



Academia Oamenilor de Știință din România

RAPORT DE ACTIVITATE

Nr. 2

Materiale carbonice în medicină: riscuri și oportunități

Tema de cercetare Nr. 6/2018

Director proiect

Prof. univ. dr. Ecaterina ANDRONESCU

Cercetător

Doctorand Adrian-Ionuț NICOARĂ

Universitatea Politehnica din București

Septembrie 2018

Cuprins

1.	Sinteza oxidului de grafenă.....	3
2.	Caracterizarea pulberii de oxid de grafenă (GO).....	4
2.1.	Difracția de raze X.....	4
2.2.	Spectroscopia RAMAN.....	6
2.3.	Spectroscopia FTIR	7
2.4.	Analiza termogravimetrică	8
2.5.	Microscopia electronică de baleiaj	8
2.6.	Microscopia electronică prin transmisie.....	10
3.	Sinteza hidroxiapatitei.	11
4.	Caracterizarea hidroxiapatitei.	12
4.1.	Difracție de raze X.....	12
4.2.	Microscopia electronică de baleiaj	13
5.	Obținerea compozitelor hidroxiapatitei-oxid de grafenă.	15
6.	Caracterizarea compozitelor hidroxiapatitei-oxid de grafenă.	16
6.1.	Difracție de raze X.....	16
6.2.	Microscopia de baleiaj	18
7.	Concluzii	20
8.	Bibliografie	21

1. Sinteza oxidului de grafenă

Oxidul de grafenă este un material foarte studiat în ultimii 20 de ani și există câteva metode consacrate de sinteză. Metoda de sinteză folosită a fost raportată de către mai Kovtyukhova și colaboratorii[1] pornind de la cunoscuta metoda Hummers prin adăugarea unei etape de pre-oxidare și este reprezentată în următoarea schemă.

Oxidul de grafenă a fost preparat după metoda Hummer modificată conform schemei (Fig 1). 20 g de grafit sitate în prealabil au fost amestecate cu o soluție de H_2SO_4 concentrat (60 mL), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (10 g) și P_2O_5 (10 g) aflată la 80°C . Amestecul a fost apoi lăsat să se răcească la temperatura camerei după care a fost diluat cu o cantitate mare de apă, a fost filtrat și spălat până când filtratul a ajuns la pH neutru. Pulberea obținută a fost uscată timp de 24h la 80°C . 20 de grame de grafit preoxidat a fost adăugat peste 460 mL de H_2SO_4 concentrat și amestecul a fost amestecat într-un pahar Berzelius aflat în baie de gheață ($t < 5^\circ\text{C}$). Peste acest amestec s-au adăuga treptat și încet 60 g de KMnO_4 . După câteva minute paharul Berzelius (în care s-a format o soluție de culoare verde închis) s-a scos din baia de gheață și a fost așezat pe o plită cu agitare magnetică la temperatura de 35°C în interiorul paharului timp de 2 ore. După încălzire peste amestec s-au turnat 920 mL H_2O distilată paharul, iar peste 15 minute reacția a fost oprită prin adăugarea unei cantități mari de H_2O distilată (2,8 L) și H_2O_2 de concentrație 30% (50 mL). Amestecul obținut a fost decantat, filtrat la vid, și spălat cu HCl 5% și H_2O distilată până la obținerea unui pH-neutru. Pulberea obținută a fost uscată în aer la temperatura de 60°C timp de 24 h.

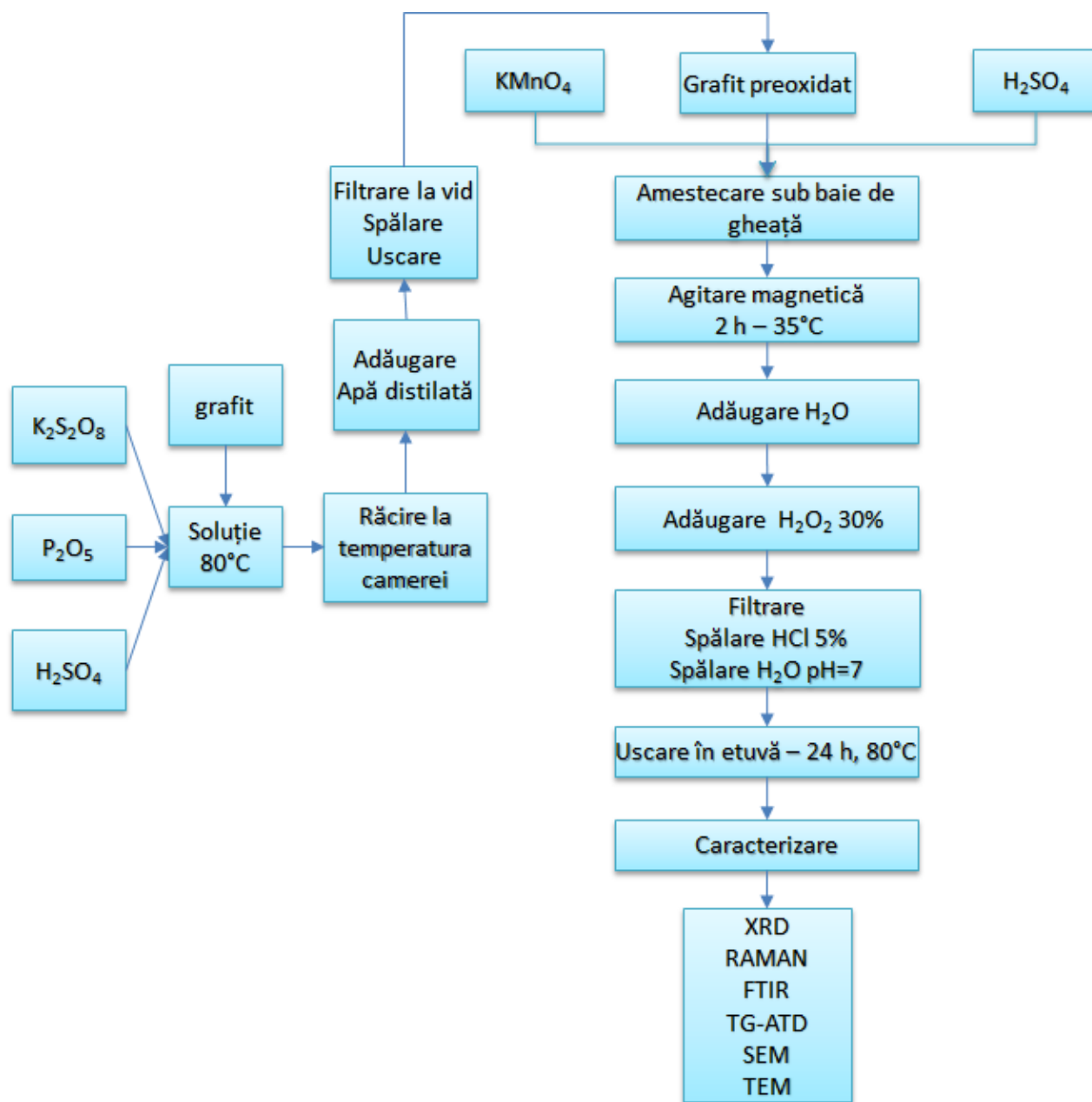


Figura 1 – Schema de obținere a oxidului de grafenă

2. Caracterizarea pulberii de oxid de grafenă (GO)

2.1. Difrakția de raze X

Analizele de difracție de raze X s-au realizat la temperatura camerei, utilizând un difractometru de tipul Panalytical Empyrean cu radiație $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$), scanarea

realizându-se între unghiurile 2θ cu valori cuprinse între 5 și 80° . Rezultatul acestei analize este prezentat în figura 2.

