

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Hồng Anh Phương**

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VẬT LIỆU ALPHA- CALCIUM  
SULFATE HEMIHYDRATE CẤU TRÚC XÓP ĐỊNH HƯỚNG ỨNG  
DỤNG TÁI TẠO XƯƠNG**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA VÔ CƠ**  
**Mã số: 8440113**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Cao Văn Dư
2. GS. TS. Nguyễn Đại Hải

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Cao Văn Dư", with a horizontal line underneath.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Nguyễn Đại Hải", with a horizontal line underneath.

**Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2024**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

**Tác giả luận văn**



**Nguyễn Hồng Anh Phương**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Cao Văn Dư và GS.TS. Nguyễn Đại Hải, những người Thầy đã dành cho tôi sự động viên giúp đỡ tận tình và những định hướng khoa học hiệu quả trong suốt quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin cảm ơn sự giúp đỡ và khích lệ của các cán bộ, đồng nghiệp khác trong Viện Công nghệ Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tôi xin cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đối với tôi trong suốt quá trình học và thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể nhóm nghiên cứu tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ đã giúp đỡ tôi trong quá trình thực nghiệm cũng như đóng góp nhiều ý kiến quý báu về chuyên môn trong việc thực hiện và hoàn thiện luận văn.

Luận văn này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ cấp Quốc gia của Bộ Khoa học và Công nghệ, mã số: 35/2022/ĐTĐL.CN-CNN.

Sau cùng, tôi xin cảm ơn và thực sự không thể quên được sự giúp đỡ tận tình của các thầy cô, bạn bè và sự động viên, tạo điều kiện của những người thân trong gia đình trong suốt quá trình tôi hoàn thành luận văn này.

*Tp. Hồ Chí Minh, ngày 31 tháng 05 năm 2024*

**Tác giả**



**Nguyễn Hồng Anh Phương**

## MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....	vii
MỞ ĐẦU.....	1
1. Lý do chọn đề tài.....	1
2. Mục đích nghiên cứu .....	3
3. Nội dung nghiên cứu.....	3
4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài .....	3
5. Những đóng góp của luận văn .....	4
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	6
1.1 Tổng quan về cấu tạo xương và vật liệu dùng cấy ghép và tái tạo xương ..	6
1.1.1 Thành phần, cấu tạo xương.....	6
1.1.2 Sự tương tác giữa các tế bào xương và ma trận xương .....	8
1.1.3 Vật liệu dùng cấy ghép và tái tạo xương .....	10
1.2 Calcium sulfate hemihydrate .....	13
1.2.1 Giới thiệu về calcium sulfate hemihydrate .....	13
1.2.2 Tổng quan tình hình nghiên cứu.....	14
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	22
2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	22
2.1.1 Đối tượng nghiên cứu .....	22
2.1.2 Phạm vi nghiên cứu .....	22
2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	22
2.2.1 Hóa chất, thiết bị và dụng cụ thí nghiệm.....	22
2.2.2 Phương pháp nghiên cứu .....	25

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	33
3.1 KẾT QUẢ TỔNG HỢP VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP .....	33
3.1.1 Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xóp.....	33
3.1.2 Khảo sát ảnh hưởng thời gian phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xóp.....	37
3.1.3 Khảo sát ảnh hưởng nồng độ dung dịch $\text{CaCl}_2$ đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xóp .....	40
3.2 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ĐỘ XÓP VẬT LIỆU CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP.....	46
3.3 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ CƯỜNG ĐỘ CHỊU NÉN.....	47
3.4 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ĐỘ VÔ KHUẨN.....	49
3.5 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ <i>IN VITRO</i> KHẢ NĂNG TÁI TẠO KHOÁNG CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP .....	49
3.6 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ <i>IN VITRO</i> KHẢ NĂNG TƯƠNG THÍCH TẾ BÀO CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP.....	53
3.6.1 Kết quả đánh giá khả năng tương thích tế bào .....	53
3.6.2 Kết quả đánh giá khả năng bám dính .....	55
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	58
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	59
PHỤ LỤC .....	68

**DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT**

AH	Calcium sulfate anhydrous
BLC	Bone lining cells (Tế bào xương liên kết)
ECM	Extracellular matrix (Chất nền ngoại bào)
CFU	Colony forming unit (Đơn vị hình thành khuẩn lạc)
CaP	Calcium phosphate
CaS	Calcium sulfate
DH	Calcium sulfate dihydrate
DMEM	Môi trường nuôi cấy Dulbecco's Modified Eagle Medium
DSC	Differential Scanning Calorimeter (Phân tích nhiệt quét vi sai)
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier)
HH	Calcium sulfate hemihydrate
MSC	Mesenchymal Stem Cells (Tế bào gốc trung mô)
Ob	Osteoblasts (Nguyên bào xương)
Oc	Osteoclasts (Hủy cốt bào)
Ot	Osteocytes (Tế bào xương)
SEM	Scanning Electron Microscopy (Kính hiển vi điện tử quét)
TGA	Thermogravimetric analysis (Phân tích nhiệt trọng lượng)
TERM	Tissue Engineering and Regenerative Medicine (Kỹ thuật mô và y học tái tạo)
VLYS	Vật liệu y sinh
XRD	X-ray diffraction (Nhiễu xạ tia X)

**DANH MỤC CÁC BẢNG**

<b>Bảng 2.1</b> Bảng danh mục hóa chất sử dụng trong nghiên cứu .....	22
<b>Bảng 2.2</b> Bảng danh mục trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu .....	24
<b>Bảng 2.3</b> Bảng thông số khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp vật liệu $\alpha$ -HH cấu trúc xốp.....	26
<b>Bảng 3.1</b> Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp ở các khoảng nhiệt độ khác nhau: HH-1 (90 – 100°C); HH-2 ((100 – 110°C) và HH-3 (110 – 120°C); .....	37
<b>Bảng 3.2</b> Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp ở nhiệt độ 110°C và trong các khoảng thời gian phản ứng khác nhau.....	40
<b>Bảng 3.3</b> Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp trong môi trường dung dịch muối $\text{CaCl}_2$ với các nồng độ khác nhau .....	44
<b>Bảng 3.4</b> Bảng kết quả đánh giá độ xốp của mẫu $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) .....	46
<b>Bảng 3.5</b> Bảng kết quả đánh giá cường độ chịu nén của $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) .....	47

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

<b>Hình 1.1</b> Cấu trúc phân cấp của xương ở kích thước khác nhau [3].....	7
<b>Hình 1.2</b> Cấu tạo xương và quá trình sửa chữa xương [4].....	7
<b>Hình 1.3</b> Các mô xương dùng để cấy ghép bao gồm (A-B) các mảnh ghép xương tự thân; (C-D) mảnh ghép xương đồng loại; (E-F) mảnh ghép dị loài và (G) sản phẩm xương tổng hợp. [26].....	11
<b>Hình 1.4</b> (A) Hình thái và sự phân bố kích thước hạt của $\alpha$ -HH được điều chế trong dung dịch glycerol - nước -NaCl chứa axit succinic ở 90°C (a, 45% glycerol, $29,67 \times 10^{-4}$ mol / kg axit succinic; b, 55% glycerol, $22,25 \times 10^{-4}$ mol / kg axit succinic; c, 65% glycerol, $14,84 \times 10^{-4}$ mol / kg axit succinic; d, 75% glycerol, $11,13 \times 10^{-4}$ mol / kg axit succinic); (B) Đánh giá tính chất cơ học tương ứng [51] .....	14
<b>Hình 1.5</b> Sơ đồ tổng hợp HH dựa trên chất xúc tác bề mặt [52].....	15
<b>Hình 1.6</b> Ảnh chụp $\mu$ -CT ở các vùng khuyết tật xương (a) blank, (b) control, and (c) $\alpha$ -CSH tại thời điểm 2, 4, 8 và 12 tuần [54] .....	16
<b>Hình 1.7</b> (A) Giảm đồ quang phổ FTIR (B) Giảm đồ phân tích nhiệt trọng trường TGA (C) Nhiễu xạ tia X (D) Ảnh kính hiển vi điện tử quét SEM [45] .....	18
<b>Hình 1.8</b> (A) Tốc độ phân hủy và giá trị pH thay đổi theo thời gian ngâm trong dung dịch SBF (B) Đánh giá độc tính tế bào với các nồng độ HH khác nhau [45] .....	19
<b>Hình 1.9</b> Nghiên cứu khả năng tái tạo xương in vivo: (A) Hình ảnh micro-CT 3D, (B, C) nhuộm H&E (B: ma trận xương, Ob: nguyên bào xương, Ot: tế bào xương, Oc: hủy cốt bào), (D) hình ảnh micro-CT 2D, và (E) phần trăm thể tích xương ở vùng khiếm khuyết [46].....	20
<b>Hình 2.1</b> Sơ đồ mô tả quy trình tổng hợp vật liệu $\alpha$ -HH cấu trúc xốp .....	25
<b>Hình 3.1</b> Phổ FTIR của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau: (b) HH-1 (90-100°C), (c) HH-2 (100-110°C), (d) HH-3 (110-120°C).....	33
<b>Hình 3.2</b> Hình ảnh quan sát dưới kính hiển vi của của tiền chất DH và các mẫu vật liệu $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau:	



(b) HH-1 (90-100°C), (c) HH-2 (100-110°C), (d) HH-3 (110-120°C). Scale bar: 20 $\mu$ m..... 35

**Hình 3.3.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA-DSC của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau: (B) HH-1 (90-100°C), (C) HH-2 (100-110°C) và (D) HH-3 (110-120°C). ..... 36

**Hình 3.4** Phổ FTIR của các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện ở nhiệt độ 110°C với các mốc thời gian phản ứng khác nhau: (a) HH-30, (b) HH-60, (c) HH-90, (d) HH-120, (e) HH-150 và (f) HH-180. .... 38

**Hình 3.5.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA của của các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện ở nhiệt độ 110°C với các mốc thời gian phản ứng khác nhau: (a) HH-30, (b) HH-60, (c) HH-90, (d) HH-120, (e) HH-150 và (f) HH-180..... 39

**Hình 3.6** Phổ FTIR của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (b) HH-5%, (c) HH-10%, (d) HH-20% và (e) HH-40%..... 41

**Hình 3.7** Phổ XRD của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (b) HH-5%, (c) HH-10%, (d) HH-20% và (e) HH-40%..... 42

**Hình 3.8.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA-DSC của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (B) HH-5%, (C) HH-10%, (D) HH-20% và (E) HH-40%. ..... 43

**Hình 3.9** Hình ảnh SEM của của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (B) HH-5%, (C) HH-10%, (D) HH-20% và (E) HH-40%. Scale bar: 20 $\mu$ m ..... 45

**Hình 3.10** Kết quả thử giới hạn nhiễm khuẩn mẫu HH cấu trúc xốp (HH-20%) ..... 49

**Hình 3.11.** Khả năng phân hủy sinh học của  $\alpha$ -HH xốp (HH-20%) trong dung dịch SBF ..... 50

- Hình 3.11.** Kết quả FTIR các mẫu  $\alpha$ -HH xốp (HH-20%) thử nghiệm ngâm trong dung dịch SBF ở các mốc thời gian : 0,1,3,5,7,14,21,28 ngày ..... 51
- Hình 3.13** Hình ảnh SEM của mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH xốp (HH-20%) sau nghi ngâm thử nghiệm trong dung dịch SBF ở các mốc thời gian : 0,1,3,5,7,14,21,28 ngày ..... 52
- Hình 3.14** Hình ảnh đánh giá độc tính của vật liệu  $\alpha$ -HH và  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp: (A) Phần trăm tỉ lệ tế bào sống (B) Hình thái học tế bào dưới kính hiển vi quang học. p-value < 0,05. Scale bar: 100 $\mu$ m ..... 54
- Hình 3.15** Hình ảnh đánh giá khả năng bám dính của vật liệu vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) thông qua phép nhuộm Crystal violet..... 56

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Khuyết tật xương có thể gây ra bởi các bất thường về di truyền, lão hóa, bệnh tật, chấn thương, thoái hóa hoặc tai nạn dẫn đến các mô sinh học trong cơ thể người có thể gặp các tình trạng ngừng hoạt động bình thường. Hơn nữa, xương tự nhiên có khả năng tái tạo hạn chế, do vậy đối với các trường hợp gãy xương nặng thường cần các biện pháp can thiệp như phẫu thuật hoặc ghép xương. Điều này đã thúc đẩy thị trường xương ghép, bao gồm cả xương tự nhiên và xương tổng hợp. Trong đó, xương ghép tổng hợp đang được ưa chuộng vì loại bỏ nhu cầu thu thập xương từ người hiến tặng và nguy cơ bị đào thải do phản ứng miễn dịch. Ngoài ra, nó còn mang lại nhiều lợi ích, bao gồm các đặc tính được kiểm soát với chất lượng và số lượng nhất quán, tính tương thích sinh học cao, khả năng mở rộng quy mô và hiệu quả về chi phí. Vì vậy, việc nghiên cứu và phát triển xương ghép nhân tạo đang là xu hướng được tập trung trên toàn thế giới hiện nay với nhiều kết quả khả quan.

Sự phát triển của các mảnh ghép nhân tạo trong ứng dụng kỹ thuật mô bắt đầu từ những nghiên cứu tập trung vào việc cải thiện vật liệu tro sinh học có tính chất vật lý phù hợp và khả năng tích hợp tốt với mô sống mà không tạo ra bất kỳ phản ứng hoặc tương tác với mô sinh học ở mức tối thiểu hoặc vật liệu hoạt tính sinh học có ảnh hưởng đến phản ứng sinh học, kích thích tái phát triển mô mới. Vật liệu titan và các loại vật liệu kim loại, hợp kim khác mặc dù đã được sử dụng rộng rãi trong các ứng dụng lâm sàng, nhưng lại tiềm ẩn một số nguy cơ như độ cứng có thể lớn hơn nhiều so với xương tự nhiên gây hiệu ứng “tám chấn lực” ở các vùng xương lân cận, dẫn đến hiện tượng tiêu xương và suy yếu theo thời gian; hay tình trạng một số bệnh nhân có cơ địa dị ứng với một số kim loại, chẳng hạn như niken, coban,... dẫn đến viêm, đau hoặc thất bại trong cấy ghép; hay trong một số trường hợp nhất định như sau chữa lành vết nứt hoặc thay khớp, cần thực hiện một phẫu thuật để loại bỏ vật liệu cấy ghép, điều này có thể dẫn đến nhiễm trùng và tổn thương các mô xung quanh. Do đó, những vật liệu này cần phủ bề mặt bằng có tính tương thích sinh học cao. Bên cạnh đó, các nghiên cứu liên quan đến các vật liệu có nguồn gốc từ polyme tự nhiên (chitosan, hyaluronic acid,...) hay polyme nhân tạo (poly( $\alpha$ -ester), poly lactic-co-glycolic acid,...), vật liệu có nguồn gốc từ nguồn sinh học cao phân tử (collagen, gelatin, protein,...), hay vật

liệu trên cơ sở gốm sinh học (calcium sulfate, calcium phosphate,...) không ngừng phát triển nhằm khắc phục những hạn chế kể trên, mang lại khả năng tích hợp tốt hơn với các vùng xương lân cận và loại bỏ nhu cầu phẫu thuật sau cấy ghép. Những vật liệu này được chứng minh có khả năng phân hủy sinh học và tương thích sinh học, nghĩa là chúng có khả năng được loại bỏ dần khỏi cơ thể sau khi hoàn thành chức năng của chúng. Trong đó, vật liệu gốm sinh học là nhóm vật liệu có ứng dụng rộng rãi lâu đời do thành phần của chúng là các hợp chất của calcium, một nguyên tố chính trong thành phần của xương tự nhiên.

Calcium sulfate hemihydrate (HH), đặc biệt là dạng  $\alpha$ -HH là một trong những vật liệu gốm sinh học có ứng dụng lâm sàng lâu đời trong các trường hợp cấy ghép các khuyết tật xương không chịu lực. Trong nhiều nghiên cứu,  $\alpha$ -HH đã được chứng minh là vật liệu có tính tương thích sinh học cao và có thể được hấp thụ hoàn toàn trong khoảng thời gian vài tuần để cung cấp môi trường giàu calcium giúp kích thích sự phát triển của các nguyên bào xương, từ đó thúc đẩy quá trình tái tạo xương.

Hơn nữa, độ xốp là một trong số các yếu tố đóng vai trò quan trọng trong việc ảnh hưởng đến hiệu quả tái tạo xương. Nó ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả của sự phát triển của mô, quá trình tạo mạch và trao đổi chất dinh dưỡng trong cấu trúc xương được tái tạo. Độ xốp tối ưu tạo điều kiện cho tế bào xâm nhập, tăng sinh và biệt hóa, thúc đẩy quá trình hình thành mô xương mới. Nó cũng hỗ trợ sự tích hợp của vật liệu cấy ghép với xương tự nhiên xung quanh, tăng cường độ ổn định cơ học và chức năng lâu dài. Do đó, việc kiểm soát độ xốp trong khung xương là điều cần thiết để thúc đẩy và cải thiện quá trình tái tạo xương.

Ngoài ra, hiện nay hầu hết vật liệu xương nhân tạo được sử dụng ở Việt Nam đều được nhập khẩu với giá thành rất cao, điều này dẫn đến giá trị cốt lõi của vật liệu không được khai thác tối đa. Do đó, việc nghiên cứu vật liệu ứng dụng trong kỹ thuật mô có các đặc tính tương đương nhưng có giá thành thấp là điều cần thiết. Trên cơ sở đó, trong nghiên cứu này, đề tài “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương” được đề xuất nhằm mục đích tạo ra vật liệu có cấu trúc xốp sở hữu các đặc tính cơ lý hóa và sinh học phù hợp cho ứng dụng tái tạo xương cũng như tiềm năng mang lại cơ hội giảm gánh nặng chi phí điều trị trong nước hiện nay.

## 2. Mục đích nghiên cứu

Tổng hợp thành công vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp có các đặc tính hóa lý, cơ học và sinh học phù hợp cho ứng dụng tái tạo xương.

Mục tiêu nghiên cứu cụ thể :

- Xác lập được quy trình chế tạo vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp với các tính chất hóa lý cơ học phù hợp ứng dụng tái tạo xương
- Đánh giá *in vitro* khả năng tương thích tế bào và khả năng tạo khoáng của vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

## 3. Nội dung nghiên cứu

Để hoàn thành mục tiêu đề tài, các nội dung nghiên cứu chính được thực hiện, bao gồm:

- Nội dung 1 : Nghiên cứu quy trình và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến cấu trúc xốp của vật liệu  $\alpha$ -HH
- Nội dung 2 : Đánh giá các tính chất hóa lý và đặc tính cơ học của vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp
- Nội dung 3 : Đánh giá *in vitro* khả năng tái tạo khoáng của vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp
- Nội dung 4 : Đánh giá *in vitro* khả năng tương thích tế bào của vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

Luận văn được giới hạn trong phạm vi nghiên cứu về quy trình chế tạo gốm sinh học  $\alpha$ -HH bằng phương pháp dung dịch muối với các thông số phản ứng (nhiệt độ, thời gian phản ứng, nồng độ dung dịch muối,...) được khảo sát nhằm tạo nên cấu trúc xốp của vật liệu. Các tính chất hóa lý, đặc tính cơ học được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp phân tích hiện đại có độ chính xác cao được cung cấp bởi các Trung tâm nghiên cứu phân tích và các Viện Khoa học tại Thành phố Hồ Chí Minh. Cuối cùng, các thử nghiệm đánh giá sinh học được thực hiện dưới sự hướng dẫn của các chuyên viên có kinh nghiệm tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ, Viện Công nghệ Hóa học.

## 4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài

Hiện nay, ghép xương được xem là phương pháp hiệu quả để tăng cường khả năng phục hồi, tái tạo xương, và đã được sử dụng trong nhiều ứng dụng lâm sàng. Cho tới thời điểm hiện tại, sửa chữa khiếm khuyết xương bằng phương pháp cấy ghép tự thân được coi là phương pháp toàn diện vì quá trình sửa

chữa có thể được tiến hành với mô của bệnh nhân vào thời điểm quá trình tái tạo hoàn tất. Tuy nhiên, hạn chế về khối lượng có thể thu thập, hoặc lấy xương dài dễ dẫn đến mất máu, hoặc lấy xương chậu có thể giảm cảm giác thần kinh trước đùi cũng như gây nhiều biến chứng tại nơi lấy xương. Khuynh hướng sử dụng xương nhân tạo thì ngày càng phổ biến nhưng việc nghiên cứu phát triển VLYS nói chung và vật liệu cho cấy ghép xương nói riêng chưa được quan tâm đúng mức. Hiện tại, ở Việt Nam, nguồn cung cấp các loại vật liệu này chủ yếu được nhập khẩu nên có giá thành cao, trở thành gánh nặng kinh tế người bệnh. Chính vì vậy việc nghiên cứu tạo ra các sản phẩm liên quan tới vật liệu y sinh mà cụ thể là vật liệu tái tạo xương không chỉ mang tính khoa học cao, tạo tiền đề cho các vật liệu khác phát triển mà còn có tính thực tiễn cao khi đáp ứng được nhu cầu của người dân trong nước.

$\alpha$ -HH là một trong những vật liệu gồm sinh học sở hữu nhiều đặc tính của một vật liệu lý tưởng để tái tạo xương và cũng là một tác nhân tuyệt vời như một vật liệu dẫn tạo xương và kích tạo xương. Điều này được chứng minh qua nhiều nghiên cứu liên quan chế tạo vật liệu  $\alpha$ -HH bằng nhiều phương pháp khác nhau, được tiến hành thử nghiệm *in vitro*, *in vivo* cho kết quả khả quan trong ứng dụng tái tạo xương. Trong nước, số ít nghiên cứu liên quan đến nghiên cứu  $\alpha$ -HH được công bố từ nhóm nghiên cứu của GS.TS. Nguyễn Đại Hải và hầu như chưa có nghiên cứu nào liên quan đến việc nghiên cứu tạo cấu trúc xốp cho vật liệu  $\alpha$ -HH. Việc tổng hợp  $\alpha$ -HH xốp giúp mô phỏng cấu trúc xương tự nhiên, cung cấp khả năng khuếch tán chất dinh dưỡng, không gian và diện tích bề mặt tăng lên đáng kể. Điều này mong muốn góp phần tăng hiệu quả kết dính tế bào, ổn định cơ học, tạo điều kiện tăng cường quá trình lành xương. Ngoài ra, tính tương thích sinh học, khả năng tái hấp thụ có thể tùy chỉnh và đặc tính cơ học cũng cần được quan tâm nhằm đạt được những yêu cầu thích hợp cho ứng dụng tái tạo. Do đó, luận văn với mục đích nghiên cứu tạo cấu trúc xốp cho vật liệu  $\alpha$ -HH là cần thiết và được mong đợi cải thiện hiệu quả khả năng tái tạo xương cũng như mang lại tiềm năng và cơ hội giảm gánh nặng chi phí điều trị trong nước hiện nay.

## 5. Những đóng góp của luận văn

Nghiên cứu tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương đóng góp đáng kể cho việc ứng dụng vật liệu gồm sinh học trong lĩnh vực y học tái tạo. Các kết quả của đề tài nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng

góp phần nâng cao sự đa dạng và toàn diện cho những nghiên cứu, công bố trước đó. Ngoài ra, luận văn cung cấp nền tảng cho việc nghiên cứu VLYS trên cơ sở calcium sulfate và vật liệu kết hợp với các hợp chất khác nhằm tăng hiệu quả và tính ổn định của vật liệu.

## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1 Tổng quan về cấu tạo xương và vật liệu dùng cấy ghép và tái tạo xương

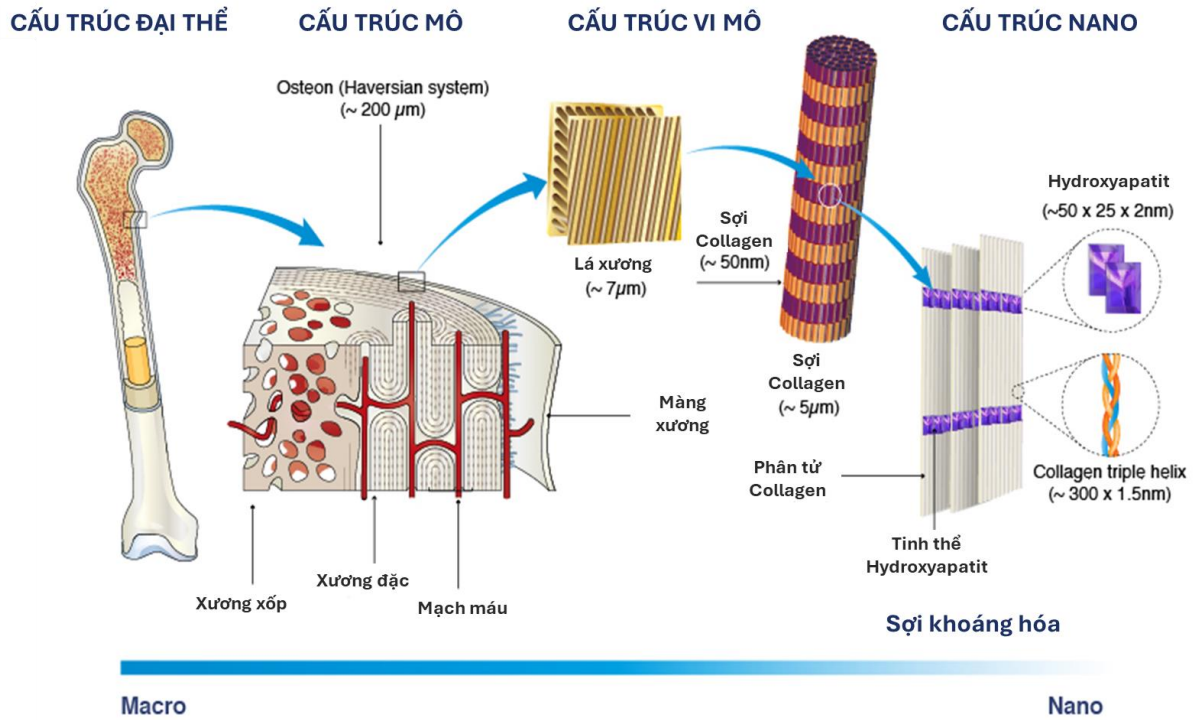
#### 1.1.1 Thành phần, cấu tạo xương

Xương là mô liên kết cấu tạo bởi 5-8% nước và 95-92% mô đặc, trong đó 65-70% là thành phần vô cơ (calcium phosphate ở dạng tinh thể hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , calcium carbonate, magnesium phosphate và magnesium fluoride pha tạp với nhiều loại ion khác nhau) và thành phần hữu cơ, chủ yếu dưới dạng collagen đóng vai trò cung cấp khung sườn cho các tinh thể muối lắng đọng [1].

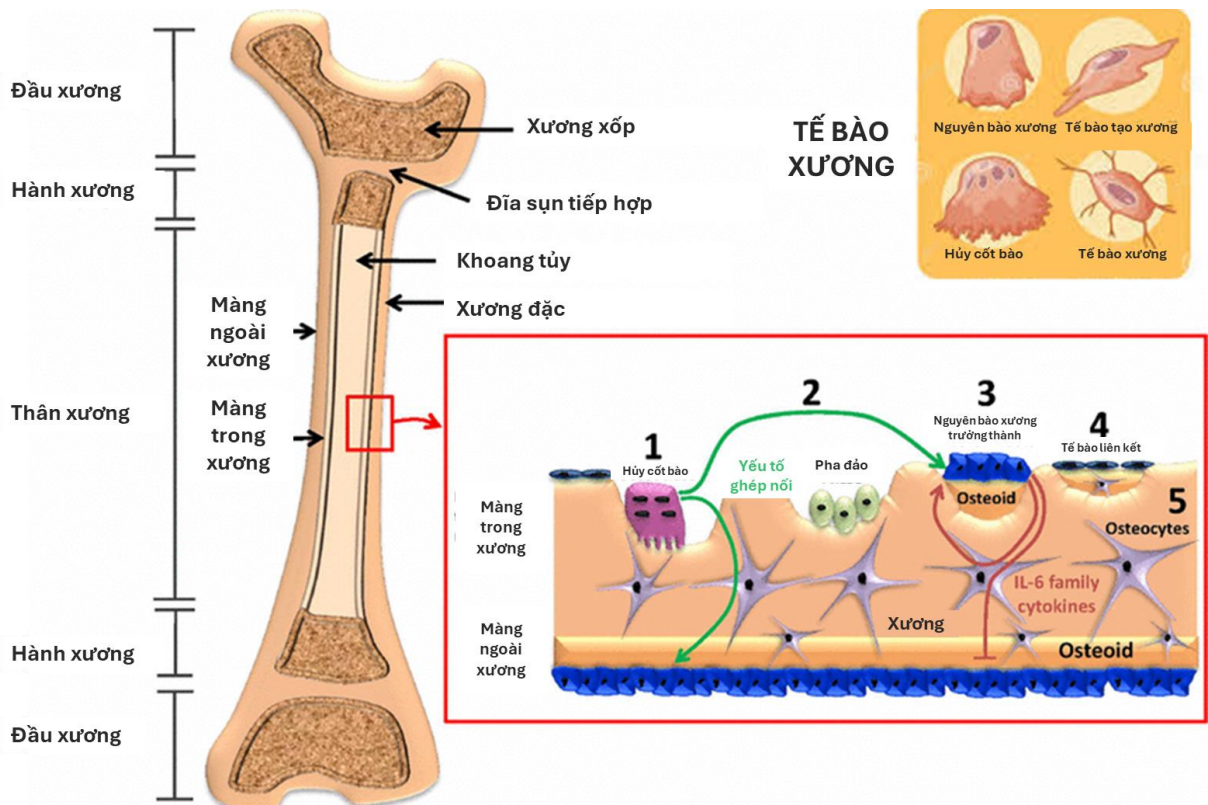
Như được minh họa trong Hình 1.1, xương là một cấu trúc phân cấp với kết cấu thành phần trải dài từ kích thước macro đến kích thước nano. Ở cấp độ phân tử, các phân tử collagen dưới dạng các sợi nhỏ (màu cam) được khoáng hóa thông qua sự hình thành các tinh thể apatite (màu tím), được gọi là các sợi khoáng hóa. Sự tương tác giữa các sợi collagen và tinh thể apatite ở cấp độ phân tử góp phần quan trọng trong việc đánh giá khả năng chịu lực của xương. Mặc dù cấu trúc xương khác nhau tùy thuộc vào loại xương và loài, nhưng cấu trúc của các sợi khoáng hóa này được bảo tồn cao giữa các loài và các loại xương khác nhau [2]. Bên cạnh đó, xương có cấu trúc mắt lưới, từng vùng khác nhau của xương có độ đặc khác nhau. Do đó, để có thể mô phỏng được đặc điểm sinh học và chức năng của xương tự nhiên, nhiều loại vật liệu cấy ghép đã được phát triển dựa trên cơ sở thành phần và cấu trúc này.

Cấu tạo chung của xương gồm có 2 thành phần chính, gồm: xương đặc ở ngoài, rắn chắc chiếm phần lớn khối lượng của xương và xương xốp ở trong, do nhiều bè xương bắt chéo nhau chằng chịt, tạo nên những hốc nhỏ trông như bọt biển. Lớp ngoài có một lớp phủ mỏng gọi là màng xương có độ dày dưới 2 mm. Lớp trong của màng xương có nhiều mạch máu nuôi xương và cốt bào giữ vai trò quan trọng trong việc điều hòa hàm lượng calcium và phosphorus huyết tương. (Hình 1.2)





**Hình 1.1** Cấu trúc phân cấp của xương ở kích thước khác nhau [3]



**Hình 1.2** Cấu tạo xương và quá trình sửa chữa xương [4]

Xương là những cấu trúc phức tạp liên tục trải qua quá trình sửa chữa năng động do sự tương tác phức tạp của nhiều quá trình sinh hóa, chủ yếu có thể được mô tả bằng quá trình kép liên quan đến 2 loại cơ cấu tế bào, mà trong đó sự hình

thành xương thực hiện bởi nguyên bào xương tiếp nối quá trình tái hấp thu xương bị tổn thương bởi hủy cốt bào để đạt trạng thái cân bằng về khối lượng khi xương phát triển [5]. Sự cân bằng này giúp duy trì tính toàn vẹn cấu trúc của mô. Những quá trình như vậy có thể xảy ra một cách tự nhiên trong trường hợp xương bị tổn thương nhỏ; tuy nhiên nếu xảy ra khuyết tật xương lớn do nguyên nhân trao đổi chất, chấn thương, nhiễm trùng hay phẫu thuật thất bại, quá trình chữa lành tự nhiên của nó diễn ra chậm và kéo dài. Hơn nữa, mô mới không đạt được đặc tính liên quan đến cấu trúc ban đầu trong một khoảng thời gian ngắn. Do đó, một khung xương vững chắc được sử dụng đóng vai trò như “cấu trúc dẫn đường” cho các tế bào thực hiện và đẩy nhanh quá trình tái tạo và chữa lành.

### **1.1.2 Sự tương tác giữa các tế bào xương và ma trận xương**

Xương là một mô liên kết được khoáng hóa, chứa bốn loại tế bào: nguyên bào xương (Ob), tế bào liên kết (BLC), tế bào xương (Ot) và hủy cốt bào (Oc). Nguyên bào xương (Ob) có nguồn gốc từ tế bào gốc trung mô (MSC) phân bố dọc theo bề mặt xương, chiếm 4 – 6% tổng số tế bào xương và đóng vai trò chức năng tạo xương thông qua quá trình tổng hợp ma trận xương [6], [7]. Quá trình tổng hợp ma trận xương bởi các nguyên bào xương xảy ra theo hai bước chính: lắng đọng ma trận hữu cơ và quá trình khoáng hóa [8]. Các nguyên bào xương giải phóng protein collagen, chủ yếu là collagen loại I, protein không phải collagen và proteoglycan tạo thành ma trận hữu cơ. Sau đó, quá trình khoáng hóa của chất nền xương diễn ra khi các nguyên bào xương tiết ra các enzym phân hủy proteoglycan, các ion calcium được giải phóng khỏi proteoglycan và đi qua các kênh calcium có trong màng túi chất nền. Mặt khác, các hợp chất chứa phosphat bị phân hủy bởi ALP do các nguyên bào xương giải phóng và giải phóng các ion phosphat bên trong các túi chất nền. Sau đó, các ion phosphat và calcium bên trong túi tạo mầm, tạo thành tinh thể hydroxyapatite.

Tế bào liên kết (BLC) là các nguyên bào xương “thụ động” bao phủ các bề mặt xương mà không có quá trình hấp thụ hoặc hình thành xương diễn ra. Một số tế bào này có quá trình kéo dài vào các kênh nhỏ, và kết nối rãnh giữa chúng và Ot. Chức năng của các tế bào liên kết được chứng minh là ngăn chặn sự tương tác trực tiếp giữa các Oc và ma trận xương khi quá trình tiêu xương không xảy ra và tham gia vào quá trình biệt hóa tế bào xương thông qua khả năng tạo ra Osteoprotegerin (OPG) và RANKL.

Tế bào xương (Ot), chiếm 90 – 95% tổng số tế bào xương, là những tế bào có số lượng nhiều nhất và tuổi thọ lâu nhất lên tới 25 năm [9]. Các tế bào xương nằm trong các khoảng trống được bao quanh bởi ma trận xương khoáng hóa, trong đó chúng có hình thái đuôi gai (Hình 1.2). Chúng có nguồn gốc từ MSC thông qua quá trình biệt hóa nguyên bào xương, thực hiện các chức năng liên quan đến phát triển xương mới, định hình lại xương để giúp chúng thay đổi, chữa lành xương bị hư hỏng hoặc gãy [10].

Hủy cốt bào (Oc) là các tế bào đa nhân biệt hóa ở giai đoạn cuối, có nguồn gốc từ các tế bào đơn nhân của dòng tế bào gốc tạo máu, dưới ảnh hưởng của một số yếu tố. Trong số các yếu tố này, yếu tố kích thích khuẩn lạc đại thực bào, được tiết ra bởi các tế bào trung mô và nguyên bào xương tạo xương, và phối tử RANK, được tiết ra bởi các Ob, Ot và tế bào nền [8]. Những yếu tố này thúc đẩy sự kích hoạt các yếu tố phiên mã và biểu hiện gen trong các hủy cốt bào [8].

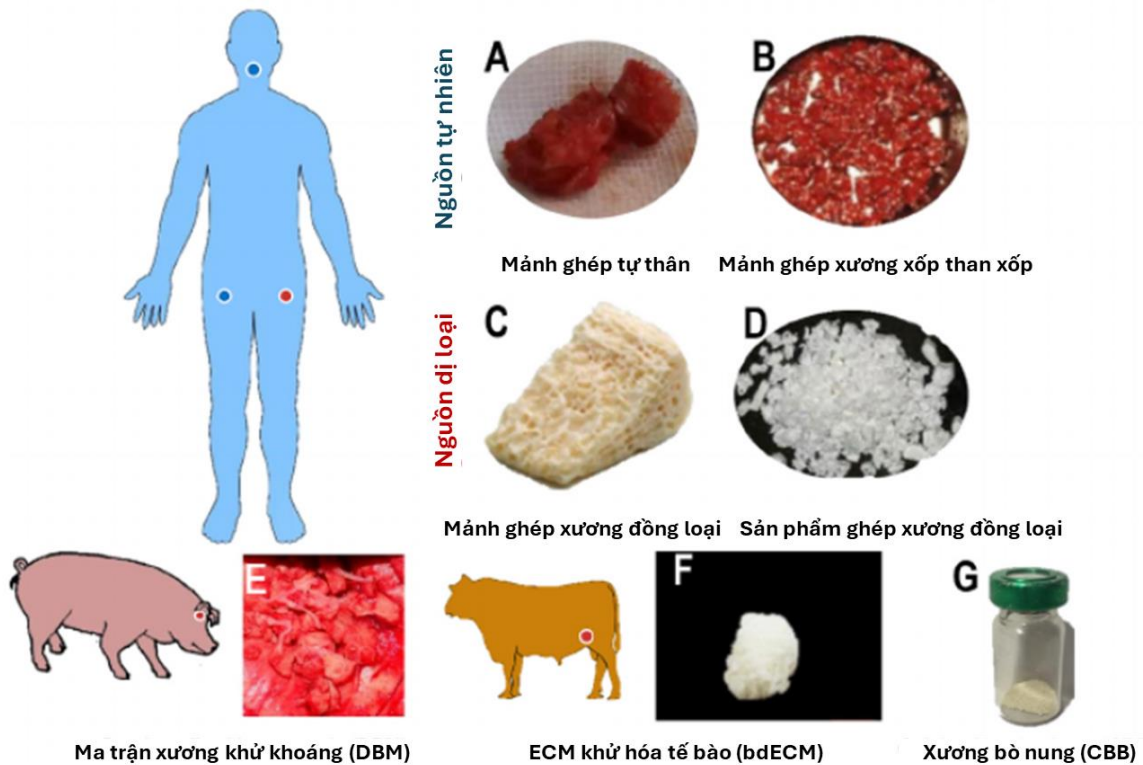
Ma trận xương là một hệ phức tạp và có tổ chức, cung cấp hỗ trợ cơ học và đóng vai trò thiết yếu trong cân bằng nội môi xương. Ma trận xương có thể giải phóng một số phân tử can thiệp vào hoạt động của tế bào xương và do đó tham gia vào quá trình tái tạo xương. Nếu chỉ mất khối lượng xương được cho là không đủ để gây gãy xương, người ta cho rằng các yếu tố khác, bao gồm những thay đổi trong protein của ma trận xương và những biến đổi của chúng, có tầm quan trọng cốt yếu đối với sự hiểu biết và dự đoán về gãy xương [8], [11], [12]. Trên thực tế, collagen đóng một vai trò quan trọng trong cấu trúc và chức năng của mô xương [12].

Ma trận chất nền xương không chỉ cung cấp hỗ trợ cho tế bào xương mà còn có vai trò chính trong việc điều chỉnh hoạt động của tế bào xương thông qua một số phân tử bám dính. Các Ob tạo ra tương tác với ma trận xương bằng các protein integrin ( $\alpha_1\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$  và  $\alpha_5\beta_1$ ), chúng nhận biết và liên kết với arginylglycylaspartic acid (RGD) và các trình tự khác có trong protein ma trận xương bao gồm osteopontin, fibronectin, collagen và sialoprotein [13], [14]. Mặt khác, sự tương tác giữa các Oc và ma trận xương là cần thiết cho chức năng của Oc, vì quá trình tiêu xương chỉ xảy ra khi các tế bào hủy xương liên kết với bề mặt xương đã được khoáng hóa [15]. Do đó, trong quá trình tiêu xương, Oc biểu hiện các tích hợp  $\alpha_v\beta_3$  và  $\alpha_2\beta_1$  để tương tác với chất nền ngoại bào, trong đó protein integrin liên kết với các protein giàu RGD trong xương, chẳng hạn như

sialoprotein và osteopontin, trong khi integrin  $\beta_1$  liên kết đến các sợi collagen [8]. Bất chấp những ràng buộc này, chúng có khả năng vận động cao, thậm chí có khả năng tái hấp thu chủ động do Oc không biểu hiện cadherin, một loại phân tử cung cấp sự tiếp xúc mật thiết giữa tiền chất Ot và tế bào nền, biểu hiện các yếu tố tăng trưởng quan trọng đối với sự biệt hóa Oc [16]. Ngoài ra, tương tác Ot-ma trận xương rất cần thiết cho chức năng như tác nhân thụ cảm cơ học của các tế bào này, nhờ đó các tín hiệu gây ra bởi sự biến dạng của mô được tạo ra và khuếch đại. Mặc dù vẫn chưa rõ những integrin nào có liên quan, nhưng người ta gợi ý rằng integrins  $\beta_3$  và  $\beta_1$  có liên quan đến tương tác ma trận xương-xương [17], [18]. Ngoài ra, sự chuyển động của dòng chất lỏng cũng rất cần thiết cho việc vận chuyển chất tan hai chiều trong khoang màng ngoài tim, ảnh hưởng đến đường truyền tín hiệu tế bào xương và sự tương tác giữa các tế bào xương [19], [20].

### 1.1.3 Vật liệu dùng cấy ghép và tái tạo xương

Hiện nay, ghép xương là phương pháp tái tạo xương được sử dụng phổ biến trong thực hành lâm sàng. Mảnh ghép được sử dụng trong cấy ghép có thể phân thành 4 loại chính, gồm: mảnh ghép tự thân, mảnh ghép đồng loại, mảnh ghép dị loài và mảnh ghép nhân tạo (Hình 1.3). Ghép tự thân và ghép đồng loại có đặc tính dẫn xương được biết đến như là phương pháp đầy hứa hẹn để cung cấp khung cho sự phát triển của xương [21], [22]. Tuy nhiên, nguồn cung cấp xương hạn chế, gãy xương và nhiễm trùng ở vị trí hiến tặng hoặc hiện tượng đào thải cấy ghép dẫn đến những thách thức trong các ứng dụng lâm sàng của chúng [23]. Do đó, sự phát triển của các mảnh ghép xương nhân tạo như gốm sinh học, thủy tinh hoạt tính sinh học, polyme và composite... gần đây đã được chứng minh là một phương pháp thay thế lý tưởng để khắc phục những hạn chế của các phương pháp điều trị lâm sàng thông thường do tính sẵn có, tính tương thích sinh học, đặc tính được kiểm soát và giảm nguy cơ mắc bệnh, truyền bệnh [24]. Hơn nữa, các đặc tính cấu trúc đã được coi là quan trọng trong việc ảnh hưởng đến hiệu quả tái tạo xương. Vật liệu y sinh có cấu trúc 3D cho thấy nhiều đặc tính vượt trội trong việc cung cấp đầy đủ chất dinh dưỡng khuếch tán, không gian ba chiều và diện tích bề mặt tăng đáng kể, cho phép tăng cường tương tác tế bào-vật liệu sinh học, độ bám dính tế bào, tăng sinh và lắng đọng ma trận ngoại bào (ECM) [25].



