

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES



**ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD DEL COMPÓSITO DIÓPSIDO-
ÓXIDO DE GRAFENO**

Tesis

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencia y Tecnología de Materiales

Por:

I.Q. Katya Azucena Castillo Arellano

Saltillo, Coahuila

noviembre, 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES



**ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD DEL COMPÓSITO DIÓPSIDO-
ÓXIDO DE GRAFENO**

Tesis

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencia y Tecnología de Materiales

Por:

I.Q. Katya Azucena Castillo Arellano

Saltillo, Coahuila

noviembre, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES

La Facultad de Ciencias Químicas a través del jurado examinador hace constar que la tesis titulada:

“Estudio de la Bioactividad del Compósito Dióxido-Óxido de Grafeno”

Presentada por:


I.Q. Katya Azucena Castillo Arellano

Ha sido aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

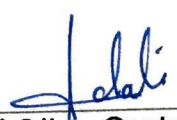
Maestro en Ciencia y Tecnología de Materiales

En virtud de haber cumplido íntegramente los requisitos de la Comisión de Tesis y Monografías

Comité evaluador



Dra. Rosa Idalia Narro Céspedes
Presidenta



Dra. Adalí Oliva Castañeda Facio
Secretaria



Dra. Brenda Rogelina Cruz Ortiz
Vocal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MATERIALES

La Facultad de Ciencias Químicas a través del jurado examinador hace constar que la tesis titulada:

“Estudio de la Bioactividad del Compósito Dióxido-Óxido de Grafeno”

Presentada por:

I.Q. Katya Azucena Castillo Arellano


Ha sido aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Materiales

En virtud de haber cumplido íntegramente los requisitos de la Comisión de Tesis y Monografías

Trabajo dirigido por


Dra. Lorena Fariás Cepeda
Directora


Dra. Claudia Magdalena López Badillo
Co-Directora

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la parte experimental, así como en los resultados del presente trabajo de investigación, forma parte de las actividades de investigación desarrolladas por una servidora durante el periodo que realicé mis estudios de maestría en el Posgrado en Ciencia y Tecnología de Materiales de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

I. Q. KATYA AZUCENA CASTILLO ARELLANO

Índice general

| | |
|---|------|
| Índice general..... | I |
| Índice de figuras..... | IV |
| Índice de tablas | VIII |
| Resumen | 1 |
| Introducción | 2 |
| Antecedentes..... | 3 |
| Biomateriales y biocompatibilidad..... | 3 |
| Biomateriales cerámicos | 3 |
| Biocerámicos utilizados en el tejido óseo | 5 |
| Citotoxicidad..... | 6 |
| Dióxido..... | 7 |
| Óxido de Grafeno | 9 |
| Biocompatibilidad de Óxido de Grafeno..... | 10 |
| Métodos de síntesis de cerámicos bioactivos | 11 |
| Molienda de alta energía | 12 |
| Compósito DI-GO | 13 |

| | |
|---|----|
| Justificación..... | 15 |
| Hipótesis | 15 |
| Objetivos..... | 16 |
| General | 16 |
| Específicos | 16 |
| Parte experimental..... | 17 |
| Síntesis de dióxido..... | 19 |
| Procedimiento de síntesis..... | 19 |
| Síntesis de óxido de grafeno | 20 |
| Procedimiento de síntesis..... | 20 |
| Síntesis del compósito Dióxido-Óxido de Grafeno (DI-GO) | 22 |
| Procedimiento de síntesis..... | 22 |
| Caracterización de las muestras..... | 23 |
| Difracción de rayos X | 23 |
| Análisis de espectroscopía infrarroja (FTIR)..... | 24 |
| Microscopía electrónica de barrido (MEB) | 24 |
| Determinación de la densidad y porosidad aparente..... | 25 |
| Pruebas mecánicas..... | 26 |