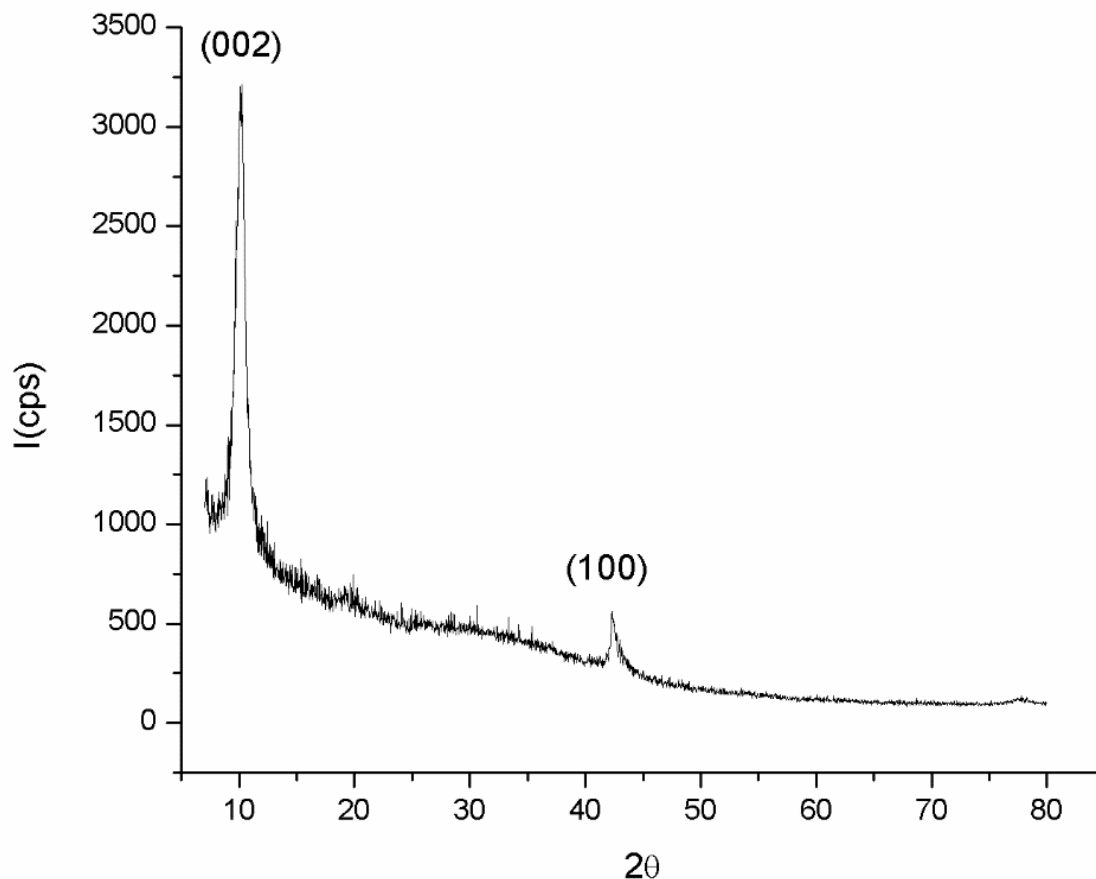


Figura 2 – Difractograma corespunzătoare oxidului de grafenă

După cum se poate observa în figura 2 se identifică o interferență de difracție la valoarea unghiul 2θ egală $10,14^\circ$ ceea ce corespunde unei distanțe interplanare, calculată cu ajutorul legii lui Bragg, de $8,72 \text{ \AA}$. Prin folosirea ecuația lui Scherrer s-a determinat o dimensiune de cristalit de $70,9 \text{ \AA}$, ceea ce ar corespunde unor structuri de oxid de grafenă de 6-7 straturi. De asemenea, interferența de difracție caracteristică planului de difracție cu indicii (100), situată la unghiuri mai mari ($2\theta=42,43^\circ$), se datorează prezenței unor structuri turbostratice de carbon.

2.2.Spectroscopia RAMAN

Analizele de spectroscopie Raman au fost realizate cu un instrument de tip LabRAM HR Evolution produs de Horiba, utilizând un laser de 633 nm și obiectiv de 50x, Spectrele astfel obținute sunt prezentate în figura 3.

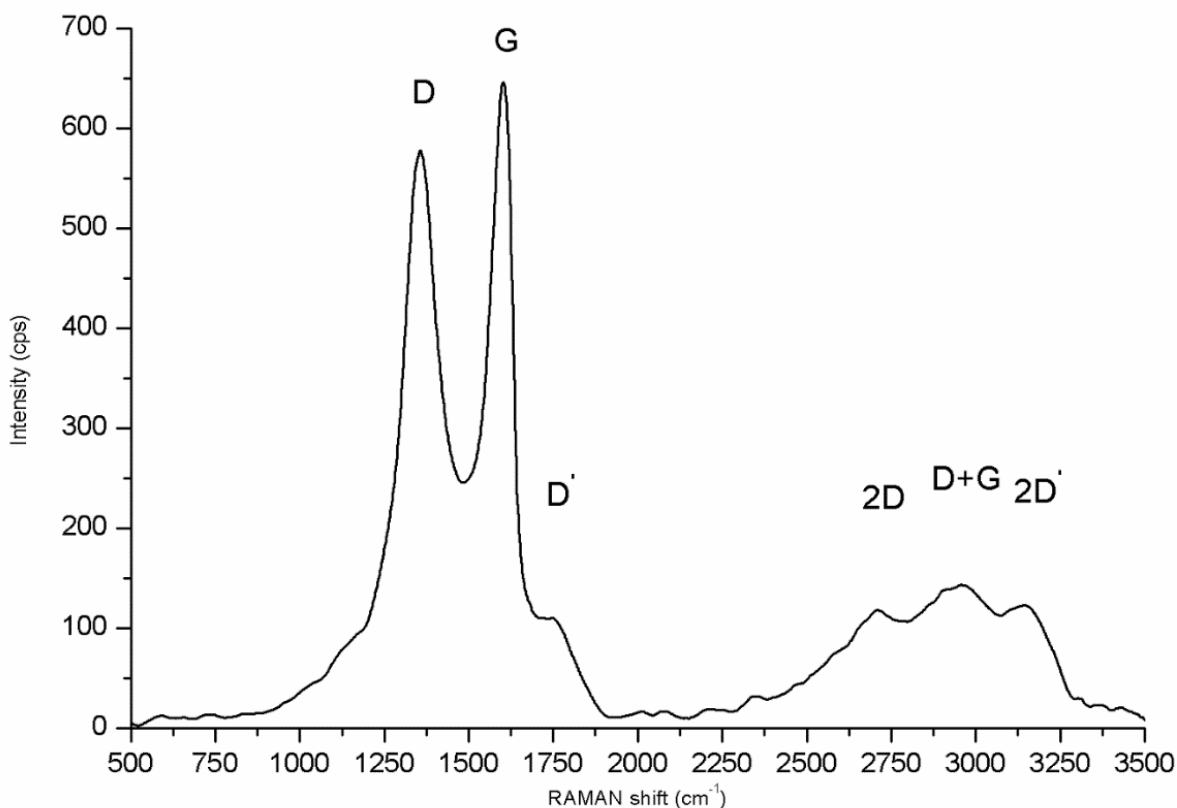


Figura 3 –Spectrul RAMAN obținut pe pulberea de oxid de grafenă

Spectrul Raman obținut coincide cu spectrul prezentat în literatură pentru acest material. Aceste peak-uri prezente în spectru sunt specifice pentru materialele grafitice iar diferențele între materiale se reflectă în schimbarea intensităților și intensităților relative ale peak-urilor. Banda D (specifică modului de simetrie A_{1g}) (1357 cm^{-1}) se referă la „dezordinea” și defectele prezente în material, carbonii de sp^3 , iar în cazul oxidului de grafenă această bandă este accentuată de grupări funcționale ale oxigenului. Banda G se datorează vibrației asociate unei rețele grafitice (modul E_{2g} al atomilor de carbon sp^2) formate și în cazul oxidului de grafenă datorită aglomerării acestuia. Prezența umărului de la 1752 cm^{-1} este asociată cu prezența unor particule de dimensiuni reduse. Benzile 2D, D+G și 2D' se datorează unor procese de dublă rezonanță de ordin între fononi.