**Hình 1.3** Các mô xương dùng để cấy ghép bao gồm (A-B) các mảnh ghép xương tự thân; (C-D) mảnh ghép xương đồng loại; (E-F) mảnh ghép dị loài và (G) sản phẩm xương tổng hợp. [26]

Vật liệu sinh học được ứng dụng trong lĩnh vực cấy ghép đòi hỏi phải đáp ứng những yêu cầu chính sau: (1) cấu trúc hình thái và đặc tính cơ học phù hợp với các đặc tính cơ học của xương khỏe mạnh về độ cứng, độ bền và độ dẻo; (2) tính tương thích sinh học, khả năng kích tạo xương và dẫn truyền xương; (3) Khả năng phân hủy sinh học và tái hấp thụ theo thời gian phù hợp với tốc độ tương đương với quá trình tạo xương tự nhiên. Các VLYS có cấu trúc 3D cho thấy nhiều đặc tính nổi bật trong việc cung cấp đầy đủ chất dinh dưỡng khuếch tán, không gian ba chiều và diện tích bề mặt tăng đáng kể, cho phép tăng cường tương tác giữa tế bào và vật liệu sinh học, độ bám dính của tế bào, tăng sinh và lắng đọng chất nền ngoại bào (ECM). Những nghiên cứu trước đây đã cho thấy vật liệu với độ thấm thấu cao có khả năng tăng thúc đẩy sự phát triển của tế bào xương và ức chế sự cảm ứng của mô sụn ở vị trí tái tạo. Thông số này phụ thuộc vào độ xốp, kích thước lỗ và sự phân bố và liên kết giữa các lỗ. Kích thước lỗ xốp lớn hơn được báo cáo là thuận lợi cho sự phát triển và tăng sinh tế bào vì lỗ rỗng có thể bị tắc khó hơn so với lỗ rỗng nhỏ hơn trong quá trình tăng trưởng dần dần của tế bào, do đó nó vẫn cung cấp không gian cho việc cung cấp chất dinh dưỡng và oxy và

tiếp tục mạch máu trong các mô xương mới hình thành. Kích thước của các Ob được ghi nhận có giá trị vào khoảng 10-50  $\mu\text{m}$  [27], tuy nhiên các lỗ rỗng lớn hơn (100-200  $\mu\text{m}$ ) được cho là có lợi cho sự tái tạo xương khoáng hóa sau khi cấy ghép. Điều này cho phép các đại thực bào xâm nhập, loại bỏ vi khuẩn và tạo ra sự xâm nhập của các tế bào khác liên quan đến quá trình xâm chiếm, di chuyển và tạo mạch trong cơ thể [28]. Trong khi đó kích thước lỗ rỗng nhỏ hơn (<100  $\mu\text{m}$ ) có liên quan đến sự hình thành mô xương hoặc mô sợi không được khoáng hóa [28], [29]. Các nghiên cứu ban đầu đã chứng minh sự hình thành xương đáng kể ở khung xương có chứa các lỗ rỗng 800  $\mu\text{m}$  [30]. Trong khi kích thước lỗ 250 và 400  $\mu\text{m}$ , cho thấy kích thước lỗ lớn hơn dẫn đến sự hình thành xương trưởng thành nhiều hơn bằng cách thúc đẩy quá trình tạo mạch [31]. Điều này được giải thích là do các mạch máu mới hình thành cung cấp đủ oxy và chất dinh dưỡng cho hoạt động của Ob trong các lỗ rỗng lớn hơn của khung xương được cấy ghép, dẫn đến sự điều hòa của Osteopontin (OPN) và collagen loại I và tạo ra khối xương tiếp theo [31]. Một nghiên cứu khác báo cáo rằng kích thước lỗ rỗng trong khoảng 200 - 350  $\mu\text{m}$  là tối ưu cho sự tăng sinh Ob trong khi kích thước lỗ rỗng lớn hơn (500  $\mu\text{m}$ ) không ảnh hưởng đến sự gắn kết của tế bào [32]. Một cách tổng quát, có thể chỉ ra rằng kích thước lỗ rỗng > 50  $\mu\text{m}$  thuận lợi đối với hiệu quả tạo xương, trong khi sự xâm nhập của tế bào bị hạn chế bởi kích thước lỗ rỗng nhỏ hơn nhưng tạo ra diện tích bề mặt lớn hơn, kích thích trao đổi ion và hấp phụ protein xương nhiều hơn [33]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu khẳng định rằng độ xốp tối ưu của khung xương sinh học áp dụng cho kỹ thuật mô xương nằm trong khoảng 60-95%. Năm 2020, Ma. và cộng sự đã chế tạo các khung xương sinh học với độ xốp 75-88% để khảo sát phạm vi xốp tối ưu cụ thể hơn cho sự tăng sinh tế bào [34]. Kết quả cho thấy rằng số lượng tế bào lớn nhất được quan sát thấy ở khung xương có độ xốp là 88,8%. Một nghiên cứu khác được thực hiện vào năm 2009 bởi Paola Fabbri và cộng sự cũng đã chứng minh tiềm năng tạo xương của khung xương với độ xốp 70-80% [35].

Độ xốp vật liệu bên cạnh được tạo ra bởi chính cấu trúc xốp bên trong vật liệu, còn có thể tạo ra bởi tập hợp của các tinh thể có kích thước không đồng nhất chồng chéo nhau. Chẳng hạn, một nghiên cứu của Koji IOKU và cộng sự (1999) đã tổng hợp thành công vật liệu xốp calcium hydroxyapatite và strontium hydroxyapatite bằng phương pháp thủy nhiệt từ calcium phosphate vô định hình

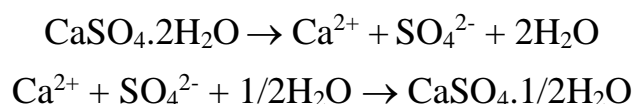
và strontium phosphate vô định hình [36]. Đến năm 2006, ông và cộng sự tiếp tục nghiên cứu tổng hợp HA xốp với các tinh thể HA dạng que có kích thước 50  $\mu\text{m}$  – 1 mm [37]. Một nghiên cứu khác của Setsuaki Murakami và cộng sự (2011) đã tổng hợp HA xốp gồm tập hợp các hạt HA dạng que bằng phương pháp thủy nhiệt [38]. Trong nghiên cứu này,  $\alpha$ -HH xốp được tổng hợp dựa trên tập hợp các tinh thể  $\alpha$ -HH dạng que có tỉ lệ kích thước lớn, không đồng đều.

## 1.2 Calcium sulfate hemihydrate

### 1.2.1 Giới thiệu về calcium sulfate hemihydrate

Calcium sulfate hemihydrate (HH) là một loại vật liệu gốm sinh học đã được áp dụng lâm sàng trong nhiều thập kỷ nhờ khả năng tương thích sinh học tuyệt vời, dẫn truyền xương và liên kết xương tốt với đặc tính phân hủy sinh học gần giống với sự hình thành xương tự nhiên [39]. Một cách tổng quát, hemihydrate thường có nguồn gốc từ thạch cao, một sản phẩm phụ công nghiệp hoặc calcium sulfate dihydrate (DH) [40]. Ở nhiệt độ cao, 3/4 lượng nước trong phân tử của nó bị loại bỏ tạo ra hemihydrate. Hemihydrate tồn tại ở hai dạng tinh thể khác nhau bao gồm  $\alpha$ -hemihydrate ( $\alpha$ -HH) và  $\beta$ -hemihydrate ( $\beta$ -HH). Không giống như  $\beta$ -hemihydrate bị hạn chế bởi tính chất cơ học thấp và khả năng hấp thụ nhanh,  $\alpha$ -hemihydrate đã được nghiên cứu rộng rãi và được biết đến với tính chất cơ học vượt trội cũng như khả năng cung cấp các ion cần thiết cho quá trình tái tạo xương. Sau khi cấy ghép,  $\alpha$ -HH tỏ ra là một chất tương thích sinh học được hấp thụ hoàn toàn trong khoảng thời gian vài tuần cung cấp một môi trường giàu calcium để kích thích sự phát triển của các nguyên bào xương, từ đó thúc đẩy quá trình tái tạo xương [41], [42], [43], [44].

Các dạng tinh thể của HH phụ thuộc vào các phương pháp chế tạo [45], [46]. Trong khi  $\beta$ -HH thường được tạo ra bằng cách nung DH ở nhiệt độ 110 - 180°C dưới áp suất khí quyển thì  $\alpha$ -HH được điều chế bằng quá trình khử nước của DH dưới nhiệt độ và áp suất cao hoặc trong dung dịch nước với sự có mặt của muối hoặc chất phụ gia dưới áp suất khí quyển [44]. Trong trường hợp này, dung dịch muối được cho là có tác dụng làm giảm hoạt độ nước một cách hiệu quả và rút ngắn đáng kể thời gian phản ứng. Sự chuyển hóa DH thành  $\alpha$ -HH được coi là quá trình hòa tan - kết tinh theo các phương trình sau:

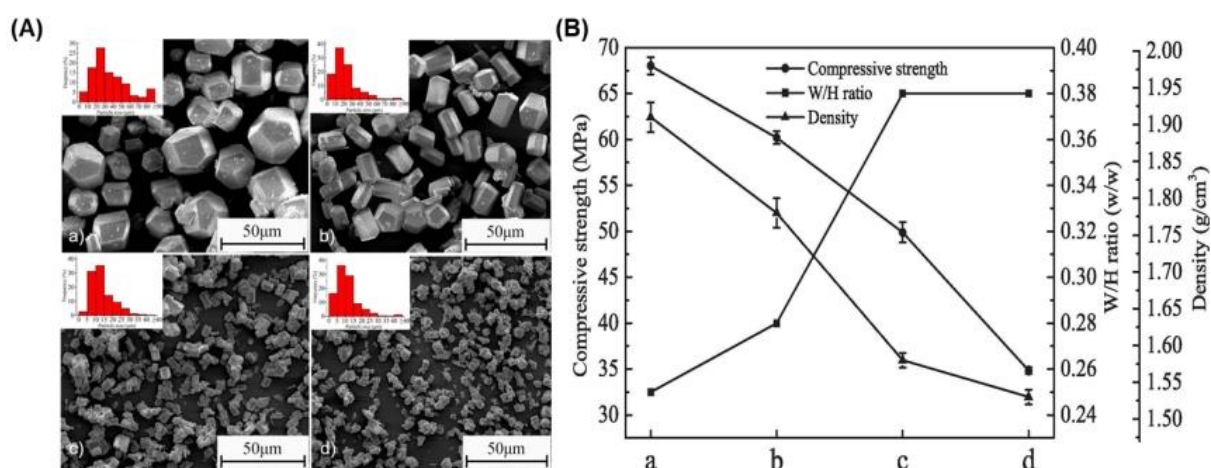


Trong phương pháp dung dịch muối, các yếu tố như dung dịch muối và nồng độ, nhiệt độ, pH và tạp chất ảnh hưởng lớn đến quá trình tạo mầm và phát triển của  $\alpha$ -HH, có thể dẫn đến sự ảnh hưởng đến hình thái, kích thước tinh thể và các tính chất khác của  $\alpha$ -HH tổng hợp được [47], [48], [49], [50]. Do đó, việc khảo sát các yếu tố phản ứng này được coi là hướng tiếp cận chính để thu được sản phẩm cuối cùng với các tính năng mong muốn.

### 1.2.2 Tổng quan tình hình nghiên cứu

Đến hiện tại, nhiều nghiên cứu về phương pháp và điều kiện chế tạo  $\alpha$ -HH với các dạng hình thái tinh thể khác nhau đã được công bố bởi các nhóm nghiên cứu trên thế giới. Dưới đây là một số nghiên cứu đáng chú ý trong việc nghiên cứu về vật liệu HH trong 5 năm gần nhất:

Năm 2019, Qingjun Guan và cộng sự bên cạnh tiếp tục nghiên cứu kiểm soát đồng thời kích thước và hình thái học  $\alpha$ -HH dạng que chế tạo từ flue gas desulfurization gypsum bằng cách điều chỉnh nồng độ axit succinic và glycerol [51]. Kết quả thu được các tinh thể  $\alpha$ -HH với các kích thước hạt khác nhau, nhưng hình thái gần như giống nhau. (Hình 1.4A) Bên cạnh đó, đánh giá tính chất cơ học cho thấy kích thước hạt ảnh hưởng đến độ bền cơ học của  $\alpha$ -HH. Cụ thể, khi kích thước của tinh thể  $\alpha$ -HH giảm dẫn đến tăng tỷ lệ nước cần để  $\alpha$ -HH ở trạng thái đạt độ dẻo chuẩn. Điều này dẫn đến tăng độ xốp bên trong cấu trúc vật liệu và cuối cùng làm giảm mật độ và độ bền cơ học của vật liệu. (Hình 1.4B)

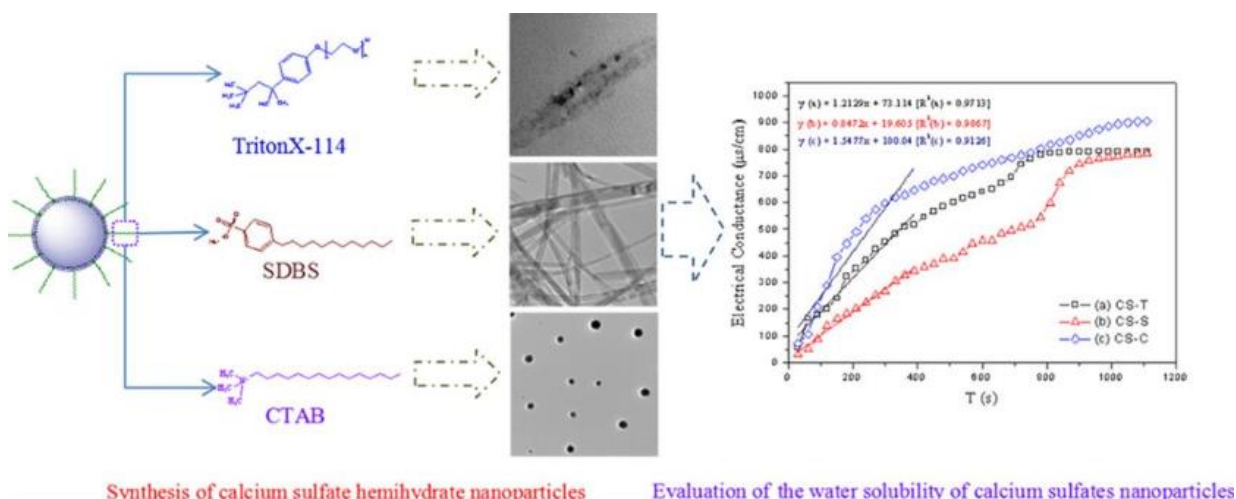


**Hình 1.4** (A) Hình thái và sự phân bố kích thước hạt của  $\alpha$ -HH được điều chế trong dung dịch glycerol - nước - NaCl chứa axit succinic ở 90°C (a, 45% glycerol,  $29,67 \times 10^{-4}$  mol / kg axit succinic; b, 55% glycerol,  $22,25 \times 10^{-4}$  mol / kg axit



succinic; c, 65% glycerol,  $14,84 \times 10^{-4}$  mol / kg axit succinic; d, 75% glycerol,  $11,13 \times 10^{-4}$  mol / kg axit succinic); (B) Đánh giá tính chất cơ học tương ứng [51]

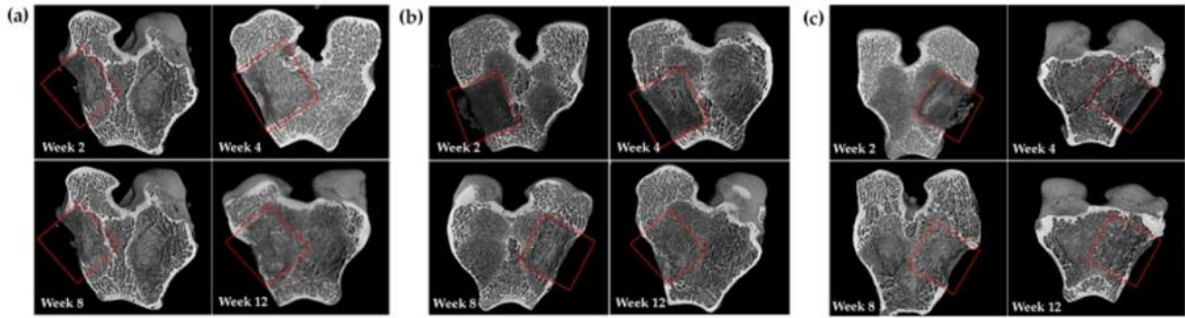
Năm 2019, nhận thấy tiềm năng của các chất hoạt động bề mặt trong việc kiểm soát điều chỉnh hình thái của vật liệu, Shun Chen và cộng sự đã cùng nhau tìm hiểu và tiến hành khảo sát một số chất tiêu biểu bao gồm TritonX-114, SDBS, và CTAB [52]. Nghiên cứu này nhằm mang đến sự nhìn nhận sâu hơn về các chiến lược cho vật liệu nano HH và đưa ra các ứng dụng thú vị trong tương lai.



**Hình 1.5** Sơ đồ tổng hợp HH dựa trên chất xúc tác bề mặt [52]

Năm 2020, Xianbo Li và cộng sự [53] đã đề xuất ý tưởng sử dụng axit hữu cơ để điều chỉnh kích thước của tinh thể liệu  $\alpha$ -HH với mục tiêu tạo ra các tinh thể có tỷ lệ thông số kích thước thấp thông qua loạt thí nghiệm điều chỉnh. Kết quả cho thấy điều chỉnh này có thể thay đổi phân tử cấu trúc của tinh thể, dẫn đến việc rút ngắn chiều dài và mở rộng chiều rộng của chúng, giúp cải thiện tính chất cơ học đáng kể. Cũng trong năm 2020, Keng-Liang Ou và cộng sự đã tiến xa hơn trong việc ứng dụng vật liệu  $\alpha$ -HH trong ứng dụng tiền lâm sàng và lâm sàng [54]. Sau khi áp dụng phương pháp tổng hợp xanh nhằm thu được vật liệu liệu có khả năng thấm ướt máu và tương thích sinh học vượt trội, thử nghiệm đánh giá *in vivo* trên mô hình thỏ được thực hiện nhằm đánh giá khả năng tạo xương và tốc độ giảm cấp của vật liệu. Kết quả cho thấy mặc dù không có sự khác biệt rõ rệt giữa mẫu có chứa vật liệu và mẫu nhóm đối chứng, nhưng khi xét đến quá trình liền xương theo thời gian, các vị trí được cấy ghép  $\alpha$ -CSH cho thấy xu hướng có sự tiến triển tốt hơn của quá trình tái tạo mô ở vùng khuyết tật. Dựa vào kết quả ảnh chụp  $\mu$ -CT (Hình 1.6) của tuần 8 và tuần 12 cho thấy HH có tiến trình tái tạo mô

tốt hơn so với các nhóm khác. Từ đó, kết luận HH có tiềm năng như một lựa chọn thích hợp để ghép xương cho các khuyết tật và tổn thương xương.



**Hình 1.6** Ảnh chụp  $\mu$ -CT ở các vùng khuyết tật xương (a) blank, (b) control, and (c)  $\alpha$ -CSH tại thời điểm 2, 4, 8 và 12 tuần [54]

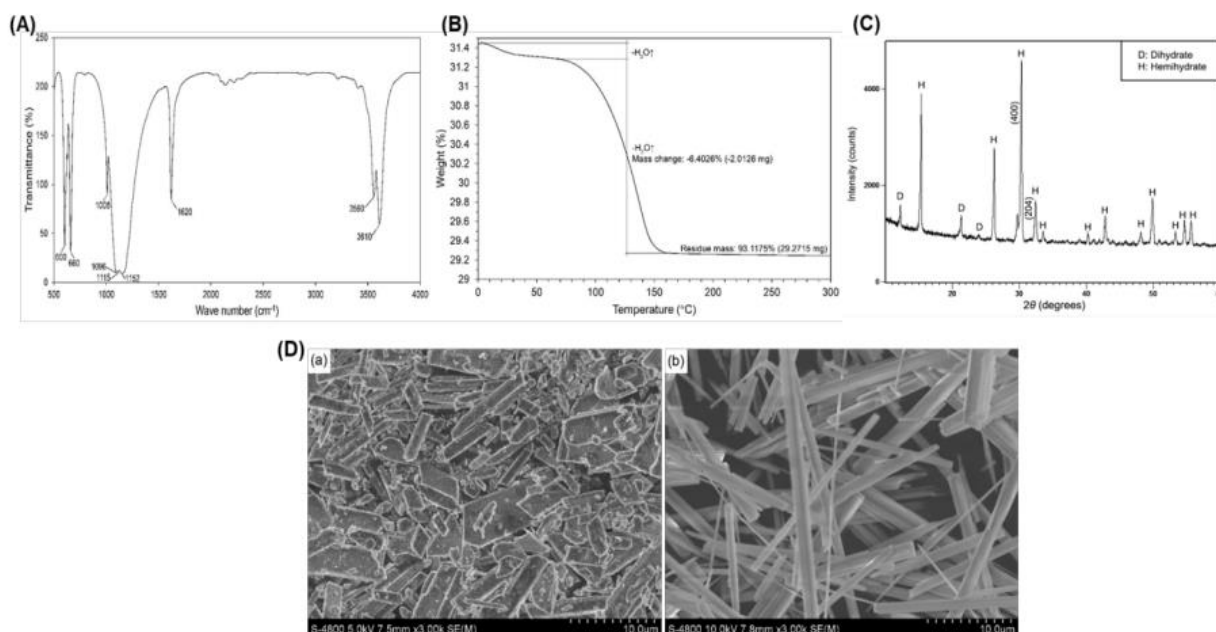
Năm 2021, Bingqui Wang và cộng sự thực hiện nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của tạp chất đối với quá trình dehydrat hóa và chuyển đổi từ DH thành  $\alpha$ -HH [50]. Quá trình dehydrat hóa DH thành  $\alpha$ -HH dưới điều kiện acid phosphoric ướt có thêm các ion  $F_3^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $SiF_6^{2-}$  và hỗn hợp các ion theo tỉ lệ bằng nhau được tiến hành thực nghiệm và thu được các kết luận về ảnh hưởng của các tạp chất đến động học của quá trình chuyển pha từ DH thành  $\alpha$ -HH. Khi các ion tạp chất được thêm vào môi trường phản ứng, thời gian kết tinh của  $\alpha$ -HH bị kéo dài và tốc độ phát triển tinh thể giảm do thông số enthalpy kích hoạt thông phụ thuộc thời gian và thông số entropy kích hoạt phụ thuộc theo thời gian giảm dẫn đến tổng năng lượng kích hoạt không phụ thuộc thời gian giảm. Hơn nữa, trong nghiên cứu này chỉ ra các ion tạp chất khác nhau sẽ tác động đến các mặt tinh thể khác nhau ảnh hưởng đến hình thái học của  $\alpha$ -HH. Chẳng hạn,  $Fe^{3+}$  có xu hướng làm cho mặt dưới của tinh thể  $\alpha$ -HH có dạng hình lục giác phẳng, trong khi  $Al^{3+}$  làm cho mặt tinh thể đó có dạng hình nêm hay  $Mg^{2+}$  làm cho bề mặt tinh thể trở nên gồ ghề. Các ion  $SiF_6^{2-}$  dẫn đến giảm tỷ lệ kích thước của tinh thể và tinh thể dễ dàng phát triển thành một cột ngắn. Các tạp chất hỗn hợp tạo ra một số lượng lớn tinh thể  $\alpha$ -HH cột ngắn. Ngoài ra, nghiên cứu còn chỉ ra rằng  $Al^{3+}$  có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình chuyển pha DH thành  $\alpha$ -HH so với các ion tạp khác.

Bên cạnh kiểm soát kích thước và hình thái học với mục đích kiểm soát các đặc tính cơ lý hóa của vật liệu HH, để khắc phục những hạn chế gặp phải khi ứng dụng HH trong các ứng dụng y sinh, hướng nghiên cứu kết hợp HH với các polyme (tự nhiên hay tổng hợp), các kim loại hoặc các hợp chất vô cơ, hữu cơ khác cũng được thực hiện với mong muốn thu được vật liệu có các tính chất phù

hợp với yêu cầu phẫu thuật cấy ghép và chỉnh hình. Nhiều nghiên cứu liên quan đến việc đánh giá *in vivo* trên mô hình thỏ và chuột cũng được công bố. Tuy vậy, hướng nghiên cứu về vật liệu HH dường như trở nên bão hòa trong lĩnh vực nghiên cứu vật liệu tái tạo xương. Thay vào đó, vật liệu trên cơ sở calcium phosphate, thủy tinh sinh học, gồm thủy tinh thu hút nhiều sự quan tâm do tính tương thích sinh học vượt trội và thời gian phân hủy sinh học phù hợp với nhiều ứng dụng cụ thể.

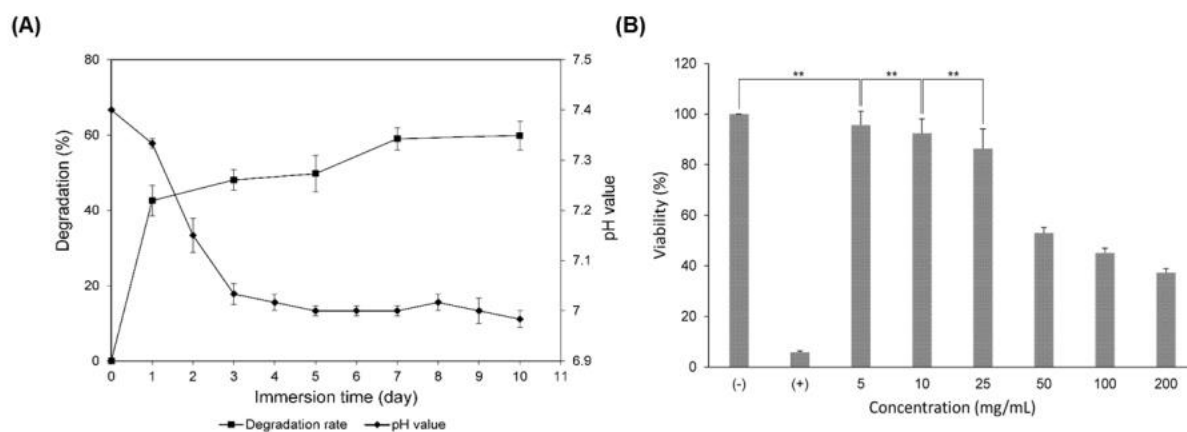
Ở Việt Nam, gần đây các chính sách của nhà nước được ban hành đã tạo thuận lợi và động lực to lớn thúc đẩy sự phát triển của ngành VLYS. Cùng với nhu cầu ghép xương ngày càng gia tăng thì khuynh hướng sử dụng xương nhân tạo càng trở nên phổ biến hơn. Một số nhóm nghiên cứu trong nước cũng bắt đầu định hướng nghiên cứu về các vật liệu có khả năng tái tạo và thay thế xương. Trên thực tế, các nghiên cứu về VLYS để cải thiện và nâng cao sức khỏe cộng đồng tại Việt Nam đã đạt được nhiều kết quả khả quan. Trong đó, một trong những nhóm nghiên cứu có định hướng phát triển vật liệu tái tạo xương phải kể đến nhóm nghiên cứu của GS.TS. Nguyễn Đại Hải – Viện Công nghệ Hóa học với các công bố nổi bật.

Năm 2020, nhóm đã nghiên cứu tổng hợp thành công tinh thể  $\alpha$ -HH với độ tinh khiết cao bằng phương pháp thủy nhiệt [45]. Sản phẩm tạo ra được đánh giá dựa trên kết quả XRD và FT-IR chỉ ra rằng bột thành phẩm bao gồm HH và một lượng ít DH. Kết hợp với hình chụp SEM cho thấy hình thái hạt chụp được có dạng hình que, có dạng lăng trụ với chiều dài trung bình là  $20,96 \pm 8,83$  nm, đường kính trung bình là  $1,30 \pm 0,71$  nm. Phân tích nhiệt trọng lượng TGA cho kết quả độ tinh khiết đạt 98,62% (Hình 1.7). Thử nghiệm trong dịch cơ thể mô phỏng (SBF),  $\alpha$ -HH thể hiện đặc tính phân hủy nhanh, thay đổi độ pH và không có hoạt tính sinh học. Các kết quả độc tính tế bào chỉ ra rằng bột tổng hợp không ảnh hưởng đến tế bào NIH3T3 và cho thấy khả năng tương thích sinh học tốt của vật liệu được đánh giá thông qua thử nghiệm lactate dehydrogenase (LDH).



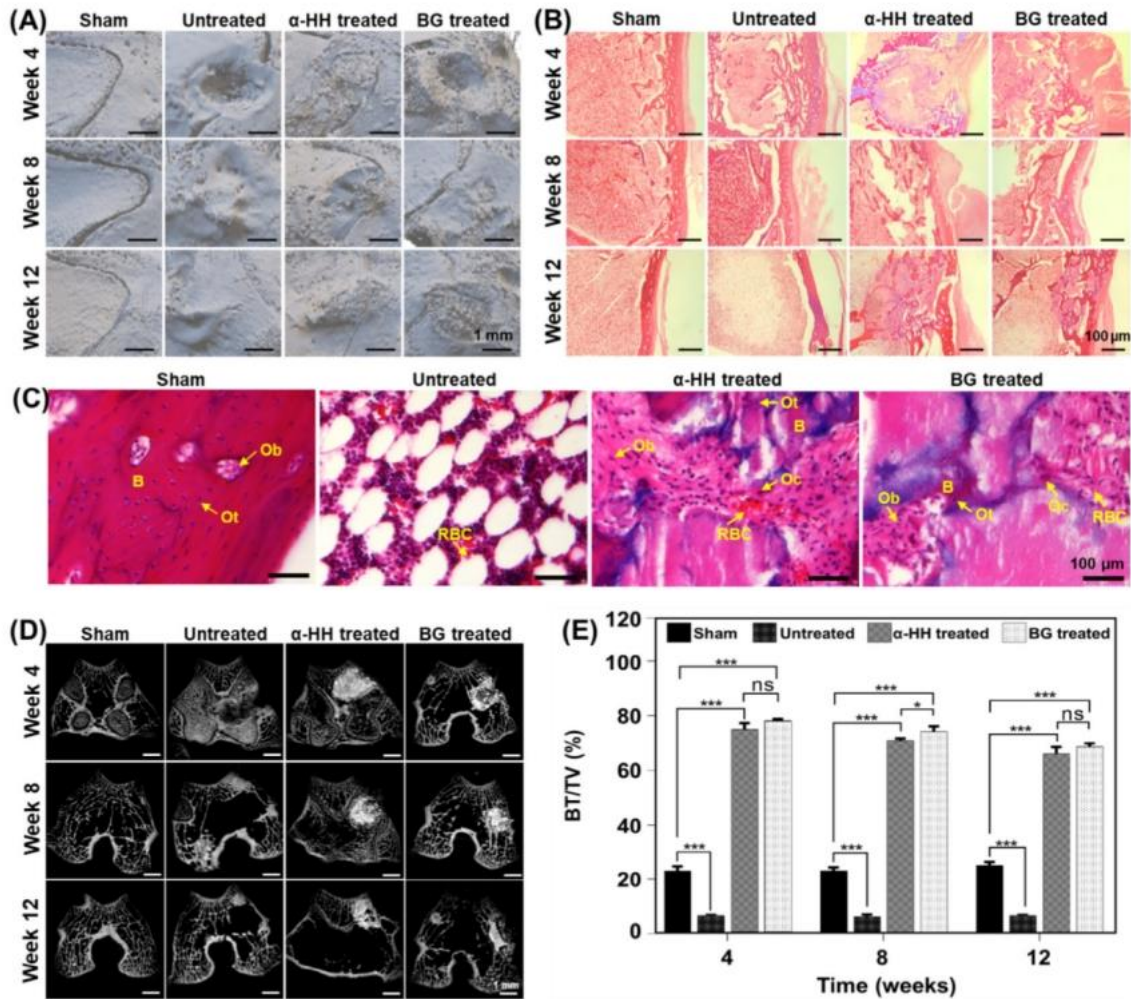
**Hình 1.7** (A) Giải đồ quang phổ FTIR (B) Giải đồ phân tích nhiệt trọng trường TGA (C) Nhiễu xạ tia X (D) Ảnh kính hiển vi điện tử quét SEM [45]

Trong cùng năm đó, nhóm tiếp tục công bố nghiên cứu liên quan đến tổng hợp  $\alpha$ -HH từ DH bằng phương pháp phá mẫu vi sóng [55]. Cấu trúc của sản phẩm được chứng minh bằng giải đồ XRD, phổ hồng ngoại FT-IR và đồ thị phân tích nhiệt quét vi sai DSC. Bột  $\alpha$ -HH tạo thành là các tinh thể hình que, kích thước thống kê từ ảnh SEM có chiều dài trung bình là  $9,54 \pm 2,79 \mu\text{m}$ , đường kính trung bình là  $1,67 \pm 0,29 \mu\text{m}$ . Độ tinh khiết của  $\alpha$ -HH trong sản phẩm được tính toán từ đường cong phân tích nhiệt TGA là 97,77%, có khả năng ứng dụng trong các lĩnh vực Y sinh. Phân tích một số điều kiện ứng dụng trong Y sinh và cấy ghép phẫu thuật cho thấy hàm lượng kim loại nặng trong mẫu nằm ở mức cho phép theo tiêu chuẩn, tuy nhiên đánh giá cơ học về thời gian cần để  $\alpha$ -HH đóng rắn còn dài. Thử nghiệm độc tính tế bào (MTT) cũng cho thấy khả năng tương thích sinh học tốt của vật liệu, nhưng khả năng sống sót và phát triển của tế bào còn thấp.



**Hình 1.8** (A) Tốc độ phân hủy và giá trị pH thay đổi theo thời gian ngâm trong dung dịch SBF (B) Đánh giá độc tính tế bào với các nồng độ HH khác nhau [45]

Năm 2023, một công bố khác của nhóm về vật liệu  $\alpha$ -HH được chế tạo từ tiền chất DH bằng phương pháp dung dịch muối với sự có mặt của  $H_2SO_4$  và oleic acid [46]. Sản phẩm của quá trình tổng hợp được tiến hành đánh giá về tính chất hóa lý. Bên cạnh đó, thử nghiệm vô khuẩn chứng minh tính vô trùng của  $\alpha$ -HH tổng hợp trước và sau khi chiếu xạ tia gamma, cho thấy sự phù hợp của vật liệu này đối với cấp độ phẫu thuật. Điều quan trọng là  $\alpha$ -HH tổng hợp được thể hiện khả năng tương thích sinh học tốt và kích thích sự bám dính của nguyên bào sợi. Trong mô hình *in vivo*,  $\alpha$ -HH cho thấy hoạt động vượt trội trong việc cải thiện quá trình lên men của nguyên bào xương và sự hình thành xương mới, được xác nhận bằng micro-CT và xét nghiệm mô học (Hình 1.9). Những kết quả này cung cấp bằng chứng mạnh mẽ cho thấy  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong nghiên cứu này có thể tăng cường các đặc tính tái tạo xương và có tiềm năng trở thành một ứng cử viên đầy triển vọng cho ứng dụng trong sửa chữa khiếm khuyết xương.



**Hình 1.9** Nghiên cứu khả năng tái tạo xương *in vivo*: (A) Hình ảnh micro-CT 3D, (B, C) nhuộm H&E (B: ma trận xương, Ob: nguyên bào xương, Ot: tế bào xương, Oc: hủy cốt bào), (D) hình ảnh micro-CT 2D, và (E) phần trăm thể tích xương ở vùng khiếm khuyết [46]

Nhìn chung, HH đã được nghiên cứu và tổng hợp thông qua nhiều phương pháp khác nhau, chẳng hạn như gia nhiệt bằng nồi hấp, tổng hợp hóa học, quy trình thủy nhiệt, quy trình dung dịch alcohol-nước, quy trình oxy hóa, lắng đọng điện hóa, phương pháp vi nhũ tương và phương pháp có sự hỗ trợ của vi sóng. Trong đó, phương pháp thủy nhiệt dưới điều kiện áp suất cao và phương pháp nồi hấp thông thường là hai quá trình đã được thử nghiệm sản xuất ở quy mô công nghiệp. Trong khi phương pháp nồi hấp truyền thống đơn giản, sản phẩm có độ bền cơ học kém hơn, thì phương pháp thủy nhiệt thực hiện thu được các sản phẩm có độ kết tinh cao nhưng chi phí sản xuất cao hơn [56]. Do mức tiêu thụ năng lượng cao và hoạt động liên tục không thuận lợi ở áp suất cao, các phương pháp thay thế đã trở thành mục tiêu nghiên cứu của các nhà khoa học. Phương pháp

dung dịch muối đã được đề xuất như một phương pháp thay thế để sản xuất  $\alpha$ -HH nhờ vào sử dụng các vật liệu sẵn có và tiết kiệm chi phí như calcium chloride và tiền chất calcium sulfate dihydrate. Đây là một kỹ thuật đơn giản, không cần máy móc chuyên dụng nên phù hợp cho sản xuất quy mô lớn. Trong quá trình này, dung dịch muối được sử dụng làm môi trường kết tinh sẽ ức chế hoạt động của nước và rút ngắn đáng kể thời gian phản ứng [46], [53]. Bên cạnh đó, dung dịch muối này có thể được tái chế trong quá trình sản xuất, do đó giảm tiêu thụ môi trường tạo kết tinh và chi phí sản xuất [46]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã báo cáo các ion kim loại ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,...) có thể hấp thụ một phần trên bề mặt hoặc được tích hợp vào mạng tinh thể của  $\alpha$ -HH trong quá trình kết tinh [49], [57], [58]. Chẳng hạn, một nghiên cứu của Ru và cộng sự (năm 2012) đã báo cáo về vai trò và ảnh hưởng của NaCl [58]. NaCl đóng vai trò là môi trường kết tinh đầy tiềm năng cho quá trình khử nước của tiền chất gypsum và khi tăng nồng độ sẽ đẩy nhanh quá trình phản ứng, rút ngắn thời gian phản ứng. Tuy nhiên, nồng độ NaCl quá cao có thể dẫn đến sự kết tinh của ion  $\text{Na}^+$  trong mạng tinh thể CaS, tạo thành muối kép  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{CaSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Ngoài ra, ở nghiên cứu trước đó của nhóm nghiên cứu, khi tổng hợp  $\alpha$ -HH bằng phương pháp dung dịch muối và có sự tham gia của  $\text{H}_2\text{SO}_4$  như chất xúc tác, oleic acid với vai trò chất hoạt động bề mặt. Mặc dù, cho kết quả đánh giá *in vitro* và *in vivo* cho kết quả khả quan về hiệu quả tái tạo xương so với sản phẩm hiện có trên thị trường. Tuy nhiên, sự có mặt của các tác chất này có thể dẫn đến rủi ro về nguy cơ lẫn tạp chất trong sản phẩm cuối cùng nếu không được lọc rửa hoàn toàn. Điều này làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm thu được. Do đó, trong nghiên cứu này, để đạt được mục tiêu đã đề ra trước đó, vật liệu gốc sinh học  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được hình thành dựa trên tập hợp các hạt tinh thể  $\alpha$ -HH dạng que có tỉ lệ kích thước lớn, được tổng hợp bằng phương pháp dung dịch muối sử dụng dung dịch  $\text{CaCl}_2$  làm môi trường kết tinh.

## CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1 Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu tập trung tổng hợp thành công vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate ( $\alpha$ -HH) cấu trúc xốp định hướng trong ứng dụng tái tạo xương.

#### 2.1.2 Phạm vi nghiên cứu

Luận văn được giới hạn trong phạm vi nghiên cứu về quy trình chế tạo gốm sinh học  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp có các đặc tính cơ lý hóa và sinh học phù hợp ứng dụng tái tạo xương. Cụ thể, vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được tổng hợp bằng phương pháp dung dịch muối. Dựa trên nghiên cứu tổng quan về ảnh hưởng của các thông số điều kiện phản ứng đến quá trình tổng hợp vật liệu bằng phương pháp dung dịch muối, tiến hành thiết kế thí nghiệm khảo sát các yếu tố liên quan đến nhiệt độ phản ứng, thời gian phản ứng và nồng độ dung dịch muối sử dụng và tiến hành thực nghiệm. Vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được tổng hợp dưới điều kiện phản ứng cụ thể được tiến hành đánh giá các tính chất hóa lý, đặc tính cơ học bằng các phương pháp phân tích hiện đại có độ chính xác cao được cung cấp bởi các trung tâm nghiên cứu phân tích và các Viện Khoa học tại Thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội. Cuối cùng, các thử nghiệm đánh giá sinh học được thực hiện dưới sự hướng dẫn của các chuyên viên có kinh nghiệm tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ, Viện Công nghệ Hóa học.