| | |
|--|----|
| Pruebas de bioactividad <i>in vitro</i> | 28 |
| Pruebas de citotoxicidad por MTT <i>in vitro</i> | 30 |
| Resultados y Discusión..... | 31 |
| Difracción de rayos X..... | 31 |
| Análisis de espectroscopía infrarroja..... | 38 |
| Determinación de la densidad y porosidad aparente..... | 40 |
| Microscopía electrónica de barrido..... | 44 |
| Pruebas mecánicas..... | 52 |
| Pruebas de citotoxicidad por MTT <i>in vitro</i> | 53 |
| Pruebas de bioactividad..... | 54 |
| Conclusiones..... | 60 |
| Anexo 1 - Materiales y reactivos..... | 62 |
| Síntesis de dióxido..... | 62 |
| Síntesis de Óxido de Grafeno..... | 63 |
| Síntesis del compósito..... | 64 |
| Referencias..... | 65 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Tipos de tensión en molienda (A) compresión, (B) cizallamiento (C) impacto-colisión, (D) impacto-golpe [8]. | 12 |
| Figura 2. Sección horizontal y representación gráfica de los movimientos de piezas y bolas en un molino planetario [8]...... | 13 |
| Figura 3. Diagrama de flujo general para la metodología seguida en el trabajo de investigación. | 18 |
| Figura 4. Diagrama de procedimiento para síntesis de Dióxido..... | 19 |
| Figura 5. Procedimiento general para la síntesis de óxido de grafeno por el método de Hummers modificado [68]. | 21 |
| Figura 6. Diagrama de procedimiento para la formación del compuesto..... | 22 |
| Figura 7. Ejemplo de medición de densidad por el principio de Arquímedes. | 26 |
| Figura 8. Ensayo de dureza de Vickers [79]. | 27 |
| Figura 9. Diagrama ilustrativo de microdurómetro para la determinación de microdureza Vickers..... | 27 |
| Figura 10. Difractogramas de rayos X de muestras activadas mecánicamente durante 2, 4 y 6 h tratadas a 1200 °C..... | 32 |
| Figura 11. Patrón de difracción de rayos X de óxido de grafeno sintetizado por el método de Hummers modificado durante 4 horas de oxidación..... | 33 |
| Figura 12. Difractogramas de rayos X de muestras activadas mecánicamente durante 2 h, con 0.5, 1.0 y 1.5 % de GO tratadas a 1200 °C bajo condiciones de atmósfera controlada con N ₂ con flujo ~15L/min. | 34 |

| | |
|--|----|
| Figura 13. Difractogramas de rayos X de muestras activadas mecánicamente durante 4 h, con 0.5, 1.0 y 1.5 % de GO tratadas a 1200 °C bajo condiciones de atmósfera controlada con N ₂ con flujo ~15L/min. | 35 |
| Figura 14. Difractogramas de rayos X de muestras activadas mecánicamente durante 6 h, con 0.5, 1.0 y 1.5 % de GO tratadas a 1200 °C bajo condiciones de atmósfera controlada con N ₂ con flujo ~15L/min. | 35 |
| Figura 15. Difractogramas de rayos X de muestras activadas mecánicamente durante 2, 4 y 6 h, con 0.5, 1.0 y 1.5 % de GO tratadas a 1200 °C bajo condiciones de atmósfera controlada con N ₂ con flujo ~5L/min. | 36 |
| Figura 16. Espectro infrarrojo del GO sintetizado mediante el método de Hummers modificado. | 39 |
| Figura 17. Espectros infrarrojos de los compósitos DI-GO preparados por activación mecánica durante 2, 4 y 6 horas, con concentración de 0.5, 1.0 y 1.5 % de GO. | 40 |
| Figura 18. Densidad para las muestras DI sin contenido de GO, sin activación mecánicas y con activación de 2, 4 y 6 horas | 41 |
| Figura 19. Densidad para las muestras DI-GO al 0.5, 1 y 1. % en peso de GO activadas mecánicamente durante 2, 4 y 6 horas. | 42 |
| Figura 20. Porcentaje de porosidad aparente para las muestras DI sin contenido de GO, sin activación mecánicas y con activación de 2, 4 y 6 horas | 43 |
| Figura 21. Porosidad para las muestras DI-GO con 0, 0.5, 1 y 1. % en peso de GO. | 44 |
| Figura 22. Micrografía de muestra de DI sin activación mecánica (0 h) a 500x. | 45 |
| Figura 23. Muestra activada mecánicamente durante 2 h, (A) micrografía de la muestra a 500x, (B) micrografía a 2500x, (C) distribución de tamaño de poro de la muestra de 2 h y (D) espectro EDS de la muestra en una región general. | 46 |

