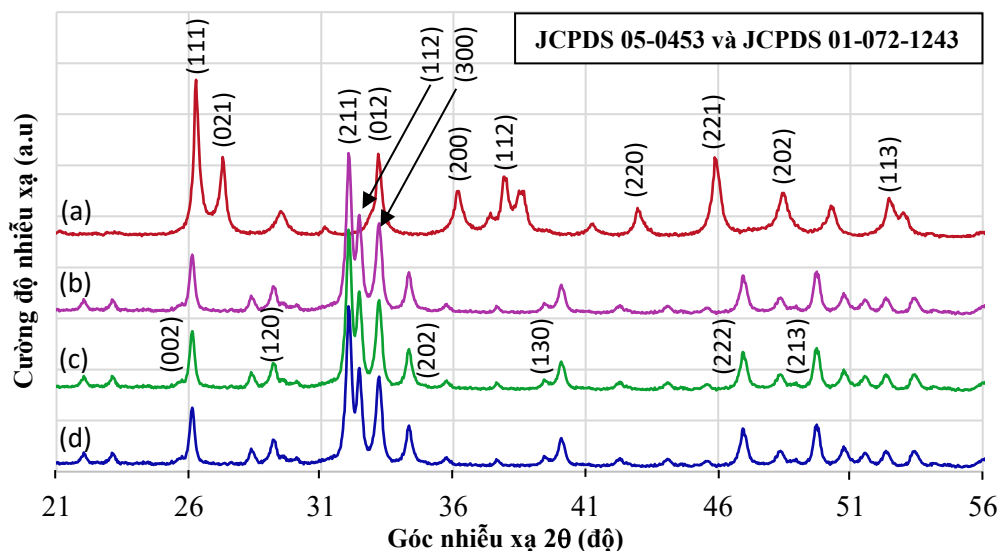
3.2. Giải đồ XRD

Hình 2 trình bày giải đồ XRD của mẫu bột vỏ ngao sau nghiền mịn và các mẫu HAP tổng hợp trong các khoảng thời gian phản ứng thủy nhiệt khác nhau, từ 2-12 giờ. Với mẫu bột vỏ ngao (Hình 2a), sự xuất hiện một số đỉnh nhiễu xạ chính tương ứng với các mặt phản xạ (111), (021), (012), (200), (112), (211), (202) và (113), tương ứng với pha tinh thể của CaCO_3 theo thẻ chuẩn JCPDS 05-0453 [13].

Giải đồ nhiễu xạ XRD của các mẫu HAP tổng hợp trong các khoảng thời gian thủy nhiệt khác nhau (Hình 2b - 2d), cho thấy sự tương đồng về vị trí các đỉnh nhiễu xạ chính. Các đỉnh nhiễu xạ với cường độ cao nhất ứng với các mặt phản xạ (002), (211), (112), (300), (202), (130), (222) và (213) của HAP theo thẻ chuẩn JCPDS 01-072-1243 [14]. Kết quả nghiên cứu XRD đã khẳng định, HAP được tổng hợp thành công bằng phương pháp thủy nhiệt và phản ứng tạo thành HAP được đề xuất như sau:



Trên giải đồ XRD của các mẫu HAP tổng hợp được, không quan sát thấy sự xuất hiện đỉnh nhiễu xạ của các pha khác. Điều này chứng tỏ, bột HAP thu được sau tổng hợp có độ tinh khiết cao, lượng tạp chất nếu có là rất nhỏ và dưới giới hạn phát hiện của tín hiệu X-ray.



Hình 2. Giản đồ nhiễu xạ XRD của các mẫu: (a) mẫu bột vỏ ngao sau nghiền; (b) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 6 giờ; (c) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 8 giờ và (d) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 12 giờ

Kết quả tính toán hằng số mạng của tinh thể HAP được thực hiện và được mô tả trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả tính toán hằng số mạng và thể tích ô mạng cơ sở của tinh thể HAP theo thời gian thủy nhiệt