### 2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.2.1 Hóa chất, thiết bị và dụng cụ thí nghiệm

- Danh mục hóa chất

**Bảng 2.1** Bảng danh mục hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên hóa chất	Hãng sản xuất	Xuất xứ
1	Calcium chloride Anhydrous ( $\text{CaCl}_2$ , 97%)	Sigma-Aldrich	Mỹ
2	Calcium sulfate dihydrate ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , $\geq 99\%$ )	Sigma-Aldrich	Mỹ
3	Aceton	Fisher	Mỹ



STT	Tên hóa chất	Hãng sản xuất	Xuất xứ
4	Nước deion	Viện CNHH	Việt Nam
5	Sodium chloride (NaCl, >99%)	Sigma-Aldrich	Mỹ
6	Sodium hydrogen carbonate (NaHCO <sub>3</sub> , >99%)	Fisher	Mỹ
7	Potassium chloride (KCl, >99%)	Fisher	Mỹ
8	Di-potassium hydrogen phosphate trihydrate (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O, >99%)	Merck	Mỹ
9	Magnesium chloride hexahydrate (MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O, >99%)	Sigma-Aldrich	Mỹ
10	Sodium sulfate (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , >99%)	Fisher	Mỹ
11	Tris-hydroxymethyl aminomethane (TRIS, (HOCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub> , >99%)	Sigma-Aldrich	Mỹ
12	Hydrochloric acid (1M)	Fisher	Mỹ
13	Dung dịch pH chuẩn (pH 4,7 và 9)		
14	Môi trường nuôi cấy Dulbecco's Modified Eagle Medium	Gibco	Mỹ
15	Môi trường fetal bovine serum (FBS)	Gibco	Mỹ
16	Penicillin- Streptomycin	Sigma-Aldrich	Mỹ
17	Trypsin/EDTA 10x	Sigma-Aldrich	Mỹ
18	MTT Formazan	Sigma-Aldrich	Mỹ
19	Methanol	Fisher	Mỹ
20	Phosphate-buffered saline (DPBS), Dulbecco's formula, without calcium, without magnesium	Gibco	Mỹ
21	Crystal violet	Sigma-Aldrich	Mỹ

➤ Dụng cụ và trang thiết bị

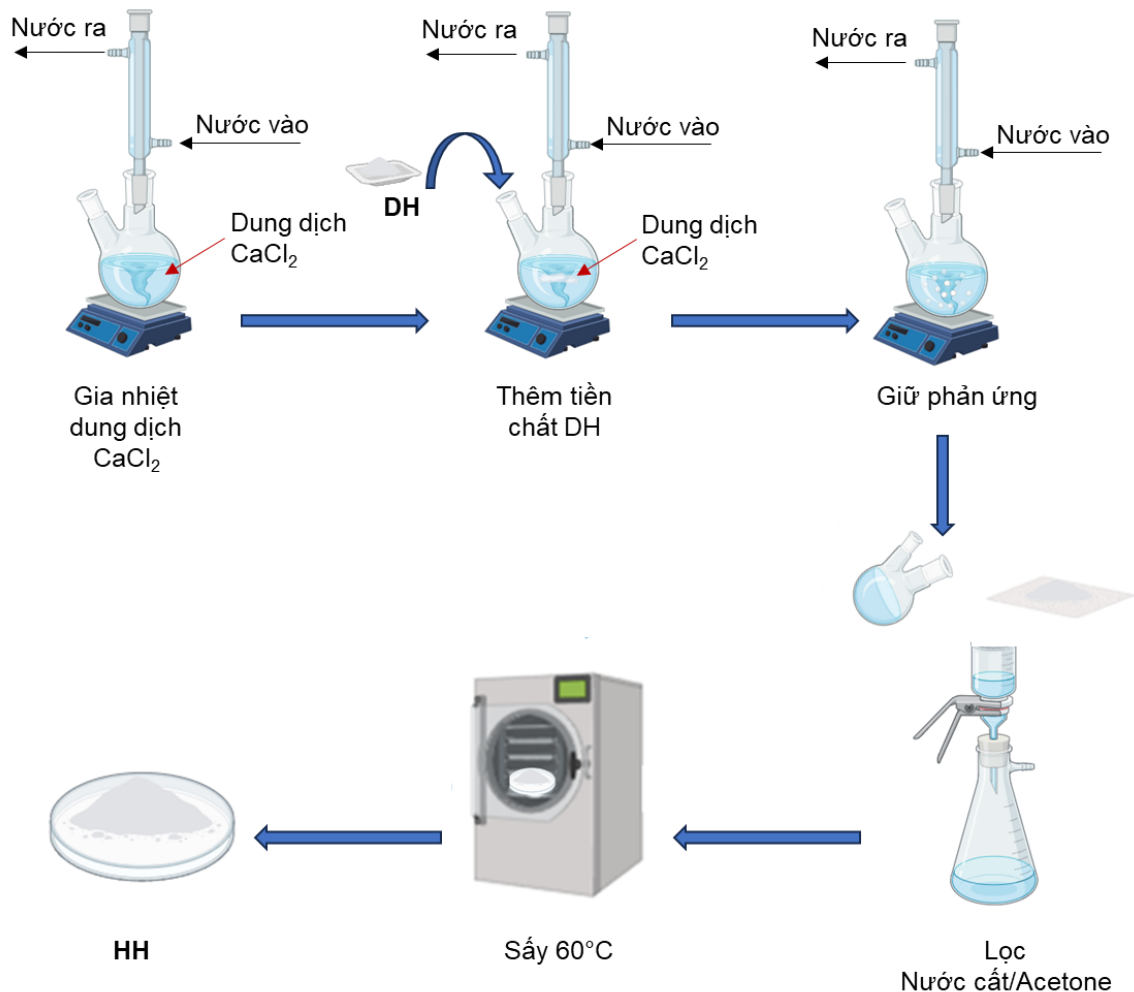
**Bảng 2.2** Bảng danh mục trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên thiết bị, dụng cụ	Nhà sản xuất	Xuất xứ
1	Cân phân tích 4 số lẻ	Ohaus	Mỹ
2	Máy khuấy từ gia nhiệt	Velp	Ý
3	Cốc 100, 250, 500 mL	Duran	Đức
4	Bình cầu ba cổ nhám 1000 mL	Duran	Đức
5	Pipette pasteur	Isolab	Đức
6	Micropipette	Eppendorf	Đức
7	Ống sinh hàn	Duran	Đức
8	Máy đo pH	Hana instrument	Romania
9	Hệ thống lọc hút chân không		
10	Tủ sấy đối lưu cưỡng bức	JeioTech	Hàn Quốc
11	Bể điều nhiệt	JeioTech	Hàn Quốc
12	Máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier FouFT-IR	Perkin Elmer	Mỹ
13	Hệ thống kính hiển vi điện tử quét, IT200	Jeol	Nhật Bản
14	Máy phân tích nhiệt trọng trường- nhiệt quét vi sai TGA-DSC 3+	Mettler Toledo	Mỹ
15	Máy quang phổ nhiễu xạ XRD đo góc hẹp, D8 Advance Eco	Bruker AXS	Đức
16	Kính hiển vi soi ngược	Leica Microsystems, Wetzlar	Đức

## 2.2.2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.2.1 Phương pháp tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

$\alpha$ -HH được tổng hợp bằng phương pháp dung dịch muối thông qua phản ứng dehydrat hóa tiền chất DH. Một cách tổng quát,  $\text{CaCl}_2$  được hòa tan trong nước deion với nồng độ (5 – 40)% theo khối lượng và chứa trong bình cầu ba cổ 1000 mL. Tiến hành khuấy và gia nhiệt đến nhiệt độ thích hợp (90 – 120) $^\circ\text{C}$  bằng máy khuấy từ gia nhiệt, tốc độ khuấy 250 vòng/phút. Sau đó, tiền chất DH được thêm vào dung dịch  $\text{CaCl}_2$  và tiếp tục khuấy. Quá trình dehydrat hóa tiền chất DH thành HH được tiến hành trong (30 – 180) phút. Dịch huyền phù cuối cùng được lọc bằng máy lọc hút chân không bằng nước cất đun sôi và rửa với acetone nhằm loại bỏ hoàn toàn lượng nước còn lại. Sản phẩm thu được sau lọc được sấy ở nhiệt độ 60 $^\circ\text{C}$  trong 24h. Bảo quản sản phẩm ở nơi có nhiệt độ thấp hoặc bình hút ẩm nhằm hạn chế sự tái hấp thu nước. Quy trình tổng quát tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được sơ đồ hóa ở **Hình 2.1**.



**Hình 2.1** Sơ đồ mô tả quy trình tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

Dựa trên nội dung nghiên cứu tổng quan về các thông số phản ứng ảnh hưởng đến quy trình tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH bằng phương pháp dung dịch muối. Vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được tổng hợp bằng phương pháp này được nghiên cứu khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên quá trình tổng hợp bao gồm nhiệt độ phản ứng, thời gian phản ứng và nồng độ dung dịch muối được sử dụng. Thông số khảo sát được nghiên cứu tiến hành được trình bày trong **Bảng 2.3**.

**Bảng 2.3** Bảng thông số khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

Thí nghiệm	Mẫu	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Nồng độ CaCl <sub>2</sub> (%)
TN1: Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp	HH-1	90 – 100	60	40
	HH-2	100 – 110		
	HH-3	110 – 120		
TN2: Khảo sát ảnh hưởng thời gian phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp	HH-30	Nhiệt độ thích hợp	30	40
	HH-60		60	
	HH-90		90	
	HH-120		120	
	HH-150		150	
	HH-180		180	
TN3: Khảo sát ảnh hưởng nồng độ dung dịch CaCl <sub>2</sub> đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp	HH-5%	Nhiệt độ thích hợp	Thời gian thích hợp	5
	HH-10%			10
	HH-20%			20
	HH-40%			40

#### 2.2.2.2 Phương pháp đánh giá đặc trưng cấu trúc của vật liệu

Phương pháp đánh giá đặc điểm đặc trưng cấu trúc của vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được sử dụng trong luận văn gồm: (1) định tính cấu trúc bằng phương

pháp phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được thực hiện bằng máy quang phổ FTIR (Frontier FTIR/NIR, Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, USA); (2) đánh giá độ kết tinh bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) thực hiện trên thiết bị D8 Advance Eco, Bruker AXS, Đức), bức xạ Cu/K $\alpha$  ( $\lambda=1,54060$  Å) ở tốc độ quét 5°/phút, phạm vi quét 2 $\theta$  từ 10 – 60°; (3) định tính và định lượng thành phần pha, độ tinh khiết bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng trường kết hợp phân tích nhiệt quét vi sai (TGA-DSC) được thực hiện bằng máy TGA-DSC Mettler Toledo 3+, sử dụng lọ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> để chứa mẫu và thiết lập quét từ 50 – 300°C, 10°C/phút trong không khí; (4) đánh giá hình thái học của  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM, Jeol, IT200, Nhật Bản).

### ***2.2.2.3 Đánh giá độ xốp bằng phương pháp xác định khối lượng riêng theo nguyên lý Archimedes***

Phương pháp thực hiện dựa trên nguyên lý Archimedes bằng cách ngâm mẫu vật liệu vào chất lỏng ngâm, thường sử dụng nhất là nước. Tuy nhiên, đối với một số vật liệu có phản ứng với nước, trong trường hợp  $\alpha$ -HH, các chất lỏng hữu cơ có thể được sử dụng chẳng hạn paraffin hoặc dibutyl phtalat. Quy trình đánh giá được tiến hành tuân theo tiêu chuẩn quốc tế ISO 18754:2013 được trình bày chi tiết ở Phụ lục 1.1. Cụ thể, các khối vật liệu được sấy ở nhiệt độ  $110 \pm 5^\circ\text{C}$  đến khi ghi nhận khối lượng khô không đổi  $m_1$  của vật liệu. Sau đó, các khối vật liệu được đặt trên một hệ treo trong hệ chân không để loại bỏ không khí bên trong cấu trúc của vật liệu xốp. Sau đó, tiến hành ngâm mẫu trong chất lỏng có thể tích nhất định trong 30 phút và ghi nhận giá trị khối lượng biểu kiến  $m_2$ . Cuối cùng, mẫu sau khi ngâm được lấy khỏi chất lỏng ngâm và cân ghi nhận giá trị khối lượng mẫu sau ngâm  $m_3$ . Độ xốp của vật liệu được xác định bởi công thức sau:

$$\varphi = \frac{m_3 - m_1}{m_3 - m_2} \times 100$$

### ***2.2.2.4 Phương pháp đánh giá cường độ chịu nén***

Phương pháp đánh giá tính chất cơ học của vật liệu được sử dụng trong đề tài dựa theo tiêu chuẩn ASTM C – 472 – 99. Các mẫu vật liệu được chuẩn bị và đo trên máy thử nghiệm đa năng. Cường độ chịu nén là ứng suất nén có thể phá hủy của vật liệu, được tính bằng lực trên một đơn vị diện tích.

Mẫu thử nghiệm chuẩn bị có dạng trụ với đường kính 6 mm và cao 12 mm bằng cách làm đầy khuôn có kích thước phù hợp tương ứng và bảo quản ở độ ẩm tương đối 100% ở 37°C đến khi mẫu đông rắn hoàn toàn. Các mẫu thử được lấy ra khỏi khuôn và được đo bằng máy thử nghiệm đa năng với tốc độ đầu nén di chuyển với tốc độ 1 mm/phút. Áp dụng tải liên tục và không bị sốc, ở tốc độ không đổi trong khoảng 15 đến 40 psi /s. Không vượt quá 40 psi /s ((275 kPa)/s) sau khi đã đạt đến 50% tải tối đa. Để thu được các giá trị trung bình cùng với độ lệch chuẩn của nó, ba mẫu đã được thử nghiệm cho mỗi nhóm. Kết quả về cường độ nén được tính toán theo diện tích đáy và tải trọng phá hủy lớn nhất của mỗi mẫu. Cường độ nén tính bằng psi (Mpa) được làm tròn chính xác đến psi toàn phần gần nhất (0,1 Mpa).

Tải trọng tối đa cần thiết để làm gãy từng mẫu thử đã được đo và cường độ nén được tính theo công thức sau:

$$C = \frac{4P}{\pi D^2}$$

Trong đó: P là lực tải trọng lớn nhất (N)  
D là đường kính của mẫu trụ (cm)  
C là cường độ chịu nén tối đa (N/cm<sup>2</sup>)

#### **2.2.2.5 Phương pháp đánh giá độ vô khuẩn**

Độ vô khuẩn của vật liệu được đánh giá theo TCVN 1023:1991 dựa trên sự phát triển của vi khuẩn và nấm khi được nuôi cấy trong môi trường có chất dinh dưỡng tại điều kiện thích hợp (30 - 35°C), dẫn đến sự hình thành của khuẩn lạc .. Trong thí nghiệm này, thạch agar sẽ được sử dụng làm môi trường dinh dưỡng để theo dõi sự phát triển của vi sinh vật (nếu có) trong các mẫu vật liệu.

Đầu tiên, 63 g Casein Agar được hòa tan hoàn toàn trong 1000 mL nước deion sôi và được hấp khử trùng để chuẩn bị đĩa thạch. Sau khi nhiệt độ giảm xuống khoảng 45°C, 20 mL dung dịch agar được đổ vào các đĩa petri có đường kính 9 cm và để đông đặc qua đêm ở nhiệt độ phòng. Tiếp đến, 100 mg bột  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp sẽ được chuẩn bị và pha loãng trong 1 mL deion (Có thể bổ sung 1 g/mL polysorbate 80 (TT) để tăng khả năng thấm nước của mẫu). Cuối cùng, 100  $\mu$ L mẫu trước hoặc sau khi khử trùng được dàn đều lên bề mặt đĩa thạch và ủ ở 30 – 35°C trong ít nhất 14 ngày. Số lượng vi khuẩn trên mililit hoặc gam mẫu (CFU/mL hoặc CFU/g) được tính theo công thức sau:

$$A = \frac{N}{n_1 V f_1 + \dots + n_i V f_i}$$

Trong đó: A: số khuẩn lạc có trong 1g hay 1ml mẫu (CFU/mL hoặc CFU/g)

N: Tổng số khuẩn lạc đã đếm được trong số các đĩa đã chọn

$n_i$ : số lượng đĩa cấy tại độ pha loãng thứ i

V: thể tích dịch mẫu (mL) cấy vào mỗi đĩa

$f_i$ : độ pha loãng tương ứng

Trong trường hợp nếu không thấy có khuẩn lạc mọc trên đĩa có độ pha loãng 1/10 thì kết luận chế phẩm có ít hơn  $10^1$  CFU trong 1g hoặc 1mL.

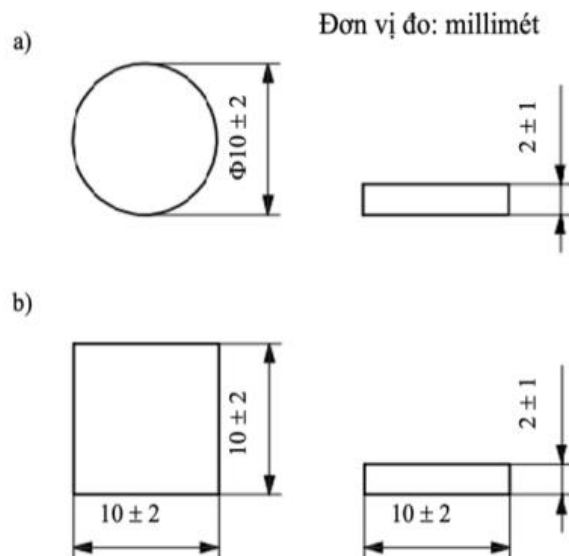
### 2.2.2.6 Phương pháp đánh giá khả năng tạo khoáng

#### ➤ Phương pháp đánh giá khả năng tạo khoáng

Phương pháp đánh giá khả năng tạo khoáng của vật liệu dựa theo tiêu chuẩn ISO 23317:2014.

#### ❖ Chuẩn bị mẫu:

Theo tiêu chuẩn quốc tế, các mẫu vật có hình dạng và kích thước không nhất định đều có thể được sử dụng. Tuy nhiên, mẫu vật có hình dạng đĩa hoặc hình chữ nhật được khuyến khích sử dụng, do diện tích bề mặt lớn cho phép khả năng hình thành apatite sẽ được đánh giá dễ dàng hơn trên bề mặt của vật liệu. Đánh giá sự hình thành apatite được thực hiện phương pháp FTIR và SEM. Kích thước của mẫu vật được đề xuất như **Hình 2.1**.



**Hình 2.1** Kích thước mẫu vật a) hình đĩa và b) hình chữ nhật

❖ Chuẩn bị dung dịch SBF

Dung dịch mô phỏng SBF là dung dịch có nồng độ ion gần bằng huyết tương người, được giữ ở điều kiện pH và nhiệt độ sinh lý tương tự. Quy trình chuẩn bị dung dịch SBF được thực hiện theo các bước theo tiêu chuẩn ISO 23317:2014.

❖ Quy trình đánh giá

Mẫu ngâm trong ống nhựa chứa dung dịch SBF pH 7,4. Đầu tiên, gia nhiệt một lượng thể tích dung dịch SBF (được tính theo công thức (1)) đến nhiệt độ 36,5°C. Sau đó, tiến hành ngâm mẫu sao cho mẫu thử hoàn toàn chìm trong dung dịch SBF như Hình 2.2. Sau thời gian ngâm 1, 3, 5, 7, 14 và 28 ngày, mẫu được rửa bằng nước cất để loại bỏ các muối tan, sau đó làm khô mẫu. Phân tích khoáng hình thành trên bề mặt thông qua định tính cấu trúc bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) và hình ảnh bề mặt vật liệu bằng phương pháp phân tích hình thái học qua kính hiển vi điện tử quét

$$V_s = \frac{S_a}{10} \quad (1)$$

Trong đó:  $V_s$ : thể tích của SBF (mL)

$S_a$ : diện tích bề mặt của mẫu vật (mm<sup>2</sup>)



**Hình 2.2** Mẫu thử nghiệm  $\alpha$ -HH ngâm trong dung dịch SBF ở các mốc thời gian xác định



### 2.2.2.7 Phương pháp đánh giá khả năng tương thích tế bào

Độ tương thích tế bào trong ống nghiệm của  $\alpha$ -HH xấp được đánh giá trên dòng tế bào L929 thông qua xét nghiệm định lượng Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) [46]. MTT là phương pháp định lượng tế bào sống đơn giản và nhanh chóng thông qua phản ứng khử 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (màu vàng) bởi NADPH có mặt trong ti thể của tế bào sống thành tinh thể formazan màu tím xanh. Từ đó, lượng hấp thụ màu đo dưới UV sẽ phản ánh được số lượng tế bào còn sống.

Mẫu dịch chiết được chuẩn bị bằng cách ngâm mẫu bột  $\alpha$ -HH trong môi trường nuôi cấy DMEM ở nồng độ 0,1 g/mL. Điều kiện chiết được khuyến nghị là không ít hơn 24 giờ ở  $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ ;  $(72 \pm 2)$  giờ ở  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ ;  $(24 \pm 2)$  giờ ở  $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$ ;  $(1 \pm 0,2)$  giờ ở  $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Lưu ý: Để đảm bảo vô trùng, các mẫu trước tiên được khử trùng bằng cách chiếu UV trong 2 giờ. Sau khi ủ, dịch chiết của mẫu được lọc qua màng lọc khuẩn (kích thước lỗ 0,22  $\mu\text{m}$ ).

Tế bào L929 ( $1 \times 10^4$  tế bào/giếng) được ủ trong 24 giờ ở điều kiện 5%  $\text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$ , > 90% độ ẩm, sau đó quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược để quan sát hình thái tế bào và đảm bảo sự hình thành của lớp đơn tế bào ở đáy giếng. Sau đó, môi trường ủ trước đó được loại bỏ, tiến hành ủ tế bào với dịch chiết vật liệu đã chuẩn bị trước đó và giữ trong tủ ấm 24 giờ. Sau đó, 20  $\mu\text{l}$  dung dịch MTT (5 mg/ml) được cho vào các giếng nuôi và đĩa cấy 96 giếng được giữ trong tủ ấm 4 giờ. Cuối cùng, loại bỏ dung dịch trong đĩa cấy, cho vào mỗi giếng 100  $\mu\text{l}$  DMSO để hòa tan hoàn toàn cặn lắng. Tế bào được ủ với môi trường được dùng làm mẫu đối chứng âm. Tế bào được ủ với môi trường có bổ sung 0,1% SDS được dùng làm mẫu đối chứng dương. Các mẫu thí nghiệm được lặp lại 4 lần.

Các đĩa tế bào được đo độ hấp phụ (Abs) bằng máy HumanReader HS (Human, Germany) ở bước sóng 570 nm. Phần trăm tế bào sống được tính theo công thức sau:

$$\text{Tế bào sống (\%)} = ([\text{Abs}]_{\text{mẫu}} - [\text{Abs}]_{\text{mẫu trắng}}) / ([\text{Abs}]_{\text{đối chứng}} - [\text{Abs}]_{\text{mẫu trắng}}) \times 100\%$$

### 2.2.2.8 Phương pháp đánh giá khả năng bám dính

Sau khi vô trùng mẫu bằng cách chiếu UV trong 2 giờ, mẫu được đặt trong đĩa cấy 24 giếng. Nồng độ tế bào được khảo sát ở các nồng độ 1500 tế bào/mg, 3000 tế bào/mg và 6000 tế bào/mg. Môi trường nuôi cấy được thay 3 lần/tuần cho

đến khi kết thúc thí nghiệm. Để quan sát sự bám dính của tế bào trên vật liệu, phương pháp nhuộm với crystal violet được thực hiện sau 4 giờ, 4 ngày, 7 ngày và 14 ngày ủ tế bào lên vật liệu với các nồng độ tế bào khác nhau. Mẫu được cố định bằng methanol lạnh, nhuộm 0,1% Crystal violet, rửa lại 2 lần bằng PBS, để khô và quan sát bằng kính hiển vi soi ngược [59].

#### ***2.2.2.9 Phân tích thống kê***

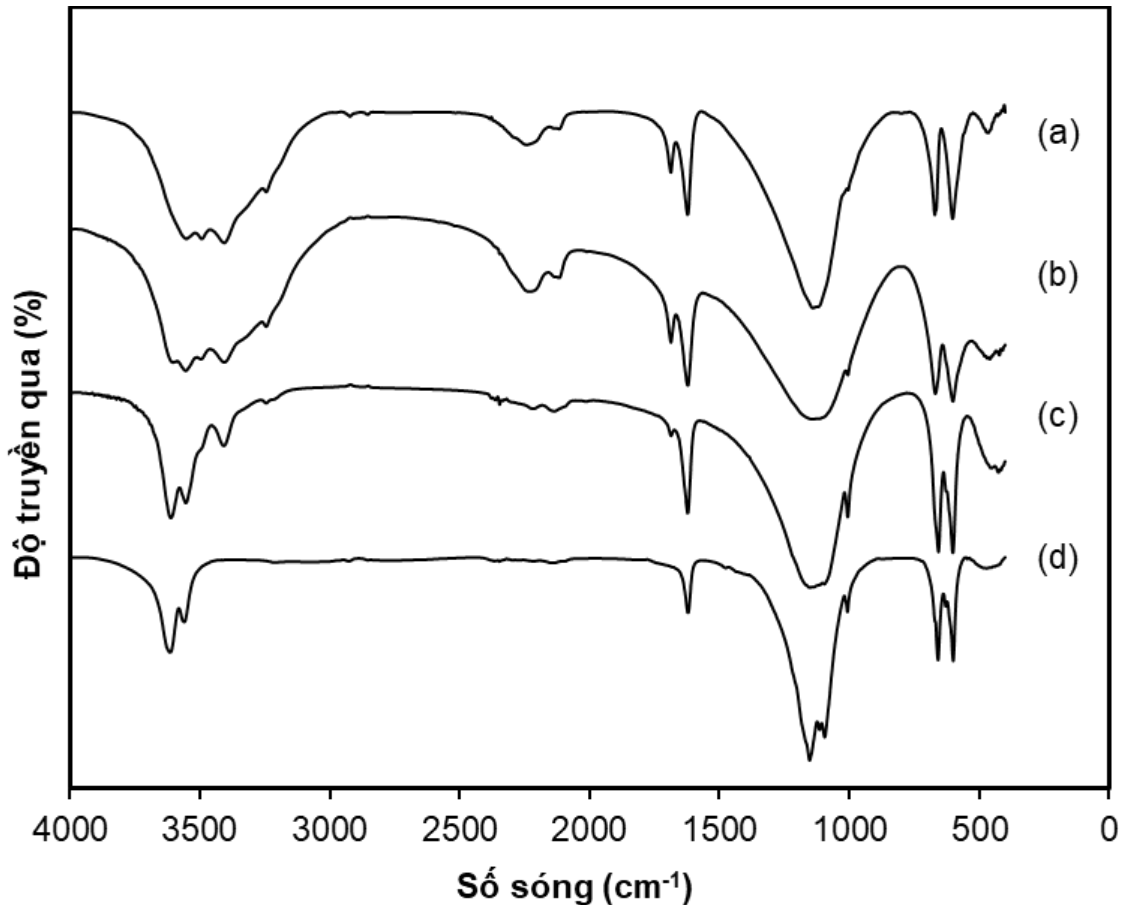
Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần và mỗi điều kiện được phân tích ba lần. Sử dụng công cụ phân tích dữ liệu trong excel để phân tích thống kê. Trong tất cả các thử nghiệm đánh giá,  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 KẾT QUẢ TỔNG HỢP VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP

#### 3.1.1 Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xóp

➤ Kết quả định tính cấu trúc bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)



**Hình 3.1** Phổ FTIR của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau: (b) HH-1 (90-100°C), (c) HH-2 (100-110°C), (d) HH-3 (110-120°C).

FTIR là một kỹ thuật cho phép chỉ ra sự hiện diện (hoặc vắng mặt) của các nhóm chức khác nhau trong các chất và các nhóm chức của các cấu trúc thay đổi cụ thể tùy thuộc vào từng bước phản ứng hóa học, và do đó có thể quan sát được cấu trúc của từng sản phẩm. Thông qua phổ IR có thể xác nhận rằng quá trình tổng hợp diễn ra thành công theo đúng cơ chế của nó.

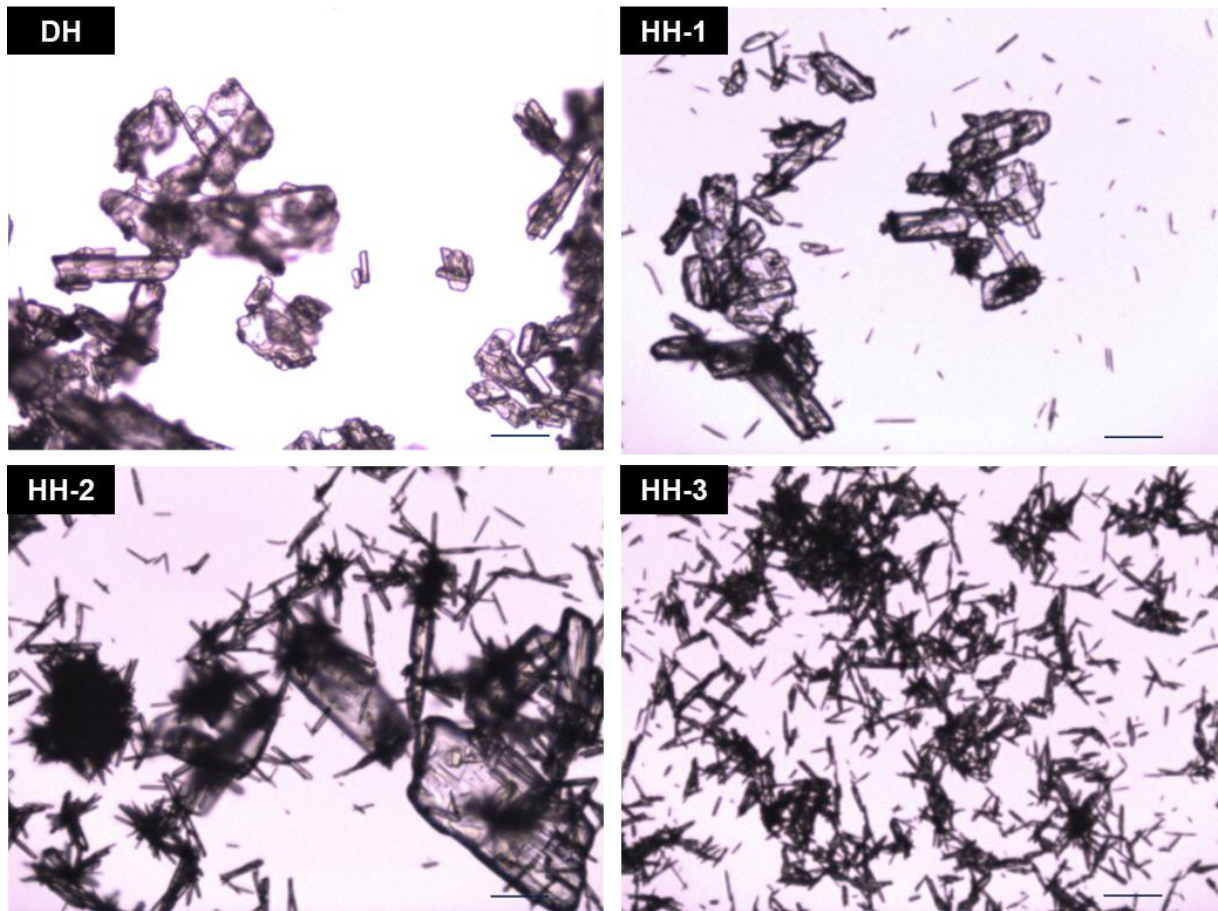
Kết quả phân tích phổ FTIR của tiền chất DH và các mẫu HH thu được ở các nhiệt độ tổng hợp khác nhau được trình bày ở Hình 3.1. Có thể thấy, kết quả FTIR cho thấy tiền chất DH và các mẫu phân tích đều chung biểu hiện các đỉnh đặc trưng ở các đỉnh hấp thụ  $3614\text{ cm}^{-1}$  và  $3561\text{ cm}^{-1}$ ;  $1622\text{ cm}^{-1}$  tương quan với dao động của nhóm OH<sup>-</sup> trong tinh thể nước trong HH. Các đỉnh hấp thụ khác ở các vị trí  $1151 - 1097\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma_3\text{ SO}_4^{2-}$  giãn),  $1006\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma_1\text{ SO}_4^{2-}$  giãn),  $657\text{ cm}^{-1}$  và  $601\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma_4\text{ SO}_4^{2-}$  giãn), đặc trưng cho dao động của  $\text{SO}_4^{2-}$ . Đặc biệt, đỉnh xuất hiện ở vị trí  $657\text{ cm}^{-1}$  trong phổ hồng ngoại FTIR chứng minh rằng mẫu sản phẩm thu được bao gồm pha tinh thể  $\alpha$ -HH. Tuy nhiên, phổ IR của mẫu tổng hợp ở điều kiện nhiệt độ trong khoảng  $90 - 100\text{ }^\circ\text{C}$  (Hình 3.1 a) minh họa đỉnh hấp phụ ở số sóng  $1684\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động uốn O-H trong phân tử DH. Điều này có thể cho kết luận rằng mẫu được tổng hợp ở điều kiện nhiệt độ dưới  $100\text{ }^\circ\text{C}$  vẫn còn chứa một lượng tiền chất DH nhất định, chưa được chuyển sang dạng HH.

Từ kết quả FTIR, có thể thấy rằng nhiệt độ phản ứng đóng vai trò như một tác nhân kích hoạt quá trình dehydrat hóa DH thành HH. Nhiệt độ trên  $100\text{ }^\circ\text{C}$  là điều kiện thích hợp để kích hoạt quá trình này, tuy nhiên, một số nghiên cứu hoặc thí nghiệm cho thấy sự chuyển đổi thành công từ DH thành HH khi phản ứng trên  $110\text{ }^\circ\text{C}$  do sự khác biệt về mức độ bão hòa trong dung dịch [60]. Do đó, phương pháp đánh giá hình thái học và phân tích nhiệt trọng trường được đề xuất nhằm chọn ra khoảng nhiệt độ tối ưu nhất cho quá trình chuyển pha DH sang HH.

➤ Kết quả đánh giá hình thái học bằng phương pháp kính hiển vi quang học

Hình thái học của các mẫu DH và HH thu được từ thí nghiệm khảo sát nhiệt độ tổng hợp được quan sát dưới kính hiển vi (10X) và thể hiện ở Hình 3.2. Nhìn chung, mẫu DH có dạng hạt hình trụ với độ dài khoảng  $22 - 98\text{ }\mu\text{m}$ , độ dày khoảng  $5 - 27\text{ }\mu\text{m}$ . Mẫu HH-1 cũng cho thấy kết quả tương tự, phản ánh sự chuyển pha không thành từ DH sang HH, phù hợp với kết quả phân tích phổ hồng ngoại IR (Hình 3.2A). Mặt khác, mẫu HH-2 đã bắt đầu cho thấy sự hiện diện của các tinh thể giống hình hình que với kích thước nhỏ hơn. Tuy nhiên, các tinh thể này không đồng nhất về kích thước và vẫn pha lẫn với các hạt hình trụ. Do đó, quá trình chuyển hóa thông qua phương pháp dung dịch muối thủy nhiệt từ DH thành HH trong khoảng nhiệt độ  $100 - 110\text{ }^\circ\text{C}$  nhìn chung chưa hiệu quả. Mặt khác, các hạt tinh thể hình que sắc nhọn được quan sát rõ ràng ở mẫu HH-3. Tuy nhiên, ảnh chụp đánh giá hình thái học không khách quan khi đánh giá hiệu suất dehydrat

hóa tiền chất DH. Do vậy, một phương pháp khá phổ biến là phương pháp phân tích nhiệt trọng trường sẽ được tiến hành nhằm cho kết quả tin cậy hơn.



**Hình 3.2** Hình ảnh quan sát dưới kính hiển vi của của tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau: (b) HH-1 (90-100°C), (c) HH-2 (100-110°C), (d) HH-3 (110-120°C). Scale bar: 20 $\mu$ m

➤ Kết quả phân tích nhiệt trọng trường kết hợp nhiệt quét vi sai (TGA-DSC)

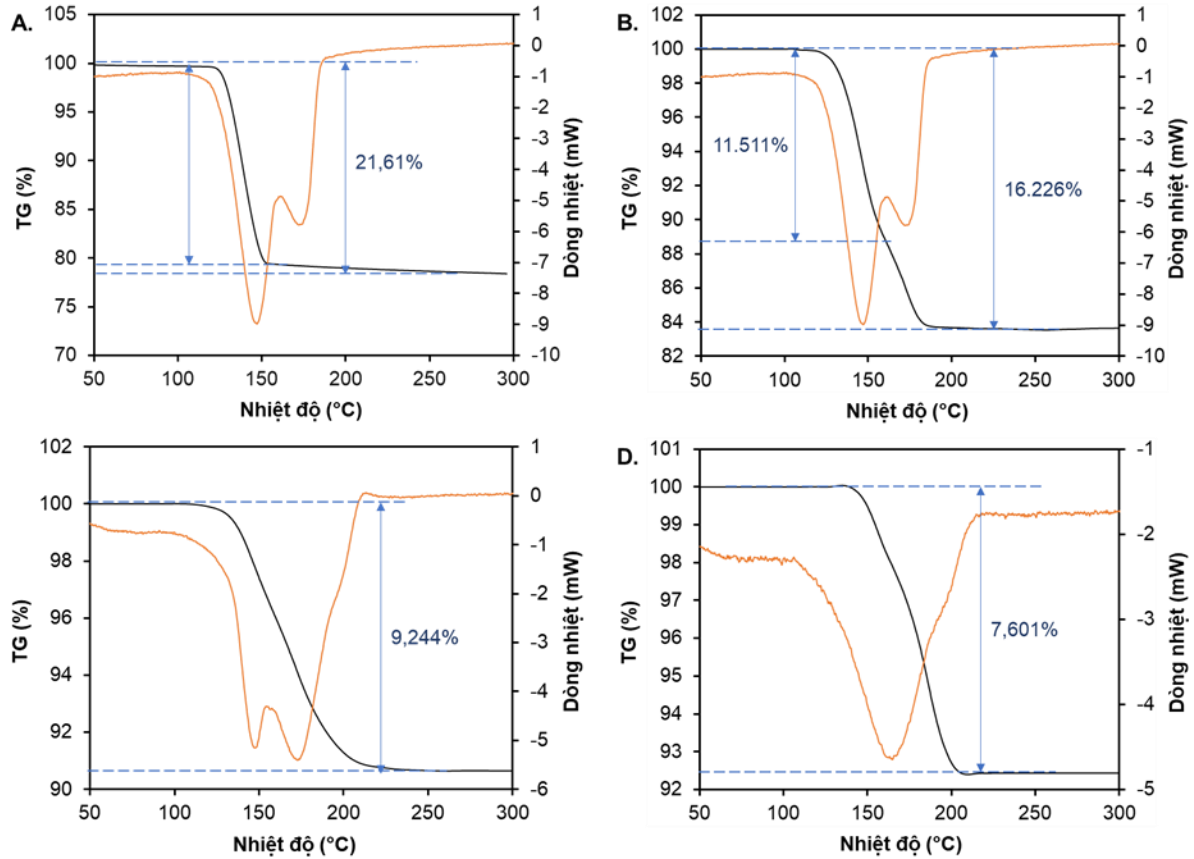
TGA-DSC là phương pháp hiệu quả để phân tích thành phần mẫu dựa trên phân tích sự thay đổi khối lượng của mẫu theo nhiệt độ và các giai đoạn chuyển pha nhiệt của vật liệu. Cụ thể, dựa trên phần trăm khối lượng mất đi của nước, ba pha calcium sulfate là DH, HH và AH trong bột thành phẩm có thể được xác định. Phần trăm khối lượng nước theo lý thuyết của HH và của DH lần lượt có giá trị là 6,2% và 20,9% [61], [62]. Vì thế, nếu kết quả phần trăm khối lượng mất đi nhỏ hơn 6,2% có nghĩa là bột thành phẩm bao gồm HH và AH. Ngược lại, bột thành phẩm bao gồm HH và DH. Công thức sau đã được sử dụng [61]:

$$6,2\% \times X + 0\% \times (1 - X) = Y, \text{ trong trường hợp bột là HH - AH} \quad (1)$$

$$6,2\% \times X + 20,9\% \times (1 - X) = Y, \text{ khi là HH - DH} \quad (2)$$

Trong đó: X là hàm lượng HH có trong mẫu bột

Y là phần trăm khối lượng mất đi khi phân tích TGA



**Hình 3.3.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA-DSC của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện khoảng nhiệt độ phản ứng khác nhau: (B) HH-1 (90-100°C), (C) HH-2 (100-110°C) và (D) HH-3 (110-120°C).

Kết quả phân tích TGA (Hình 3.3) cho thấy phần trăm khối lượng mất đi của các mẫu sản phẩm phân tích lần lượt là 16,226%; 9,244% và 7,601% tương ứng với các mẫu được tổng hợp ở các khoảng nhiệt độ (90 – 100°C); (100 – 110°C) và (110 – 120°C) tương ứng. Nhìn chung, đường cong TG ở cả 3 mẫu được tổng hợp ở cả 3 khoảng nhiệt độ đều cho giá trị hàm lượng mất khối lượng trong khoảng 6,2% - 20,9%. Do đó, có thể kết luận rằng trong mẫu sản phẩm thu được có chứa 2 pha tinh thể DH và HH; hay nói cách khác ở cả 3 khoảng nhiệt độ, quá trình dehydrat hóa tiền chất DH đều xảy ra, tuy nhiên với hiệu suất khác nhau. Dựa trên công thức (1) và (2) lần lượt tính phần trăm HH có trong mẫu sản phẩm, cho kết quả được trình bày ở bảng sau (Bảng 3.1).

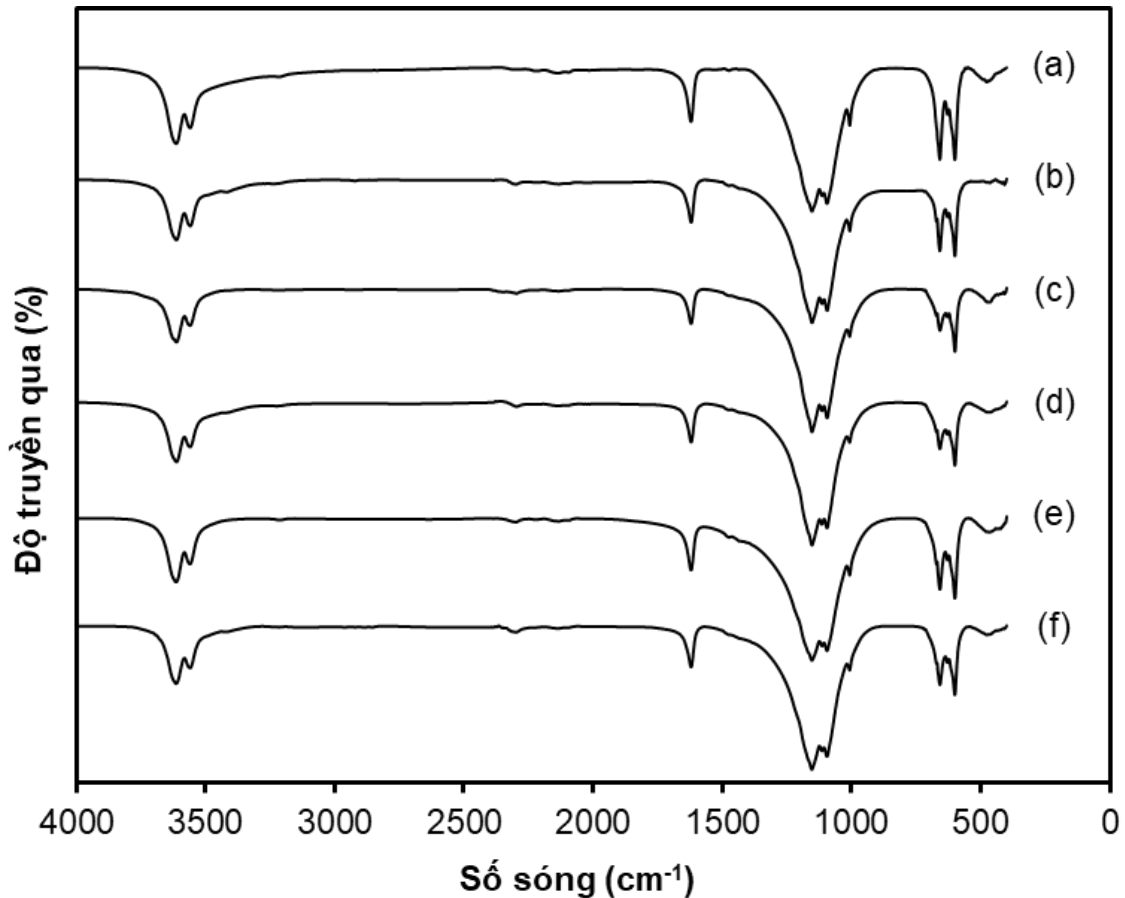
**Bảng 3.1** Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp ở các khoảng nhiệt độ khác nhau: HH-1 (90 – 100°C); HH-2 ((100 – 110°C) và HH-3 (110 – 120°C);

Mẫu	Phần trăm khối lượng mất (%)	Hàm lượng HH (%)
DH	21,61	-
HH-1	16,226	31,52
HH-2	9,244	79,29
HH-3	7,601	90,47

Bên cạnh đó, phân tích nhiệt quét vi sai DSC các mẫu bột tổng hợp (HH-1 và HH-2) cũng thêm chứng minh sự có mặt của DH với tỉ lệ tương đối cao khi đường cong DSC biểu hiện 2 bước chuyển ở điểm nhiệt độ 150 °C và 171 °C. Hai bước chuyển này cho thấy đỉnh kép tương ứng với hai bước khử nước/nung liên tiếp của  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  [50]. Điều này phù hợp với kết quả thu được từ việc đánh giá hình thái học sử dụng kính hiển vi và phổ FTIR. Từ các kết quả phân tích phổ hồng ngoại IR, đánh giá hình thái học và phân tích TGA-DSC, có thể kết luận quá trình dehydrat hóa tiền chất DH có thể tối ưu ở điều kiện nhiệt độ trên 110 °C. Do đó, điều kiện nhiệt độ trên 110 °C được chọn cho các nghiên cứu đánh giá tiếp theo. Hơn nữa, một điều đáng chú ý có thể dự đoán từ kết quả TGA-DSC là thời gian phản ứng cũng được dự đoán là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình tổng hợp  $\alpha$ -HH được minh họa bởi khi nhiệt độ phản ứng trên 110°C và thời gian phản ứng là 60 phút, một lượng tiền chất DH vẫn chưa được dehydrat hóa thành HH và do đó hiệu suất tổng hợp  $\alpha$ -HH chỉ đạt 90,47%. Với lý do này, thời gian phản ứng là thông số phản ứng tiếp theo được tiến hành khảo sát và kết quả được trình bày ở mục 3.1.2.