| | |
|---|----|
| Figura 24. Muestra activada mecánicamente durante 4 h, (A) micrografía de la muestra a 500x, (B) micrografía a 2500x (C) distribución de tamaño de poro de la muestra de 4 h y (D) espectro EDS de la muestra en una región general. | 47 |
| Figura 25. Muestra activada mecánicamente durante 6 h, (A) micrografía de la muestra a 500x, (B) micrografía a 2500x (C) distribución de tamaño de poro de la muestra de 6 h y (D) espectro EDS de la muestra en una región general. | 48 |
| Figura 26. Distribución de tamaño de partícula para las muestras activadas mecánicamente durante (A) 4 h y (B) 6 h..... | 48 |
| Figura 27. Micrografías, distribución de tamaño de partícula y análisis EDS para la muestra 4 h con 0.5% en peso de GO..... | 50 |
| Figura 28. Micrografías y análisis EDS de muestras activadas durante 6 horas (A) 0.5 % GO y (B) 1% GO. | 51 |
| Figura 29. Efecto de la exposición por 24 h en contacto directo de las muestras DI-GO 4 h y 6 h, en la viabilidad de las células Vero..... | 54 |
| Figura 30. Difractogramas de muestras activadas mecánicamente durante 2 horas con 0.5, 1.0 y 1.5 % en peso de GO sometidas a pruebas de bioactividad después de 7, 14 y 21 días. (✓) dióxido, (●) apatita, (◆) sílice..... | 55 |
| Figura 31. Imágenes obtenidas mediante MEB, de la superficie de muestras activadas mecánicamente durante 2 horas, con (a y b) 0.5, (c y d) 1.0 y (e y f) 1.5 % en peso de GO, sumergidas en FFS durante 14 días. | 56 |
| Figura 32. Difractogramas de muestras activadas mecánicamente durante 4 horas con 0.5, 1.0 y 1.5 % en peso de GO sometidas a pruebas de bioactividad después de 7, 14 y 21 días. (✓) dióxido, (●) apatita, (◆) sílice..... | 57 |
| Figura 33. Micrografías obtenidas mediante MEB, de la superficie de muestras activadas mecánicamente durante 4 horas, con (a y b) 0.5, (c y d) 1.0 y (e y f) 1.5 % en peso de GO, sumergidas en FFS durante 14 días. | 58 |

Figura 34. Difractogramas de muestras activadas mecánicamente durante 6 horas con 0.5, 1.0 y 1.5 % en peso de GO sometidas a pruebas de bioactividad después de 7, 14 y 21 días. (✓) dióxido, (●) apatita, (◆) sílice..... 59

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Tipos de unión de acuerdo a la interacción biocerámico-tejido [13]..... | 4 |
| Tabla 2. Propiedades mecánicas de diópsido, comparadas con las del hueso cortical [26, 27]. | 7 |
| Tabla 3. Condiciones de síntesis de diópsido por activación mecánica. | 8 |
| Tabla 4. Condiciones para la síntesis de diópsido. | 20 |
| Tabla 5. Concentración iónica del fluido fisiológico simulado y del plasma sanguíneo humano [82]. | 28 |
| Tabla 6. Reactivos para la preparación de un litro de FFS..... | 29 |
| Tabla 7. Tamaño de cristalita de diópsido..... | 32 |
| Tabla 8. Tamaño de cristalita obtenido para las muestras DI-GO..... | 37 |
| Tabla 9. Asignación de las vibraciones de las bandas en el espectro FTIR del óxido de grafeno..... | 38 |
| Tabla 10. Propiedades mecánicas de las muestras DI-GO..... | 52 |

Resumen

Actualmente y desde la antigüedad, los materiales cerámicos se han utilizado en el área de la salud. Las primeras aplicaciones de los materiales cerámicos (zirconio y alúmina) [1] en la biomedicina fue con la finalidad de tratar problemas óseos. Hoy en día existen diversas opciones para tratar los problemas de hueso; el dióxido (CaMgSi₂O₆) (DI) resulta ser una buena alternativa debido a que es un material biocompatible, bioactivo y presenta buenas propiedades mecánicas.

En este trabajo se estudió la síntesis de este material por reacción en estado sólido, estudiando el efecto de la activación mecánica del material durante 0, 2, 4 y 6 horas en un molino planetario y posteriormente, tratar térmicamente las mezclas a 1200 °C. Se logró favorecer la formación de la fase dióxido, obteniendo éste desde las 2 horas de activación mecánica. Por otra parte, se sintetizó y caracterizó óxido de grafeno (GO) obtenido por el método de Hummers modificado, con el objetivo de incorporarlo a la matriz cerámica de dióxido para mejorar sus propiedades mecánicas y estabilizar la fase dióxido. El compuesto DI-GO se trató térmicamente a 1200 °C, bajo una atmósfera inerte de N₂ para evitar la degradación del óxido de grafeno.

Se determinaron las fases formadas por difracción de rayos X antes y después de los tratamientos térmicos, también se determinó el tamaño promedio de la cristalita, así como su densidad y porcentaje de porosidad mediante la norma ASTM C-20.

La adición del GO tuvo un efecto en las propiedades del DI, disminuyendo la densificación de las muestras, y, por lo tanto, sus propiedades mecánicas. Siendo el DI-GO activado mecánicamente durante 2 horas con 1.5% en peso de GO un material apto para aplicaciones de regeneración de tejido óseo.

Además, se encontró que la velocidad del flujo de N₂ en el tratamiento térmico tiene un efecto significativo en la formación de la fase pura de DI. El compuesto DI-GO resultó ser un material bioactivo y además viable para las células 3T3.