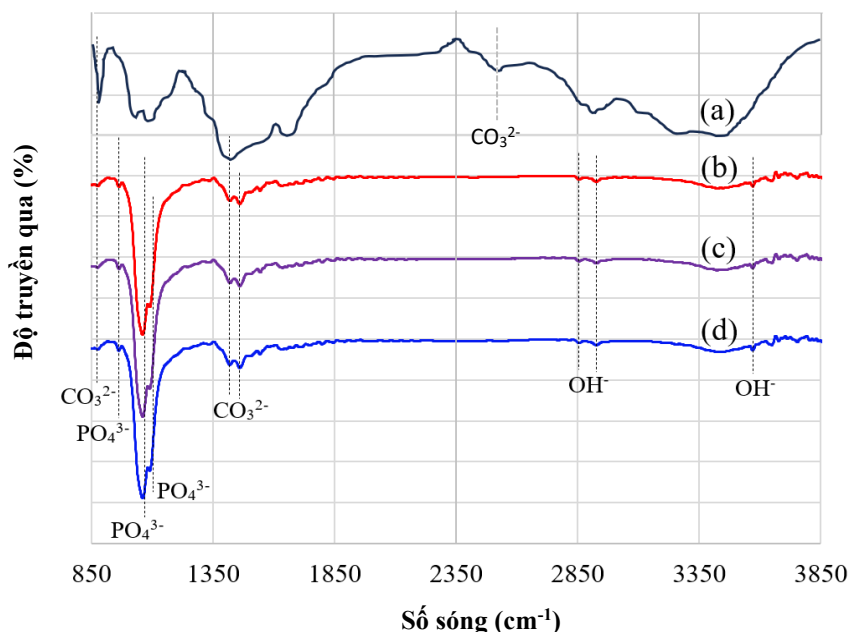
Hằng số mạng tinh thể	Mẫu thủy nhiệt sau 6 giờ	Mẫu thủy nhiệt sau 8 giờ	Mẫu thủy nhiệt sau 12 giờ
a (Å)	9,416	9,420	9,418
c (Å)	6,874	6,872	6,871
V (Å ³)	609,456	609,797	609,449

Kết quả trong Bảng 1 cho thấy: không có sự sai khác đáng kể về hằng số mạng và thể tích ô mạng cơ sở trong tinh thể HAP tổng hợp được ở các khoảng thời gian phản ứng thủy nhiệt khác nhau. Như vậy, thời gian phản ứng thủy nhiệt chủ yếu ảnh hưởng đến kích thước (bề rộng và chiều dài) của thanh nano HAP thu nhận được.

3.3. FT-IR

Để làm rõ hơn về sự tạo thành HAP, một số mẫu đại diện được kiểm tra bằng phổ hồng ngoại (FT-IR) nhằm xác định các liên kết có trong bột tạo thành.

Hình 3 trình bày phổ hồng ngoại biến đổi, trong dải số sóng từ 850 cm⁻¹ đến 3850 cm⁻¹ của mẫu bột vỏ ngao sau nghiền và các mẫu HAP tổng hợp ở các thời gian phản ứng 6 giờ, 8 giờ và 12 giờ. Kết quả phổ FT-IR của mẫu bột vỏ ngao sau nghiền (Hình 3a) đã chỉ ra nhóm liên kết CO₃²⁻ xuất hiện ở các số sóng khoảng 875 cm⁻¹, 1489 cm⁻¹ và 2519 cm⁻¹. Kết quả này chỉ ra thành phần chính của vỏ ngao là CaCO₃. Với các mẫu sau thủy nhiệt (Hình 3b - 3.d), kết quả cho thấy, phổ FT-IR của các mẫu nghiền đều có sự tương đồng về kiểu dáng và vị trí các đỉnh đặc trưng. Kết quả cho thấy nhóm liên kết CO₃²⁻ xuất hiện ở các số sóng khoảng 876 cm⁻¹ và 1491 cm⁻¹ trong khi nhóm liên kết PO₄³⁻ xuất hiện lần lượt ở các số sóng 966 cm⁻¹, 1062 cm⁻¹ và 1091 cm⁻¹. Đặc trưng cho dao động của liên kết -OH⁻ xuất hiện ở các số sóng 2860 cm⁻¹, 2929 cm⁻¹ và 3573 cm⁻¹. Qua đó khẳng định được sự có mặt của nhóm carbonate (CO₃²⁻), phosphate (PO₄³⁻) và hydroxyl (-OH⁻) trong các mẫu HAP thu nhận được [15]. Ngoài ra, không thấy sự xuất hiện của các nhóm liên kết khác, kết quả này có sự phù hợp với phân tích nhiễu xạ XRD ở phần trên.



Hình 3. Phổ FT-IR của các mẫu bột HAp: (a) mẫu bột vỏ ngao sau nghiền; (b) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 6 giờ; (c) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 8 giờ và (d) mẫu sau thời gian thủy nhiệt 12 giờ

4. Kết luận

Thanh nano hydroxyapatite độ sạch cao đã được tổng hợp từ nguồn nguyên liệu giàu calcium là vỏ ngao hoa bằng phương pháp thủy nhiệt. Ở điều kiện thực nghiệm gồm: tỷ lệ Ca/P = 1,67, pH = 8÷9, t = 140 °C trong các khoảng thời gian phản ứng khác nhau từ 2-12 giờ đều cho kết quả sản phẩm HAp nhận được dưới dạng thanh nano.