### 3.1.2 Khảo sát ảnh hưởng thời gian phản ứng đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

➤ Kết quả định tính cấu trúc bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)

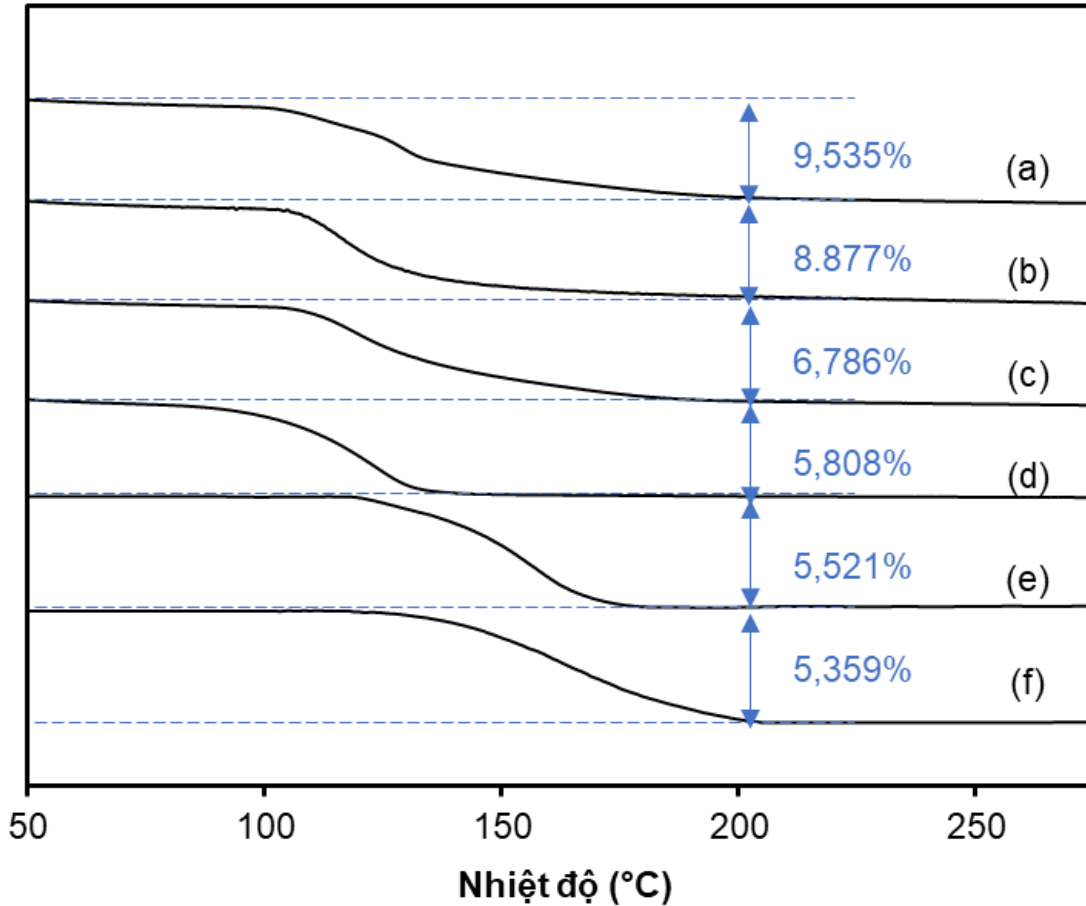


**Hình 3.4** Phổ FTIR của các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện ở nhiệt độ  $110^{\circ}\text{C}$  với các mốc thời gian phản ứng khác nhau: (a) HH-30, (b) HH-60, (c) HH-90, (d) HH-120, (e) HH-150 và (f) HH-180.

Phân tích phổ hồng ngoại FTIR (Hình 3.4) của sản phẩm HH được tổng hợp ở nhiệt độ trên  $110^{\circ}\text{C}$  ở các khoảng thời gian phản ứng khác nhau có thể khẳng định ở 30 phút đầu, quá trình dehydrat hóa tiền chất DH xảy ra. Phổ FTIR thu được khi phân tích tất cả các mẫu đều biểu hiện các đỉnh đặc trưng ở số sóng  $3558\text{ cm}^{-1}$ ,  $3612\text{ cm}^{-1}$  và  $1623\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động của các nhóm OH trong phân tử nước; trong khi, các đỉnh hấp thụ ở số sóng  $1153\text{ cm}^{-1}$ ,  $1093\text{ cm}^{-1}$ ,  $1007\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma_1\text{ SO}_4^{2-}$  stretching),  $658\text{ cm}^{-1}$ ,  $601\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma_4\text{ SO}_4^{2-}$  bending). Như đã đề cập trước đó, phổ FTIR không đủ thuyết phục để đưa ra kết luận cho quá trình thử nghiệm, và hiệu suất được dự đoán ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình tổng hợp, do đó phân tích nhiệt trọng lượng TGA được đề xuất thực hiện.



➤ Kết quả định lượng hiệu suất chuyển pha bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng trường TGA



**Hình 3.5.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA của của các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp ở điều kiện ở nhiệt độ 110°C với các mốc thời gian phản ứng khác nhau: (a) HH-30, (b) HH-60, (c) HH-90, (d) HH-120, (e) HH-150 và (f) HH-180.

Kết quả phổ phân tích TGA được thể hiện ở Hình 3.5 và hàm lượng HH trong mẫu được tính toán từ phần trăm khối lượng mất được trình bày ở Bảng 3.2.

Một cách tổng quát, từ bảng thống kê hàm lượng HH có trong mẫu sản phẩm thu được cho thấy tiền chất DH có thể chuyển hóa thành pha HH sau 30 phút ở nhiệt độ 110°C với hàm lượng HH có xu hướng tăng từ 77,31% đến 96,02% khi kéo dài thời gian phản ứng lên đến 90 phút. Tuy nhiên khi tăng thời gian phản ứng đến 120 phút hay 180 phút, hàm lượng HH có trong sản phẩm thu được có xu hướng giảm. Dựa vào phần trăm khối lượng mất ghi nhận khi phân tích nhiệt trọng lượng các mẫu, khi thời gian phản ứng trong khoảng 30 – 90 phút, phần trăm mất khối lượng có giá trị càng cận với giá trị hàm lượng nước theo lý thuyết

của HH là 6,2%, trong khi thời gian phản ứng lớn hơn 90 phút, phần trăm khối lượng mất có giá trị dưới 6,2%. Điều này có thể dự đoán, mẫu sản phẩm thu được khi thực hiện quá trình dehydrat hóa DH ở nhiệt độ 110°C và thời gian phản ứng trên 90 phút có chứa 2 pha thành phần gồm HH và AH; hay nói cách khác là đã có quá trình dehydrat xảy ra với một lượng HH xác định tạo thành AH.

**Bảng 3.2** Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp ở nhiệt độ 110°C và trong các khoảng thời gian phản ứng khác nhau

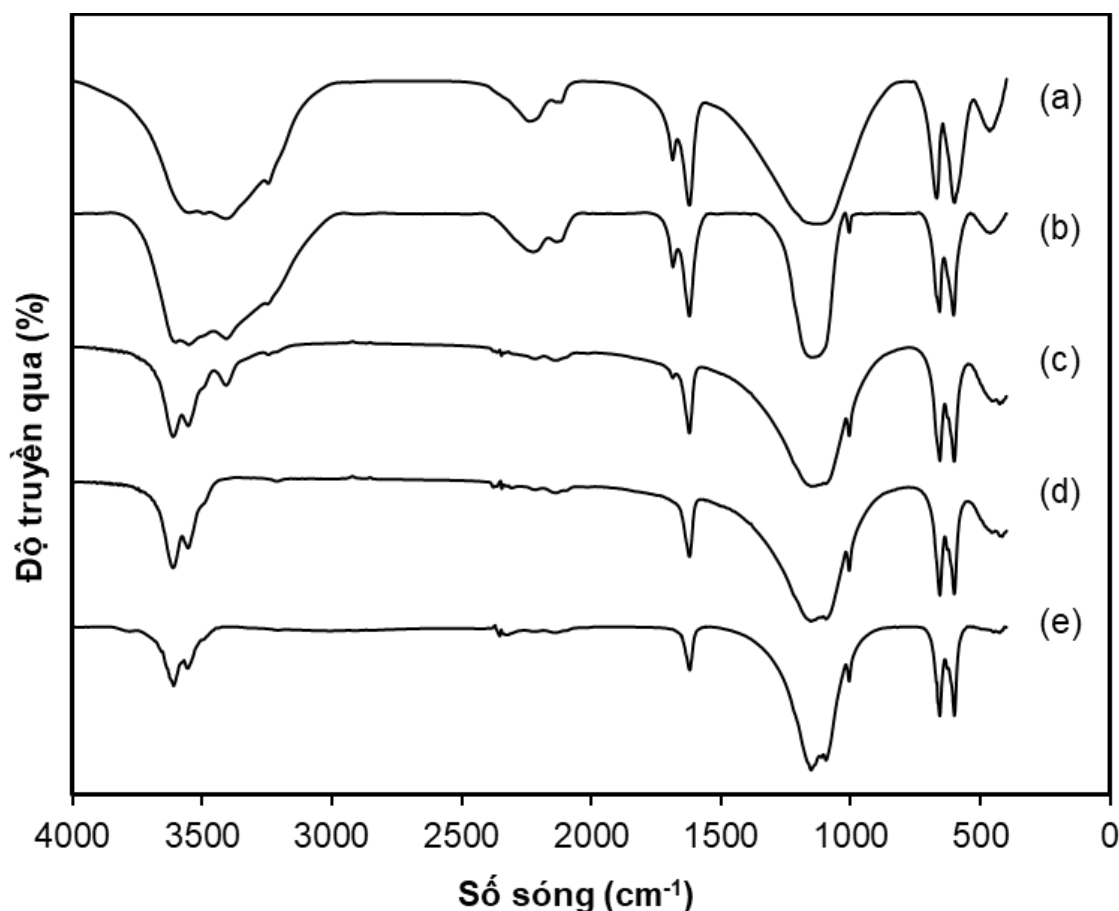
Mẫu	Phần trăm khối lượng mất (%)	Hàm lượng HH (%)
HH-30	9,535	77,31
HH-60	8,877	81,79
HH-90	6,786	96,02
HH-120	5,808	93,68
HH-150	5,521	89,04
HH-180	5,359	86,44

### 3.1.3 Khảo sát ảnh hưởng nồng độ dung dịch CaCl<sub>2</sub> đến quá trình tổng hợp $\alpha$ -HH cấu trúc xốp

➤ Kết quả định tính cấu trúc bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)

Phổ FTIR của các mẫu được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối có nồng độ khác nhau (5%, 10%, 20% và 40%) đã cung cấp thông tin về các nhóm chức đặc trưng được thể hiện ở Hình 3.6. Một cách tổng quát, phổ FTIR của các mẫu được tổng hợp trong môi trường dung dịch CaCl<sub>2</sub> ở các nồng độ khác nhau có chung các đỉnh đặc trưng ở 3610 cm<sup>-1</sup> và 3550 cm<sup>-1</sup>; và 1620cm<sup>-1</sup>. Những đỉnh này được cho là do sự dao động của nhóm OH<sup>-</sup> của các phân tử nước kết tinh kết hợp trong cấu trúc của HH. Ngoài ra, các dải dao động quan sát được ở 1140 - 1091 cm<sup>-1</sup> (stretching), 1008 cm<sup>-1</sup> (stretching), 658 cm<sup>-1</sup> (bending) và 601 cm<sup>-1</sup> (bending) thể hiện sự dao động của SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Hơn nữa, sự chuyển pha thành công từ

DH thành HH được chứng minh bởi sự không xuất hiện dao động ở số sóng  $1684\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho sự dao động của nhóm  $\text{OH}^-$  của các loại phân tử nước khác trong DH. Trong khi pha tinh thể DH đã chuyển thành pha tinh thể HH trong dung dịch  $\text{CaCl}_2$  với nồng độ 20% và 40% (w/v) thì pha DH vẫn được phát hiện trong các sản phẩm tổng hợp trong dung dịch muối có nồng độ 5% và 10% (w/v). Ngoài ra, khó có thể đưa ra kết luận thuyết phục rằng HH thu được thuộc dạng  $\alpha$  hoặc dạng  $\beta$  khi so sánh dựa trên phân tích FTIR của hai loại.

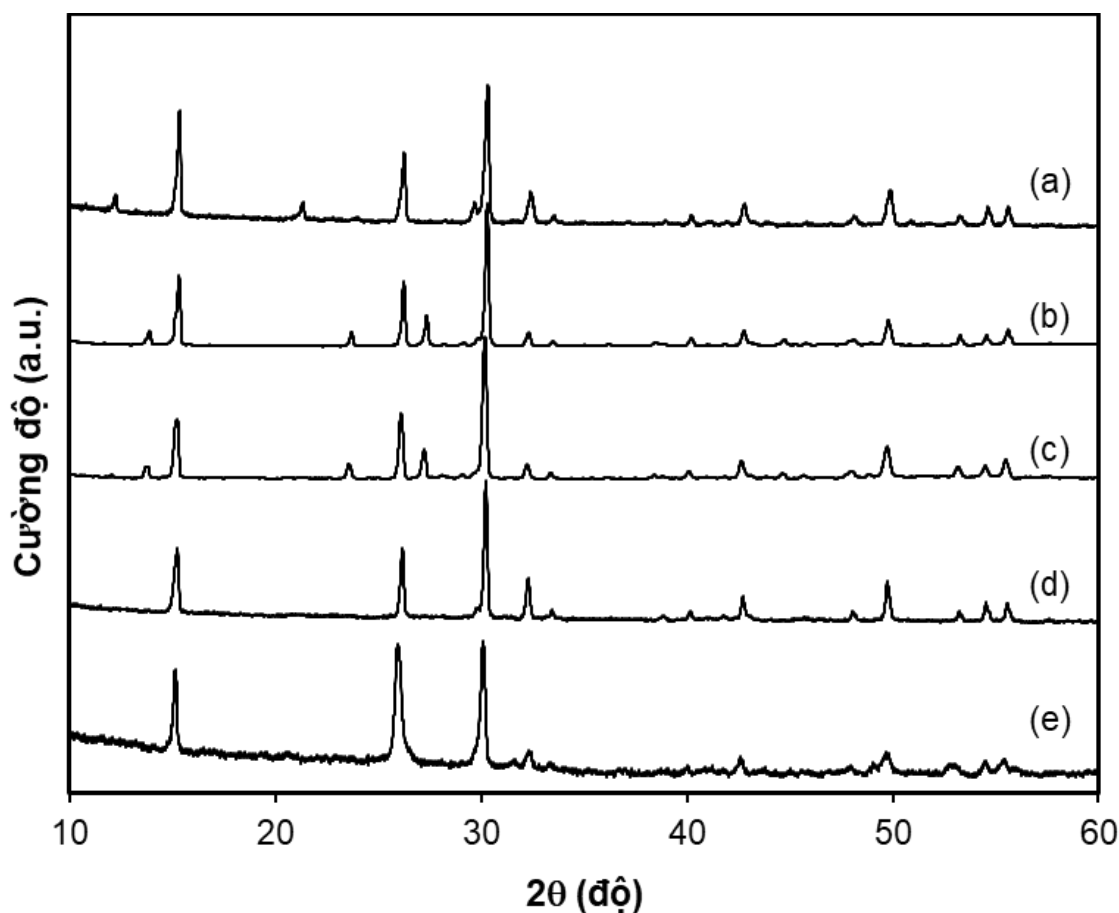


**Hình 3.6** Phổ FTIR của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (b) HH-5%, (c) HH-10%, (d) HH-20% và (e) HH-40%.

➤ Kết quả định tính cấu trúc bằng phương pháp nhiễu xạ tia X

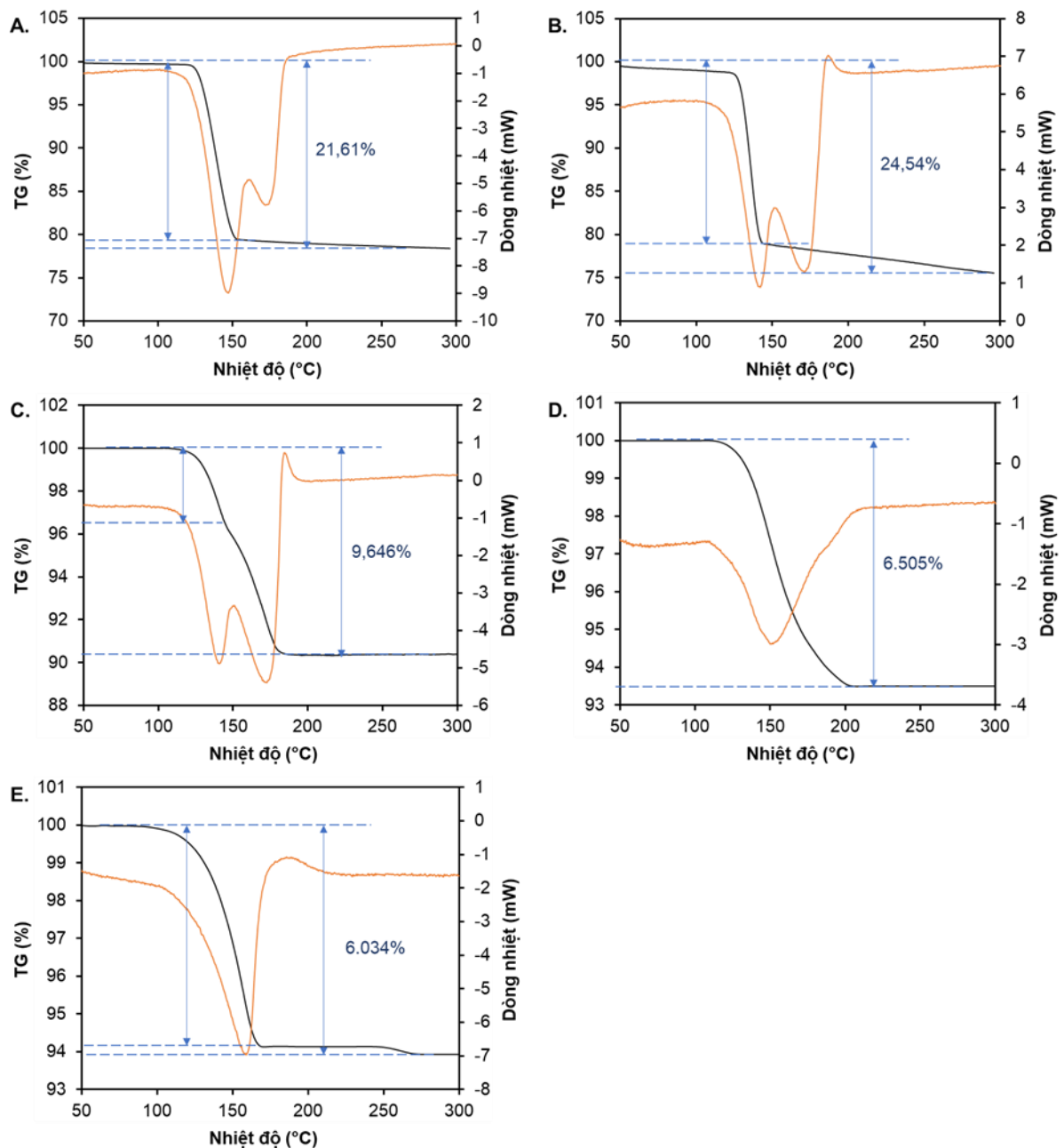
Phân tích XRD định tính của các mẫu thu được từ quy trình tổng hợp trên được tiến hành trong phạm vi từ  $2\theta$  từ  $10^\circ$  đến  $60^\circ$  và được minh họa trong Hình 3.7. Cơ sở dữ liệu Trung tâm dữ liệu nhiễu xạ quốc tế (ICCD) của DH (No. 33-0311), HH (No. 41-0224) và AH (No. 37-1496) được dùng làm cơ sở dữ liệu đối chứng. Các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng lần lượt được phát hiện ở vị trí  $2\theta = 14,72^\circ$ ,

25,6, 29,7° và 32,21° tương ứng với mặt phẳng mạng tinh thể (200), (020), (400) và (204). Người ta vẫn gặp khó khăn trong việc phân biệt hemihydrat dạng  $\alpha$  với dạng  $\beta$  vì giản đồ XRD của chúng giống nhau giữa hai dạng tinh thể. Tuy nhiên, giản đồ XRD của mẫu dạng  $\beta$  được báo cáo là rộng hơn và có các đỉnh nhiễu xạ cường độ thấp hơn so với mẫu dạng  $\alpha$  [63]. Hơn nữa, một nghiên cứu trước đây đã đề cập rằng vị trí của đỉnh nhiễu xạ trội đóng vai trò quan trọng trong việc xác định cấu trúc tinh thể của  $\alpha$ -HH [64]. Trong trường hợp này, đỉnh trội được phát hiện của các mẫu đã chuẩn bị được hiển thị ở 29,7°, xuất phát từ đỉnh điển hình của dạng  $\alpha$  biểu thị cho hệ tinh thể lục giác [64]. Hơn nữa, có thể xác nhận từ mẫu XRD rằng nồng độ cao của dung dịch  $\text{CaCl}_2$  (tức là trên 20%) sẽ thuận lợi cho việc chuyển đổi hoàn toàn DH thành  $\alpha$ -HH.



**Hình 3.7** Phổ XRD của (a) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (b) HH-5%, (c) HH-10%, (d) HH-20% và (e) HH-40%.

➤ Kết quả định tính cấu trúc bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng trường kết hợp phân tích nhiệt quét vi sai (TGA-DSC)



**Hình 3.8.** Đánh giá cấu trúc và thành phần pha bằng phương pháp TGA-DSC của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (B) HH-5%, (C) HH-10%, (D) HH-20% và (E) HH-40%.

Việc phân tích các pha của sản phẩm thu được đã được xác nhận thêm với sự hỗ trợ của kỹ thuật phân tích TGA/DSC. Kết quả được minh họa trong Hình 3.8. Có thể thấy đường cong TG của DH cho thấy tổng trọng lượng giảm đi là 21,61%, phù hợp với hàm lượng nước tinh thể theo lý thuyết trong DH (20,9%). Đường cong TG của mẫu sản phẩm bột thu được khi sử dụng dung dịch  $\text{CaCl}_2$  (5%, w/v) làm môi trường phát triển tinh thể cho thấy hai giai đoạn chuyển tiếp có tổng khối lượng giảm là 24,54% (Hình 3.8 B). Ở giai đoạn đầu tiên, khối lượng mẫu giảm đáng kể trong khoảng nhiệt độ từ 100 - 150°C, tương ứng với việc loại bỏ 1,5 phân tử tinh thể nước trong DH [41]. Sau đó, đường cong TG thể hiện sự giảm dần về trọng lượng mẫu trong phạm vi nhiệt độ thử nghiệm tiếp theo, điều này minh họa cho việc tách 0,5 phân tử nước [41]. Những quan sát này là phù hợp với hai đỉnh thu nhiệt ở 145,83°C và 172,36°C được biểu thị trên đường cong DSC. Trong khi đó, đỉnh thu nhiệt duy nhất ở 164,64°C được thể hiện ở hai đường cong DSC khác của mẫu thử được chuẩn bị bằng dung dịch  $\text{CaCl}_2$  trong khoảng từ 20% đến 40%, chứng tỏ sự chuyển hóa thành công pha tinh thể DH sang pha tinh thể  $\alpha$ -HH.

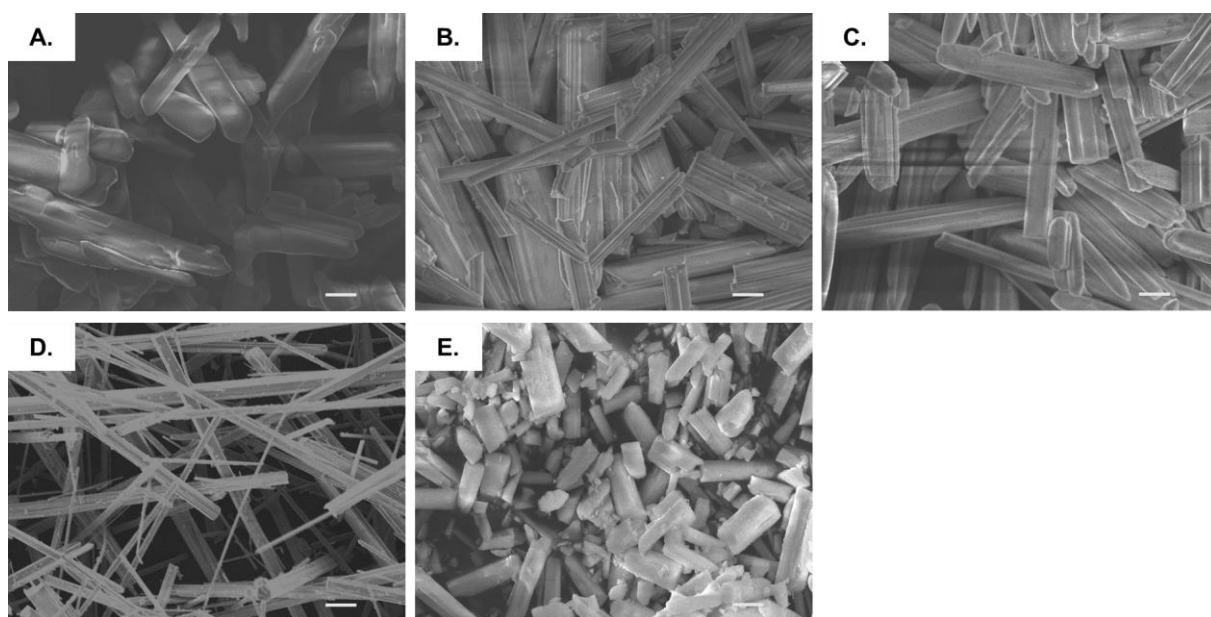
**Bảng 3.3** Bảng kết quả hàm lượng HH có trong các mẫu sản phẩm tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau

Tên mẫu	% Khối lượng mất đi	%HH
DH	-21,61%	-
HH-5%	-24,54%	-
HH-10%	-9,646%	76,56%
HH-20%	-6,505%	97,93%
HH-40%	-6,034%	97,32%

Một điều thú vị là ở đường cong TG của mẫu HH tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  40% (w/v) có sự ghi nhận mất một lượng nhỏ khối lượng khi nhiệt độ tăng đến khoảng 164°C. Điều này có thể dự đoán, trong mẫu sản phẩm bột thu được có một lượng nhỏ AH. Dựa theo phương trình (1) và (2), lần lượt tính phần trăm HH có trong mẫu sản phẩm thu được. Kết quả được trình bày ở bảng bên dưới (Bảng 3.8). Nhìn chung, nồng độ  $\text{CaCl}_2$  cũng ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chuyển đổi từ DH thành HH. Cụ thể, hàm lượng HH có trong mẫu

bột tăng đáng kể khi tăng nồng độ  $\text{CaCl}_2$  từ 10% đến 20%, và không có sự chênh lệch đáng kể khi tăng nồng độ lên đến 40%. Khi so sánh với nghiên cứu trước đó của nhóm nghiên cứu [46], sự chuyển đổi từ DH sang HH tăng tốc đáng kể khi tăng nồng độ  $\text{CaCl}_2$  và nhiệt độ phản ứng. Thời gian phản ứng giảm từ 3,5h xuống còn 1,5h với nồng độ từ 5% lên 20% và nhiệt độ tăng 102 lên 110 °C để đạt được hiệu suất tổng hợp HH trên 97%.

➤ Kết quả đánh giá hình thái học bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM)



**Hình 3.9** Hình ảnh SEM của của (A) Tiền chất DH và các mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH được tổng hợp trong môi trường dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  với các nồng độ khác nhau: (B) HH-5%, (C) HH-10%, (D) HH-20% và (E) HH-40%. Scale bar: 20 $\mu\text{m}$

Như được hiển thị trong Hình 3.9, hình thái của bột tổng hợp bị ảnh hưởng đáng kể bởi nồng độ  $\text{CaCl}_2$  trong khoảng 5-40% (w/v). Người ta nhận thấy rằng nồng độ  $\text{CaCl}_2$  tương đối thấp dẫn đến quá trình khử nước không hoàn toàn của DH thành HH. Ngược lại, dung dịch muối siêu bão hòa hay dung dịch muối có nồng độ cao không thuận lợi cho việc hình thành tinh thể HH hình que lục giác với tỷ lệ kích thước lớn. Khi nồng độ của dung dịch  $\text{CaCl}_2$  tăng từ 5% lên 20%, hình thái của tiền chất DH (Hình 3.9 A) dần thay đổi từ tinh thể dạng tấm dày sang tinh thể hình lục giác  $\alpha$ -HH (Hình 3.9 B-D). Hiện tượng này được giải thích là do sự tích tụ  $\text{Ca}^{2+}$  ở mặt cạnh [001] dẫn đến sự kéo dài của tinh thể DH, sau đó chuyển thành tinh thể hình que lục giác [65], [66]. Tuy nhiên, khi nồng độ  $\text{CaCl}_2$  tăng lên 40%, quan sát thấy các tinh thể lục giác ngắn  $\alpha$ -HH. S. Yin và cộng sự

(2020) đã báo cáo ảnh hưởng của dung môi đến việc tạo ra tinh thể và hình thái học của chúng, có liên quan đến hiện tượng siêu bão hòa cục bộ. Trên thực tế, trong giai đoạn tạo mầm, mức độ siêu bão hòa cao hơn sẽ tạo ra động lực lớn hơn cho sự hình thành hạt nhân. Hiện tượng này là do thực tế các điều kiện quá bão hòa tương đối cao hơn dẫn đến khối lượng tạo mầm tăng lên và tốc độ tạo mầm cao hơn, dẫn đến kích thước tinh thể nhỏ hơn. Cuối cùng, trong điều kiện dung dịch  $\text{CaCl}_2$  có nồng độ 20% (w/v), các tinh thể  $\alpha$ -HH hình que có tỷ lệ kích thước lớn với chiều dài 100 – 250  $\mu\text{m}$ , rộng 1 – 10  $\mu\text{m}$  ngăn cản chúng kết hợp với nhau một cách hiệu quả, dẫn đến các khoảng trống hoặc nhiều không gian bên trong cấu trúc vật liệu, tạo ra vật liệu cấu trúc xốp.

Từ các thí nghiệm nghiên cứu khảo sát các thông số phản ứng, mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) được chọn để tiến hành các thử nghiệm đánh giá tiếp theo liên quan đến đánh giá độ xốp, cường độ chịu nén và đánh giá tương thích sinh học *in vitro*.

### 3.2 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ĐỘ XÓP VẬT LIỆU CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP

Khối lượng riêng của dung môi hữu cơ sử dụng là  $\rho_1 = 0,872 \text{ g/cm}^3$

**Bảng 3.4** Bảng kết quả đánh giá độ xốp của mẫu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%)

Mẫu	$m_1$ (g)	$m_2$ (g)	$m_3$ (g)	Độ xốp (%)	Độ xốp trung bình	S. D
HH-20% (L1)	0,1135	0,0672	0,1902	62,3577	61,3178	3,2034
HH-20% (L2)	0,1278	0,0706	0,2059	57,7236		
HH-20% (L3)	0,1187	0,0713	0,2025	63,8720		

Đánh giá độ xốp đóng vai trò quan trọng đối với việc thiết kế và xác định ứng dụng của vật liệu. Ma. và cộng sự (2020) đã chế tạo các giàn giáo sinh học với độ xốp 75-88% để khảo sát phạm vi xốp tối ưu cụ thể hơn cho sự tăng sinh tế bào [34]. Kết quả cho thấy rằng số lượng tế bào lớn nhất được quan sát thấy ở giàn giáo có độ xốp là 88,8%. Do đó, có thể thấy là việc tăng độ xốp có thể dẫn



đến sự tăng diện tích cụ thể của giàn giáo xốp và cải thiện tính thấm của vật liệu. [67][68] Nghiên cứu được thực hiện vào năm 2009 bởi Paola Fabbri và cộng sự đã chứng minh tiềm năng tạo xương của giàn giáo PCL/HA với kích thước đa lỗ và độ xốp 70-80% [35]. Chen và cộng sự. so sánh giàn giáo Ti6Al4V ELI có độ xốp 60% và 70% và cho thấy rằng khung xương có độ xốp 60% có kết quả phát triển xương tốt nhất [67]. Độ xốp tối ưu cho giàn giáo để tái tạo xương tối ưu khác nhau tùy thuộc vào nghiên cứu cụ thể [70]. Một nghiên cứu cho thấy giàn giáo titan xốp có độ xốp >60% được khuyến dùng cho mục đích tích hợp xương tốt hơn [68]. Khung xương tantalum xốp có độ xốp 70% và 80% được phát hiện là có khả năng tăng sinh, biệt hóa và phát triển xương tốt hơn so với giàn giáo có độ xốp 60% [69]. Mức độ xốp phải tương quan với độ ổn định cơ học để duy trì tính toàn vẹn cấu trúc của khung xương trong quá trình tái tạo mô cứng [70]. Nhìn chung, độ xốp tối ưu cho một khung xương để tái tạo xương tối ưu có thể dao động từ 60% đến 80%, tùy thuộc vào yêu cầu cụ thể của nghiên cứu. Do đó, độ xốp đạt được của  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp sử dụng phương pháp dựa trên TCVN 10826:2015 (ISO 18754:2013) trong luận văn này có giá trị trung bình đạt  $61,32\% \pm 3,20$  được đánh giá là có tiềm năng tăng cường hiệu quả tái tạo xương.

### 3.3 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ CƯỜNG ĐỘ CHỊU NÉN

**Bảng 3.5** Bảng kết quả đánh giá cường độ chịu nén của  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%)

Mẫu	Lần đo	Khối lượng (g)	Chiều cao (cm)	Đường kính (cm)	Khối lượng riêng ( $\text{g/cm}^3$ )	Lực chịu nén (N)	Cường độ chịu nén (MPa)	Cường độ chịu nén trung bình (MPa)
HH-20%	L1	3,0255	2,2	1,1	1,4471	467,95	4,92	$5,04 \pm 0,11$
	L2	2,9949	2,2	1,1	1,4325	482,19	5,07	
	L3	2,9630	2,1	1,1	1,4847	487,08	5,13	

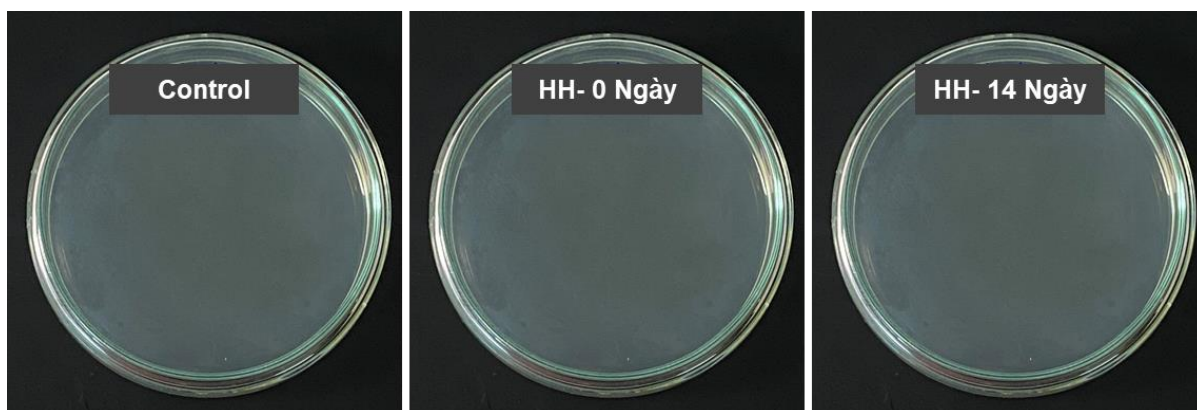
Hệ xương cơ thể người chịu một số lực khi xương chịu tải ở các hướng khác nhau. Các lực được tạo ra khi mang trọng lượng, trọng lực, các lực của cơ, các lực bên ngoài. Bên trong, các lực tải có thể tác động lên xương qua khớp thông qua các chỗ nối dây chằng hoặc gân cơ, và các lực tải này thường dưới mức gây xương. Bên ngoài, xương chịu nhiều lực từ môi trường mà không có hạn chế về độ lớn hoặc hướng nào. Để hiểu các tính chất cơ học của xương, điều quan trọng là phải hiểu các tính chất cơ học của các pha thành phần của nó, bên cạnh mối liên hệ cấu trúc giữa chúng ở các cấp độ khác nhau của cơ cấu tổ chức phân cấp. Mỗi phân cấp cấu trúc hay loại xương có thông số cường độ chịu nén nhất định. Do đó, khi đánh giá sự phù hợp của vật liệu thay thế xương trong ứng dụng cụ thể, điều quan trọng là phải đảm bảo rằng vật liệu đó có thể chịu được các lực nén này [71]. Hơn nữa, để các xương thay thế hoặc mảnh cấy ghép có hiệu quả, chúng phải cung cấp độ ổn định cơ học để hỗ trợ các mô xung quanh và hoạt động bình thường. Cường độ nén là thông số quan trọng để đánh giá mức độ vật liệu có thể chịu được lực nén mà không bị hỏng.

Ngược lại, vật liệu có độ bền cơ học quá lớn, không tương thích với vị trí cấy ghép cũng có thể dẫn đến hiệu quả sửa chữa khuyết tật không như mong muốn, điển hình như các vật liệu titan và các vật liệu kim loại và hợp kim khác. Mặc dù chúng đã và đang được sử dụng rộng rãi trong phẫu thuật cấy ghép, chỉnh hình, nhưng kim loại lại tiềm ẩn một số nguy cơ, chẳng hạn như độ bền cơ học có thể lớn hơn nhiều so với xương tự nhiên, gây hiện tượng “stress shielding” ở các vùng xương lân cận, dẫn đến hiện tượng tiêu xương và suy yếu theo thời gian; hay tình trạng dị ứng đối với những bệnh nhân có cơ địa dị ứng với một số kim loại, chẳng hạn như niken, coban,... dẫn đến viêm, đau và thất bại trong cấy ghép; hay trong một số trường hợp nhất định như sau chữa lành vết nứt hoặc thay khớp, cần thực hiện một phẫu thuật để loại bỏ vật liệu cấy ghép, điều này có thể dẫn đến nhiễm trùng và tổn thương các mô xung quanh.

Xương tự nhiên có cường độ chịu nén 1,5 – 3,8 Mpa đối với xương xốp và  $200 \pm 36$  Mpa đối với xương đặc. Như đã đề cập ở trên, cường độ chịu nén cần phải phù hợp với từng loại xương và vị trí thay thế. Trong nghiên cứu này, vật liệu các mẫu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp có cường độ chịu nén đạt giá trị  $5,04 \pm 0,11$  Mpa (Bảng 3.5), được đánh giá là phù hợp cho các ứng dụng đối với xương xốp.

### 3.4 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ĐỘ VÔ KHUẨN

Thử nghiệm độ nhiễm khuẩn là cần thiết để kiểm soát chất lượng, tuân thủ quy định và có thể giúp giảm thiểu nguy cơ nhiễm vi sinh vật. Cách tiếp cận này cũng có thể giúp xác định các quy trình sản xuất, phương pháp khử trùng và quy trình bảo trì thích hợp. Kết quả đánh giá được minh họa bởi Hình 3.10.