2.3.Spectroscopia FTIR

Analizele FT-IR au fost efectuate cu ajutorul unui spectrometru model Nicolet iS50N la temperatura camerei, utilizând-se modului de atenuare totală a reflexiei (ATR). Au fost efectuate 32 de scanări ale probelor între 4000 și 400 cm^{-1} la o rezoluție de 4 cm^{-1} . Înregistrarea spectrală a fost posibilă prin conectarea spectrometrului la o unitate de preluare și prelucrare a datelor prin intermediul programului de lucru OMNIC. Figura 4 prezintă rezultatul analizei de spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier

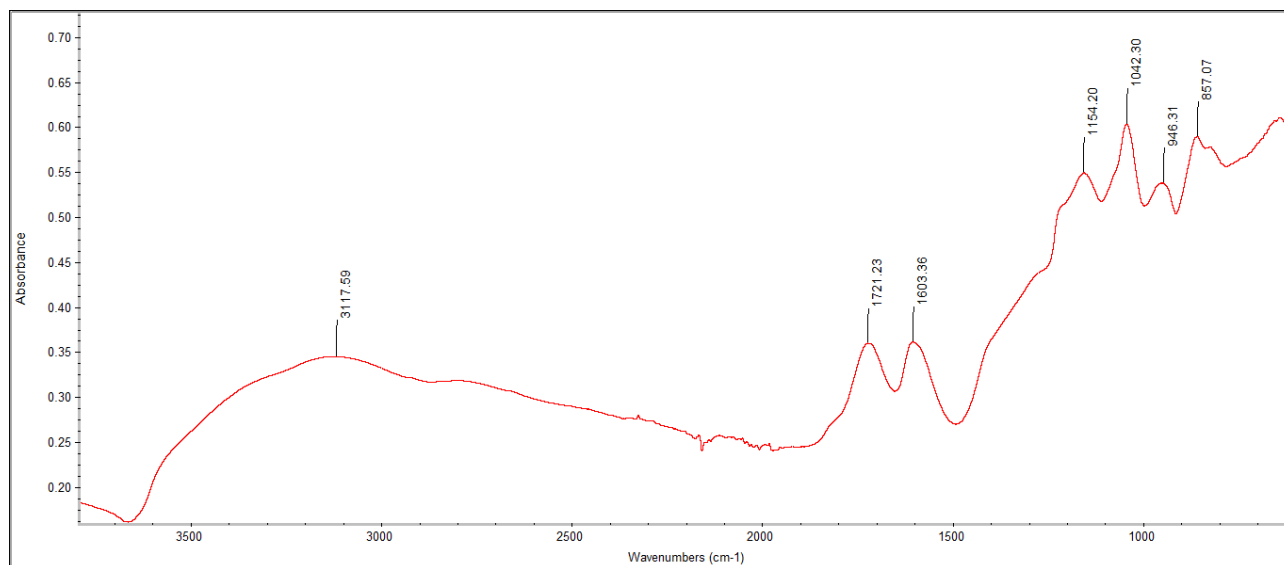


Figura 4 – Spectrul FTIR pentru oxidul de grafenă

În urma analizei FT-IR se pot identifica vibrațiile pentru diferite legături prezente în oxidul de grafenă. Spectrul IR prezintă absorbții la următoarele lungimi de undă: 1042 cm^{-1} care este specifică pentru legături C- O (alcoxi), 1507 cm^{-1} absorbție specifică pentru C-O (carboxi), 1603 cm^{-1} absorbție specifică pentru apa adsorbită de către pulbere suprapusă peste banda de vibrație specifică legăturii C=C aromatic, 1721 cm^{-1} absorbție specifică pentru C=O (carbonil/carboxi), iar banda de absorbție de la 3157 cm^{-1} este specifică legăturilor de hidrogen aferente grupărilor O-H din apa adsorbită de către pulbere precum și celor din COOH.

2.4. Analiza termogravimetrică

Analizelor termice ATD au fost realizate cu ajutorul unui echipament Shimadzu DTG-TA-50H în intervalul de temperatură 0-800°C, rezultatele fiind prezentate în figura 5.

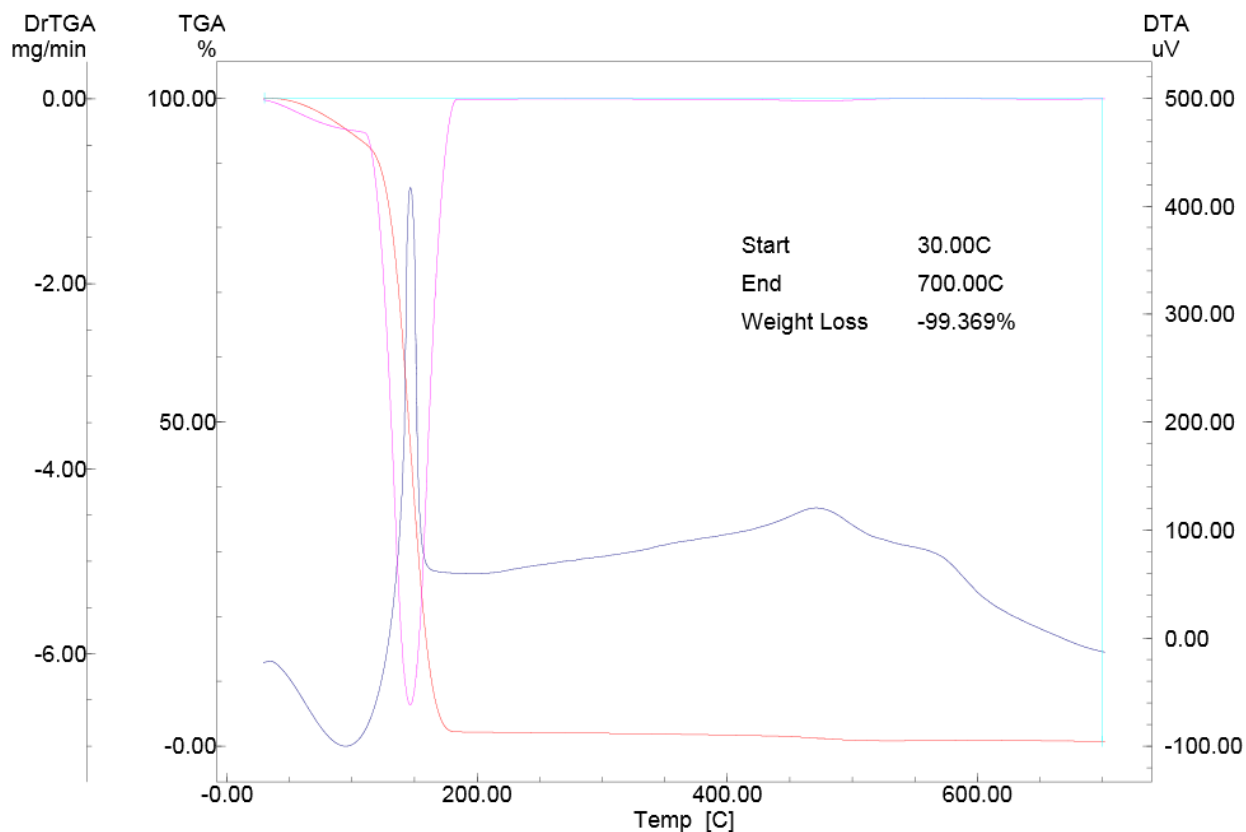


Figura 5 – Graficul analizei termice diferențiale și al analizei termo-gravimetrice

Din graficul analizei termice observăm un peak endoterm în jurul temperaturii de 120°C care corespunde evaporării apei legate fizic în oxidul de grafenă iar în jurul temperaturii de 175°C are loc combustia oxidului de grafenă cu o mare degajare de căldură. Viteza de încălzire de 10 grade/min s-ar putea să fi fost prea mare, iar combustia să aibă loc împreună cu oxidarea termică.

