

Óxido de grafeno en una matriz polímero-cerámica: análisis de las propiedades mecánicas a compresión.

Graphene oxide in a polymer-ceramic matrix: analysis of the mechanical properties in compression.

G. Carbajal-De la Torre ^a, J. Ortiz-Ortiz ^a, M.A. Espinosa-Medina ^a, N.N. Zurita-Méndez ^a

^a Facultad de Ingeniería Mecánica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 58000, Morelia, Michoacán, México.

Resumen

La incorporación de materiales novedosos a la ingeniería de tejidos ha ayudado a resolver problemas específicos de regeneración ósea. El óxido de grafeno (GO), se ha utilizado como refuerzo mecánico en biomateriales con matrices cerámicas o poliméricas. En este trabajo se analiza el diseño y las propiedades mecánicas a compresión de andamios compuestos por policaprolactona (PCL), hidroxiapatita (HAP) y óxido de grafeno (GO), en una relación porcentual en peso de PCL (80)-HAP (20) /GO (0.1). El GO se obtuvo mediante el método de Hummers y la HAP se sintetizó por coprecipitación. Los andamios fueron sometidos a una deformación del 70% en la máquina de ensayos Univert® de la marca Cell Scale®. Una vez hechos los ensayos mecánicos, se analizaron los datos para obtener las curvas esfuerzo-deformación. También se desarrolló un modelo mecánico a través del algoritmo de mínimos cuadrados de Levenberg-Marquardt en el software Comsol Multiphysics®, de donde se obtienen los parámetros del modelo que se ajustan al material diseñado.

Palabras Clave:

Andamios, biomaterial, propiedades mecánicas, óxido de grafeno, hidroxiapatita.

Abstract

The incorporation of novel materials into tissue engineering has aided to solve specific problems in bone regeneration. Graphene oxide (GO) has been used as a mechanical reinforcement in biomaterials with ceramic or polymeric matrices. In this work, the design and compression mechanical properties of scaffolds composed of polycaprolactone (PCL), hydroxyapatite (HAP), and graphene oxide (GO) are analysed, in a weight percentage ratio of PCL (80)-HAP (20)/GO (0.1). GO was obtained by Hummer's method and HAP was synthesized by coprecipitation. The scaffolds were subjected to a 70% deformation in the Univert® testing machine of the Cell Scale® brand. Once the mechanical tests have been done, the data is analysed to obtain the stress-strain curves. A mechanical model is also developed through the Levenberg-Marquardt least-squares algorithm in the Comsol Multiphysics® software, from which the parameters of the material model are obtained.

Keywords:

Scaffolds, biomaterial, mechanical properties, graphene oxide, hydroxyapatite.

1. Introducción

En los últimos años, el diseño de materiales que coadyuven a subsanar problemas y defectos óseos ha recibido una inmensa atención. Recientemente, los materiales bioinspirados proporcionan nuevas soluciones para tratar enfermedades, apoyar la regeneración de tejidos y reconstruir partes del cuerpo y pueden obtenerse a partir de materiales sintéticos, naturales o de

compuestos híbridos. Estos biomateriales resultan promisorios en la ingeniería de tejidos al eliminar ciertas limitaciones que, los materiales convencionales presentan. (Chrzanowski-Khademhosseini 2013).

Existen múltiples patologías de índole congénita y/o adquirida que dejan defectos óseos de tamaños críticos que el cuerpo, por sí mismo, no puede sanar. Los andamios 3-D se han perfilado como

*Autor para la correspondencia: georginacar@gmail.com

Correo electrónico: 0500666a@umich.mx (Javier Ortiz-Ortiz), nancynellyzurita@gmail.com (Nancy Nelly Zurita-Méndez), marespmmed@gmail.com (Marco Antonio Espinosa-Medina), georginacar@gmail.com (Georgina Carbajal-De la Torre).