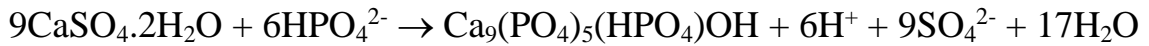
**Hình 3.10** Kết quả thử giới hạn nhiễm khuẩn mẫu HH cấu trúc xốp (HH-20%)

Quan sát các môi trường đã cấy mẫu thử (Hình 3.10), không nhận thấy các mảng có hình dạng bất thường, vùng khác màu hoặc mờ hơn so với các vùng lân cận, chứng tỏ không có sự xuất hiện của vi khuẩn, nấm trong suốt thời gian thử nghiệm theo quy định, do đó mẫu thử được xem là không có khuẩn lạc. Điều này có thể giải thích rằng, trong quá trình tổng hợp HH cấu trúc xốp, aceton đóng vai trò là hóa chất rửa trôi và loại bỏ nước trong quá trình lọc vật liệu  $\alpha$ -HH xốp, bên cạnh đó, có một số ý kiến cho rằng, aceton có tác dụng ức chế sự phát triển của khuẩn lạc, tuy nhiên, chưa có bằng chứng nghiên cứu khoa học cụ thể chứng minh tác động đó, quá trình thực nghiệm tạo  $\alpha$ -HH xốp có thể khó tránh khỏi sự hình thành vi khuẩn, nấm trong vật liệu, nên không thể khẳng định vật liệu hoàn toàn vô trùng. Do đó, phương pháp tiệt trùng vật liệu cấy ghép, để đảm bảo vật liệu hoàn toàn vô trùng nếu có định hướng thử nghiệm trên động vật, phù hợp với ứng dụng y học tái tạo

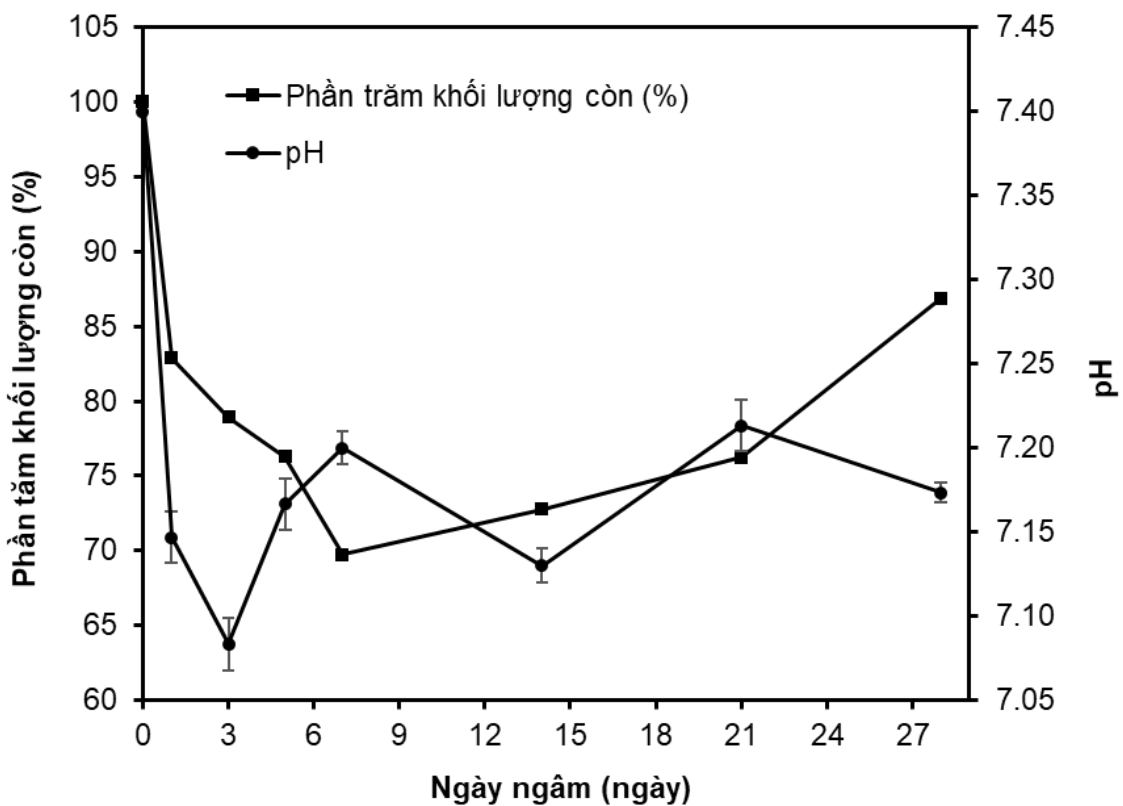
### 3.5 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ *IN VITRO* KHẢ NĂNG TÁI TẠO KHOÁNG CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP

Quá trình phân hủy sinh học của vật liệu sinh học có thể trải qua các quá trình sau: (1) quá trình phân hủy sinh học và (2) quá trình hình thành lớp khoáng apatite [72], [73]. Trong trường hợp gốm sinh học  $\alpha$ -HH, quá trình hydrat hóa trước hết xảy ra để chuyển  $\alpha$ -HH thành dạng có thể ứng dụng trong điều trị y tế.

Được ngâm trong SBF, sự giải phóng nhanh chóng  $\text{Ca}^{2+}$  tạo điều kiện cho nồng độ ion  $\text{Ca}^{2+}$  quá bão hòa trong môi trường vi mô cục bộ tăng lên.  $\text{Ca}^{2+}$  có xu hướng kết hợp với các ion phosphat ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,...) từ dịch cơ thể tạo thành apatit calcium phosphate. Sau đó, các tinh thể apatit này cũng có thể được kết hợp bởi  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  hoặc các phân tử hữu cơ có trong chất lỏng xung quanh [74]. Nó có thể được tóm tắt bằng phương trình sau [75]:



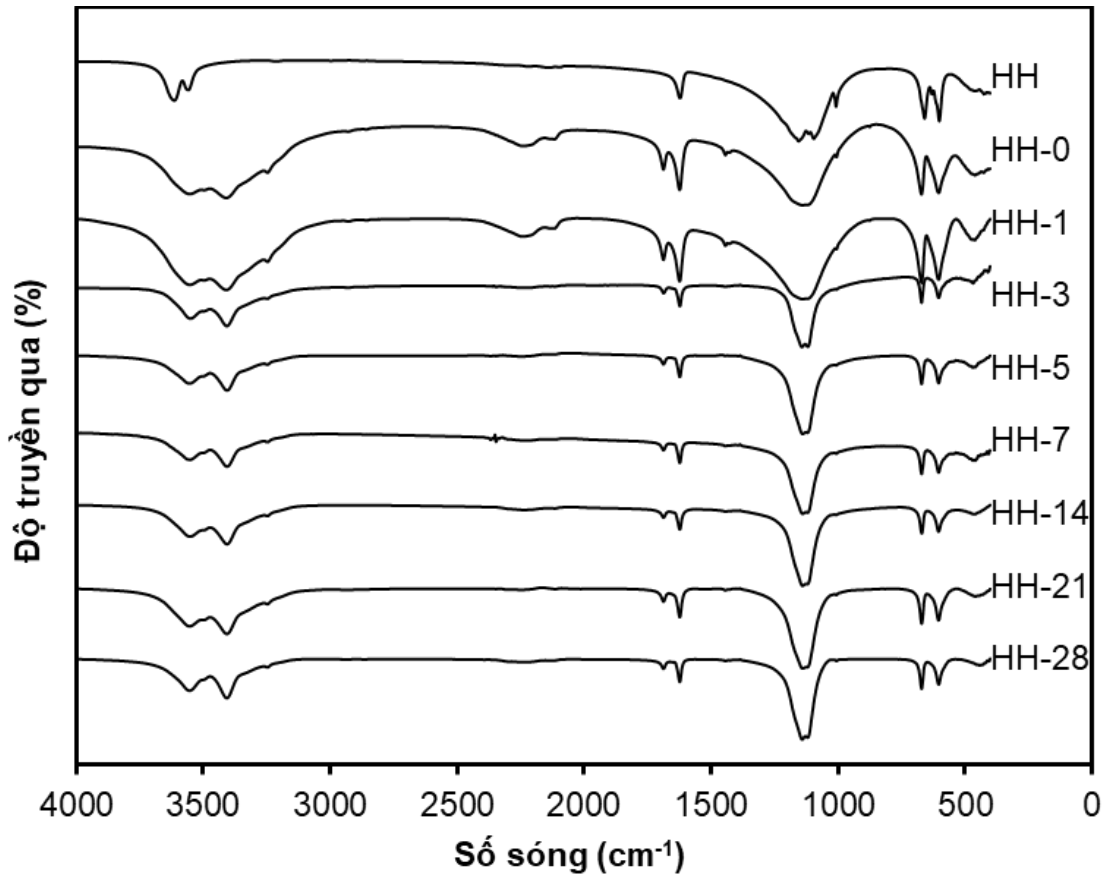
hoặc



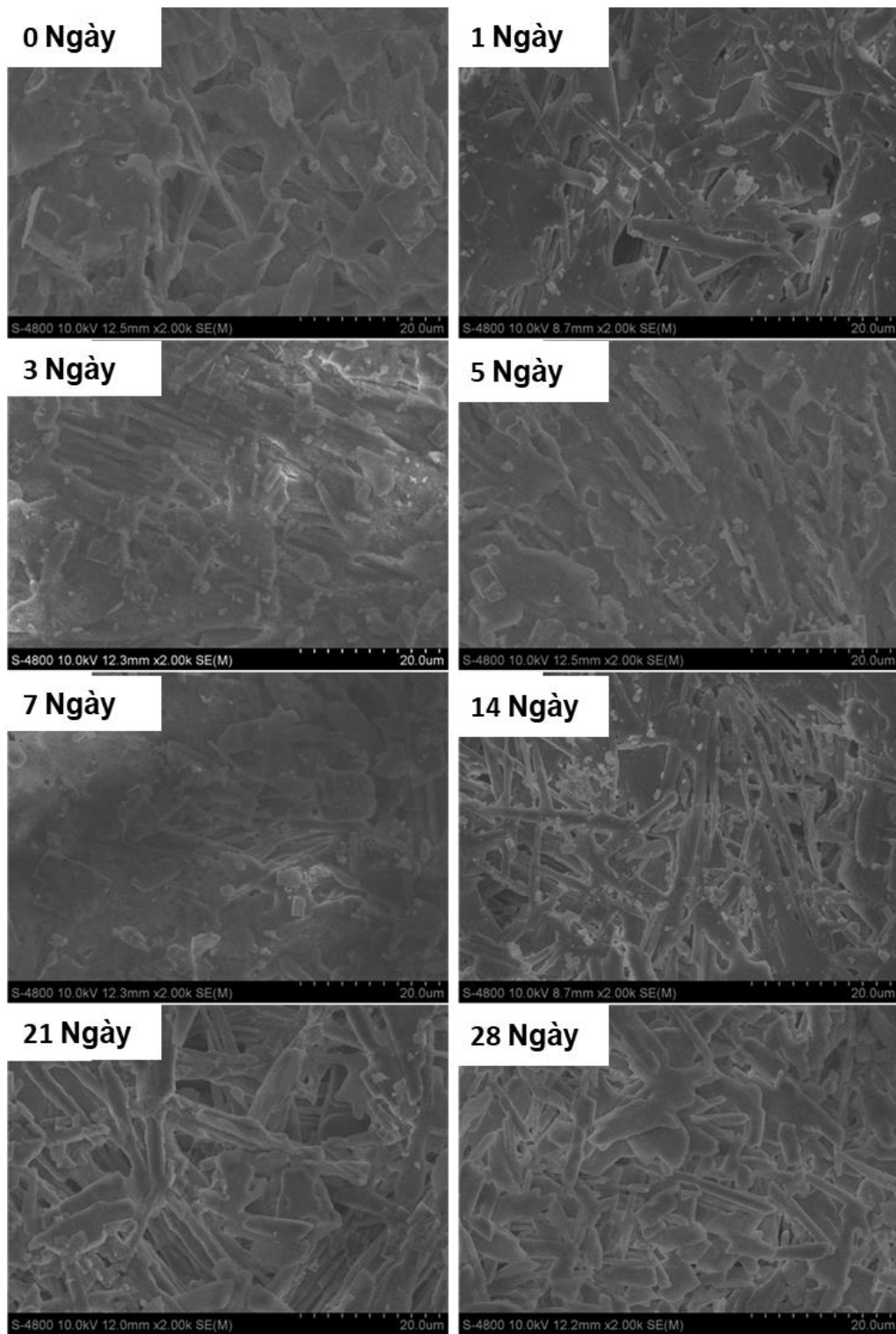
**Hình 3.11.** Khả năng phân hủy sinh học của  $\alpha$ -HH xốp (HH-20%) trong dung dịch SBF

Hình 3.11 cho thấy khả năng phân hủy sinh học phụ thuộc vào thời gian của  $\alpha$ -HH xốp trong SBF ở độ pH 7,4 ở  $37^\circ\text{C}$  trong tối đa 28 ngày. Có thể thấy rõ sự giảm trọng lượng của  $\alpha$ -HH tăng lên tới trên 30% sau 7 ngày ngâm. Sau đó, khối lượng mẫu thử tăng nhẹ lên 6% trong khoảng thời gian 14 ngày tiếp theo, và sau đó tăng đáng kể khoảng 11% khi kết thúc thử nghiệm. Hiện tượng này có thể giải thích là do sự hòa tan của  $\alpha$ -HH và sự hình thành apatit thông qua quá trình kết tủa. Hơn nữa, rõ ràng sự hòa tan  $\alpha$ -HH đã làm pH giảm cục bộ, giảm đều từ

7,40 xuống 7,17 trong suốt thời gian thử nghiệm. Giá trị pH giảm làm cho bề mặt xương bị khoáng hóa được chứng minh có khả năng kích hoạt các yếu tố tăng trưởng như BMP, TGF- $\beta$  và các chất khác có trong chất nền xương [29], [30]. Những yếu tố tăng trưởng này đóng vai trò quan trọng trong việc kích thích sự hình thành các mạch máu mới và tái tạo xương. Những kết quả này chứng minh tiềm năng cao của gôm sinh học tương thích sinh học đối với các ứng dụng tái tạo xương.



**Hình 3.12.** Kết quả FTIR các mẫu  $\alpha$ -HH xốp (HH-20%) thử nghiệm ngâm trong dung dịch SBF ở các mốc thời gian : 0,1,3,5,7,14,21,28 ngày



**Hình 3.13** Hình ảnh SEM của mẫu vật liệu  $\alpha$ -HH x 20% sau nghi ngờ thử nghiệm trong dung dịch SBF ở các mốc thời gian : 0,1,3,5,7,14,21,28 ngày

Sự hình thành apatite còn được thực hiện bằng phương pháp FTIR và SEM của các mẫu được thử nghiệm tại các khoảng thời gian cụ thể trong SBF, như được mô tả lần lượt trong Hình 3.12 và 3.13.

Kết quả phân tích phổ FTIR (Hình 3.12) mẫu vật liệu ngâm trong dung dịch SBF ở khoảng thời gian khác nhau, cho thấy tất cả các mẫu đều thể hiện các đỉnh hấp thụ đặc trưng tương ứng với các giao động của DH – chứng tỏ vật liệu đã tái hấp thụ nước và chuyển thành DH hoàn toàn sau quá trình đóng rắn. Cụ thể là dao động 3593, 3546 và 3438  $\text{cm}^{-1}$  tương ứng với DH, chỉ ra sự bổ sung của các liên kết hydro trong dao động kéo giãn O-H. Kết quả cũng chỉ ra sự khác nhau đặc trưng giữa HH và DH, khi DH thể hiện 2 dao động uốn tại 1696, 1630  $\text{cm}^{-1}$  bởi sự hiện diện của hai phân tử nước, trong khi HH chỉ thể hiện 1 dao động. Mặt khác, kết quả không thể hiện bất kỳ peak dao động đặc trưng của apatite, khoảng 1455-1420  $\text{cm}^{-1}$  cho dao động kéo giãn  $\text{CO}_3^{2-}$ , 1030  $\text{cm}^{-1}$  của dao động kéo giãn  $\text{PO}_4^{3-}$ . Kết quả ban đầu cho thấy rằng vật liệu  $\alpha$ -HH đã hydrat hóa hoàn toàn thành DH và không có sự chuyển đổi đáng kể hay tạo thành các hợp chất khác mà cụ thể là apatite trong suốt quá trình ngâm trong dung dịch SBF. Hơn nữa, các hình ảnh SEM (Hình 3.13) cho thấy một cấu trúc xốp bao gồm các tinh thể lồng vào nhau ở dạng các hạt lớn và không đều. Ngoài ra, quan sát thấy rằng việc ngâm các mẫu trong SBF xảy ra quá trình hòa tan HH, dẫn đến sự thay đổi dần dần hình dạng của các tinh thể từ hình que sang dạng tấm thô trong suốt thời gian ngâm, đồng thời xuất hiện những mảng tinh thể nhỏ bám xung quanh chúng.

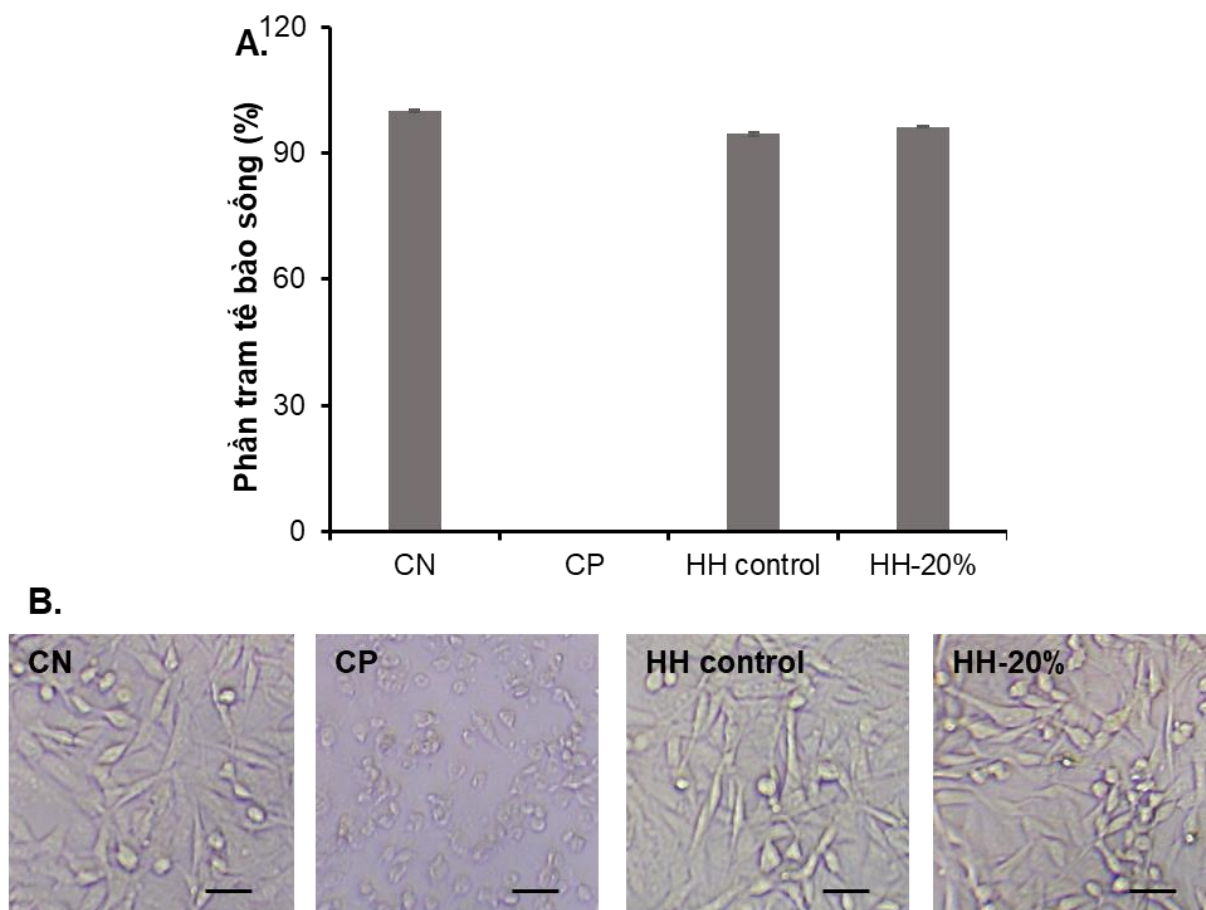
### **3.6 KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ *IN VITRO* KHẢ NĂNG TƯƠNG THÍCH TẾ BÀO CỦA VẬT LIỆU $\alpha$ -HH CẤU TRÚC XÓP**

#### **3.6.1 Kết quả đánh giá khả năng tương thích tế bào**

Tất cả các vật liệu sinh học được cấy vào cơ thể con người phải có khả năng tương thích sinh học tuyệt vời để ngăn chặn phản ứng miễn dịch với các vật thể lạ. Nguyên bào sợi rất cần thiết cho các ứng dụng tái tạo xương, vì chúng đóng một vai trò quan trọng trong quá trình chữa lành [76]. Những tế bào này chịu trách nhiệm sản xuất và tổ chức ma trận ngoại bào (ECM) của mô xương, giúp hỗ trợ cấu trúc, thúc đẩy sự phát triển xương mới và kích thích sự tăng sinh và biệt hóa của các tế bào tạo xương. Vì vậy, dòng tế bào nguyên bào sợi L929 được chọn để nghiên cứu tế bào trong nghiên cứu này.

MTT được đánh giá là phương pháp cơ bản xác minh những thay đổi về tính toàn vẹn của màng tế bào, cơ chế quan trọng để đánh giá khả năng sống sót của tế bào góp phần đánh giá độc tính cũng như hiệu quả tăng sinh tế bào khi có mặt của vật liệu nghiên cứu, cụ thể  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp. Độc tính tế bào *in vitro*

của  $\alpha$ -HH xốp trong nghiên cứu này được đánh giá trên các dòng tế bào L929. Các tế bào được ủ trong các điều kiện khác nhau, bao gồm môi trường nuôi cấy (CN), 1% SDS (CP),  $\alpha$ -HH thu được từ nghiên cứu trước đây của chúng tôi (HH control) [46] và  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) để so sánh các đặc tính của chúng.



**Hình 3.14** Hình ảnh đánh giá độc tính của vật liệu  $\alpha$ -HH và  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp: (A) Phần trăm tỉ lệ tế bào sống (B) Hình thái học tế bào dưới kính hiển vi quang học. p-value < 0,05. Scale bar: 100  $\mu$ m

Từ kết quả được ghi nhận ở Hình 3.14A, không tế bào sống sót được ghi nhận ở mẫu đối chứng âm, cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với mẫu đối chứng dương, HH control và HH-20%. Cụ thể, sau 24h tế bào được xử lý với mẫu vật liệu HH control và HH-20% đều cho kết quả tỉ lệ phần trăm tế bào sống sót đều trên 90%. Do đó, theo tài liệu hướng dẫn ISO/EN 10993-5, vật liệu HH control và HH-20% được xem là vật liệu có tính tương thích tế bào. Bên cạnh đó, tính tương thích tế bào của vật liệu HH-20% cũng có thể quan sát dưới kính hiển vi quang học. Gần như các tế bào nguyên sợi L929 được xử lý với đối chứng âm có sự thay đổi hình dạng sang dạng tròn, trong khi, các tế bào được xử lý với đối

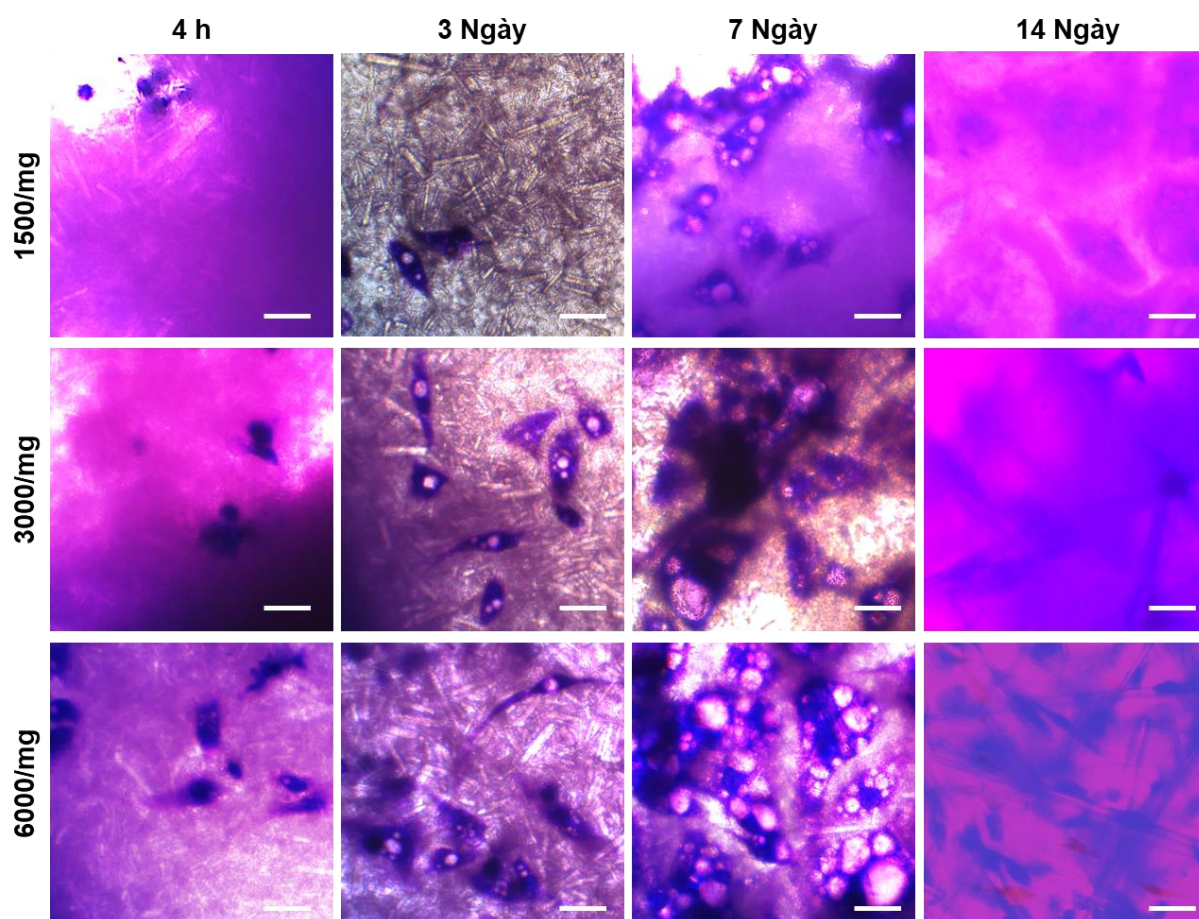


chứng dương, HH control và HH-20% vẫn giữ nguyên hình dạng ban đầu. Kết quả quan sát dưới kính hiển vi quang học tương ứng với với kết quả thu được từ xét nghiệm MTT. Do đó, có thể kết luận rằng tính tương thích tế bào của vật liệu HH cấu trúc xốp (HH-20%) phù hợp cho các ứng dụng trong lĩnh vực y học.

### **3.6.2 Kết quả đánh giá khả năng bám dính**

Sự bám dính tế bào đề cập đến việc các tế bào liên kết với một khung xương hoặc chất nền, điều này cần thiết để nhận biết các tín hiệu về sự biệt hóa của chúng thành các loại tế bào mong muốn liên quan đến quá trình tái tạo xương. Mặt khác, di chuyển tế bào là sự di chuyển của các tế bào từ vị trí này sang vị trí khác. Trong quá trình tái tạo xương, các tế bào phải di chuyển đến vị trí tổn thương để thúc đẩy quá trình sửa chữa mô và kích thích hình thành mạch máu mới để cung cấp chất dinh dưỡng và oxy. Cả hai quá trình đều cần thiết cho các chức năng tế bào khác nhau, bao gồm phát triển mô, chữa lành vết thương và đáp ứng miễn dịch [77].

$\alpha$ -HH là vật liệu gồm sinh học có khả năng phân hủy sinh học giải phóng các ion calcium đóng vai trò như tác nhân kích thích cho sự tăng sinh của tế bào. Để đánh giá khả năng bám dính và phát triển tế bào trên vật liệu HH cấu trúc xốp (HH-20%), tế bào nguyên sợi L929 với ba nồng độ khác nhau được thử nghiệm và được phát hiện bằng phương pháp nhuộm Crystal Violet.



**Hình 3.15** Hình ảnh đánh giá khả năng bám dính của vật liệu vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp (HH-20%) thông qua phép nhuộm Crystal violet

Hình 3.15 minh họa kết quả thử nghiệm với 4 thời điểm nuôi cấy: 4 giờ, 3 ngày, 7 ngày và 14 ngày. Kết quả quan sát ảnh chụp bằng kính hiển vi soi ngược cho thấy đối với tất cả mật độ tế bào, sau mốc thời gian 4 giờ nuôi cấy, các phần tử màu tím có dạng sợi tương tự với hình thái của L929. Sau 3 ngày nuôi cấy, các tế bào có xu hướng phân bố rộng khắp trên vật liệu và mật độ tăng đáng kể minh họa bởi vùng đậm màu tím sau 7 ngày nuôi cấy. Đặc biệt, đến ngày 14, không quan sát rõ hình dạng ban đầu của nguyên bào sợi L929, thay vào đó là dạng bó như cấu trúc mô. Bên cạnh đó, mức độ đậm nhạt của vùng màu tím cho thấy sự khác biệt đáng kể về hiệu quả thúc đẩy sự bám dính, di chuyển và tăng sinh tế bào. Điều này thể hiện rõ rệt nhất ở nhóm mẫu sau 7 ngày nuôi cấy, độ đậm nhạt vùng tím cho thấy các tế bào được gieo trên mẫu vật liệu HH cấu trúc xốp có tỉ lệ xâm chiếm vào vật liệu cao hơn so với mẫu vật liệu HH. Điều này có thể giải thích rằng sự cung cấp các khoảng trống trong cấu trúc vật liệu HH xốp làm tăng tỉ lệ không gian trống thuận tiện cho tế bào thâm nhập. Những biểu hiện của tế bào trong nghiên cứu thử nghiệm này đã góp phần chứng minh HH cấu trúc xốp được

chế tạo từ quy trình đề ra đã góp phần tăng hiệu quả bám dính, di chuyển và phát triển tế bào của vật liệu HH cấu trúc xốp.

## CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

Luận văn với mục tiêu tổng hợp thành vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp có các đặc tính hóa lý, cơ học và sinh học phù hợp cho ứng dụng tái tạo xương. Sau quá trình nghiên cứu và tiến hành thực nghiệm, đề tài thu được những kết quả như sau:

1. Đã tổng hợp thành công vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp bằng phương pháp dung dịch muối. Vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp được tổng hợp dưới điều kiện nhiệt độ 110°C, thời gian phản ứng 1,5h và trong môi trường dung dịch CaCl<sub>2</sub> 20% (w/v). Quy trình tổng hợp được rút ngắn thời gian phản ứng từ 3,5h xuống còn 1,5h so với nghiên cứu của nhóm trước đó
2. Vật liệu  $\alpha$ -HH xốp trong nghiên cứu có độ xốp 61,32%  $\pm$  3,20, cường độ chịu nén 5,04  $\pm$  0,11 Mpa.
3. Vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp đạt độ vô khuẩn làm vật liệu cấy ghép theo TCVN 1023:1991.
4. Đã xây dựng hồ sơ phân hủy sinh học và khả năng hình thành khoáng trên bề mặt của vật liệu trong thử nghiệm ngâm trong dung dịch SBF.
5. Vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp không gây độc tế bào trong thử nghiệm MTT trên dòng tế bào L929 và có khả năng bám dính tế bào, có tiềm năng ứng dụng làm vật liệu ứng dụng tái tạo xương.

### KIẾN NGHỊ

Dựa trên những kết quả đạt được từ nghiên cứu này, một số định hướng nghiên cứu được đề xuất, gồm:

1. Nghiên cứu tính tương thích tế bào và hiệu quả tăng sinh, phát triển và bám dính trên dòng tế bào xương.
2. Nghiên cứu đánh giá hiệu quả tái tạo xương *in vivo* trên mô hình động vật.

**DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- [1] M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, and A. Jamshidi, “Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures,” *Acta Biomater*, vol. 9, no. 8, pp. 7591–7621, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2013.04.012.
- [2] A. K. Nair, A. Gautieri, S.-W. Chang, and M. J. Buehler, “Molecular mechanics of mineralized collagen fibrils in bone,” *Nat Commun*, vol. 4, no. 1, p. 1724, Apr. 2013, doi: 10.1038/ncomms2720.
- [3] L. Soriano Romani, J. A. Nieto Fuentes, L. Tomás Cobos, and E. Diez Sánchez, “Modulatory activity of a bovine hydrolyzed collagen-hydroxyapatite food complex on human primary osteoblasts after simulating its gastrointestinal digestion and absorption,” *Nutr Hosp*, 2022, doi: 10.20960/nh.03978.
- [4] N. A. Sims and C. Vrahnas, “Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts,” *Arch Biochem Biophys*, vol. 561, pp. 22–28, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.abb.2014.05.015.
- [5] “Bone remodeling dynamics. By H. M. Frost, M.D. Springfield, Illinois, Charles C Thomas Company, 1963. 175 pp., 184 references, 12 appendices, 40 figures. \$8.50,” *Arthritis Rheum*, vol. 7, no. 5, pp. 545–545, Oct. 1964, doi: 10.1002/art.1780070512.
- [6] S. C. Marks and S. N. Popoff, “Bone cell biology: The regulation of development, structure, and function in the skeleton,” *American Journal of Anatomy*, vol. 183, no. 1, pp. 1–44, Sep. 1988, doi: 10.1002/aja.1001830102.
- [7] M. Capulli, R. Paone, and N. Rucci, “Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers,” *Arch Biochem Biophys*, vol. 561, pp. 3–12, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.abb.2014.05.003.
- [8] R. Florencio-Silva, G. R. da S. Sasso, E. Sasso-Cerri, M. J. Simões, and P. S. Cerri, “Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells,” *Biomed Res Int*, vol. 2015, pp. 1–17, 2015, doi: 10.1155/2015/421746.

- [9] T. A. Franz-Odenaal, B. K. Hall, and P. E. Witten, “Buried alive: How osteoblasts become osteocytes,” *Developmental Dynamics*, vol. 235, no. 1, pp. 176–190, Jan. 2006, doi: 10.1002/dvdy.20603.
- [10] R. Setiawati and P. Rahardjo, “Bone Development and Growth,” in *Osteogenesis and Bone Regeneration*, IntechOpen, 2019. doi: 10.5772/intechopen.82452.
- [11] E. Sornay-Rendu, S. Boutroy, F. Munoz, and P. D. Delmas, “Alterations of Cortical and Trabecular Architecture Are Associated With Fractures in Postmenopausal Women, Partially Independent of Decreased BMD Measured by DXA: The OFELY Study,” *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 22, no. 3, pp. 425–433, Mar. 2007, doi: 10.1359/jbmr.061206.
- [12] A. A. Poundarik *et al.*, “A direct role of collagen glycation in bone fracture,” *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 52, pp. 120–130, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.jmbbm.2015.08.012.
- [13] C. H. Damsky, “Extracellular matrix–integrin interactions in osteoblast function and tissue remodeling,” *Bone*, vol. 25, no. 1, pp. 95–96, Jul. 1999, doi: 10.1016/S8756-3282(99)00106-4.
- [14] P. J. Marie, “Role of N-cadherin in bone formation,” *J Cell Physiol*, vol. 190, no. 3, pp. 297–305, Mar. 2002, doi: 10.1002/jcp.10073.
- [15] F. Saltel, O. Destaing, F. Bard, D. Eichert, and P. Jurdic, “Apatite-mediated Actin Dynamics in Resorbing Osteoclasts,” *Mol Biol Cell*, vol. 15, no. 12, pp. 5231–5241, Dec. 2004, doi: 10.1091/mbc.e04-06-0522.
- [16] G. Mbalaviele, C. S. Shin, and R. Civitelli, “Perspective: Cell–Cell Adhesion and Signaling Through Cadherins: Connecting Bone Cells in Their Microenvironment,” *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 21, no. 12, pp. 1821–1827, Dec. 2006, doi: 10.1359/jbmr.060811.
- [17] L. M. McNamara, R. J. Majeska, S. Weinbaum, V. Friedrich, and M. B. Schaffler, “Attachment of Osteocyte Cell Processes to the Bone Matrix,” *Anat Rec*, vol. 292, no. 3, pp. 355–363, Mar. 2009, doi: 10.1002/ar.20869.
- [18] J. B. Litzenberger, J.-B. Kim, P. Tummala, and C. R. Jacobs, “ $\beta$ 1 Integrins Mediate Mechanosensitive Signaling Pathways in Osteocytes,” *Calcif Tissue Int*, vol. 86, no. 4, pp. 325–332, Apr. 2010, doi: 10.1007/s00223-010-9343-6.

- [19] K. PIEKARSKI and M. MUNRO, "Transport mechanism operating between blood supply and osteocytes in long bones," *Nature*, vol. 269, no. 5623, pp. 80–82, Sep. 1977, doi: 10.1038/269080a0.
- [20] S. Weinbaum, S. C. Cowin, and Y. Zeng, "A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses," *J Biomech*, vol. 27, no. 3, pp. 339–360, Mar. 1994, doi: 10.1016/0021-9290(94)90010-8.
- [21] J. Barros, F. J. Monteiro, and M. P. Ferraz, "Bioengineering Approaches to Fight against Orthopedic Biomaterials Related-Infections," *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 19, p. 11658, Oct. 2022, doi: 10.3390/ijms231911658.
- [22] M. Bahraminasab, "Challenges on optimization of 3D-printed bone scaffolds," *Biomed Eng Online*, vol. 19, no. 1, p. 69, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12938-020-00810-2.
- [23] W. Wang and K. W. K. Yeung, "Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review," *Bioact Mater*, vol. 2, no. 4, pp. 224–247, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007.
- [24] S. Feroz, P. Cathro, S. Ivanovski, and N. Muhammad, "Biomimetic bone grafts and substitutes: A review of recent advancements and applications," *Biomedical Engineering Advances*, vol. 6, p. 100107, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.bea.2023.100107.
- [25] M. P. Nikolova and M. S. Chavali, "Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review," *Bioact Mater*, vol. 4, pp. 271–292, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.bioactmat.2019.10.005.
- [26] F. Shang *et al.*, "Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration," *Bioact Mater*, vol. 6, no. 3, pp. 666–683, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.08.014.
- [27] Y. SUGAWARA, H. KAMIOKA, T. HONJO, K. TEZUKA, and T. TAKANOYAMAMOTO, "Three-dimensional reconstruction of chick calvarial osteocytes and their cell processes using confocal microscopy," *Bone*, vol. 36, no. 5, pp. 877–883, May 2005, doi: 10.1016/j.bone.2004.10.008.
- [28] G. Iviglia, S. Kargozar, and F. Baino, "Biomaterials, Current Strategies, and Novel Nano-Technological Approaches for Periodontal Regeneration," *J Funct Biomater*, vol. 10, no. 1, p. 3, Jan. 2019, doi: 10.3390/jfb10010003.

- [29] J. Liu *et al.*, “Pre-vascularization in fibrin Gel/PLGA microsphere scaffolds designed for bone regeneration,” *NPG Asia Mater*, vol. 10, no. 8, pp. 827–839, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41427-018-0076-8.
- [30] S. M. M. Roosa, J. M. Kemppainen, E. N. Moffitt, P. H. Krebsbach, and S. J. Hollister, “The pore size of polycaprolactone scaffolds has limited influence on bone regeneration in an *in vivo* model,” *J Biomed Mater Res A*, vol. 92A, no. 1, pp. 359–368, Jan. 2010, doi: 10.1002/jbm.a.32381.
- [31] M. Cheng *et al.*, “A novel open-porous magnesium scaffold with controllable microstructures and properties for bone regeneration,” *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, p. 24134, Apr. 2016, doi: 10.1038/srep24134.
- [32] T. C. Lim, K. S. Chian, and K. F. Leong, “Cryogenic prototyping of chitosan scaffolds with controlled micro and macro architecture and their effect on *in vivo* neo-vascularization and cellular infiltration,” *J Biomed Mater Res A*, vol. 94A, no. 4, pp. 1303–1311, Sep. 2010, doi: 10.1002/jbm.a.32747.
- [33] N. Abbasi, S. Hamlet, R. M. Love, and N.-T. Nguyen, “Porous scaffolds for bone regeneration,” *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 5, no. 1, pp. 1–9, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.jsamd.2020.01.007.
- [34] S. Ma *et al.*, “Manufacturability, Mechanical Properties, Mass-Transport Properties and Biocompatibility of Triply Periodic Minimal Surface (TPMS) Porous Scaffolds Fabricated by Selective Laser Melting,” *Mater Des*, vol. 195, p. 109034, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.matdes.2020.109034.
- [35] P. Fabbri, F. Bondioli, M. Messori, C. Bartoli, D. Dinucci, and F. Chiellini, “Porous scaffolds of polycaprolactone reinforced with in situ generated hydroxyapatite for bone tissue engineering,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 21, no. 1, pp. 343–351, Jan. 2010, doi: 10.1007/s10856-009-3839-5.
- [36] K. IOKU, Y. EGUCHI, H. FUJIMORI, S. GOTO, W. SUCHANEK, and M. YOSHIMURA, “POROUS MATERIALS OF CALCIUM HYDROXYAPATITE AND STRONTIUM HYDROXYAPATITE PREPARED HYDROTHERMALLY,” *Phosphorus Research Bulletin*, vol. 9, no. 0, pp. 11–16, 1999, doi: 10.3363/prb1992.9.0\_11.
- [37] K. Ioku, G. Kawachi, S. Sasaki, H. Fujimori, and S. Goto, “Hydrothermal preparation of tailored hydroxyapatite,” *J Mater Sci*, vol. 41, no. 5, pp. 1341–1344, Mar. 2006, doi: 10.1007/s10853-006-7338-5.



- [38] S. Murakami, K. Kato, Y. Enari, M. Kamitakahara, N. Watanabe, and K. Ioku, "Hydrothermal synthesis of porous hydroxyapatite ceramics composed of rod-shaped particles and evaluation of their fracture behavior," *Ceram Int*, vol. 38, no. 2, pp. 1649–1654, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.ceramint.2011.09.056.
- [39] R. Ene, M. Nica, D. Ene, A. Cursaru, and C. Cirstoiu, "Review of calcium-sulphate-based ceramics and synthetic bone substitutes used for antibiotic delivery in PJI and osteomyelitis treatment," *EFORT Open Rev*, vol. 6, no. 5, pp. 297–304, May 2021, doi: 10.1302/2058-5241.6.200083.
- [40] Q. Guan *et al.*, "Preparation of  $\alpha$ -calcium sulfate hemihydrate from industrial by-product gypsum: A review," *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, vol. 57, no. 1, pp. 168–181, Nov. 2020, doi: 10.37190/ppmp/130795.
- [41] M. V. Thomas and D. A. Puleo, "Calcium sulfate: Properties and clinical applications," *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 88B, no. 2, pp. 597–610, Feb. 2009, doi: 10.1002/jbm.b.31269.
- [42] A. C. Parker, K. J. Smith, H. S. Courtney, and W. O. Haggard, "Evaluation of Two Sources of Calcium Sulfate for a Local Drug Delivery System: A Pilot Study," *Clin Orthop Relat Res*, vol. 469, no. 11, pp. 3008–3015, Nov. 2011, doi: 10.1007/s11999-011-1911-1.
- [43] R. Arun Kumar, A. Sivashanmugam, S. Deepthi, J. D. Bumgardner, S. V. Nair, and R. Jayakumar, "Nano-fibrin stabilized CaSO<sub>4</sub> crystals incorporated injectable chitin composite hydrogel for enhanced angiogenesis & osteogenesis," *Carbohydr Polym*, vol. 140, pp. 144–153, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.11.074.
- [44] G. Fernandes, V. Abhyankar, and J. M O'Dell, "Calcium Sulfate as a Scaffold for Bone Tissue Engineering: A Descriptive Review," *Journal of Dentistry, Oral Disorders & Therapy*, vol. 9, no. 1, pp. 1–22, Mar. 2021, doi: 10.15226/jdodt.2021.001124.
- [45] N. T. N. Le, N. T. T. Le, Q. L. Nguyen, T. L.-B. Pham, M.-T. Nguyen-Le, and D. H. Nguyen, "A Facile Synthesis Process and Evaluations of  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate for Bone Substitute," *Materials*, vol. 13, no. 14, p. 3099, Jul. 2020, doi: 10.3390/ma13143099.