Thời gian phản ứng thủy nhiệt có ảnh hưởng đến chiều dài và độ rộng của thanh HAp thu được. Đặc biệt, thời gian phản ứng tăng làm tăng nhanh chiều dài các thanh HAp. Trong phạm vi và điều kiện nghiên cứu, để nhận được mức độ tương đồng về mặt hình học giữa các thanh HAp, thời gian phản ứng thủy nhiệt cần tối thiểu là 10 giờ.

Việc tổng hợp thành công thanh nano HAp từ vỏ ngao hoa là tiền đề mở rộng phạm vi nghiên cứu nhằm tận dụng vỏ các loại nhuyễn thể khác trong nông nghiệp, góp phần nâng cao giá trị trong nuôi trồng thủy sản và định hướng ứng dụng xử lý ô nhiễm môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. A. M. Castro, T. P. Oliveira, G. S. Correia, M. M. Oliveira, J. H. G. Rangel, S. F. Rodrigues, and J. M. R. Mercury, "Synthesis of hydroxyapatite by hydrothermal and microwave irradiation methods from biogenic calcium source varying pH and synthesis time," *The Journal of the Spanish Ceramic and Glass Society*, vol. 61, no. 1, pp. 35-41, 2022.
- [2] N. A. S. Mohd Pu'ad, P. Koshy, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, and T. C. Lee, "Syntheses of hydroxyapatite from natural sources," *Heliyon*, vol. 5, no. 5, 2019, Art. no. e01588.
- [3] S. Pokhrel, "Hydroxyapatite: Preparation, Properties and Its Biomedical Applications," *Advances in Chemical Engineering and Science*, vol. 8, no. 4, pp. 225-240, 2018.
- [4] V. Saxena, L. Pandey, and T. S. Srivatsan, "Nano Hydroxyapatite (nano-HAp): A Potential Bioceramic for Biomedical Applications," *Current Nanomaterials*, vol. 6, no. 3, pp. 207-221, 2021.
- [5] N. A. S. M. Pu'ad, R.H. A. Haq, H. M. Noh, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, and T. C. Lee, "Synthesis method of hydroxyapatite: A review," *Materials Today: Proceedings*, vol. 29, pp. 1-7, 2020.
- [6] N. H. M. Ali, I. Subuki, and M. H. Ismail, "Synthesized Hydroxyapatite Powder from Clamshell via Chemical Precipitation Method," *Advanced Materials Research*, vol. 911, pp. 72-76, 2014.

-
- [7] P. C. Okpe, O. Folorunso, V. S. Aigbodion, and C. Obayi, "Hydroxyapatite synthesis and characterization from waste animal bones and natural sources for biomedical applications," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 112, no. 7, 2024, Art. no. e35440.
- [8] S. Arifa, G. N. Hermana, Z. Khalida, M. W. Arif, and I. Puspita, "Synthesis of Biomaterial Hydroxyapatite from Limestone by Using Two-Step Conversion," *International Journal of Science, Engineering, and Information Technology*, vol. 05, no. 01, pp. 236-238, 2020.
- [9] F. Hamidivadigh and J. Javadpour, "Synthesis of Hydroxyapatite Nanoparticles Using Eggshells and Two Different Phosphate Sources," *European Journal of Engineering and Technology Research*, vol. 9, no. 2, pp. 1-4, 2024.
- [10] S. C. Wu, H. C. Hsu, H. F. Wang, S. P. Liou, and W. F. Ho, "Synthesis and Characterization of Nano-Hydroxyapatite Obtained from Eggshell via the Hydrothermal Process and the Precipitation Method," *Molecules*, vol. 28, pp. 1-13, 2023.
- [11] G. Pandey, K. N. Dhakal, A. K. Singh, S. K. Dhungel, and R. Adhikari, "Facile methods of preparing pure hydroxyapatite nanoparticles in ordinary laboratories," *BIBECHANA*, vol. 18, no. 1, pp. 83-90, 2021.
- [12] J. S. Earl, D. J. Wood, and S. J. Milne, "Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 26, pp. 268-271, 2006.
- [13] G. T. Zhou, J. C. Yu, X. C. Wang, and L. Z. Zhang, "Sonochemical synthesis of aragonite-type calcium carbonate with different morphologies," *New Journal of Chemistry*, vol. 28, pp. 1027-1031, 2004.
- [14] J. Kamieniak, E. Bernalte, C. W. Foster, A. M. Doyle, P. J. Kelly, and C. E. Banks, "High Yield Synthesis of Hydroxyapatite (HAP) and Palladium Doped HAP via a Wet Chemical Synthetic Route," *Catalysts*, vol. 6, no. 119, pp. 1-15, 2016.
- [15] H. Gheisari, E. Karamian, and M. Abdollahi, "A novel hydroxyapatite – Hardystonite nanocomposite ceramic," *Ceramics International*, vol. 41, pp. 5967-5975, 2015.