estructuras óptimas que ayudan a direccionar la regeneración o restauración ósea (Turnbull, 2018). Los materiales que se proyecten en estas áreas, deben poseer similitudes composicionales y estructurales acordes al hueso, el cual es altamente compatible con el mineral sintético de hidroxiapatita (HAP) de composición $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y cuya síntesis por precipitación química en vía húmeda presenta múltiples ventajas tales como simplicidad, economía y control sobre la estequiometría y la microestructura (Von-Euw, 2019). Este grupo de materiales pueden complementarse con polímeros con la finalidad de aumentar su resistencia mecánica, ya que la HAP presenta una tenacidad a la fractura débil, es relativamente frágil y posee una resistencia mecánica aproximada de 100 MPa (Shavandi, 2015). La policaprolactona (PCL), por su parte, se ha aplicado ampliamente en medicina regenerativa, es un polímero biocompatible, flexible gracias a sus enlaces éster además que ha demostrado ayudar a mejorar la diferenciación osteogénica de células madre mesenquimales y en conjunto con la HAP, modifica su naturaleza hidrófoba estimulando la interacción celular (El-Habashy, 2020).

El óxido de grafeno (GO), ha sido estudiado con gran interés en múltiples áreas de la ciencia; su estructura es una versión oxidada del grafeno en el cual se replican grupos hidroxilo, ácidos carboxílicos y de naturaleza epoxi (Figura 1), lo que le confiere: 1) un aumento de hidrofiliabilidad y en consecuencia una adecuada dispersión en sustancias polares y poliméricas, 2) aumentar la biodegradabilidad del polímero y promover el reconocimiento celular sin derivación a formación de cápsula fibrosa, 3) proveer a los andamios de PCL-HAP un refuerzo mecánico y 4) capacidad de nucleación de los cristales de HAP en los andamios diseñados (Aslam-Khan, 2021).

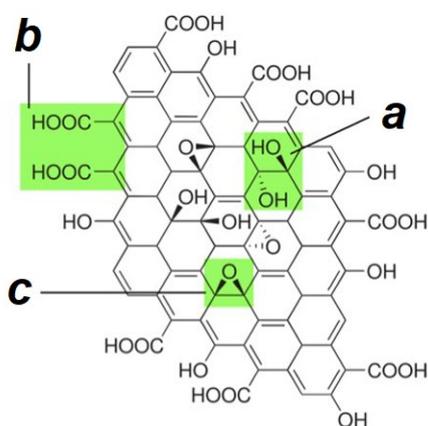


Figura 1: Estructura del GO (a) Grupos hidroxilo, (b) ácidos carboxílicos, (c) grupos epoxi (Notariani, 2016).

El conocimiento del comportamiento mecánico de los tejidos resulta fundamental para entender la fisiología de varios órganos, así como para el desarrollo de los tratamientos y técnicas para enfrentarse a las distintas enfermedades. Muchos de estos tratamientos tienen unas indudables implicaciones mecánicas, ya que se suelen aplicar cargas y deformaciones durante la reparación o remplazo de tejidos enfermos o dañados. El comportamiento mecánico de los materiales en el mundo biológico, usualmente se desvía de los modelos tradicionales como lo es la ley de Hooke. Es importante probar los materiales para determinar hasta qué punto es posible representar su comportamiento mecánico por medio de ecuaciones constitutivas simplificadas (Nowakowski 2006). Las pruebas mecánicas de materiales biológicos no difieren de pruebas de materiales industriales, excepto posiblemente en

tres aspectos: (1) rara vez es posible obtener grandes muestras de materiales biológicos; (2) se debe poner especial atención en mantener las muestras en condiciones lo más cerca posible a las condiciones de in vivo; y finalmente (3), muchos materiales son no heterogéneos, lo cual requiere que se diseñen equipos y métodos específicos para realizar estas pruebas (Nowakowski 2006).