- [46] D. L. Tran *et al.*, “ $\alpha$ -Calcium sulfate hemihydrate bioceramic prepared via salt solution method to enhance bone regenerative efficiency,” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 120, pp. 293–301, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.jiec.2022.12.036.
- [47] B. Guan, Z. Shen, Z. Wu, L. Yang, and X. Ma, “Effect of pH on the Preparation of  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate from FGD Gypsum with the Hydrothermal Method,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 91, no. 12, pp. 3835–3840, Dec. 2008, doi: 10.1111/j.1551-2916.2008.02729.x.
- [48] Z. Wei, Q. Zhang, and X. Li, “Crystallization Kinetics of  $\alpha$ -Hemihydrate Gypsum Prepared by Hydrothermal Method in Atmospheric Salt Solution Medium,” *Crystals (Basel)*, vol. 11, no. 8, p. 843, Jul. 2021, doi: 10.3390/cryst11080843.
- [49] X. Mu *et al.*, “Effects of Impurities on  $\text{CaSO}_4$  Crystallization in the  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\text{--H}_2\text{SO}_4\text{--H}_3\text{PO}_4\text{--H}_2\text{O}$  System,” *ACS Omega*, vol. 4, no. 7, pp. 12702–12710, Jul. 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b01114.
- [50] B. Wang, L. Yang, and J. Cao, “The Influence of Impurities on the Dehydration and Conversion Process of Calcium Sulfate Dihydrate to  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate in the Two-Step Wet-Process Phosphoric Acid Production,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 9, no. 43, pp. 14365–14374, Nov. 2021, doi: 10.1021/acssuschemeng.1c03792.
- [51] Q. Guan *et al.*, “Simultaneous control of particle size and morphology of  $\alpha$ - $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  with organic additives,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 102, no. 5, pp. 2440–2450, May 2019, doi: 10.1111/jace.16177.
- [52] S. Chen *et al.*, “Microemulsion Synthesis of Nanosized Calcium Sulfate Hemihydrate and Its Morphology Control by Different Surfactants,” *ACS Omega*, vol. 4, no. 5, pp. 9552–9556, May 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b00797.
- [53] X. Li and Q. Zhang, “Effect of Molecular Structure of Organic Acids on the Crystal Habit of  $\alpha$ - $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$  from Phosphogypsum,” *Crystals (Basel)*, vol. 10, no. 1, p. 24, Jan. 2020, doi: 10.3390/cryst10010024.
- [54] K.-L. Ou *et al.*, “Bone Healing and Regeneration Potential in Rabbit Cortical Defects Using an Innovative Bioceramic Bone Graft Substitute,”

- Applied Sciences*, vol. 10, no. 18, p. 6239, Sep. 2020, doi: 10.3390/app10186239.
- [55] N. T. T. A. H. T. T. N. D. H. Truong Mong Quynh, "Preparation of  $\alpha$ -calcium sulfate hemihydrate by microwave method," *Vietnam Journal of Chemistry*, vol. 58, no. 5E12, pp. 404–408, 2020.
- [56] Y. Li, W. Ni, P. Duan, S. Zhang, and J. Wang, "Experimental Study and Mechanism Analysis of Preparation of  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate from FGD Gypsum with Dynamic Method," *Materials*, vol. 15, no. 9, p. 3382, May 2022, doi: 10.3390/ma15093382.
- [57] X. Mao, X. Song, G. Lu, Y. Sun, Y. Xu, and J. Yu, "Effects of Metal Ions on Crystal Morphology and Size of Calcium Sulfate Whiskers in Aqueous HCl Solutions," *Ind Eng Chem Res*, vol. 53, no. 45, pp. 17625–17635, Nov. 2014, doi: 10.1021/ie5030134.
- [58] X. Ru, B. Ma, J. Huang, and Y. Huang, "Phosphogypsum Transition to  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate in the Presence of Omongwaite in NaCl Solutions Under Atmospheric Pressure," *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 95, no. 11, pp. 3478–3482, Nov. 2012, doi: 10.1111/j.1551-2916.2012.05429.x.
- [59] D. Bellucci *et al.*, "Human Mesenchymal Stem Cell Combined with a New Strontium-Enriched Bioactive Glass: An ex-vivo Model for Bone Regeneration," *Materials*, vol. 12, no. 21, p. 3633, Nov. 2019, doi: 10.3390/ma12213633.
- [60] L. Li, Y.-J. Zhu, and M.-G. Ma, "Microwave-assisted preparation of calcium sulfate nanowires," *Mater Lett*, vol. 62, no. 30, pp. 4552–4554, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.matlet.2008.08.040.
- [61] Y. Ling and G. P. Demopoulos, "Preparation of  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate by Reaction of Sulfuric Acid with Lime," *Ind Eng Chem Res*, vol. 44, no. 4, pp. 715–724, Feb. 2005, doi: 10.1021/ie049316w.
- [62] B. Guan, G. Jiang, Z. Wu, J. Mao, and B. Kong, "Preparation of  $\alpha$ -Calcium Sulfate Hemihydrate from Calcium Sulfate Dihydrate in Methanol-Water Solution under Mild Conditions," *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 94, no. 10, pp. 3261–3266, Oct. 2011, doi: 10.1111/j.1551-2916.2011.04470.x.

- [63] S. Mistry *et al.*, “A novel, multi-barrier, drug eluting calcium sulfate/biphasic calcium phosphate biodegradable composite bone cement for treatment of experimental MRSA osteomyelitis in rabbit model,” *Journal of Controlled Release*, vol. 239, pp. 169–181, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.08.014.
- [64] X. Zhang *et al.*, “Structural characteristic and formation mechanism of hemihydrate calcium sulfate whiskers prepared using FGD gypsum,” *Particuology*, vol. 62, pp. 98–103, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.partic.2021.04.010.
- [65] M. M. Mbogoro, M. Peruffo, M. Adobes-Vidal, E. L. Field, M. A. O’Connell, and P. R. Unwin, “Quantitative 3D Visualization of the Growth of Individual Gypsum Microcrystals: Effect of  $\text{Ca}^{2+}:\text{SO}_4^{2-}$  Ratio on Kinetics and Crystal Morphology,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 121, no. 23, pp. 12726–12734, Jun. 2017, doi: 10.1021/acs.jpcc.7b01566.
- [66] P. Wang *et al.*, “Calcium Sulfate Hemihydrate Powders with a Controlled Morphology for Use as Bone Cement,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 91, no. 6, pp. 2039–2042, Jun. 2008, doi: 10.1111/j.1551-2916.2008.02358.x.
- [67] Z. Chen *et al.*, “Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone ingrowth,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 106, p. 110289, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2019.110289.
- [68] M. R. Morovvati, S. N. Angili, S. Saber-Samandari, M. G. Nejad, D. Toghraie, and A. Khandan, “Global criterion optimization method for improving the porosity of porous scaffolds containing magnetic nanoparticles: Fabrication and finite element analysis,” *Materials Science and Engineering: B*, vol. 292, p. 116414, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.mseb.2023.116414.
- [69] Y. Zhang *et al.*, “The contribution of pore size and porosity of 3D printed porous titanium scaffolds to osteogenesis,” *Biomaterials Advances*, vol. 133, p. 112651, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.msec.2022.112651.
- [70] J. Jiao *et al.*, “Influence of porosity on osteogenesis, bone growth and osteointegration in trabecular tantalum scaffolds fabricated by additive

- manufacturing,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 11, Jan. 2023, doi: 10.3389/fbioe.2023.1117954.
- [71] D. V. Abere, S. A. Ojo, G. M. Oyatogun, M. B. Paredes-Epinosa, M. C. D. Niluxsshun, and A. Hakami, “Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review,” *Biomedical Engineering Advances*, vol. 4, p. 100056, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.bea.2022.100056.
- [72] Y. Zhang *et al.*, “The Osteoinductivity of Calcium Phosphate-Based Biomaterials: A Tight Interaction With Bone Healing,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 10, May 2022, doi: 10.3389/fbioe.2022.911180.
- [73] S. Wei, J.-X. Ma, L. Xu, X.-S. Gu, and X.-L. Ma, “Biodegradable materials for bone defect repair,” *Mil Med Res*, vol. 7, no. 1, p. 54, Dec. 2020, doi: 10.1186/s40779-020-00280-6.
- [74] N. Strutynska *et al.*, “New nanostructured apatite-type (Na<sup>+</sup>,Zn<sup>2+</sup>,CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)-doped calcium phosphates: Preparation, mechanical properties and antibacterial activity,” *J Mol Struct*, vol. 1222, p. 128932, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.128932.
- [75] M. Bohner, “New hydraulic cements based on  $\alpha$ -tricalcium phosphate–calcium sulfate dihydrate mixtures,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 4, pp. 741–749, Feb. 2004, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00573-8.
- [76] M. Bucur *et al.*, “Alveolar blood clots and platelet-rich fibrin induce in vitro fibroblast proliferation and migration,” *Exp Ther Med*, Dec. 2018, doi: 10.3892/etm.2018.7063.
- [77] F. Qu, F. Guilak, and R. L. Mauck, “Cell migration: implications for repair and regeneration in joint disease,” *Nat Rev Rheumatol*, vol. 15, no. 3, pp. 167–179, Mar. 2019, doi: 10.1038/s41584-018-0151-0.

## PHỤ LỤC 1

### Phụ lục 1.1 Quy trình đánh giá độ xốp bằng phương pháp xác định khối lượng riêng theo nguyên lý Archimedes

Quy trình đánh giá được tiến hành tuân theo tiêu chuẩn quốc tế ISO 18754:2013.

❖ Ký hiệu và tên gọi:

Ký hiệu	Tên gọi	Đơn vị
$m_1$	Khối lượng của mẫu thử khô	g
$m_2$	Khối lượng biểu kiến của mẫu thử ngâm trong môi trường chất lỏng	g
$m_3$	Khối lượng của mẫu thử sau khi ngâm tại nhiệt độ thử nghiệm	g
$\rho$	Khối lượng riêng đặc biểu kiến của mẫu thử	g/cm <sup>3</sup>
$\rho_l$	Khối lượng riêng của chất lỏng sử dụng	g/cm <sup>3</sup>
$\rho_b$	Mật độ khối	g/cm <sup>3</sup>

❖ Cách tiến hành:

- Xác định khối lượng của mẫu thử khô:
  - Làm khô mẫu thử trong tủ sấy được kiểm soát nhiệt độ  $110 \pm 5^\circ\text{C}$
  - Để mẫu thử nguội ở nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm
  - Cân mẫu thử ở trạng thái khô. Khối lượng được xác định là khối lượng của mẫu thử khô,  $m_1$
- Làm đầy các khoảng không gian trống của vật liệu bằng cách thực hiện 1 trong 2 phương pháp sau:
  - a. Phương pháp đun sôi
    - Ngâm mẫu thử trong thiết bị gia nhiệt, lưu ý rằng mẫu được bao phủ bằng nước trong suốt quá trình thực hiện

- Đun sôi mẫu thử trong dung dịch trong 3 giờ hoặc lâu hơn nhằm đảm bảo không còn bọt khí trong bình và các khoảng không gian trống trong mẫu thử được làm đầy bởi dung dịch ngâm mẫu
- Để nguội đến nhiệt độ phòng

*Lưu ý: Phương pháp đun sôi không được áp dụng với các vật liệu có phản ứng với nước. Ngoài ra, theo phương pháp đun sôi, chất lỏng hữu cơ không được sử dụng làm chất lỏng ngâm nếu hơi của chất lỏng có đặc tính cháy nổ và độc hại.*

#### b. Phương pháp chân không

- Đặt mẫu thử trong hệ chứa kín khí
- Hút chân không đến áp suất nhỏ hơn 2,5 kPa và duy trì trong 15 phút để loại bỏ tất cả khí từ khoảng không gian trống của mẫu thử
- Cho chất lỏng ngâm vào sao cho mẫu thử được bao phủ hoàn toàn.  
Lưu ý: Trong quá trình cho chất lỏng vào ngâm, hệ bơm chân không phải được duy trì hoạt động cho đến khi kết thúc quá trình cho chất lỏng ngâm vào
- Xả từ từ chân không đến áp suất khí quyển và để mẫu thử duy trì trong chất lỏng ngâm thêm khoảng 30 phút

**Lưu ý:** Đối với vật liệu có phản ứng với nước, sử dụng chất lỏng hữu cơ thích hợp làm chất lỏng ngâm. Trong trường hợp này, chất lỏng ngâm hữu cơ phải là chất không có độc tính và độ bay hơi thấp. Áp suất hơi của chất lỏng ngâm phải nhỏ hơn 2,5 kPa tại nhiệt độ thử nghiệm.

**Chú thích:** Có thể sử dụng paraffin và dibutyl phtalat làm dịch ngâm mẫu

- Xác định khối lượng của mẫu thử sau khi hoàn tất quá trình ngâm mẫu:
  - Tiến hành thao tác nhẹ nhàng làm khô các bề mặt bên ngoài của mẫu thử
  - Cân mẫu thử sau khi đã ngâm toàn bộ để thu được  $m_3$
- Xác định khối lượng biểu kiến của mẫu thử được ngâm trong môi trường chất lỏng

- Đặt mẫu thử trên một hệ treo lơ lửng ngâm trong dung dịch chất lỏng ngâm. Ghi nhận khối lượng trong khi mẫu thử được ngâm hoàn toàn trong chất lỏng ngâm,  $m_b$
  - Ghi nhận khối lượng của hệ treo lơ lửng (không có mẫu thử) ngâm trong chất lỏng ngâm ở chiều sâu tương ứng khi có mẫu thử,  $m_a$
  - Khối lượng biểu kiến của mẫu thử,  $m_2$  được xác định:  $m_2 = m_b - m_a$
- Khối lượng riêng đặc biểu kiến của mẫu thử là khối lượng vật liệu khô với thể tích nhất định, được tính theo công thức:

$$\rho = \frac{m_1}{m_1 - m_2} \times \rho_1$$

- Mật độ khô được tính theo công thức:

$$\rho_b = \frac{m_1}{m_3 - m_2} \times \rho_1$$

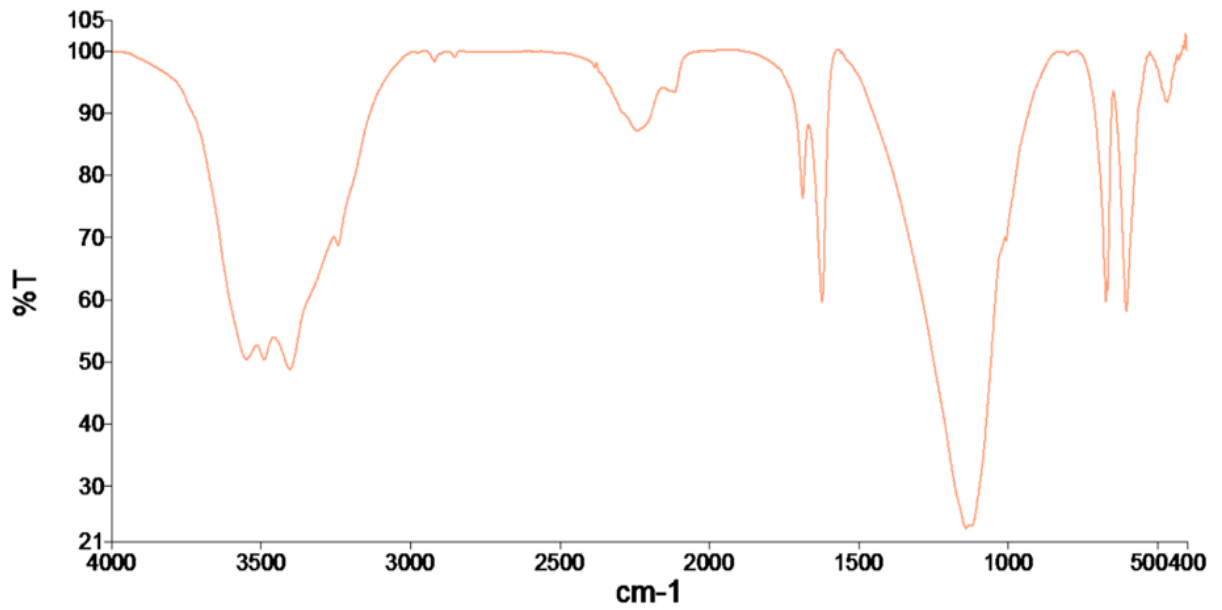
- Độ xốp hở của vật liệu, tính theo phần trăm thể tích, được tính theo công thức:

$$\varphi = \frac{(\rho - \rho_b) \times 100}{\rho} = \frac{m_3 - m_1}{m_3 - m_2} \times 100$$

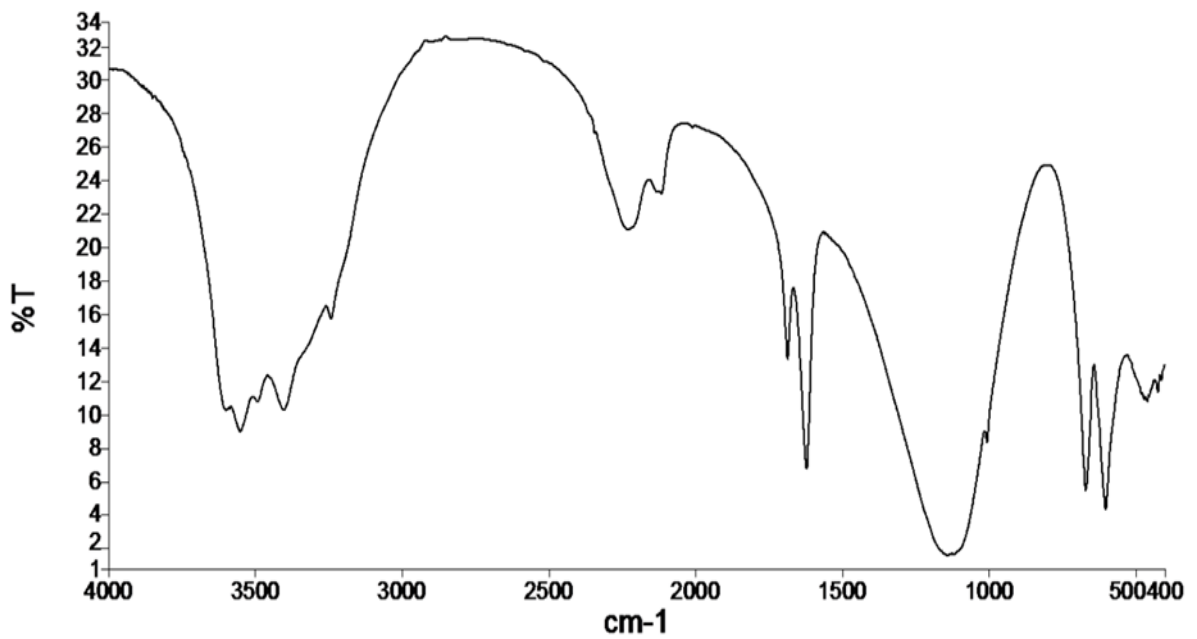


## PHỤ LỤC 2

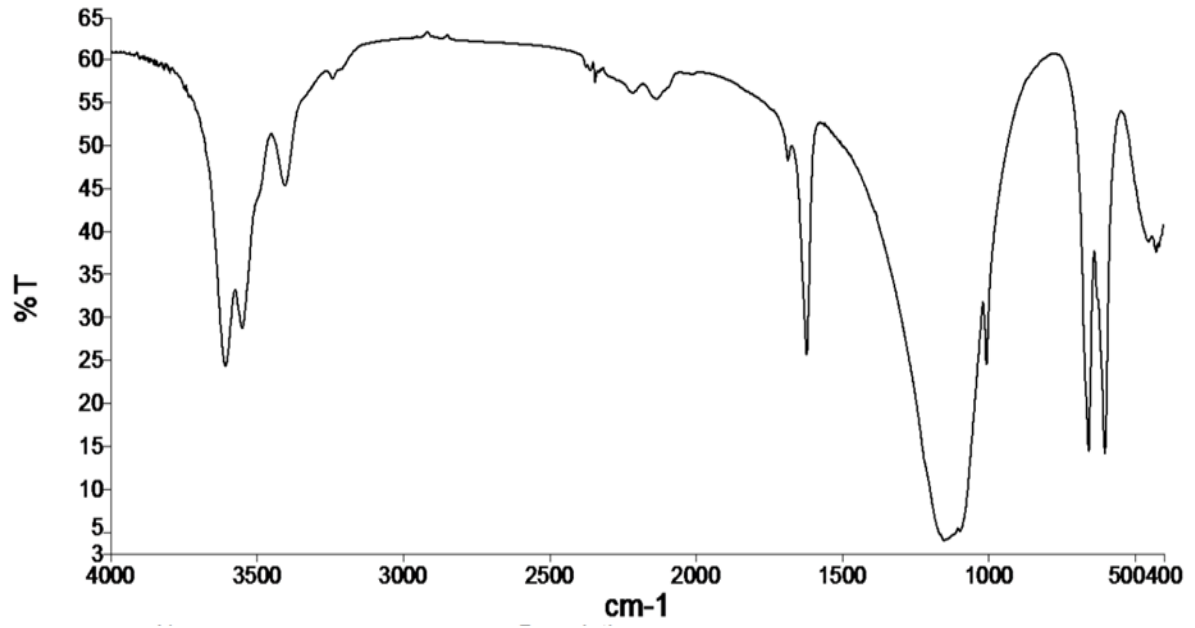
## Spectrum



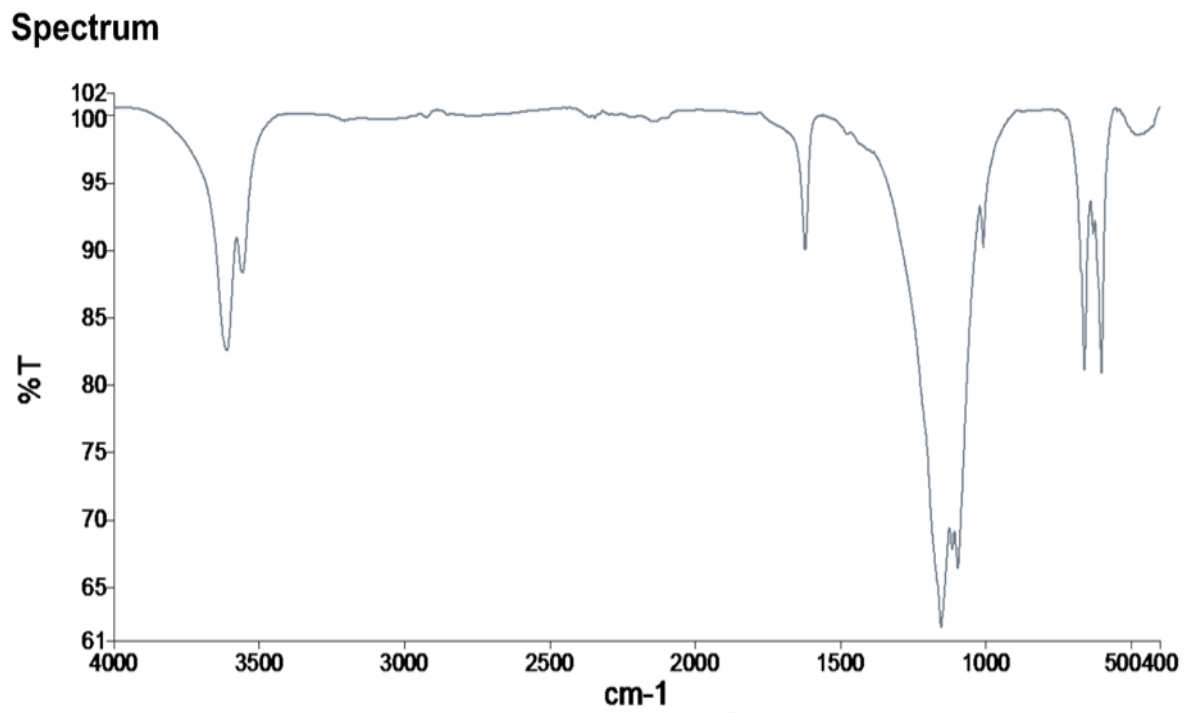
Phụ lục 1. Kết quả phân tích FTIR của DH



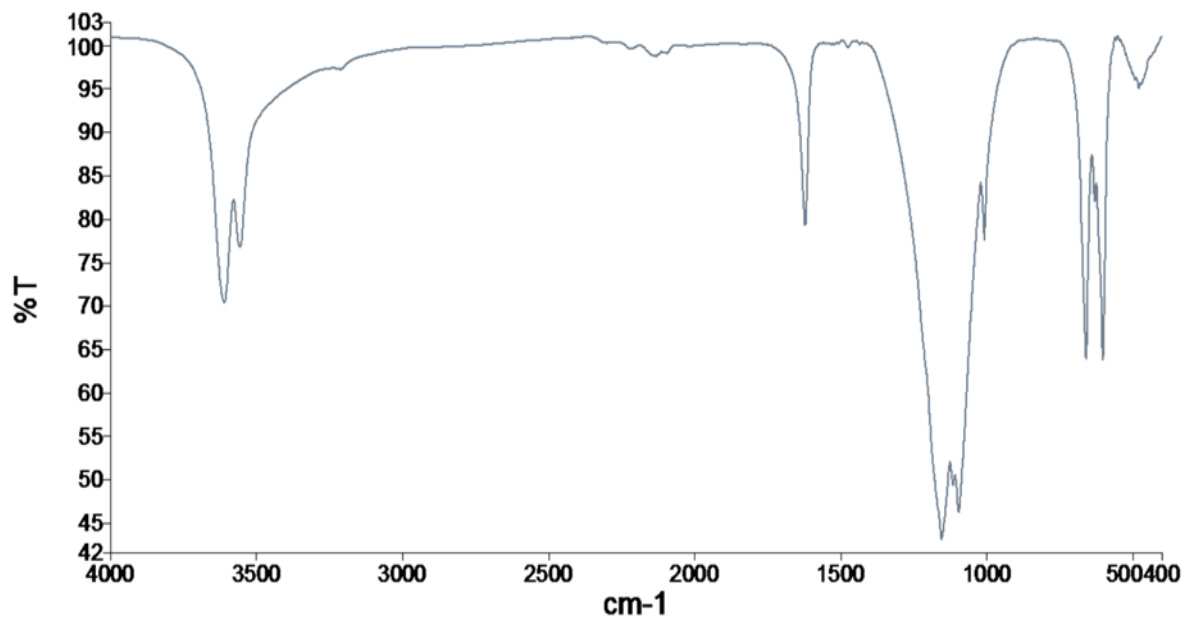
Phụ lục 2. Kết quả phân tích FTIR của HH-1



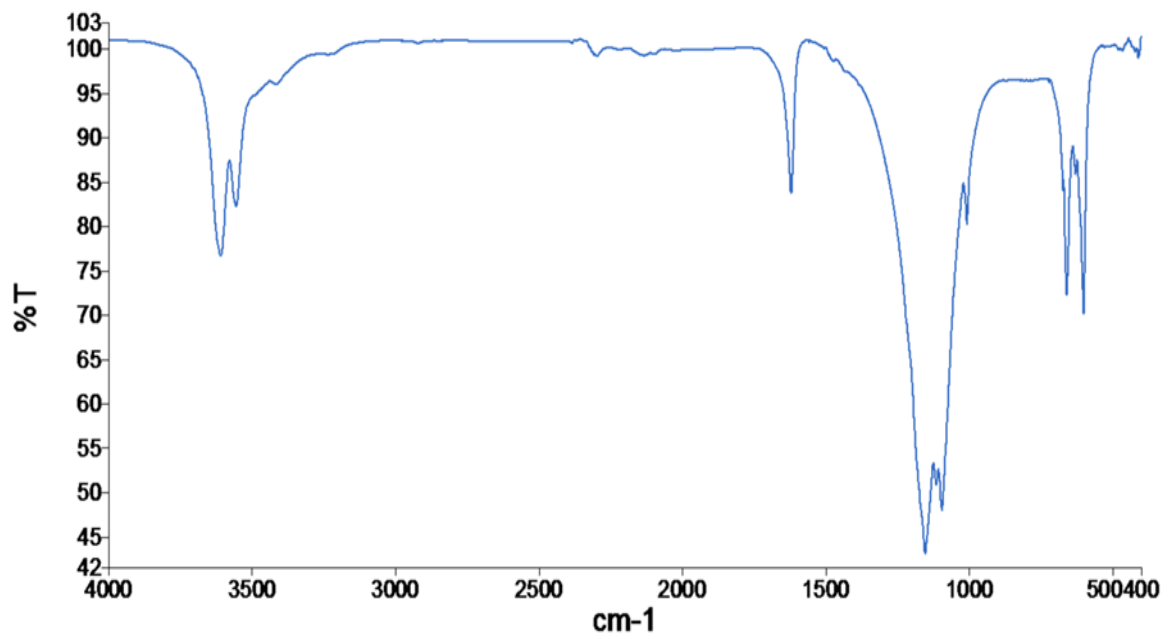
Phụ lục 3. Kết quả phân tích FTIR của HH-2



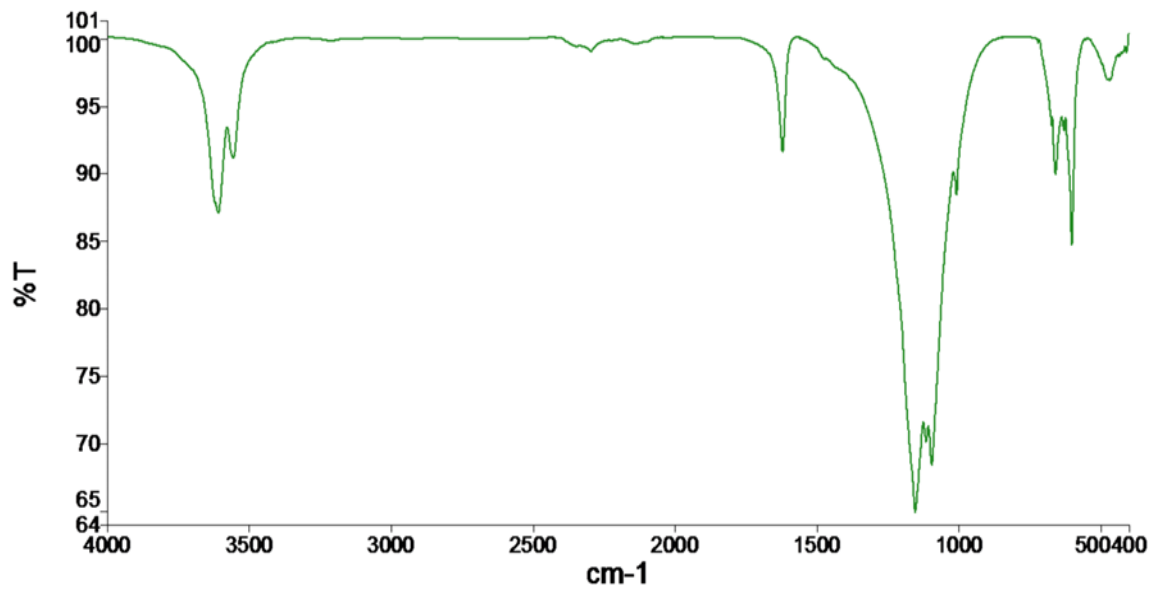
Phụ lục 4. Kết quả phân tích FTIR của HH-3

**Spectrum**

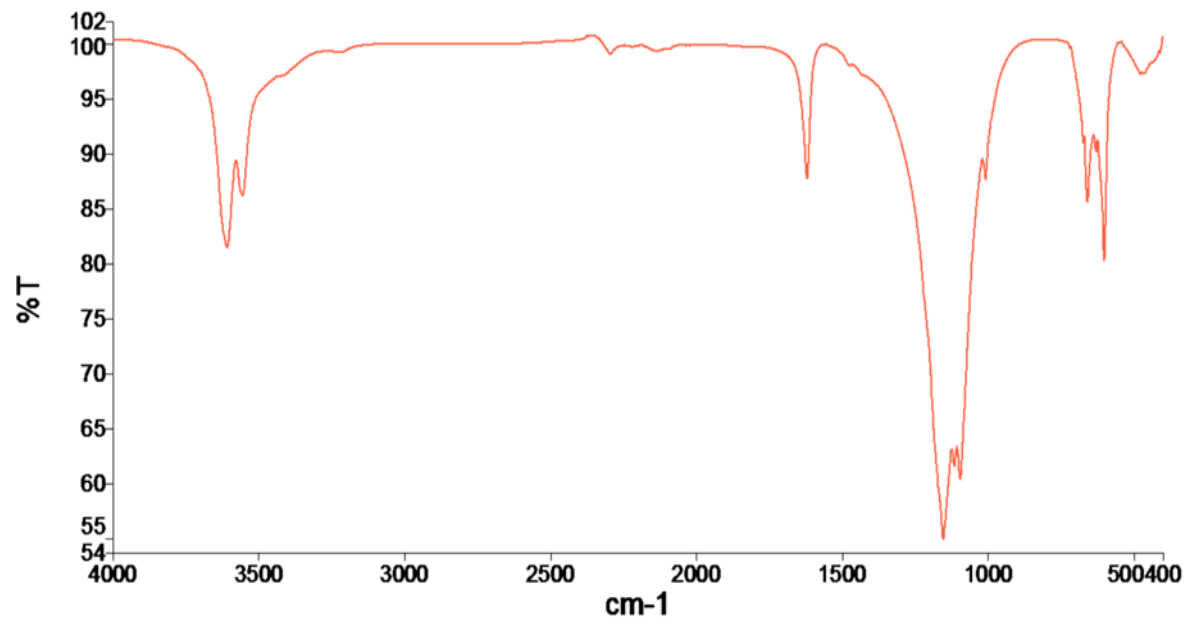
Phụ lục 5. Kết quả phân tích FTIR của HH-30

**Spectrum**

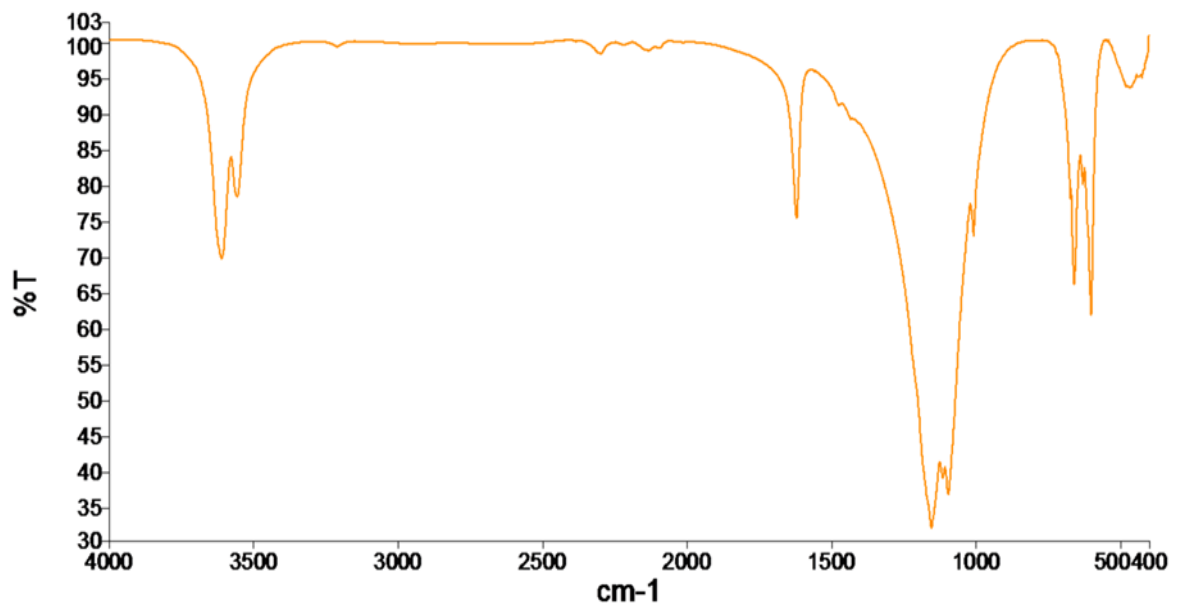
Phụ lục 6. Kết quả phân tích FTIR của HH-60

**Spectrum**

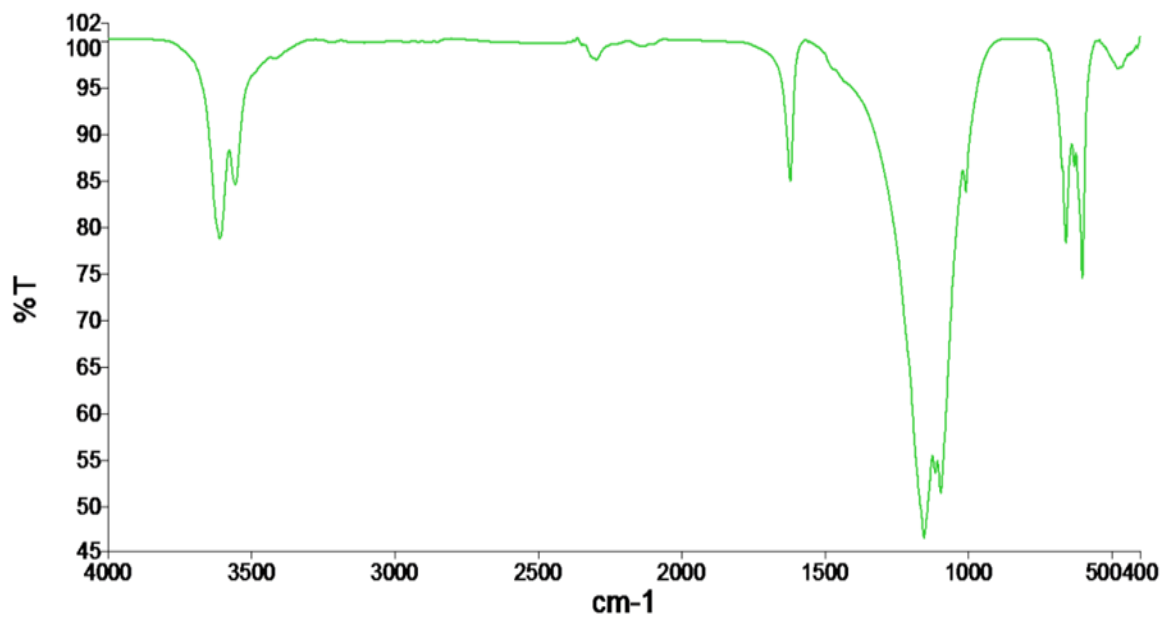
Phụ lục 7. Kết quả phân tích FTIR của HH-90

**Spectrum**

Phụ lục 8. Kết quả phân tích FTIR của HH-120

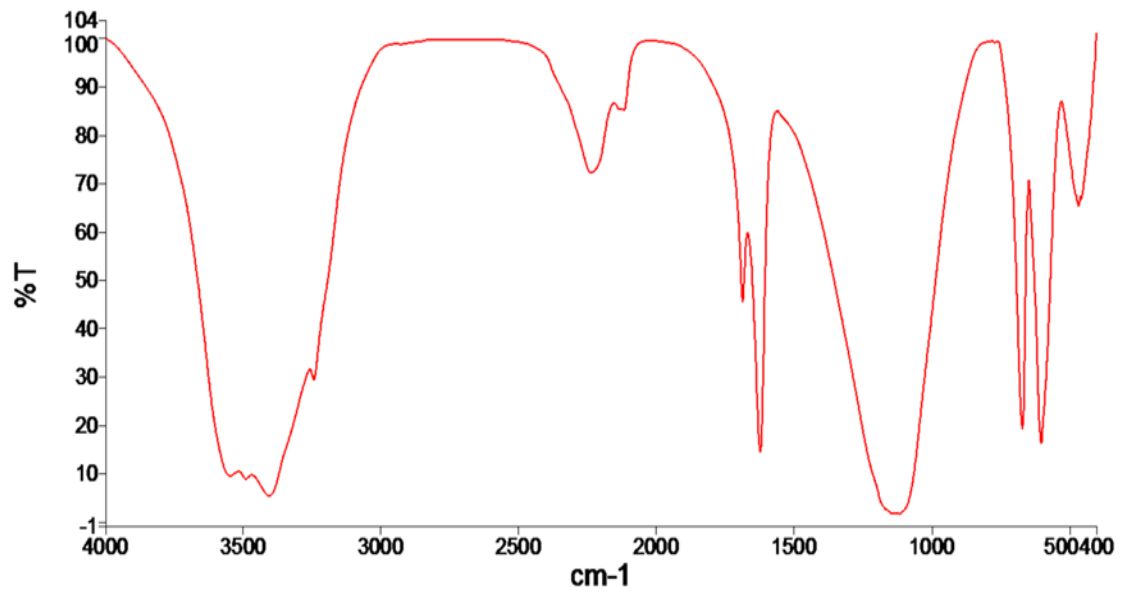
**Spectrum**

Phụ lục 9. Kết quả phân tích FTIR của HH-150

**Spectrum**

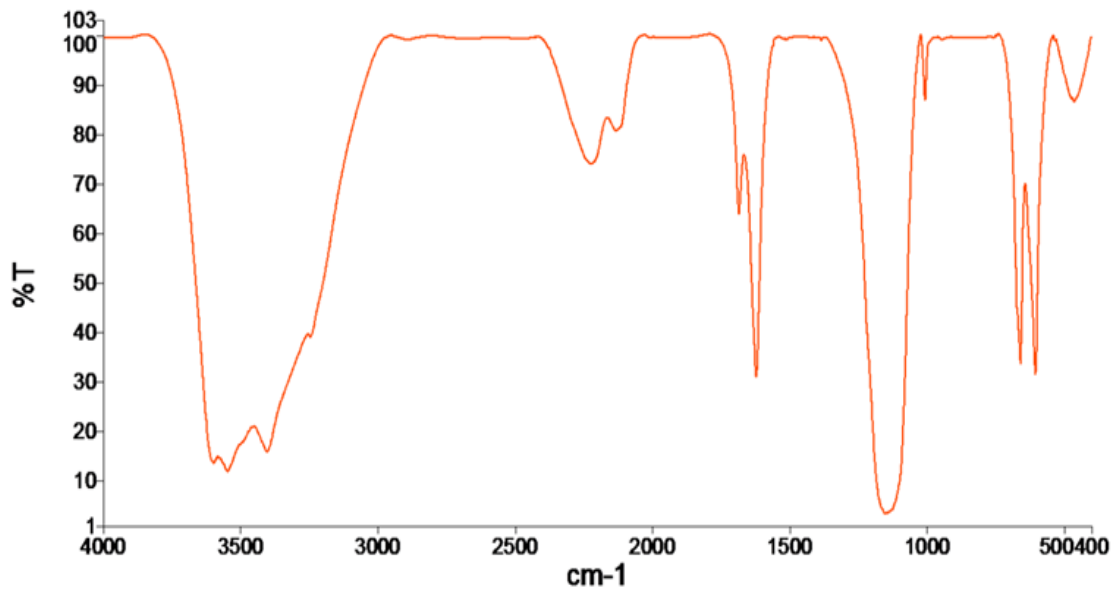
Phụ lục 10. Kết quả phân tích FTIR của HH-180