2.5. Microscopia electronică de baleiaj

Imaginile de microscopie electronică de baleiaj s-au obținut utilizând un microscop electronic de baleiaj pentru imagistică de înaltă rezoluție echipat cu o sursă de electroni cu emisie în câmp tip Schottky (FEI Inspect F50), cu rezoluția de 1,2 nm la 30 kV și 3 nm la 1 kV (BSE).

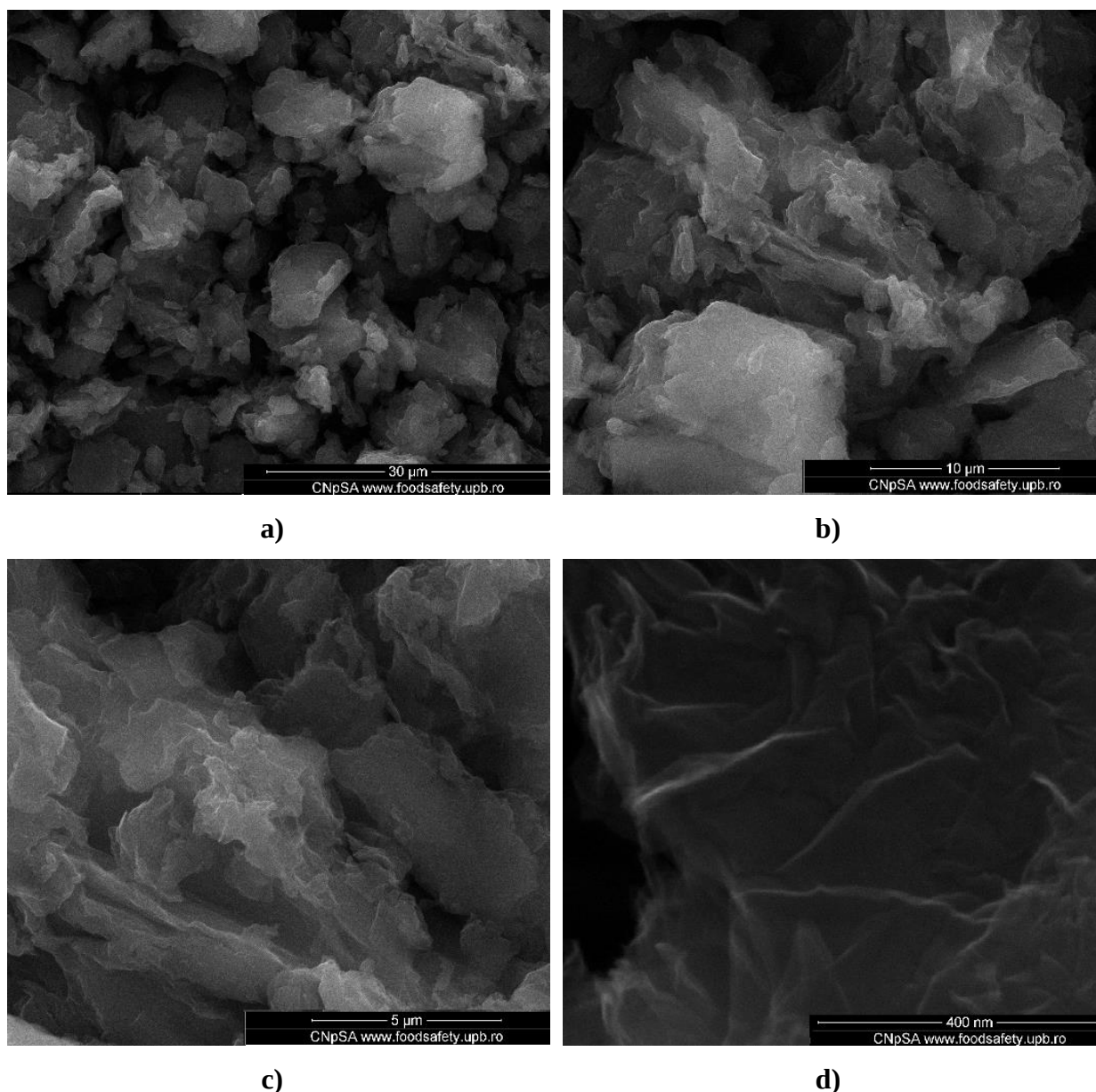


Figura 6 – Imagini de microscopie electronică de baleiaj obținute la diferite mărimi a)5000X, b)10000X, c)20000X, d)400000X

Din imaginile prezentate în figura 6 putem observa ”fulgi” de oxid de grafenă de dimensiuni micronice cu o structură foioasă formată din foițe foarte subțiri de oxid de grafenă prin aglomerarea acestora. Imaginile obținute pentru acest oxid de grafenă se potrivesc cu imaginile obținute și prezentate în alte studii din literatură. Deoarece microscopia electronica de baleiaj nu permite analiza la maririle necesare identificarii structurilor de grafen oxid s-a recurs la analiza (HR)TEM.

2.6. Microscopia electronică prin transmisie

Imaginile de microscopie electronică prin transmisie au fost obținute folosind un microscop electronic TecnaiTM G2 F30 S-TWIN, echipat cu detector STEM/HAADF, EDX (Energy dispersive X-ray Analysis) și cu spectrometru de pierdere de energie al electronilor EFTEM - EELS (Electron energy loss spectroscopy).