2. Experimental

El óxido de grafeno (GO) se sintetizó siguiendo el método de Hummers modificado (Hummers, 1958) mediante exfoliación de grafito ($\geq 99\%$, Sigma Aldrich) utilizando permanganato de potasio (KMnO_4 , 99%, Golden Bell), Nitrato de Sodio (NaNO_3 , 99%, MEYER) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , 30%, Golden Bell) como agentes oxidantes. Para su obtención primeramente se mezclaron grafito en polvo con nitrato de sodio y posteriormente se agregó ácido sulfúrico concentrado, dentro de una tina de ultrasonido y se homogeneiza por un corto tiempo. Al ser una reacción altamente exotérmica, debe tenerse cuidado de controlar la temperatura mediante un baño de hielo, manteniendo el rango de temperatura de 0 a 10 °C. Posteriormente, se agrega el permanganato de potasio a la suspensión homogénea y manteniendo la temperatura a $5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante 2 horas. Una vez concluida la sonicación, el baño de hielo fue removido y la temperatura se mantuvo constante a $35\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ por 30 min en agitación magnética. Posteriormente, se agregó KMnO_4 y agua desionizada elevándose la temperatura a $98\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. La solución se mantuvo por 30 min en agitación. Después de ese tiempo, se agregó agua desionizada caliente y agua oxigenada resultando en una mezcla de color café claro. La suspensión resultante fue sometida a varios procesos de lavado con agua desionizada caliente. Los lavados cesan hasta que la solución alcanza un $\text{pH} = 7$ y posteriormente se secan en una mufla convencional a 60 °C durante 3 días.

Una vez obtenido el GO, se evaluó mediante difracción de rayos X (DRX) para identificar la fase en un difractómetro D8 Advanced Da Vinci con radiación $\text{CuK}\alpha$ (figura 2) y microscopía electrónica de barrido (MEB) para observar su morfología (figura 3). En la figura 2, es posible identificar un pico intenso en $2\theta = 13.29^\circ$, el cual es característico del GO puro con una reflexión en el plano 001 así como dos picos en $2\theta = 25.73^\circ$ y 42.74° los cuales indican que el GO no se interconectó de manera completa con los átomos de oxígeno, como se ha discutido previamente (Sibirian 2018).

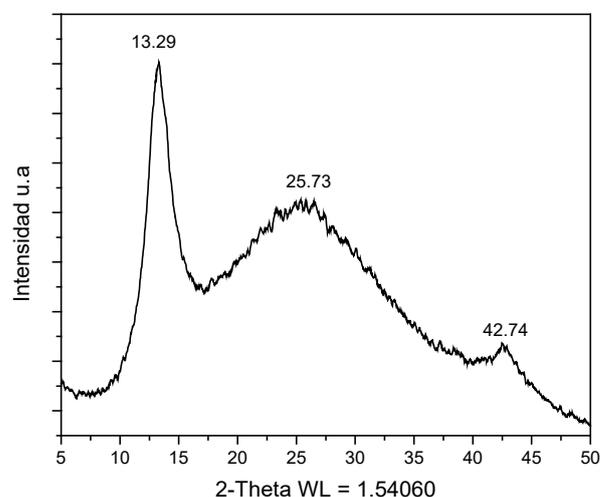


Figura 2: Difractograma por DRX del GO

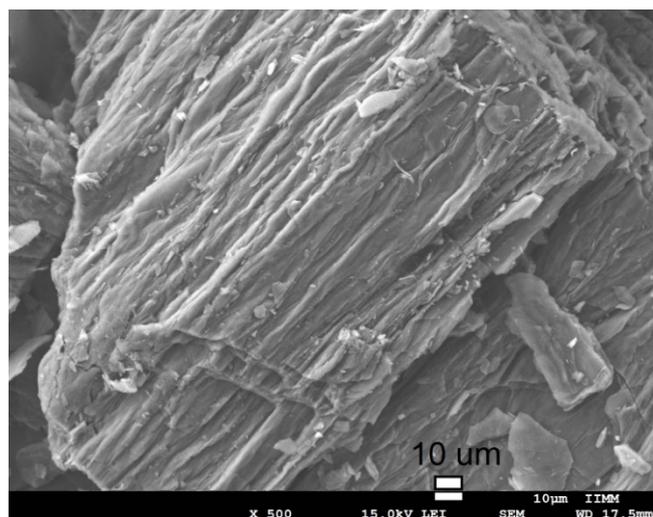


Figura 3: Morfología del GO observada mediante SEM

En la figura 3 (x 500), se observa claramente la morfología del GO obtenido mediante síntesis de Hummer. Es posible identificar que el material está formado por hojas rugosas conformadas por varias láminas tubulares. Esta morfología le brinda propiedades deseables para su funcionalización y uso en materiales en ingeniería de tejidos debido a su alta porosidad, la cual puede simular la matriz extracelular en la regeneración de tejidos (Felli 2016).