Spectrum

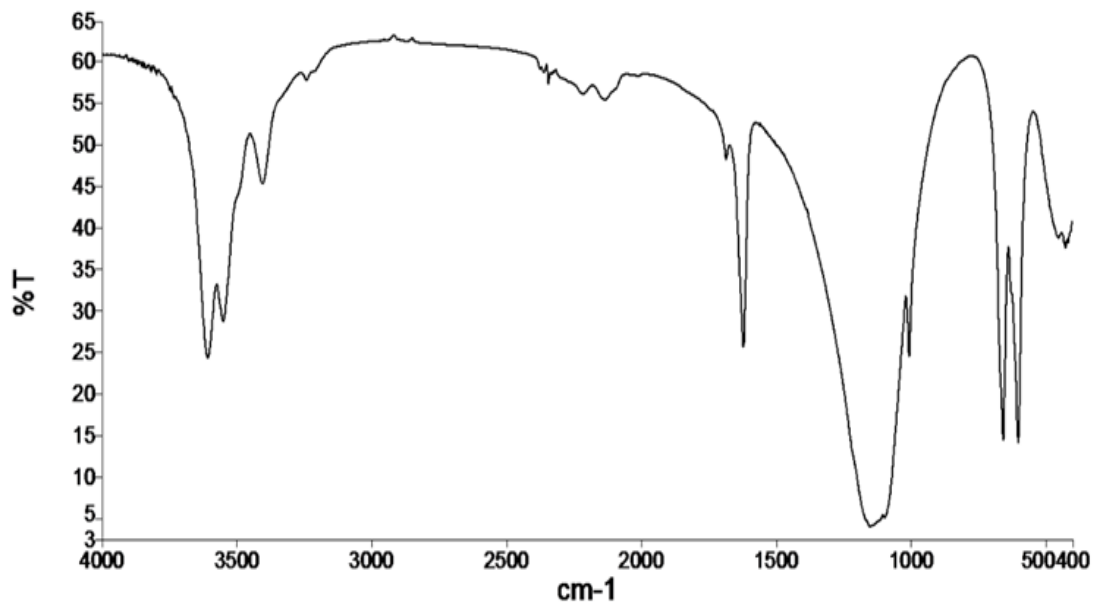


Phụ lục 11. Kết quả phân tích FTIR của DH

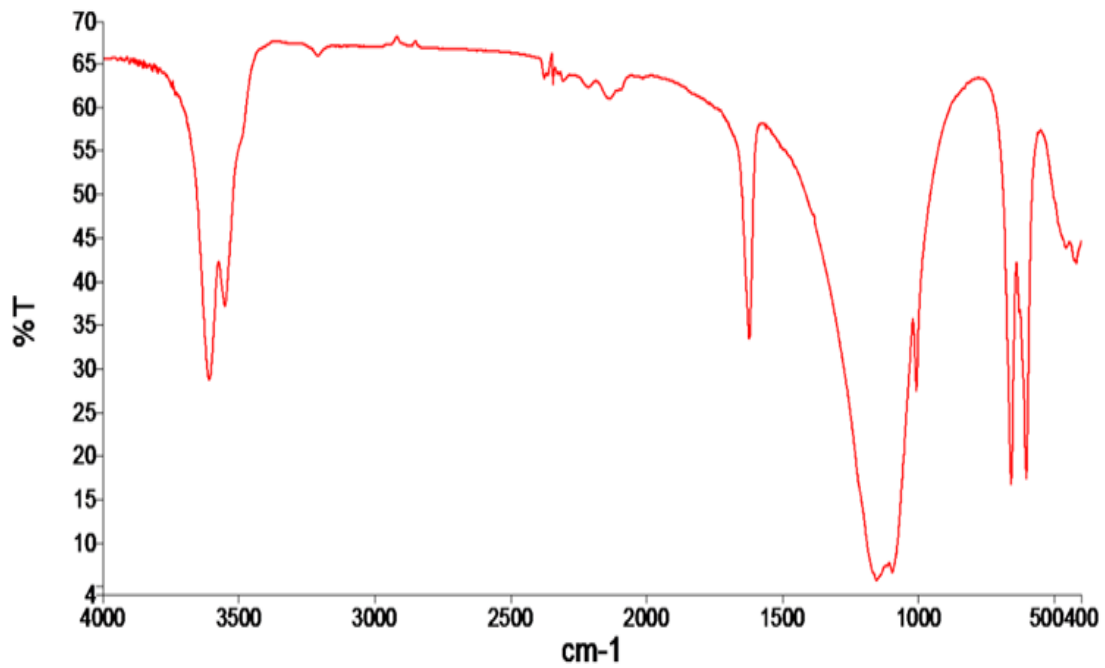
Spectrum



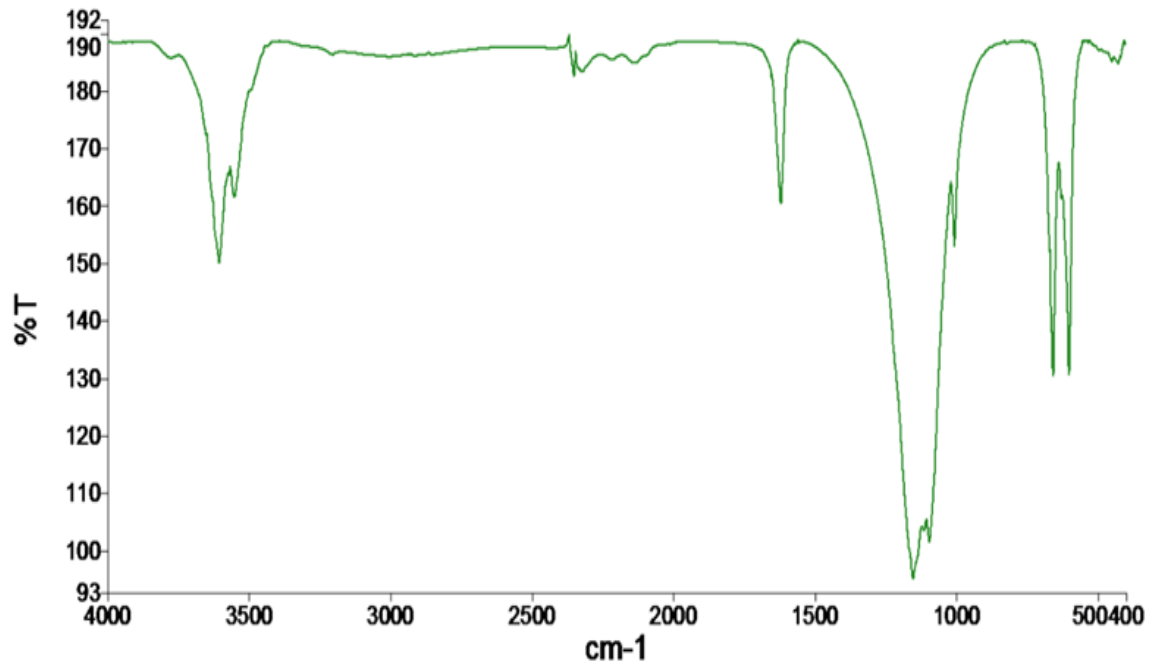
Phụ lục 12. Kết quả phân tích FTIR của HH-5%



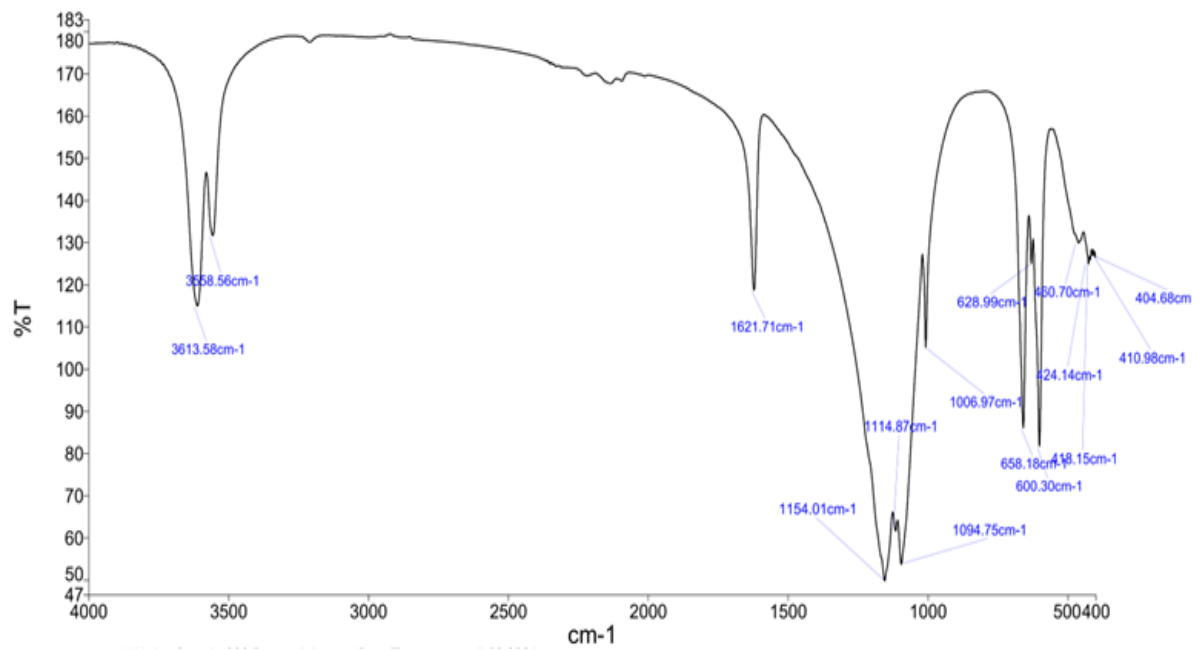
Phụ lục 13. Kết quả phân tích FTIR của HH-10%



Phụ lục 14. Kết quả phân tích FTIR của HH-20%

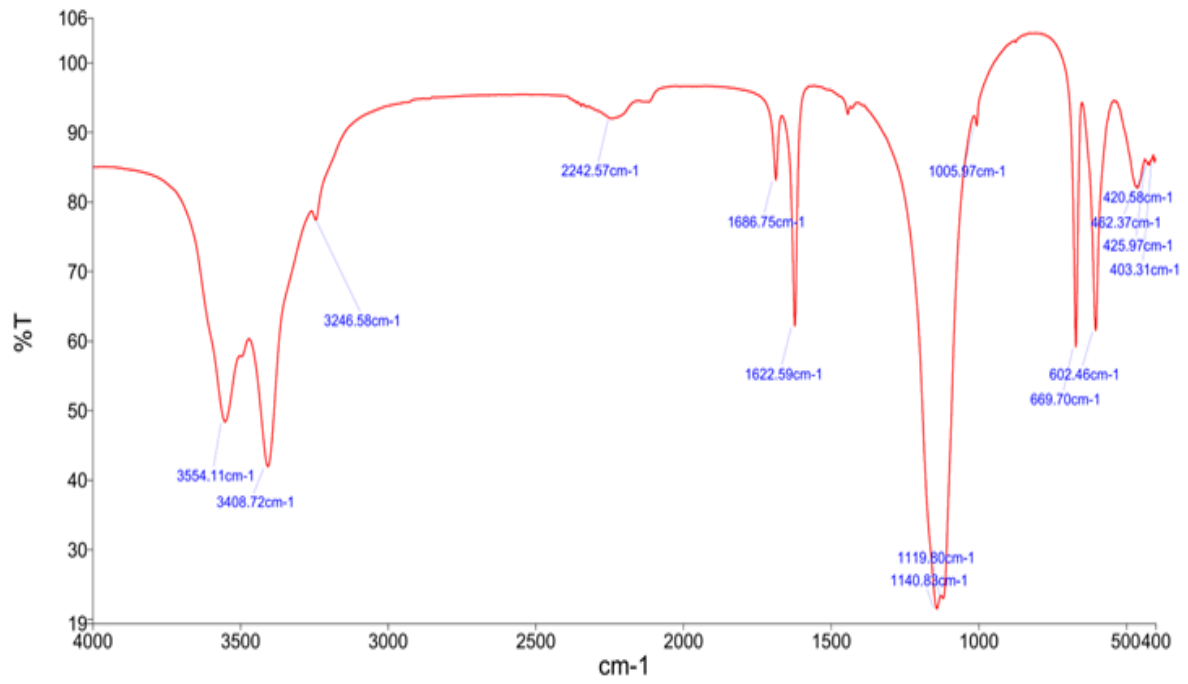


Phụ lục 15. Kết quả phân tích FTIR của HH-40%

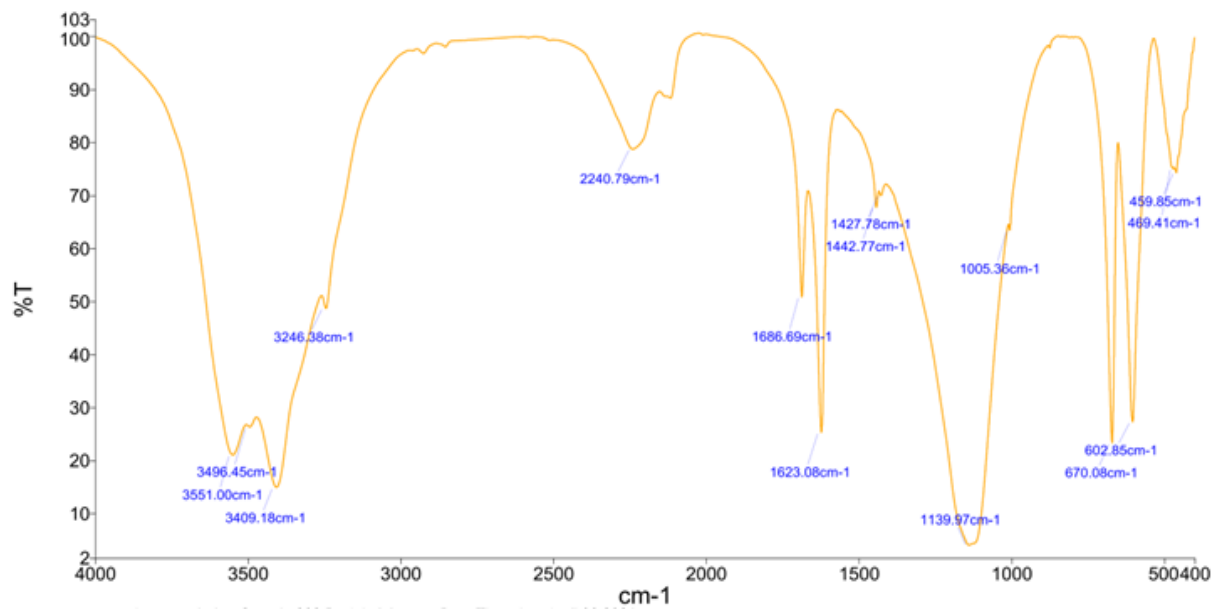


Phụ lục 16. Kết quả phân tích FTIR của HH (SBF)

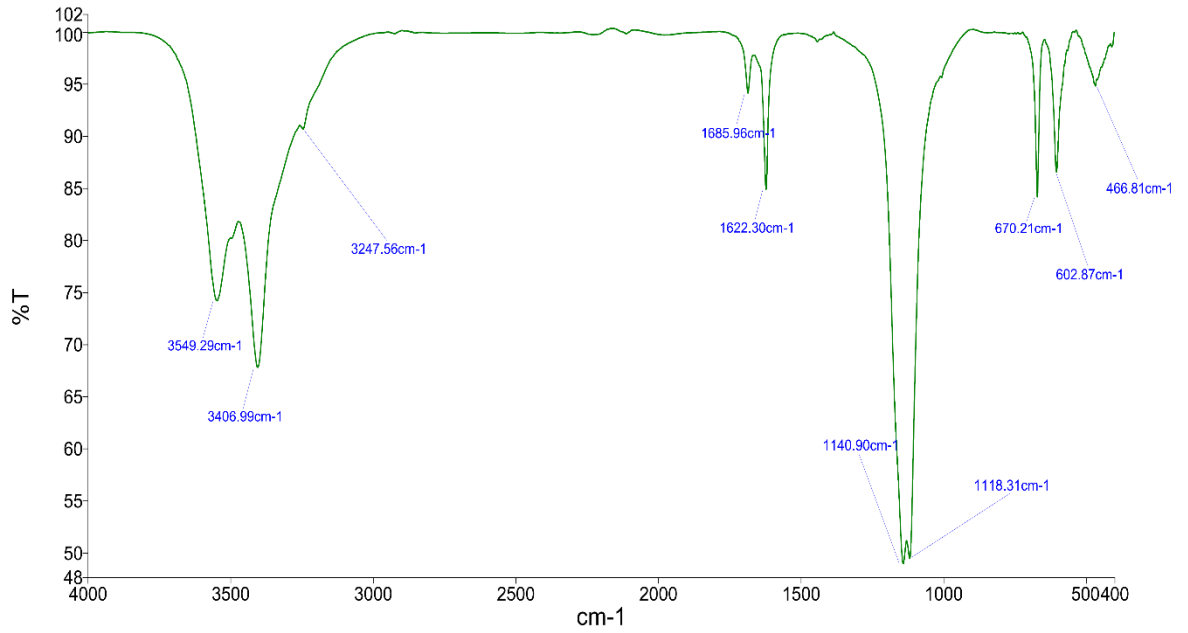




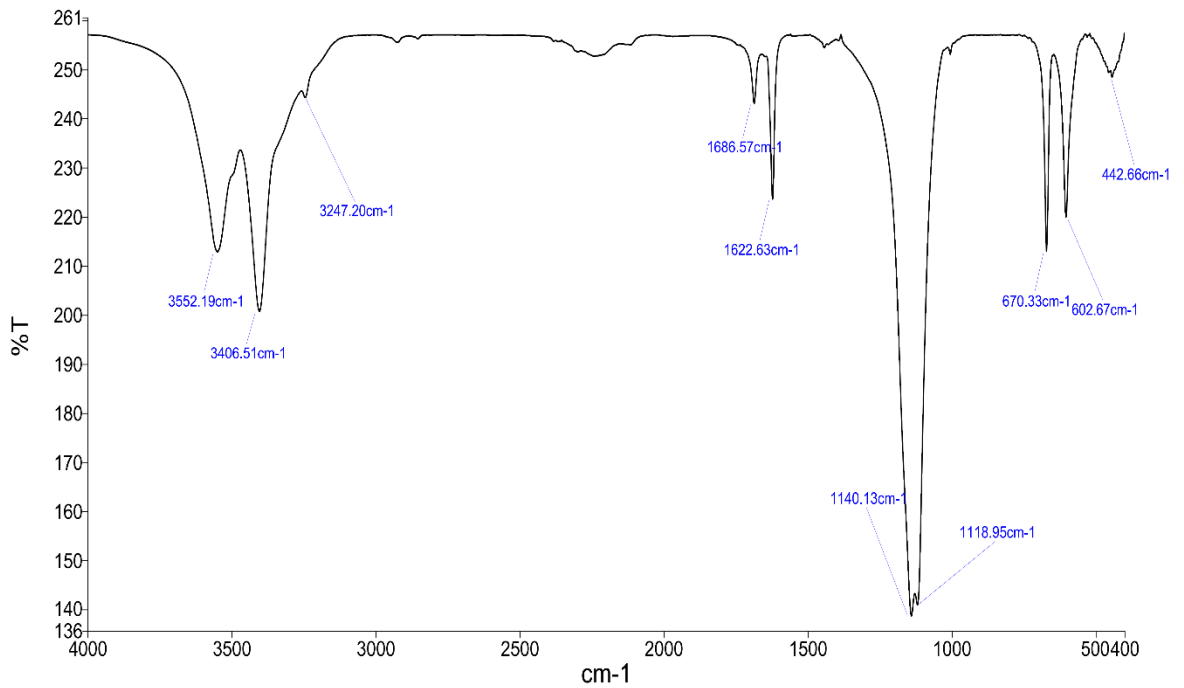
Phụ lục 17. Kết quả phân tích FTIR của HH-0 (SBF)



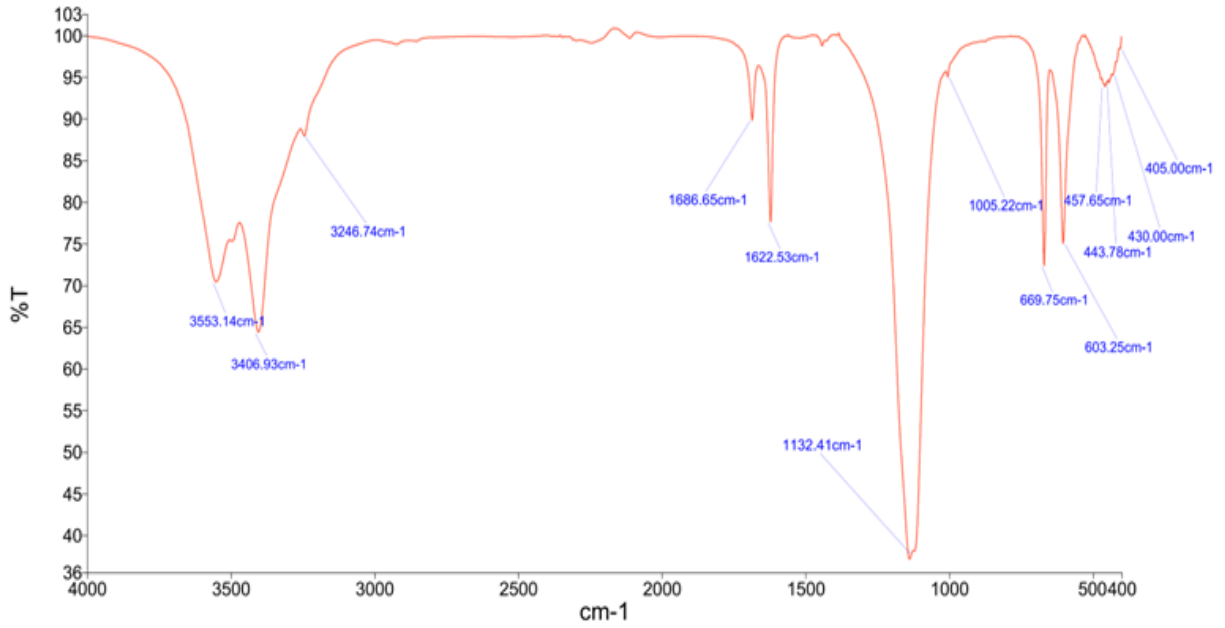
Phụ lục 18. Kết quả phân tích FTIR của HH-1 (SBF)



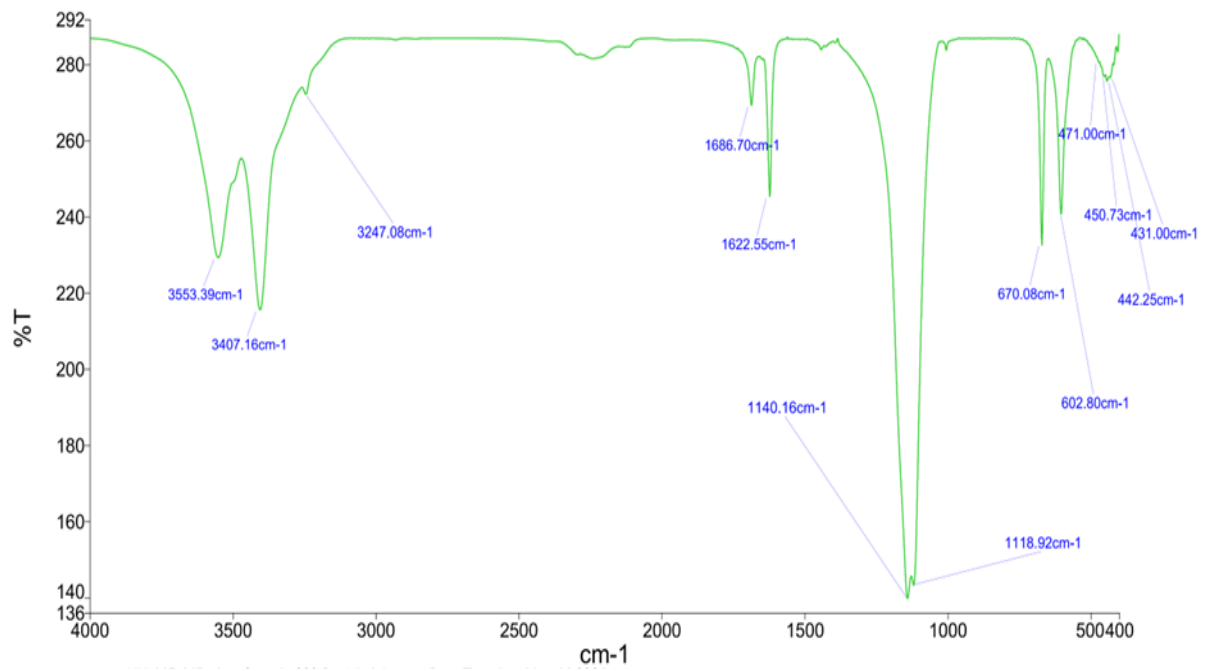
Phụ lục 19. Kết quả phân tích FTIR của HH-3 (SBF)



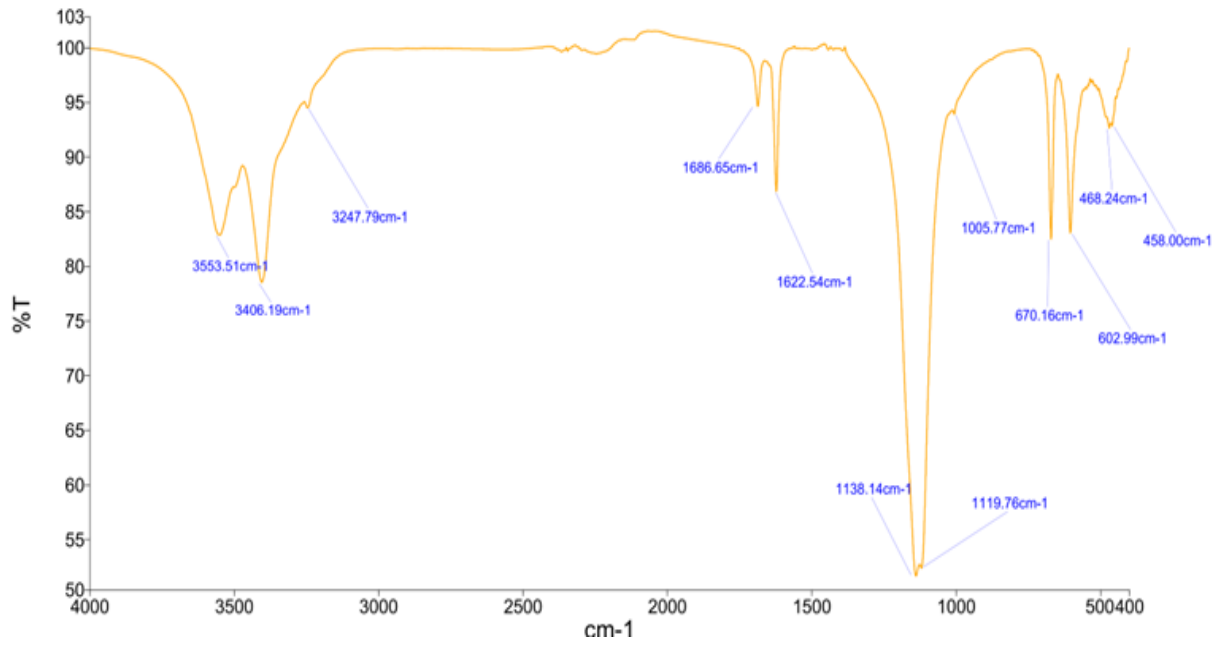
Phụ lục 20. Kết quả phân tích FTIR của HH-5 (SBF)



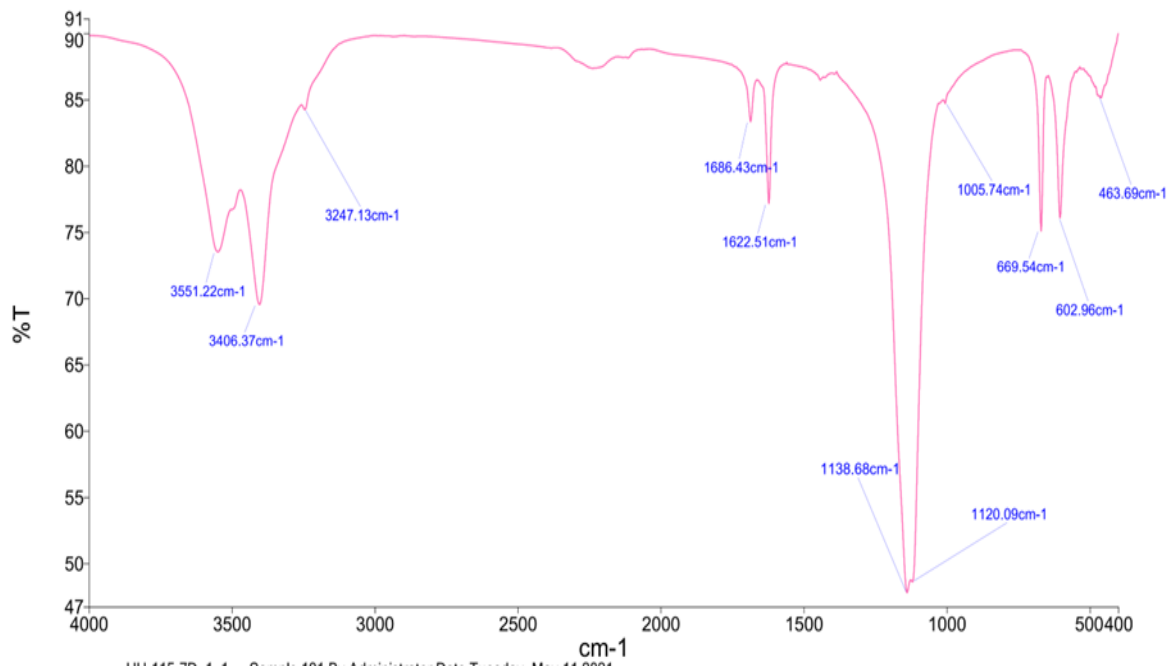
Phụ lục 21. Kết quả phân tích FTIR của HH-7 (SBF)



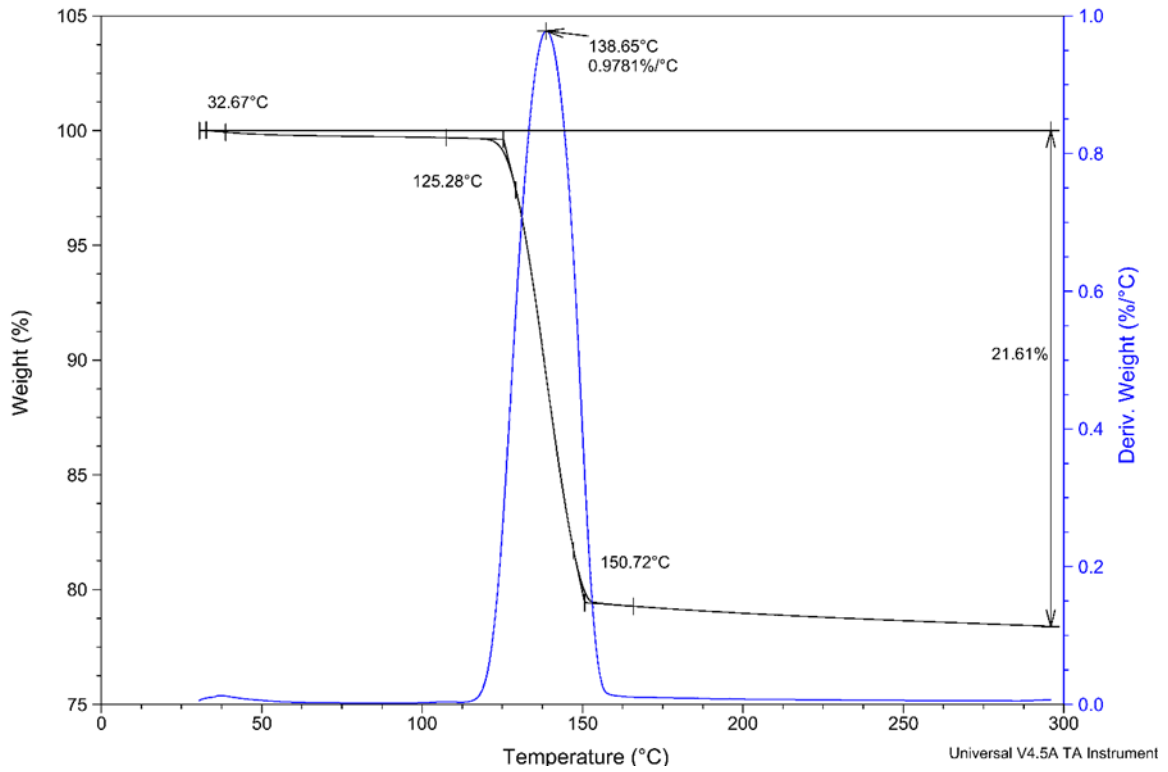
Phụ lục 22. Kết quả phân tích FTIR của HH-14 (SBF)



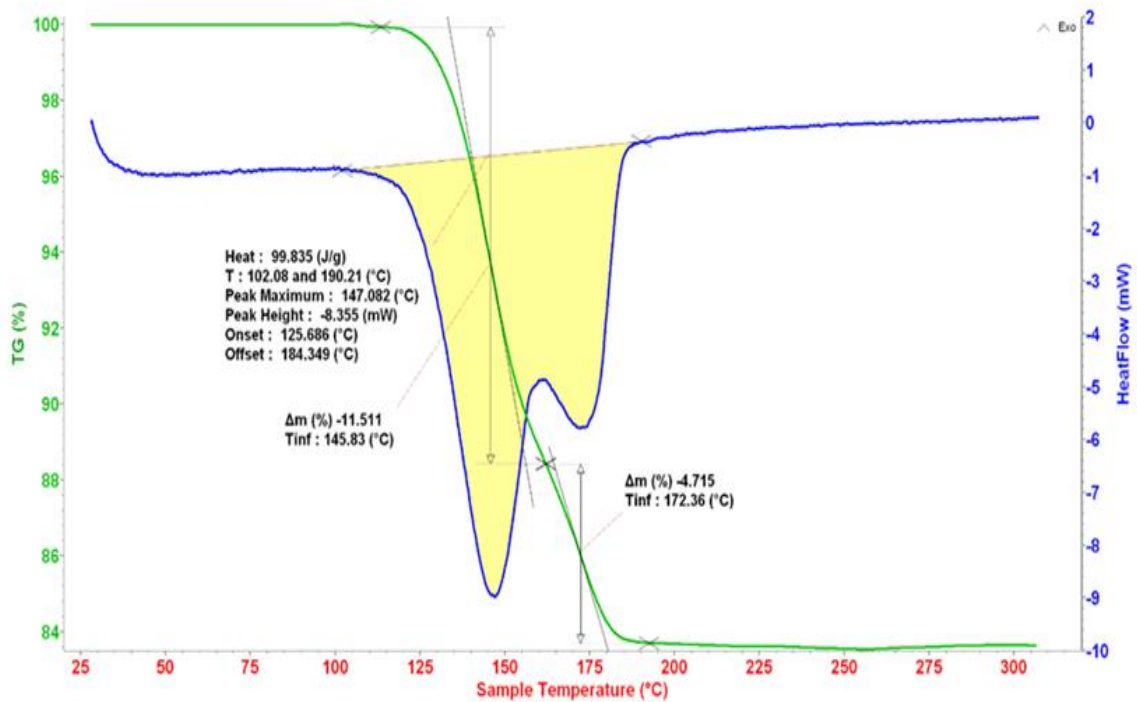
Phụ lục 23. Kết quả phân tích FTIR của HH-21 (SBF)



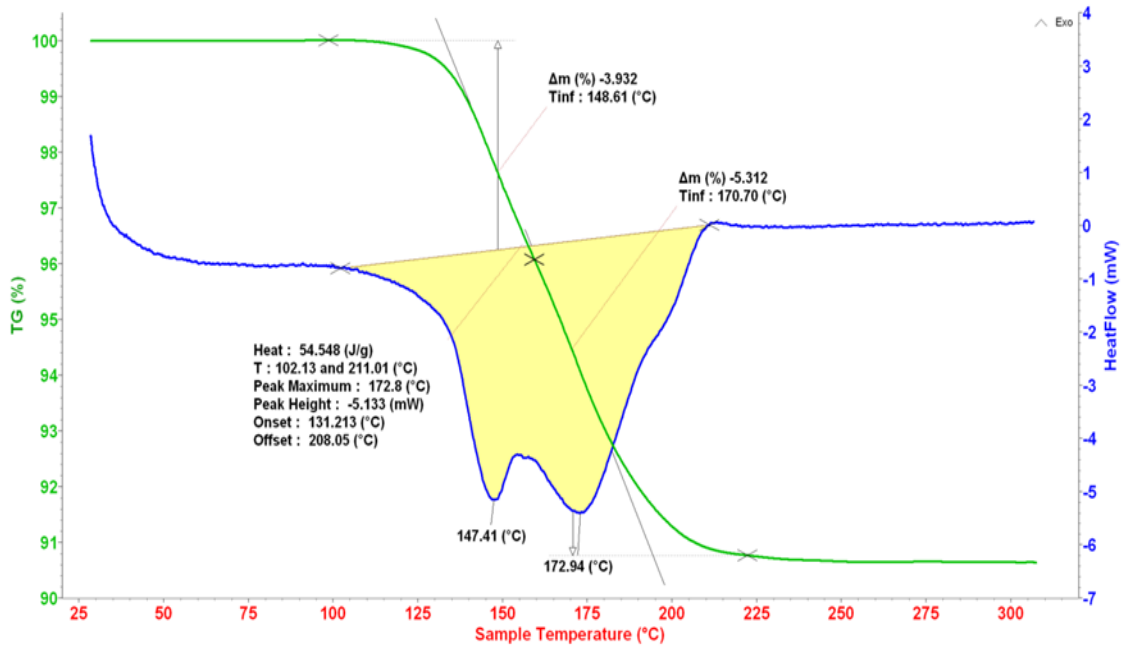
Phụ lục 24. Kết quả phân tích FTIR của HH-28 (SBF)



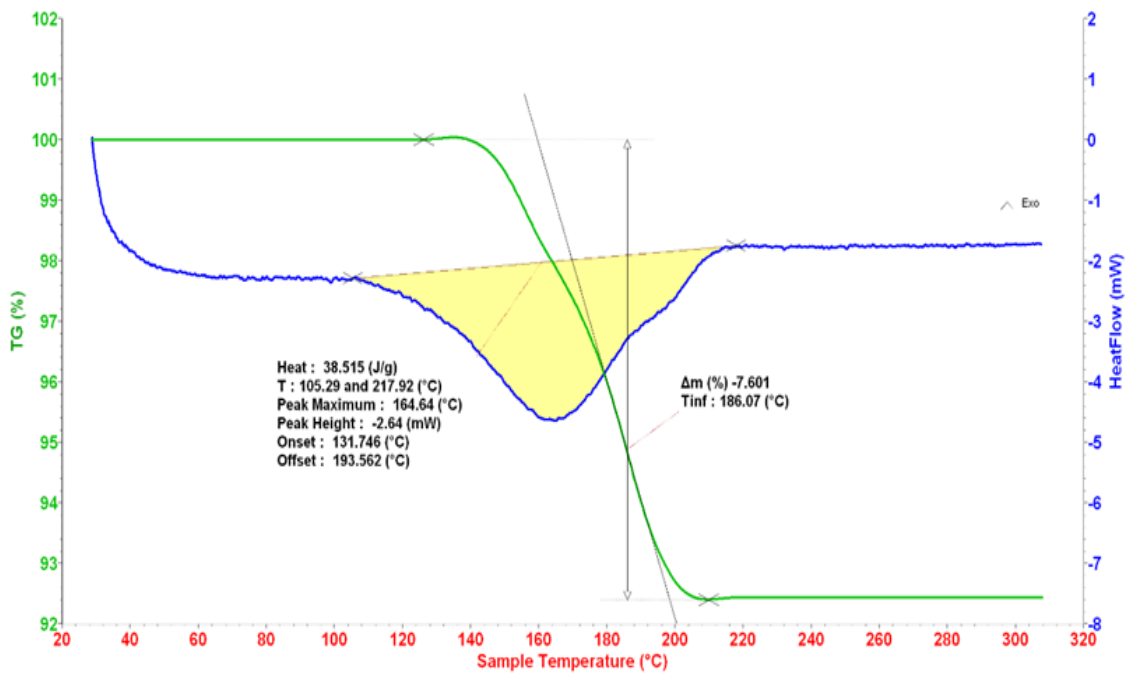
Phụ lục 25. Kết quả phân tích TGA của DH



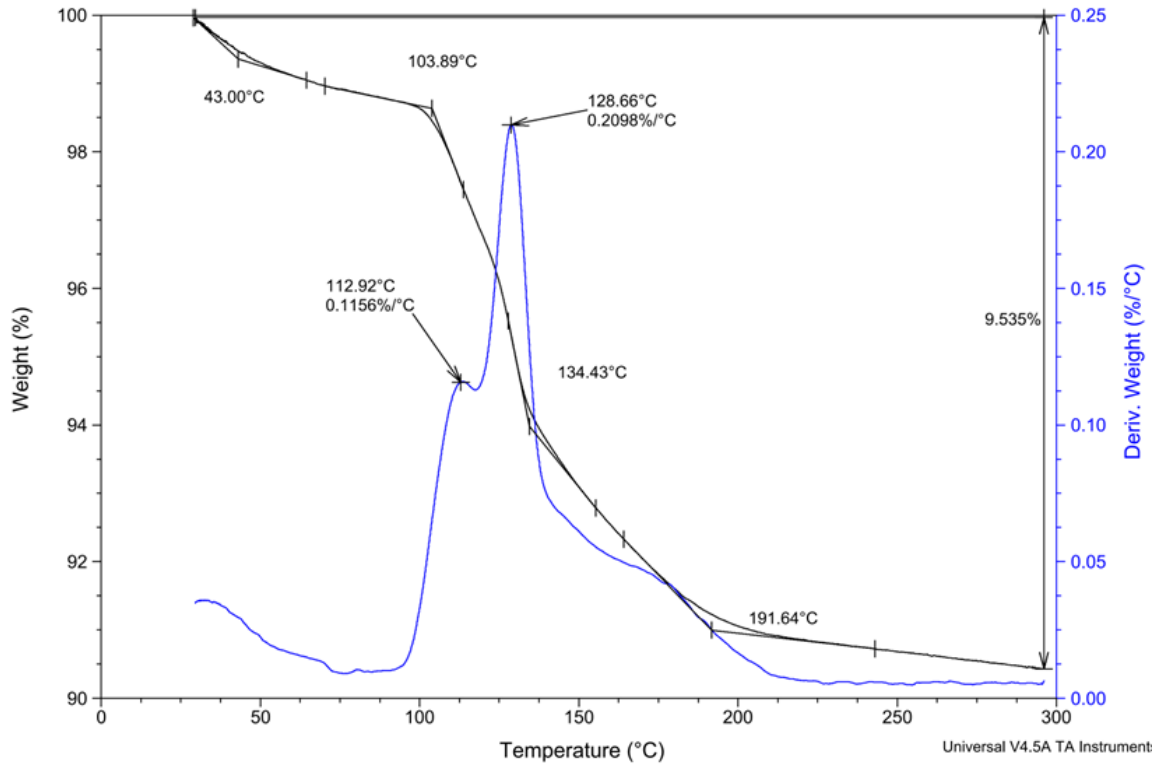
Phụ lục 26. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-1