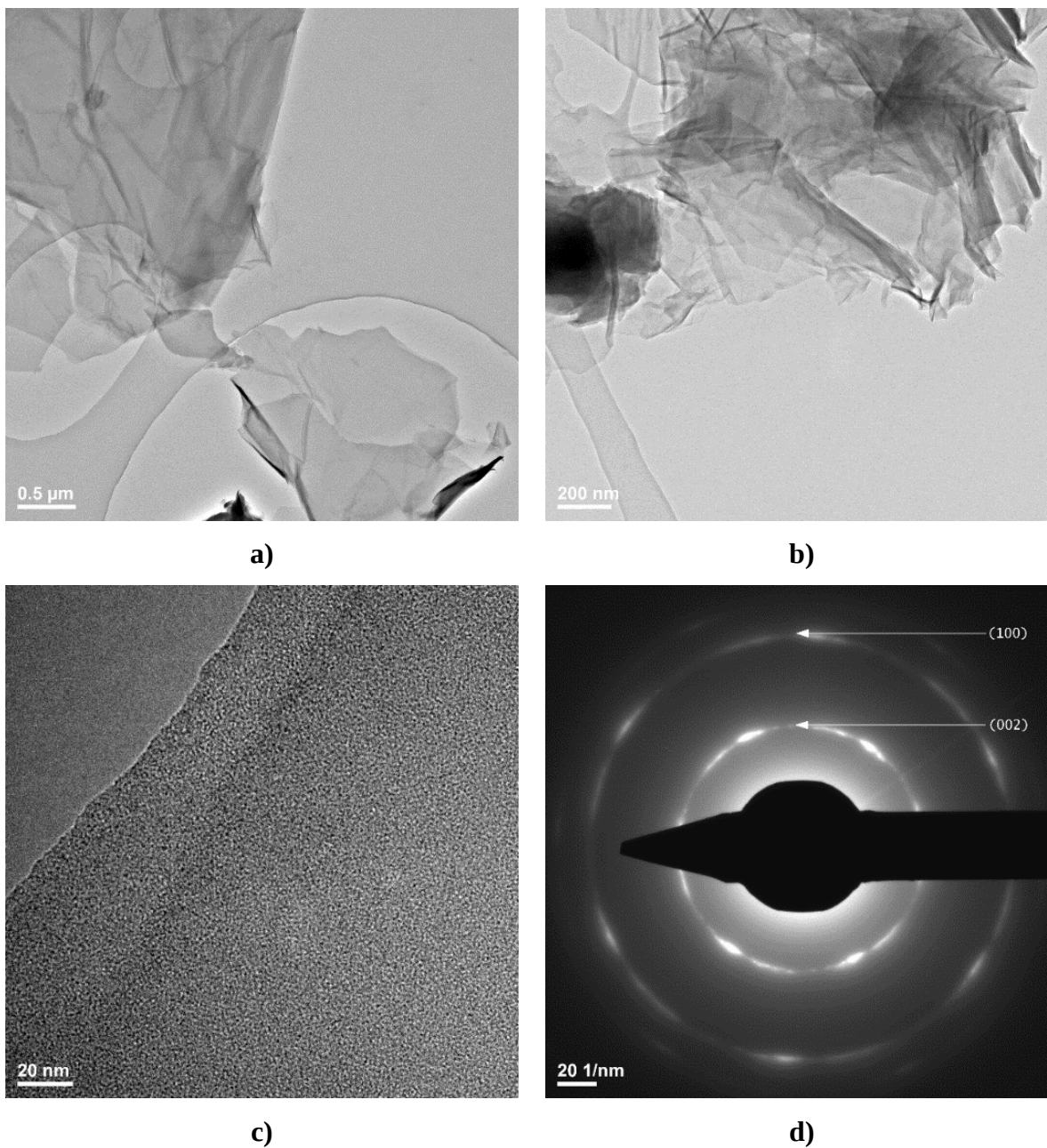


Figura 7 – Imaginile de microscopie electronica prin transmisie pentru oxidul de grafenă la diferite mărimi a), b) și c) și difracția de electroni pe arie selectată pe același material d)

În imaginile de microscopie electronică prin transmisie observăm structuri foioase formate din câteva straturi; aceste straturi (foițe) majoritatea sunt „încręțite” datorită defectelor introduse de către grupările funcționale. Imaginea d) de difracție de electroni pe arie selectată ne arată faptul că un oxid de grafenă cu mai multe straturi și stratificarea este atât de tip grafitic (ordonată) dar și o stratificare neuniformă (dezordonată). Observarea simetriei hexagonale în imaginea SAED arată faptul că în structura oxidului de grafenă analizat există și o ordine la distanță mare.

3. Sinteza hidroxiapatitei.

Hidroxiapatita s-a obținut utilizând ca precursori hidroxidul de calciu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ și fosfatul acid de diamoniu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

Soluția obținută după amestecarea precursorilor a fost adăugată în 5 flacoane, care au fost ulterior imersate într-o baie de apă. Metoda de sinteză aleasă a fost metoda hidrotermală în câmp de microunde. Cu ajutorul unui echipament de tip SynthWave s-au setat condițiile de reacție, acestea presupunând un timp de 10 minute, la o temperatură de 120°C și la o presiune de 2,5 bari. Ulterior, precipitatul obținut a fost filtrat cu ajutorul unei hârtii de filtru, iar, mai apoi, a fost lăsat la uscat peste noapte. Figura 8 prezintă schematic întreg procesul de obținere a hidroxiapatitei

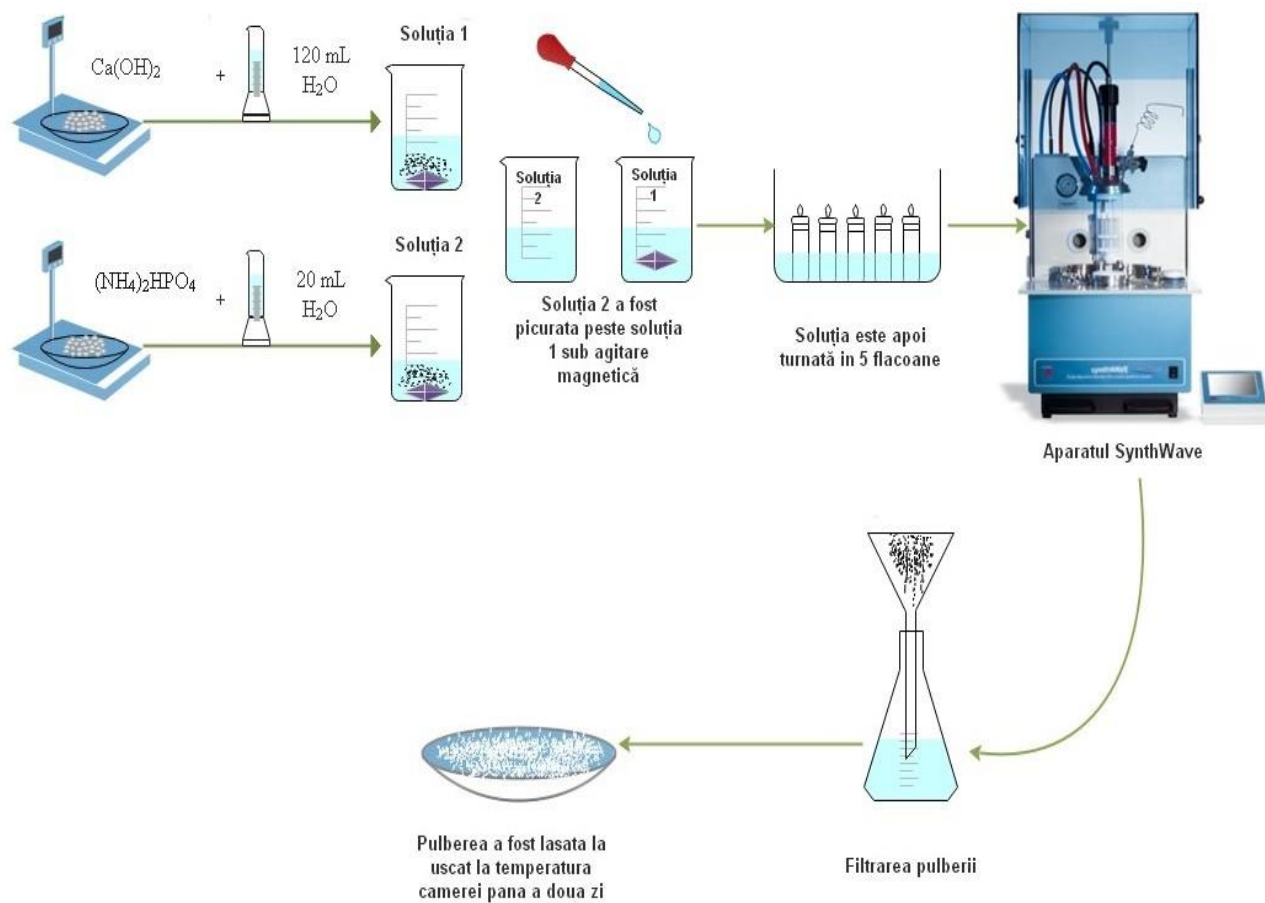


Figura 8 - Mod de lucru pentru obținerea hidroxiapatitei

4. Caracterizarea hidroxiapatitei.

4.1. Difrakție de raze X

Pulberile obținute au fost caracterizate cu ajutorul difracției de raze X în vederea identificării fazelor și observării gradului de cristalinitate al hidroxiapatitei. Rezultatul analizei de difracție este prezentat în figura 9.