Las partículas de hidroxiapatita se obtuvieron mediante síntesis de coprecipitación húmeda, para lo cual se prepararon tres soluciones: 1. NH_4OH (Ayt®) 1M, 2. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker®) 1M, 3. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Sigma-Aldrich®) 0.2 M. La solución 2 se calienta a 60 ± 2 °C con agitación constante agregando 30 gotas/minuto de la solución 3 y revisando que el pH de la solución se mantenga entre 8.5 y 9 ajustándolo con la solución 1. Posteriormente, el precipitado obtenido se filtra, se lava con agua tibia y se seca en un horno a 60 °C por 24 horas. Una vez seco, el polvo obtenido se tritura en un motero para obtener un polvo fino y se pasa por un tamiz de tamaño de 35 μm

El polvo blanco obtenido se evalúa mediante DRX (figura 4). Las fases del compuesto se identificaron al comparar el difractograma experimental con el software indexado en el equipo, encontrándose la total adecuación con el PDF 00-064-0738 para la hidroxiapatita hexagonal $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ con los índices de Miller de los planos (020), (111), (021), (121), (030), (022), (130), (222), (123), (004) y (034), los cuales se indican en la imagen. Posteriormente, la evaluación de la hidroxiapatita por MEB, permite analizar su morfología, la figura 5 (x 5,000) muestra la obtención de partículas aglomeradas de tamaños nanométricos y en su mayoría en forma de espiga.