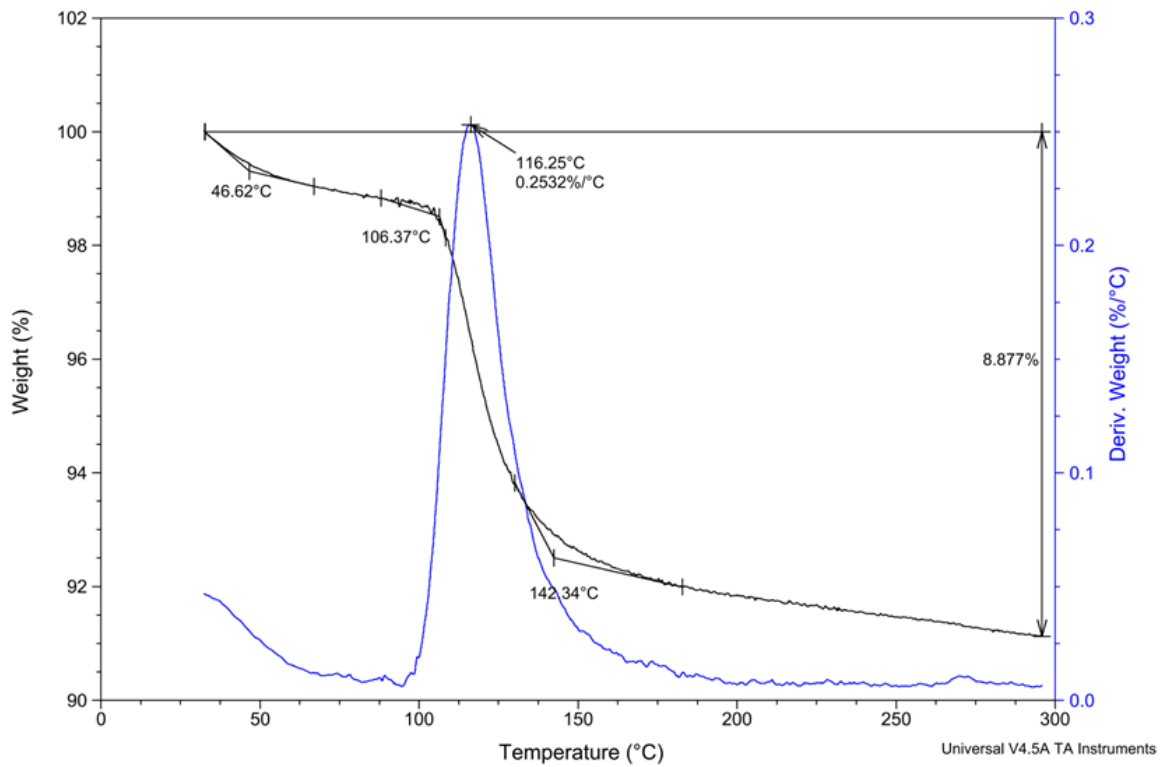
Phụ lục 27. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-2



Phụ lục 28. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-3

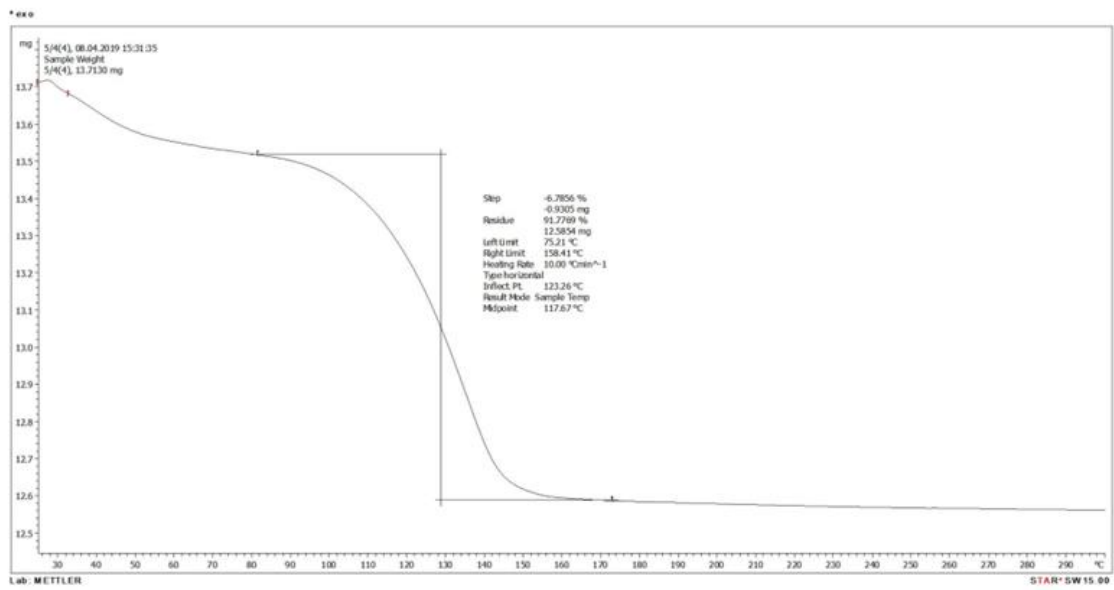


Phụ lục 29. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-30

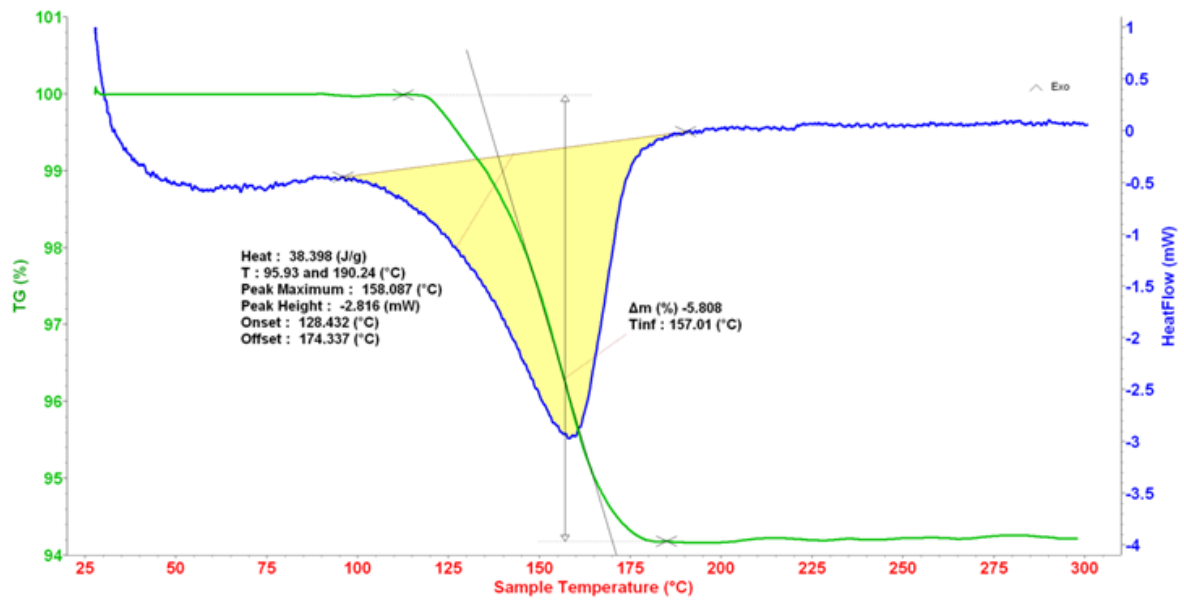


Phụ lục 30. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-60

## Evaluation:

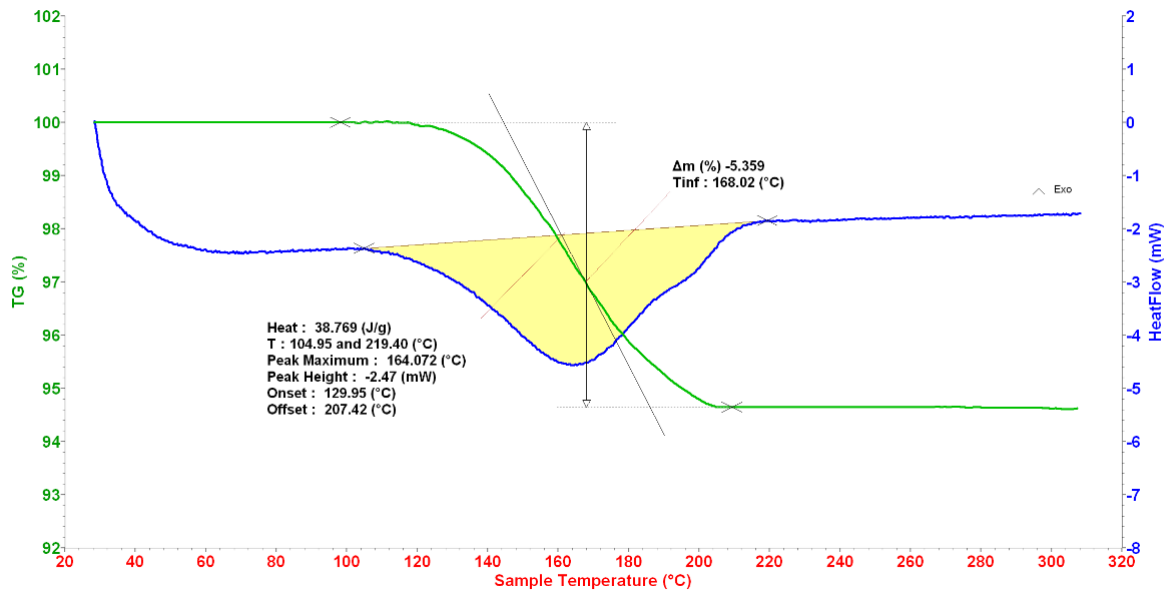


Phụ lục 31. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-90

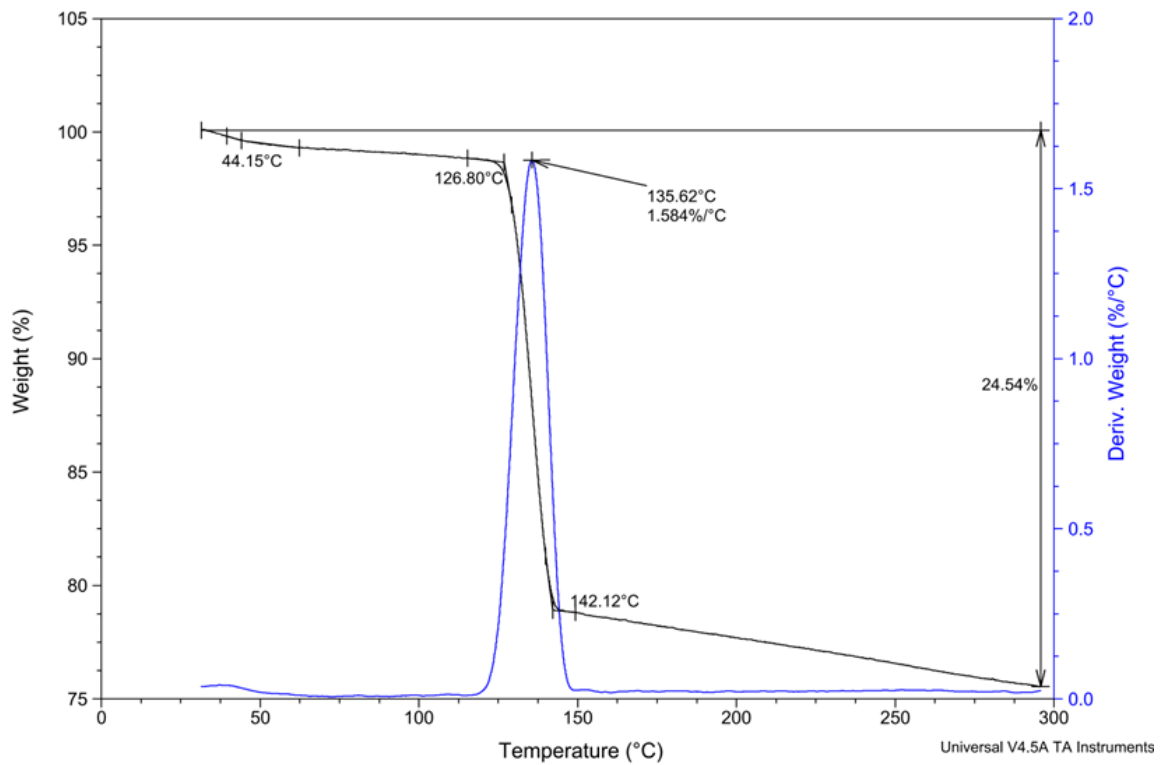


Phụ lục 32. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-120

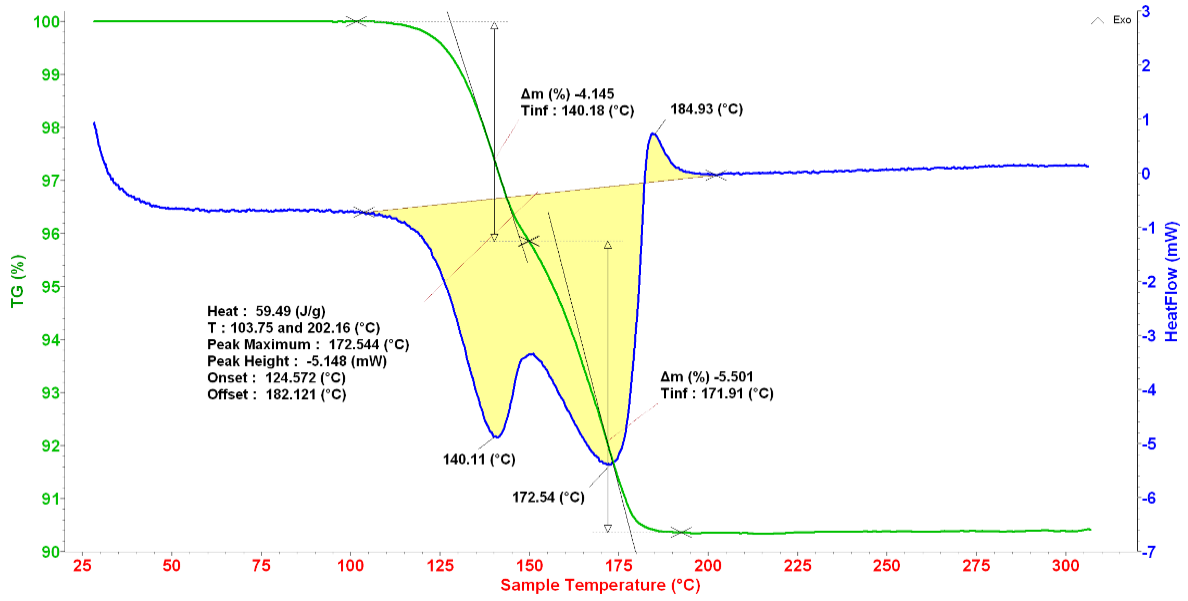




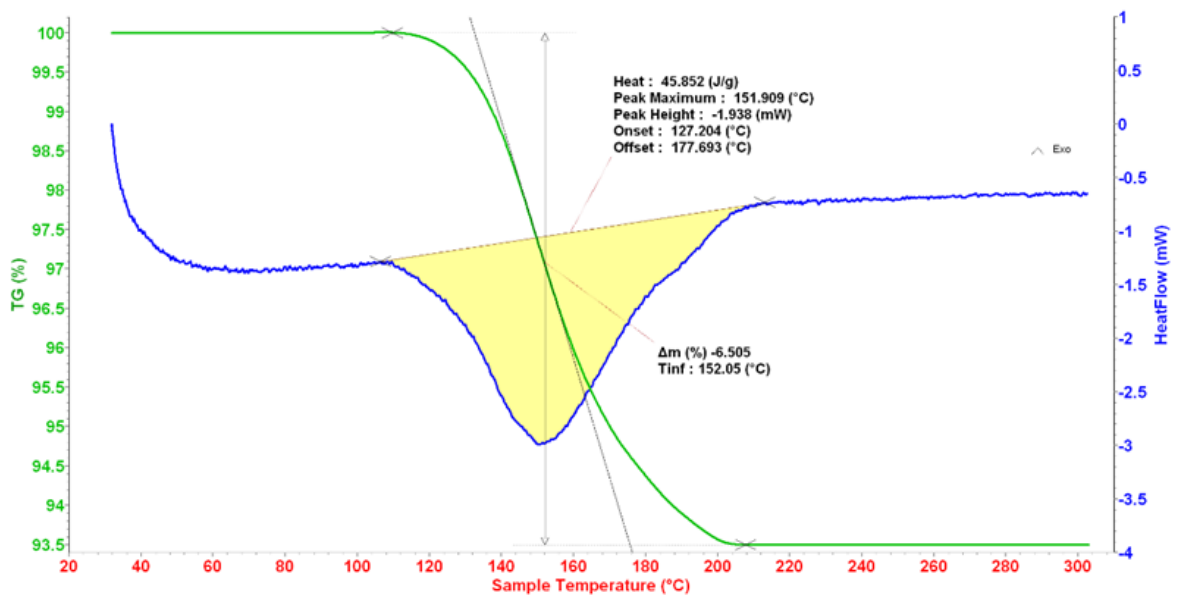
Phụ lục 33. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-180



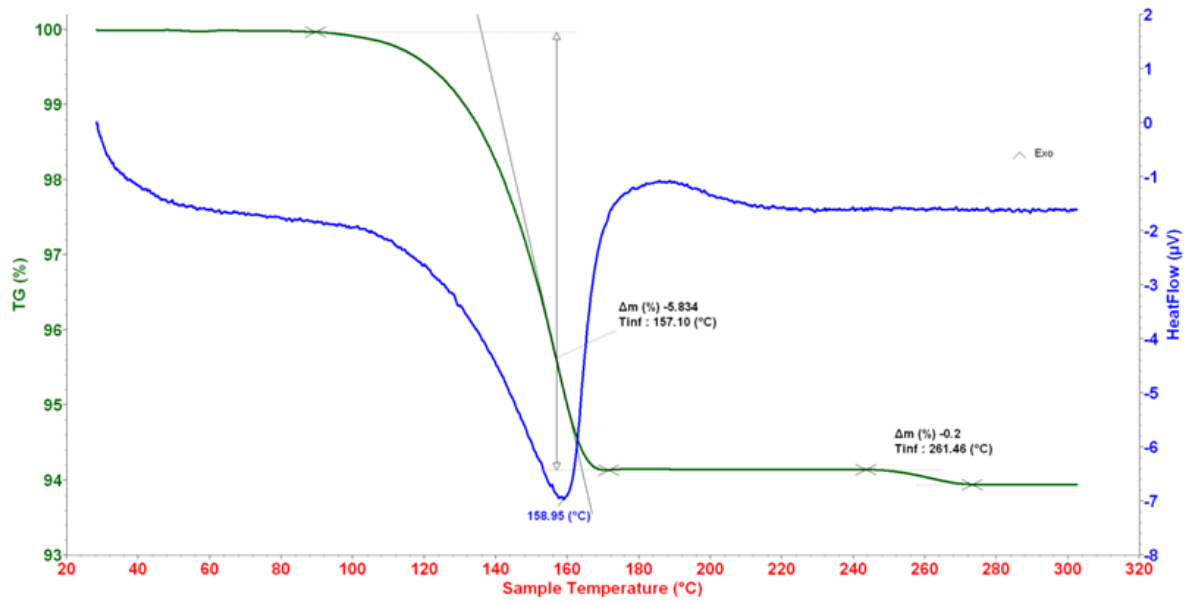
Phụ lục 34. Kết quả phân tích TGA của HH-5%



Phụ lục 35. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-10%



Phụ lục 36. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-20%



Phụ lục 37. Kết quả phân tích TGA-DSC của HH-40%

Số: 440 /QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 10 tháng 5 năm 2024

**QUYẾT ĐỊNH**  
**Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ**

**GIÁM ĐỐC**  
**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/3/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 896/QĐ-HVKHCN ngày 25/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 1 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 1103/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Hóa học, Trường phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Nguyễn Hồng Anh Phương với đề tài: “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xếp định hướng ứng dụng tái tạo xương”

Ngành: Hóa vô cơ Mã số: 8 44 01 13

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

**Điều 2.** Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

**Điều 3.** Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

**Nơi nhận:**

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, TN.14.

**GIÁM ĐỐC**  
  
**GS.TS. Vũ Đình Lãm**



## DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 440 /QĐ-HVKHCN ngày 10 / 5 /2024  
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Nguyễn Hồng Anh Phương

Tên đề tài: “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate  
cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương”.

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 8 44 01 13

Người hướng dẫn 1: TS. Cao Văn Dư - Trường Đại học Lạc Hồng  
Bộ Giáo dục và Đào tạo

Người hướng dẫn 2: GS.TS. Nguyễn Đại Hải - Viện Công nghệ hóa học  
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Phong	Khoa học vật liệu	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia TP. HCM	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Bạch Long Giang	Khoa học vật liệu	Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Mai Huỳnh Cang	Công nghệ hóa học	Trường Đại học Nông lâm TP. HCM, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên
5.	TS. Trần Diệu Linh	Vật liệu Y sinh	Viện Công nghệ hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên./.

TP. HCM, ngày 16 tháng 5 năm 2024

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 440/QĐ-HVKHCN ngày 10/5/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Nguyễn Hồng Anh Phương

Tên đề tài: **Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương**

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 8 44 01 13

Hôm nay, ngày 16/5/2024 Hội đồng đã họp tại phòng tầng 4 Viện Công nghệ hóa học vào lúc 14 giờ 00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Phong	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Bạch Long Giang	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Mai Huỳnh Cang	Ủy viên
5.	TS. Trần Diệu Linh	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt: 0

### NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

*Câu hỏi 1: Cơ sở nào để chọn yếu tố nhiệt độ và thời gian?*

*Học viên trả lời:* Dựa vào điều kiện nhiệt độ cho các quá trình chuyển pha giữa 3 dạng canxi sulfat khác nhau: dihydrat, hemihydrat và anhydrat. Cụ thể, khi nhiệt độ trên  $90^{\circ}\text{C}$ , dạng canxi sulfat dihydrat sẽ tách nước chuyển thành dạng hemihydrat. Khi nhiệt độ trên  $120^{\circ}\text{C}$ , quá trình dehydrat hóa hemihydrat, tách nước chuyển thành dạng anhydrat. Do đó nhiệt độ được chọn khảo sát nằm trong khoảng giới hạn dưới là  $90^{\circ}\text{C}$  và giới hạn trên là  $120^{\circ}\text{C}$ . Về cơ sở cho việc khảo sát thời gian phản ứng, dựa trên tài liệu nghiên cứu về tổng hợp  $\alpha$ -HH bằng phương pháp dung dịch muối, thời gian phản ứng là một trong các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất. Hơn nữa, theo kết quả thực nghiệm ở thí nghiệm 1, khi tổng hợp  $\alpha$ -HH ở nhiệt độ  $110^{\circ}\text{C}$ , thời gian phản ứng 60 phút, hàm lượng HH thu được chỉ trên 90%. Nói cách khác thời gian phản ứng có ảnh hưởng đến hiệu suất tổng hợp HH. Do đó, củng cố thêm cho việc chọn lựa yếu tố thời gian phản ứng là một trong các thông số khảo sát trong nghiên cứu.

*Câu hỏi 2:* Trong phân tích TGA/DSC, giải thích nguyên nhân chính của sự mất khối lượng

*Học viên trả lời:* Nguyên nhân chính là do sự mất nước. Ở giai đoạn đầu tiên, khối lượng mẫu giảm đáng kể trong khoảng nhiệt độ từ  $100 - 150^{\circ}\text{C}$ , tương ứng với việc tách nước trong DH. Sau đó, đường cong TGA thể hiện sự liên tục giảm về trọng lượng mẫu trong một phạm vi nhiệt độ thử nghiệm, minh họa cho sự tách nước. Theo lý thuyết, phần trăm khối lượng nước của HH là 6,2% và của DH là 20,9%. Do đó, dựa trên so sánh giá trị phần trăm khối lượng mất thực tế và lý thuyết có thể xác định thành phần pha của mẫu phân tích.

*Câu hỏi 3:* Sự khác biệt về ứng dụng của vật liệu BCP và HH?

*Học viên trả lời:* Về khía cạnh ứng dụng, BCP là vật liệu gồm 2 pha gồm HA và  $\beta$ -TCP được chứng minh trong các nghiên cứu trong và ngoài nước về đặc tính dẫn truyền xương và kích tạo xương tốt và được ứng dụng làm vật liệu thay thế xương. Trong khi, HH có ưu điểm về khả năng tự đông kết, kết dính tốt, so đó ứng dụng làm vật liệu kết dính hay chất độn sinh học trong lĩnh vực tái tạo.

## 6. Phân biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

*Câu hỏi 1:* Cấu trúc xốp của vật liệu trong nghiên cứu này là do đâu?

*Học viên trả lời:* Cấu trúc xốp của vật liệu trong nghiên cứu này là tập hợp các tinh thể có dạng que có tỉ lệ kích thước lớn chông chéo nhau tạo nên các khoảng trống trong vật liệu.

*Câu hỏi 2:* Tại sao trong nghiên cứu này không dùng chất hoạt động bề mặt, nó khác gì so với nghiên cứu trước đây của nhóm nghiên cứu?

*Học viên trả lời:* Trong nghiên cứu trước đây của nhóm nghiên cứu, việc sử dụng chất hoạt động bề mặt như một chất bao quanh tinh thể HH bảo vệ các tinh thể khỏi hiện tượng kết tụ. Chất hoạt động bề mặt nếu không được loại bỏ hoàn toàn có thể ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm cuối cùng. Do đó, trong nghiên cứu này không sử dụng chất hoạt động bề mặt.

#### 7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

- Các thành viên HĐ và những người tham dự không có câu hỏi.
- Các thành viên HĐ góp ý học kiểm tra lại các bảng và hình, căn chỉnh kích thước hợp lý và Việt hóa nội dung các hình trong tổng quan

#### 8. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS. TS. Bạch Long Giang

Ủy viên: PGS. TS. Mai Huỳnh Cang

Ủy viên: TS. Trần Diệu Linh

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 44,6

Điểm trung bình: 8,92

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,92

- Kết luận của Hội đồng: Luận văn đạt yêu cầu

- Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công bố:

Đề tài với các số liệu tác giả thực hiện không trùng lặp với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước. Các bài báo của tác giả dẫn chứng đều có liên quan đến đề tài thực hiện của tác giả, rõ ràng và trung thực.



9. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

- Kiểm tra và chỉnh sửa các lỗi câu từ, thống nhất các thuật ngữ Anh-Việt sử dụng trong luận văn.
- Việt hóa các hình ảnh minh họa có nguồn tiếng Anh.
- Nên chỉnh sửa phần kết luận bám sát vào mục tiêu cụ thể.

Buổi họp đã kết thúc vào 16 giờ 30 phút ngày 16/5/2024

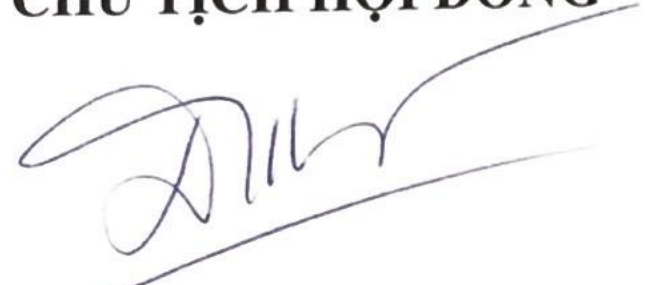
TP. HCM, ngày 16 tháng 5 năm 2024

**THƯ KÝ HỘI ĐỒNG**



TRẦN DIỆU LINH

**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG**



HOÀNG THỊ KIM DUNG

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**GIAM ĐOC**



Vũ Đình Lãm



**BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ và tên người phản biện: Nguyễn Thị Phương Phong

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Chuyên ngành: Hoá lý và Hoá lý thuyết

Cơ quan công tác: Trường Đại học Khoa học tự nhiên – ĐHQG-TP. HCM

Họ và tên học viên: Nguyễn Hồng Anh Phương

Tên đề tài: Nghiên cứu tổng hợp anpha-calcium sulfate hemihydrat cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương

Chuyên ngành: Hóa Vô Cơ

Mã số: 8440113

**NỘI DUNG NHẬN XÉT**

*1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:*

Anpha -calcium sulfate hemihydrat ( $\alpha$ -HH) là một trong những vật liệu ghép sinh học có ứng dụng lâm sàng lâu đời trong các trường hợp cấy ghép xương không chịu lực. Vật liệu này đã được chứng minh có tính tương thích sinh học, kích thích sự phát triển của nguyên bào xương, thúc đẩy quá trình tái tạo xương. Tuy nhiên, sự tái hấp thu của gôm dinh học  $\alpha$ -HH khá nhanh so với tốc độ xương mới, không ổn định để dẫn truyền xương. Luận văn liên quan đến việc chế tạo vật liệu  $\alpha$ -HH dạng xốp với không gian 3 chiều, có những tính chất đặc biệt như tăng diện tích bề mặt, tăng tương tác giữa tế bào và vật liệu sinh học, độ bám dính của tế bào, tăng sinh và lắng đọng nền ngoại bào. Vì vậy, đề tài có tính cấp thiết, tính thời sự, và có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

*2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:*

Đề tài được tham khảo 78 tài liệu được cập nhật đến 2023, trong đó có 20 TLTK được công bố trong năm năm gần đây (2020-2024), chứng tỏ đề tài có tính mới. HVCH trích dẫn các tài liệu rõ ràng và đầy đủ.

*3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo*

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành Hoá Vô cơ và mã số đào tạo 8440113.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Gồm sinh học  $\alpha$ -HH được tổng hợp bằng phản ứng dehydrat hóa tiền chất DH trong môi trường kết tủa là dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  nồng độ thấp, có sự tham gia của  $\text{H}_2\text{SO}_4$  là chất xúc tác, oleic acid với vai trò chất HĐBM. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp như nhiệt độ, thời gian, và nồng độ  $\text{CaCl}_2$

Các phương pháp phân tích hoá lý như FT-IR, XRD, TGA/DSC, SEM được sử dụng để xác định các đặc trưng hoá lý của vật liệu.

Các phương pháp xác định độ xốp, xác định cường độ chịu nén, xác định độ vô khuẩn, khả năng tạo khoáng, khả năng bám dính và khả năng tương thích tế bào đều thực hiện theo các tiêu chuẩn VN đã ban hành.

Phương pháp nghiên cứu tổng hợp và phân tích phù hợp. Các số liệu nhận được có độ tin cậy cao và có khả năng ứng dụng thực tế.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

HVCH. đã tổng hợp thành công vật liệu  $\alpha$ -HH với điều kiện khá nhẹ nhàng, và đã xây dựng được hồ sơ phân hủy sinh học và khả năng hình thành khoáng trên bề mặt vật liệu.

6. Đóng góp mới của luận văn:

- Đã tổng hợp thành công vật liệu  $\alpha$ -HH với điều kiện thí nghiệm khá nhẹ nhàng, đạt độ vô khuẩn làm vật liệu cấy ghép, không gây độc tế bào, có khả năng bám dính tế bào, có tiềm năng ứng dụng trong tái tạo xương.

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

Nội dung của luận văn phong phú, có tính khoa học và thực tiễn. Hình thức luận văn sạch đẹp, các bảng biểu, hình ảnh rõ ràng đều đáp ứng yêu cầu của một luận văn Thạc sĩ, tuy nhiên cần có một số chỉnh sửa sau:

- Về nội dung cần làm rõ sự khác nhau của vật liệu xốp và không xốp, hình dạng và cấu trúc lỗ xốp ảnh hưởng đến tính chất vật liệu như thế nào? trong luận văn, chưa cho thấy rõ cơ chế tạo ra vật liệu xốp như thế nào?

- Vì khối lượng thí nghiệm khá nhiều nên cần có bảng tổng kết để so sánh và chọn lựa mẫu cho các thí nghiệm tiếp theo.

- Về hình thức: Luận văn còn một số lỗi chính tả cần chỉnh sửa như chấm câu, nhiều từ cô đơn, ..., nhiều từ sử dụng không đúng như dung dịch huyền phù, ... (một số hình quá nhỏ như Hình 2.1)

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Nội dung của luận văn khá phong phú, có nhiều kết quả ấn tượng. Nếu được, tác giả cần so sánh để nêu bật tính ưu việt của  $\alpha$ -HH xốp thì kết quả có thể đăng trên các công bố quốc tế.

none

9. *Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):*

Luận văn Thạc sĩ của HVCH. Nguyễn Hoàng Anh Phương đáp ứng yêu cầu về nội dung và hình thức của một luận văn Thạc sĩ, được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận văn Thạc sĩ và xứng đáng nhận học vị Thạc sĩ hoá học chuyên ngành Hoá Vô cơ.

Tp HCM, ngày 13 tháng 5 năm 2024

**Xác nhận của cơ quan công tác**

**Người phản biện**  
(Ký, ghi rõ họ tên)



Nguyễn Thị Phương Phong

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và xác nhận của cơ quan công tác (nếu đang công tác) và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

**BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ và tên người nhận xét: Bạch Long Giang

Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ

Chuyên ngành: Khoa học Vật liệu

Cơ quan công tác: Trường ĐH Nguyễn Tất Thành

Họ và tên học viên: Nguyễn Hồng Anh Phương

Tên đề tài: Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 8440113

**NỘI DUNG NHẬN XÉT**

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Vật liệu Calcium sulfate hemihydrate (HH), đặc biệt là dạng  $\alpha$ -HH là một trong những vật liệu gốm sinh học có ứng dụng lâm sàng lâu đời trong các trường hợp cấy ghép các khuyết tật xương không chịu lực. Sau khi cấy ghép,  $\alpha$ -HH được chứng minh là một chất tương thích sinh học được hấp thụ hoàn toàn trong khoảng thời gian vài tuần, để lại một môi trường giàu canxi để kích thích sự phát triển của các nguyên bào xương, từ đó thúc đẩy quá trình tái tạo xương. Tuy nhiên, người ta quan sát thấy rằng sự tái hấp thụ của gốm sinh học  $\alpha$ -HH là quá nhanh so với tốc độ hình thành xương mới, sau đó dẫn đến không gian ba chiều không ổn định để dẫn truyền xương. Những hạn chế như vậy có thể dẫn đến những tác động bất lợi làm cản trở hiệu quả tái tạo xương. Hơn nữa, các đặc tính cấu trúc đã được coi là quan trọng trong việc ảnh hưởng đến hiệu quả tái tạo xương. Các VLYS có cấu trúc 3D cho thấy nhiều đặc tính nổi bật trong việc cung cấp đầy đủ chất dinh dưỡng khuếch tán, không gian ba chiều và diện tích bề mặt tăng đáng kể, cho phép tăng cường tương tác giữa tế bào và vật liệu sinh học, độ bám dính của tế bào, tăng sinh và lắng đọng chất nền ngoại bào (ECM)

Dựa trên các phân tích tính cấp thiết, tính thời sự thì đề tài “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương” được đề xuất nhằm mục đích tạo ra vật liệu có cấu trúc xốp sở hữu các đặc tính cơ lý hóa và sinh học phù hợp cho ứng dụng tái tạo xương cũng như tiềm năng mang lại cơ hội giảm gánh nặng chi phí điều trị trong nước hiện nay.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

- Đề tài luận văn “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xếp định hướng ứng dụng tái tạo xương” không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; luận văn thể hiện tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

- Tên đề tài luận văn “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xếp định hướng ứng dụng tái tạo xương” phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo (Hóa vô cơ, mã số đào tạo: 8440113)

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

- Luận văn sử dụng các phương pháp nghiên cứu đã dựa trên các kỹ thuật và công nghệ hiện đại như FT-IR, XRD, SEM, TGA-DSC, các phương pháp này đã được kiểm chứng trong lĩnh vực khoa học vật liệu và y sinh.

- Luận văn sử dụng các phương pháp phân tích cấu trúc, cơ học và sinh hóa đã sử dụng đúng cách, đảm bảo tính chính xác và độ tin cậy của kết quả với độ sai số nhỏ như: Phương pháp đánh giá cường độ chịu nén, phương pháp đánh giá độ vô khuẩn, phương pháp đánh giá khả năng tạo khoáng, phương pháp đánh giá khả năng tương thích tế bào, phương pháp đánh giá khả năng bám dính.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Luận văn đã tổng hợp thành công vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xếp bằng phương pháp dung dịch muối với các thông số phản ứng được khảo sát và kiểm soát. Quy luật và cơ chế ảnh hưởng của các thông số đã được giải thích.

Luận văn đã dựa trên sự điều chỉnh quy trình tổng hợp  $\alpha$ -HH của nhóm nghiên cứu trước đó. Cụ thể, loại bỏ việc sử dụng các chất hoạt động bề mặt và sử dụng dung dịch muối  $\text{CaCl}_2$  có nồng độ cao hơn. Điều này góp phần giảm khả năng bị lẫn tạp chất gây ra bởi các ion ngoại lai và tăng độ tinh khiết của vật liệu  $\alpha$ -HH. Đặc biệt, quy trình tổng hợp được rút ngắn thời gian phản ứng từ 3,5h xuống còn 1,5h.

Luận văn đã xác định điều kiện vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xếp được tổng hợp dưới điều kiện nhiệt độ  $110^\circ\text{C}$ , thời gian phản ứng 1,5h và trong môi trường dung dịch  $\text{CaCl}_2$  20% (w/v) có độ xếp  $61,32\% \pm 3,20$ , cường độ chịu nén  $5,04 \pm 0,11$  Mpa.

Luận văn đã xây dựng hồ sơ phân hủy sinh học và khả năng hình thành khoáng trên bề mặt của vật liệu trong thử nghiệm ngâm trong dung dịch SBF.

Luận văn đã đánh giá vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp đạt độ vô khuẩn làm vật liệu cấy ghép theo TCVN 1023:1991.

Luận văn đã đánh giá vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp không gây độc tế bào trong thử nghiệm MTT trên dòng tế bào L929 và có khả năng bám dính tế bào, có tiềm năng ứng dụng làm vật liệu ứng dụng tái tạo xương

6. Đóng góp mới của luận văn:

Luận văn “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương” đã nghiên cứu tổng hợp vật liệu  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương đóng góp đáng kể cho việc ứng dụng vật liệu gốm sinh học trong lĩnh vực y học tái tạo. Các kết quả của đề tài nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng góp phần nâng cao sự đa dạng và toàn diện cho những nghiên cứu, công bố trước đó. Ngoài ra, luận văn cung cấp nền tảng cho việc nghiên cứu vật liệu y sinh trên cơ sở canxi sulfat và vật liệu kết hợp với các hợp chất khác nhằm tăng hiệu quả và tính ổn định của vật liệu.

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

Về hình thức trình bày luận văn cần chú ý đến việc trình bày rõ ràng, hợp lý, tránh lỗi đánh máy chính tả, tài liệu tham khảo cần viết đúng các công thức hóa học, văn phong khoa học, cách dùng từ

Về nội dung luận văn cần làm rõ những tính chất đặc trưng của vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương chi tiết và cụ thể.

Phân phương pháp nghiên cứu đánh giá đặc trưng cấu trúc của vật liệu cần bổ sung thông số trang thiết bị, model sử dụng, đồng thời rà soát hiệu chỉnh phù hợp.

Các phương pháp tổng hợp  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp cần bổ sung tài liệu tham khảo, đồng thời làm rõ cơ sở khoa học khi tiến hành khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ phản ứng đến quá trình tổng hợp  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp; ảnh hưởng thời gian phản ứng đến quá trình tổng hợp  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp; ảnh hưởng nồng độ dung dịch  $\text{CaCl}_2$  đến quá trình tổng hợp  $\alpha$ -HH cấu trúc xốp.

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

- Luận văn “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương” có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế

9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Dựa trên các tiêu chí đánh giá, luận văn của HVCH. Nguyễn Hồng Anh Phương với đề tài: “Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha-calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương” đã đáp ứng các yêu cầu về tính cấp thiết, không trùng lặp, phương pháp nghiên cứu hiện đại, kết quả nghiên cứu có giá trị và có tính đóng góp, và phù hợp thực hiện quy trình bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 15 tháng 5 năm 2024

**Người nhận xét**



**PGS.TS. Bạch Long Giang**



**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN  
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Nguyễn Hồng Anh Phương

Lớp: 2022A

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu tổng hợp vật liệu alpha- calcium sulfate hemihydrate cấu trúc xốp định hướng ứng dụng tái tạo xương

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 8440113

Người hướng dẫn khoa học:

**Người hướng dẫn 1:** TS. Cao Văn Dư

Cơ quan công tác: Đại học Lạc Hồng

**Người hướng dẫn 2:** GS.TS. Nguyễn Đại Hải

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày bảo vệ luận văn: 15/05/2024

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Phần tổng quan tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước, cần kết luận rõ hơn để chỉ ra điểm mạnh của luận văn	Đã chỉnh sửa theo góp ý của Hội đồng: "Tóm lại, cho đến nay...có thể giải quyết được những rủi ro kể trên." (Trang 20-21)
2	Về nội dung, cấu trúc xếp ảnh hưởng như thế nào đến tính chất của vật liệu? Cần làm rõ cơ chế tạo lỗ xốp.	- Đã chỉnh sửa và trình bày ở mục 1.2.2 (Trang 13-14) - Đã bổ sung cơ chế hình thành cấu trúc xốp ở phần thảo luận 3.1.3 (Trang 45-46)
3	Luận văn trình bày tốt nhưng còn nhầm lẫn giữa nội dung tổng quan và thảo luận. Do đó, cần kiểm tra và phân bố cho phù hợp	Đã đưa phần thảo luận liên quan đến phương pháp tổng hợp lên phần tổng quan: "Tóm lại, cho đến nay...có thể giải quyết được những rủi ro kể trên." (Trang 20-21)



4	Các kỹ thuật phân tích là các kỹ thuật được sử dụng phổ biến. Do đó, nên rút gọn phân phương pháp kỹ thuật, trích dẫn hoặc đưa vào phần phụ lục.	- Đã rút ngắn phương pháp đánh giá đặc trưng cấu trúc của vật liệu ở Mục 2.2.2.2 (Trang 27) - Đã rút ngắn phương pháp đánh giá độ xốp ở mục 2.2.2.3 (Trang 27) và đưa quy trình chi tiết xuống phần Phụ lục 1, Phụ lục 1.1 (Trang 68-70)
5	Phần kết luận: nên bám sát vào mục tiêu cụ thể để kết luận	Đã chỉnh sửa phần kết luận bám sát với từng mục tiêu cụ thể theo góp ý của Hội đồng (Trang 58)
6	<b>Về hình thức:</b>	
	Luận văn còn một số lỗi chính tả cần chỉnh sửa như chấm câu, nhiều từ cô đơn, thuật ngữ Anh-Việt sử dụng chưa thống nhất,...nhiều từ sử dụng không đúng như dung dịch huyền phù,...	Đã chỉnh sửa theo góp ý của Hội đồng
	Một số hình quá nhỏ như Hình 2.1, các hình ảnh nên Việt hóa.	- Đã Việt hóa Hình 1.1 và Hình 1.2 (Trang 7), Hình 1.3 (Trang 11) - Đã phóng to Hình 2.1 (Trang 25)
	Lược bỏ những bảng biểu không có giá trị cung cấp thông tin như Bảng 3.6 trang 54	Đã lược bỏ bảng theo góp ý của Hội đồng
	Tài liệu tham khảo cần viết đúng các công thức hóa học	Đã chỉnh sửa theo góp ý của Hội đồng

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 20 tháng 05 năm 2024



**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG**

**Hoàng Thị Kim Dung**

**TẬP THỂ HƯỚNG DẪN**  
Hướng dẫn 1      Hướng dẫn 2

**Cao Văn Dư**

**Nguyễn Đại Hải**

**HỌC VIÊN**

**Nguyễn Hồng Anh Phương**

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**  
**GIAM ĐỐC**



**Vũ Đình Lãm**