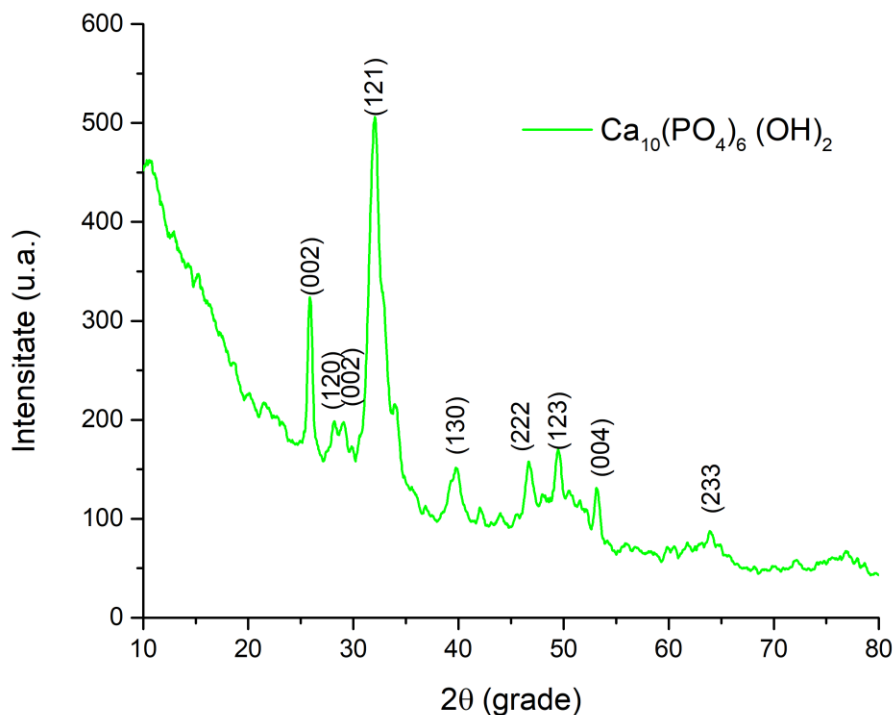


Figura 9 - Difractogramă corespunzătoare compozitelor hidroxiapatită – oxid de grafenă în diverse procente

Difractogramele obținute (figura 9) pentru hidroxiapatită prezintă maxime de difracție estimate ale unghiului 2θ de 25.87 , 31.77 , 34.06, 39.80, 46.70, 49.48 și 53.19. Conform datelor tabelare disponibile în fișele ASTM (en. American Society for Testing and Materials) maximele de difracție identificate în cazul pulberilor sintetizate experimental corespund planelor de difracție (0 0 2), (1 2 1), (2 0 2), (1 3 0), (2 2 2), (2 1 3) și (0 0 4) caracteristice hidroxiapatitei, cristalizată în sistem hexagonal.

4.2. Microscopia electronică de baleiaj

Microscopia electronică de baleiaj s-a realizat pentru a determina caracteristicile morfologice ale probelor sintetizate, precum a dimensiunii particulelor. Achiziția de micrografii s-a realizat cu ajutorul unui microscop electronic de baleiaj de înaltă rezoluție, Inspect F50, la 30KeV și diverse magnificații. Rezultatul acestor analize este prezentat în figura 10,

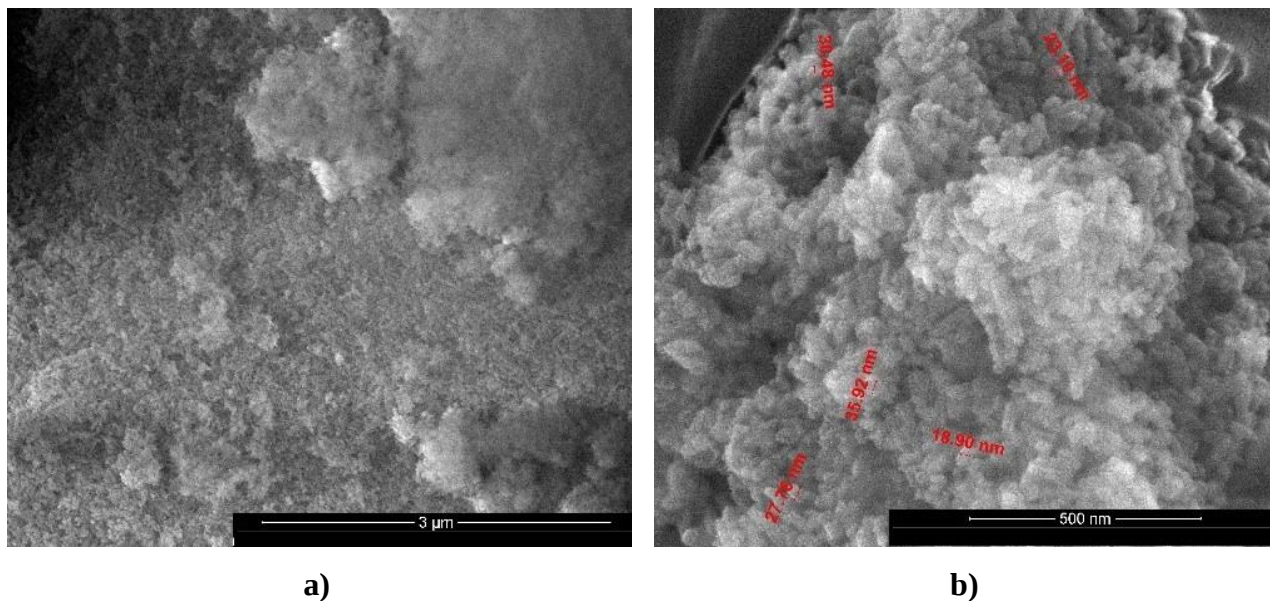


Figura 10 : Microscopie electronică de baleiaj HAp - diverse magnificații a)x50000x, b) 200000x

Din imaginile de microscopie electronică de baleiaj (figura 10) se observă obținerea unor particule de hidroxiapatită (HAp) cu dimensiuni cuprinse în intervalul 18-35 nm. De asemenea se observă ca acestea au o formă cvazisferică care, datorită suprafeței specifice mari, tind să formeze aglomerate.

Utilizând detectorul EDAX cu care este prevăzut microscopul electronic s-a efectuat un spectru de dispersie de raze X, confirmând astfel prezența elementelor chimice din structura HAp.

Rezultatul acestei analize este prezentat în figura 11.