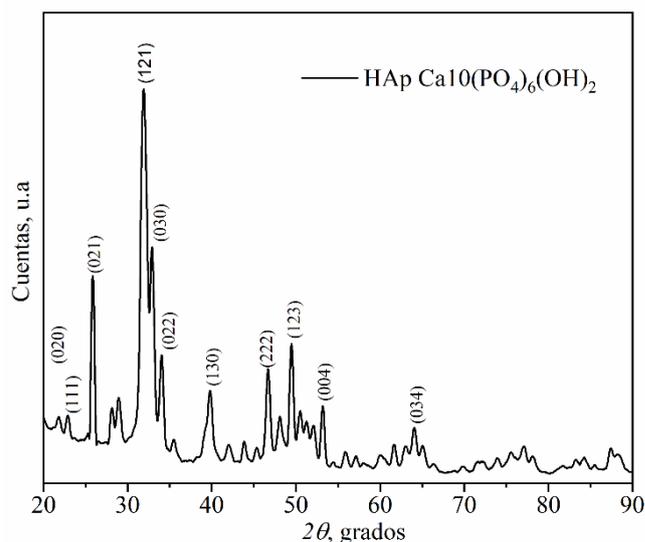


Figura 4. Difractograma por DRX de la hidroxiapatita

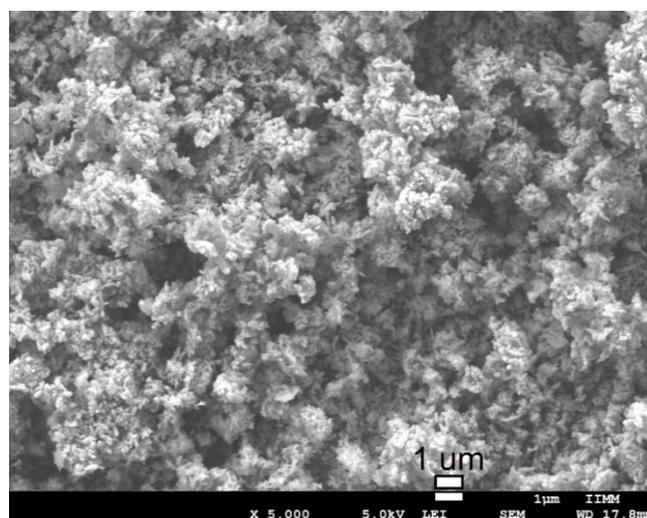


Figura 5. Morfología de la hidroxiapatita observada mediante SEM

La policaprolactona (PCL) empleada fue grado reactivo sin purificación adicional ($M_w = 80000$, Sigma Aldrich), y fue disuelta en cloroformo antes de agregar las partículas de HAP y GO, en las proporciones en porcentaje en peso: PCL (80 %) HAP (20 %) y GO (0.1% adicional) Se mezclan los componentes adecuadamente utilizando agitación mecánica a temperatura y condiciones ambiente hasta que se forma una fase homogénea gelificada, se vacía en moldes y se deja durante 48 horas a temperatura ambiente para que el solvente se evapore. Los andamios 3D se desmoldan y se secan en horno a 38 °C.

La evaluación morfológica de los andamios realizados mediante MEB puede observarse en la figura 6 (x 10,000); en ella, es posible identificar la adecuada integración de las fases, así como la superficie porosa que le confiere al andamio la hidroxiapatita y el óxido de grafeno.

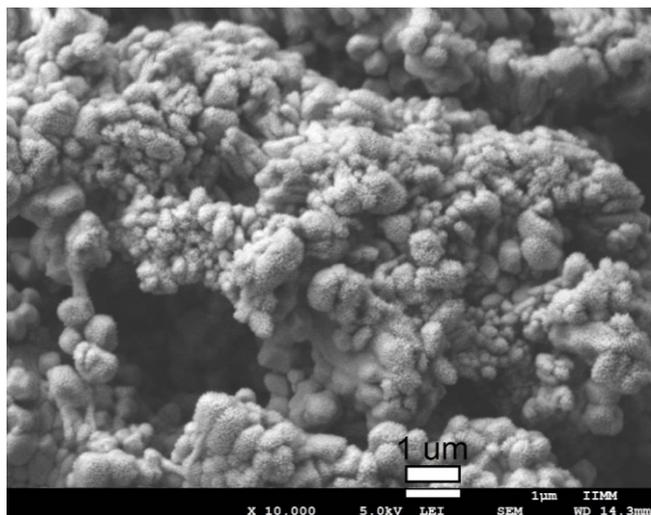


Figura 6. Morfología de los andamios PCL (80)-HAP (20)/GO (0.1).

Los andamios generados a partir de la síntesis de biomateriales fueron analizados en la máquina de ensayos Univert® de la marca CellScale® (Figura 7) con el objetivo de conocer sus propiedades mecánicas.

Se obtuvieron datos experimentales de ensayos a compresión uniaxial del 70%, deformación en la cual se observa el mayor esfuerzo antes del colapso de la probeta. Se sometieron tres muestras en total, cuyas características geométricas se mencionan a continuación:

Diámetro promedio: 6.19 mm.

Altura promedio: 10.14 mm.

Una vez realizados los ensayos mecánicos, se procedió a recolectar los datos y realizar las curvas esfuerzo-deformación (figura 8), la cual muestra un comportamiento no lineal, por lo cual se procede a realizar una aproximación por medio de un modelo mecánico no lineal.

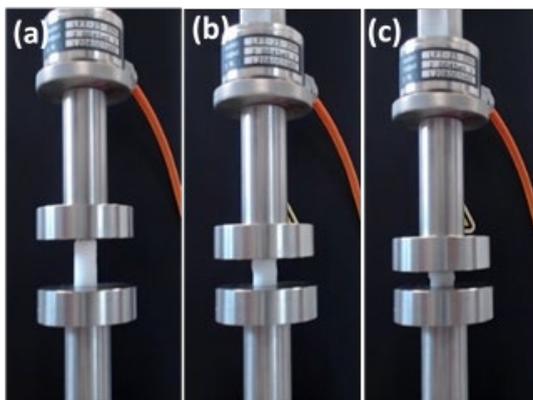


Figura 7. Probeta sometida a compresión en la máquina de ensayos Univert (a) probeta entre los platos de compresión, (b) probeta comprimida en un 30 %, (c) probeta sometida a 70 % de deformación.

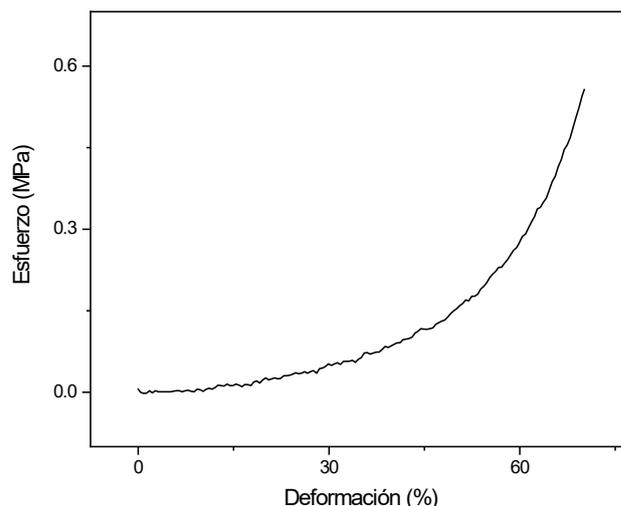


Figura 8. Curva esfuerzo-deformación de andamios sometidos a compresión.

3. Ajuste de curvas.

Haciendo uso del software COMSOL Multiphysics®, a través del algoritmo de Levenberg-Marquardt se realiza la aproximación del modelo material a los datos experimentales para obtener los parámetros que describan el modelo. Se eligió el ajuste de curvas por medio de modelos hiperelásticos debido a la alta deformación que soporta el material (Kumar 2015). Se probaron diversos modelos, siendo el modelo de Mooney-Rivlin (ecuación 1) (Kumar 2015) de cinco parámetros el que se ajustó de mejor manera a los datos obtenidos experimentalmente.

$$P = 2(1 - \lambda^{-3})(\lambda C_{10} + 2C_{20}\lambda(I_1 - 3) + C_{11}\lambda(I_2 - 3) + C_{01} + 2C_{02}(I_2 - 3) + C_{11}(I_1 - 3)) \quad (1)$$

Aquí, P es el esfuerzo calculado por el modelo, C_{10} , C_{01} , C_{20} , C_{02} y C_{11} son los parámetros del modelo material de Mooney-Rivlin y los invariantes I_1 e I_2 se calculan de la siguiente manera:

$$I_1 = \left(2\lambda^2 + \frac{2}{\lambda}\right) \quad (2)$$

$$I_2 = \left(2\lambda + \frac{1}{\lambda^2}\right) \quad (3)$$

La relación de compresión λ es una medida de la magnitud de deformación. En el ensayo uniaxial de compresión, esta relación se define como $\lambda = L/L_0$, donde L es la longitud deformada del espécimen al aplicar la fuerza, y L_0 es la longitud original.

En la Figura 9 se observa el ajuste de curva a través del algoritmo de mínimos cuadrados de Levenberg-Marquardt que se realizó a los datos experimentales. La curva se genera a partir de la sustitución de los parámetros generados (tabla 1) en la ecuación 1. Cabe señalar que, en el modelo material, lo que respecta a la deformación es representado con el parámetro λ , el cual comienza de la unidad. Con este modelo se pretende predecir el comportamiento mecánico del material al momento de realizar un análisis de elemento finito.

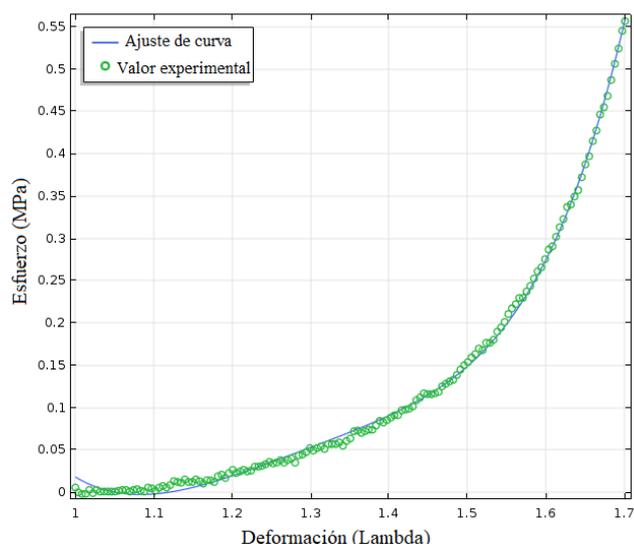


Figura 9. Ajuste de curvas para los andamios compuestos por PCL-HAP/GO. Los puntos verdes corresponden a los datos experimentales mientras que la línea azul representa el modelo generado.