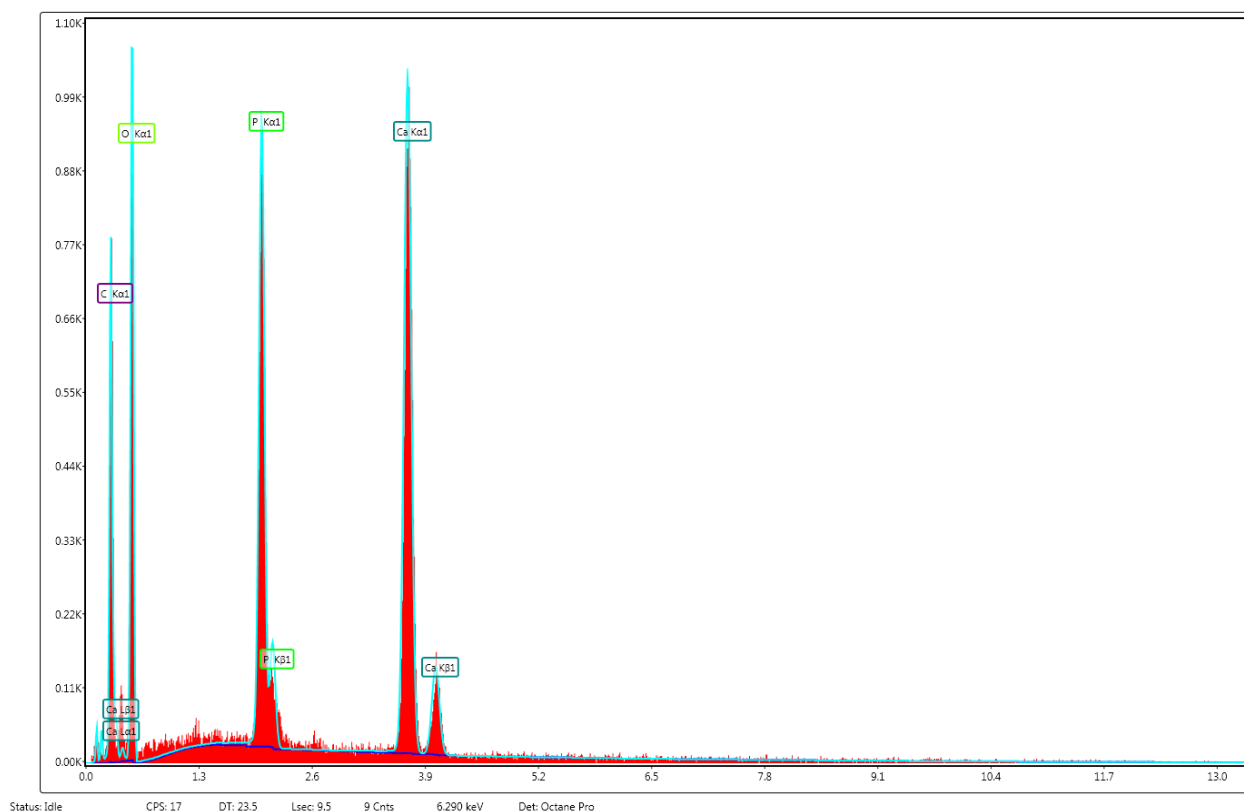


Figura 11 - Analiza EDX pe pulberea de HAp

În urma acestei analize s-au putut identifica cu ușurință prezența elementelor chimice precum: Ca, P și O, elementele ce alcătuiesc hidroxiapatita. Prezența C este pusă pe seama condițiilor de preparare a probei prin utilizarea unei benzi conductoare de carbon pentru fixare.

5. Obținerea compozitelor hidroxiapatitei-oxid de grafenă.

Probele care reprezintă compozitul de oxid de grafenă și hidroxiapatită au fost obținute prin aceeași metodă ca proba cu hidroxiapatită simplă (metoda hidrotermală asistată în câmp de microunde) în care s-a adăugat și cantitatea necesară de oxid de grafenă. În final, s-a filtrat precipitatul cu ajutorul hârtiei de filtru, iar apoi s-a lăsat la uscat până a doua zi, ulterior fiind caracterizată prin diverse tehnici.

Figura 12 prezintă schematic fluxul tehnologic de obținere a compozitelor HAp-GO

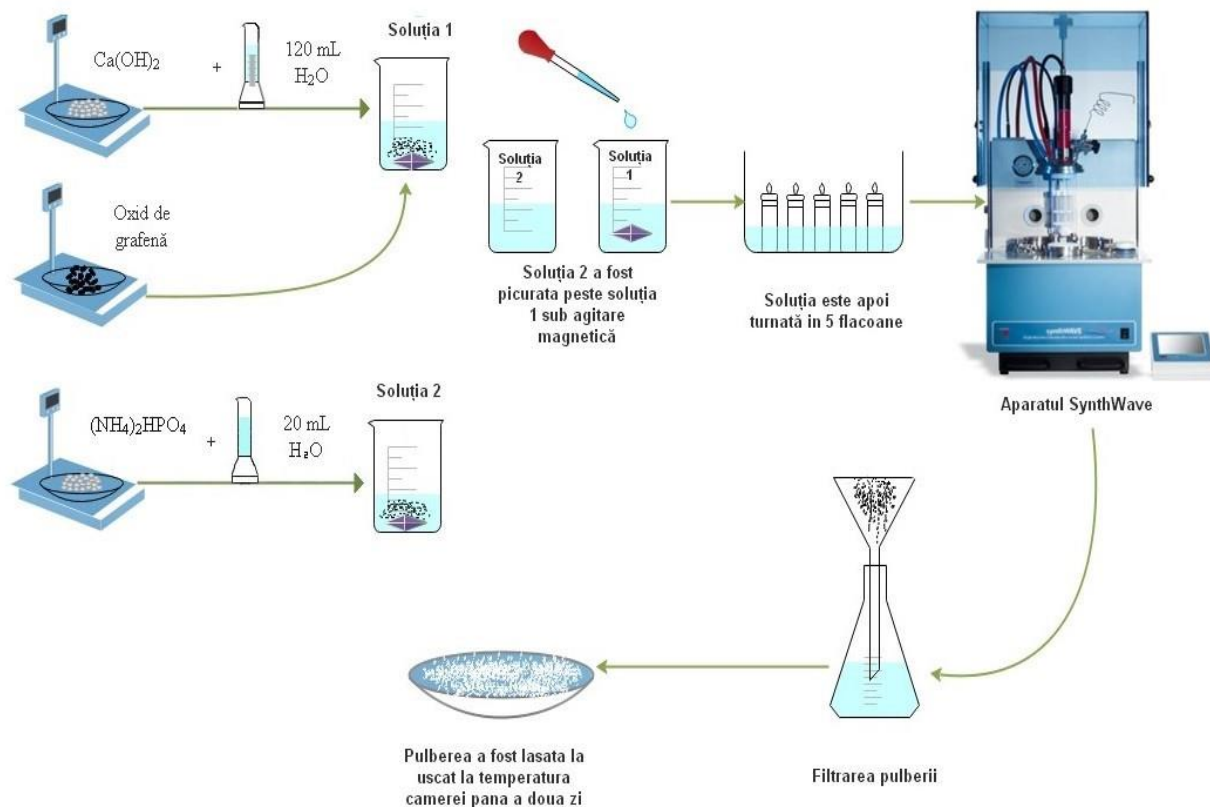


Figura 12 - Flux schematic de obținere a compozitelor Hidroxiapatită-Oxid de grafenă

6. Caracterizarea compozitelor hidroxiapatitei-oxid de grafenă.

6.1. Difrakție de raze X

Pulberile obținute au fost caracterizate cu ajutorul difracției de raze X în vederea identificării și observării gradului de cristalinitate al hidroxiapatitei din componența compozitului obținut. Rezultatul analizei de difracție este prezentat în figura 13.