Tabla 1: Parámetros de Mooney-Rivlin.

Parámetros de Mooney-Rivlin				
C01	C02	C10	C11	C20
1.80E-02	-9.67E-01	7.42E-02	1.22E+00	-3.22E-02

4. Conclusiones

Se diseñaron andamios de composición porcentual en peso de PCL (80)-HAP (20) /GO (0.1), con morfología 3D para aplicación posterior en ingeniería de tejidos. Las evaluaciones morfológicas y de identificación de fase, indican que las propiedades de los materiales son adecuadas para su posible empleo en ingeniería de tejidos debido a la porosidad que presentan. Se realizó la caracterización mecánica a compresión al someter a compresión algunas muestras a una deformación del 70% en la máquina de ensayos Univert® de la marca Cell Scale®. A partir de los ensayos mecánicos se obtuvo la curva esfuerzo-deformación en la cual se observa que un modelo mecánico tradicional como puede ser la ley de Hooke, no es representativo del comportamiento mecánico del material. Los modelos mecánicos alternativos toman importancia para realizar predicciones tanto de deformación como

de esfuerzo de manera precisa. Como trabajo futuro se prevé realizar el modelado de elemento finito utilizando estos modelos como modelos materiales.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio de Degradación de Materiales por las facilidades brindadas y el apoyo a través del proyecto CIC-2021.

Referencias

- Aslam-Khan, M.U., et al. (2021). Development of porous, antibacterial and biocompatible GO/n-HAp/bacterial cellulose/ β -glucan biocomposite scaffold for bone tissue engineering. *Arabian Journal of Chemistry* 14,2. DOI: 10.1016/j.arabjc.2020.102924
- Chrzanowski, Wojciech, and Ali Khademhosseini. 2013. "Biologically Inspired 'smart' Materials." *Advanced Drug Delivery Reviews* 65(4):403–4. doi: 10.1016/j.addr.2013.03.001.
- El-Habashy, S.E., et al. (2021). Biomaterial-Based nanocomposite for osteogenic repurposing of doxycycline. *International Journal of Nanomedicine* 16:1103-1126 DOI: 10.2147/IJN.S298297
- Hummers, W.S. (1958). Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society* 80,1339 DOI: 10.1021/ja01539a017
- Kumar, Chandan. 2015. Fitting Measured Data to Different Hyperelastic Material Models. Retrieved November 22, 2018 (<https://www.comsol.com/blogs/fitting-measured-data-to-different-hyperelastic-material-models>).
- Notariani, M., et al. (2016). Synthesis and applications of carbon nanomaterials for energy generation and storage. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 7,149:196 DOI: 10.3762/bjnano.7.17
- Nowakowski, Antoni. 2006. Quantitative Active Dynamic Thermal Ir-Imaging and Thermal Tomography in Medical Diagnostics.
- Sibirian, R., et al. (2018). New route to synthesise of graphene nano sheets. *Oriental Journal of Chemistry* 34:182-187 DOI: 10.13005/ojc/340120
- Felli, E., et al. (2016). El grafeno y sus derivados en la ingeniería tisular. *Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinaria de Métodos, Modelización y simulación* 8:71-81
- Shavandi, A., et al. (2015). A review of synthesis methods, properties and use of hydroxyapatite as a substitute of bone. *Journal of Biomimetics Biomaterials and Biomedical Engineering* 25:98-117 DOI: 10.4028/www.scientific.net/JBBBE.25.98
- Turnbull, G., et al. (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive Materials* 3:278-314. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001
- Von-Euw, S., et al. (2019). Bone mineral:new insights into its chemical composition. *Scientific Reports* 9,8456. DOI: 10.1038/s41598-019-44620-6