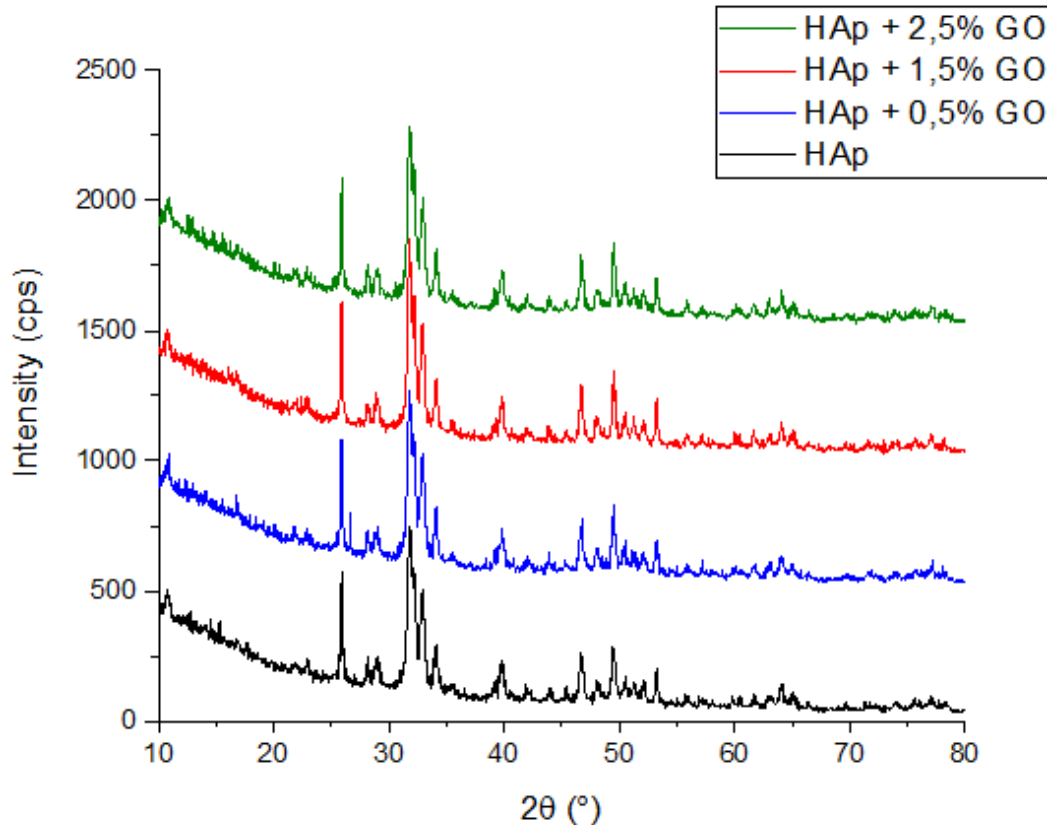


Figura 13 - Difractogramă corespunzătoare compozitelor hidroxiapatită – oxid de grafenă în diverse procente

După cum se poate observa în figura 13, se pot identifica maximele de difracție caracteristice hidroxiapatitei, acestea corespunzând fișei ASTM cu numărul [01-080-6199].

Deoarece s-au utilizat cantități mici de oxid de grafenă (cuprinse între 0,5 și 2,5% din masa de hidroxiapatită), maximul de difracție caracteristic acestuia, situat la unghiul cu valoare de 10,14 grade, nu a putut fi identificat.

Totuși, odată cu adăugarea unor cantități mai mari de oxid de grafenă s-a putut observa o deplasare a maximelor de difracție către unghiuri mai mari, sugerând astfel formarea unor particule cu dimensiune mai mare.

În vederea purificării și a creșterii gradului de cristalinitate al hidroxiapatitei compozitele astfel obținute au fost tratate termic într-un cuptor electric la temperatura de 450°C timp de 2,5 ore, utilizând o viteză de încălzire de 10°C/min.

Analizele de difracție de raze X realizate după efectuarea tratamentului termic sunt prezentate în figura 14.

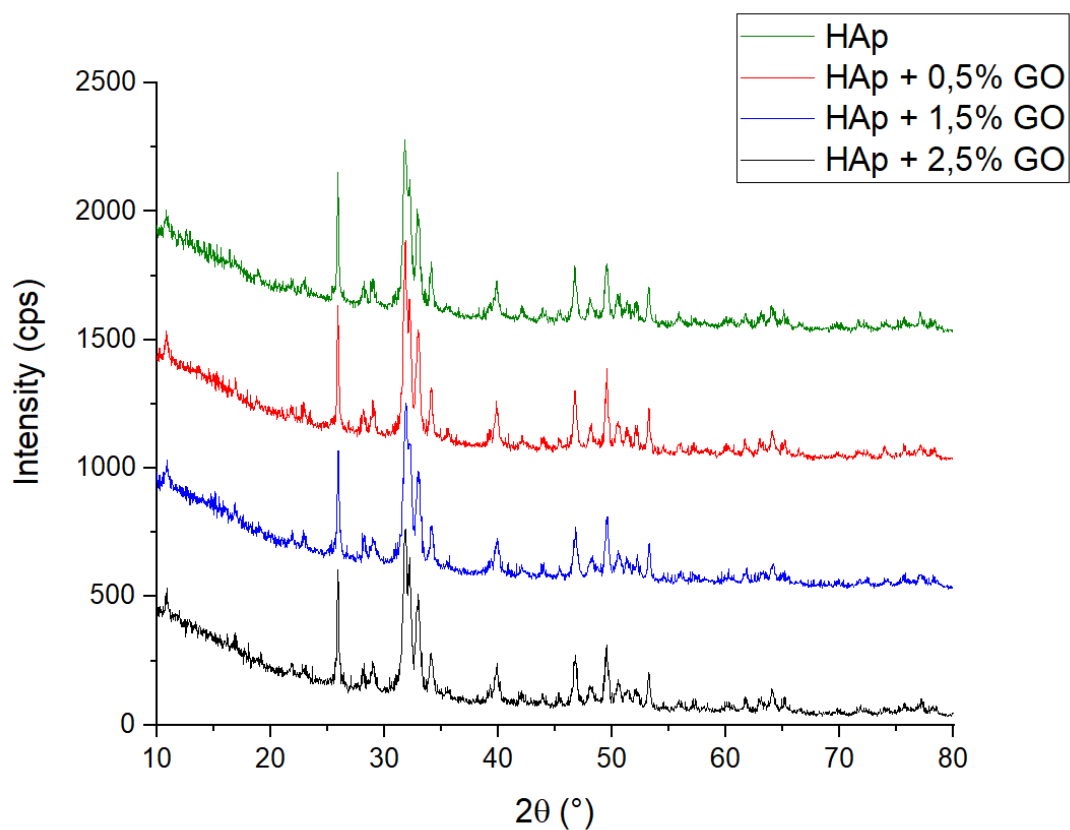
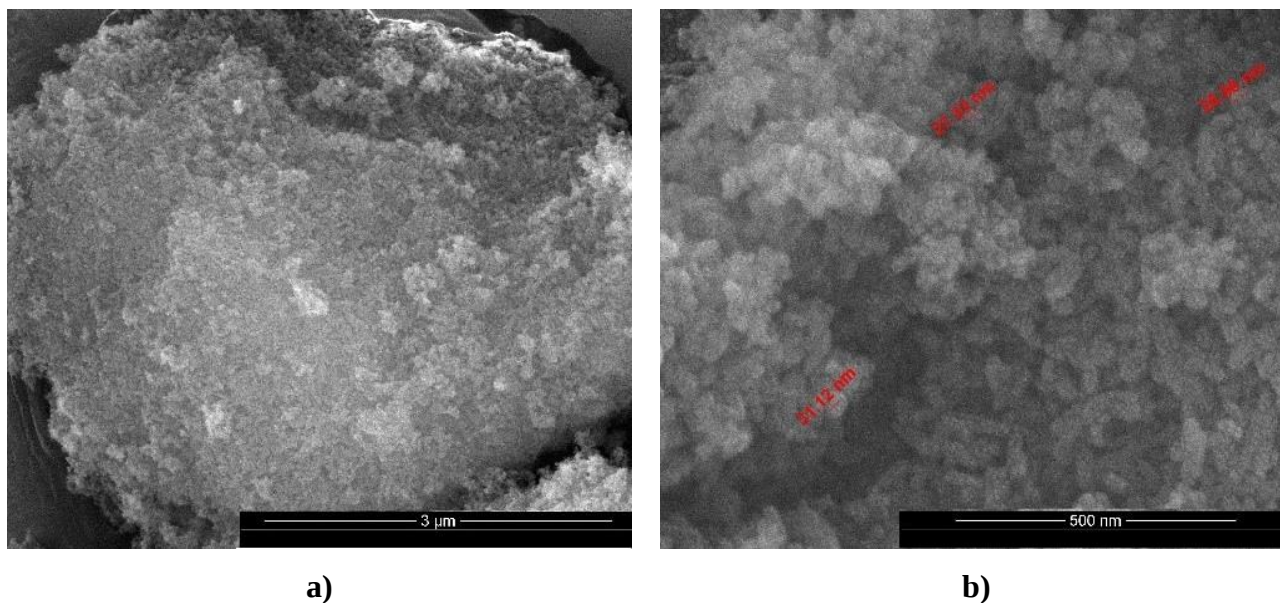


Figura 14 - Difractograma corespunzătoare compozitelor hidroxiapatită – oxid de grafenă în diverse procente, tratate termic la 450°C

După cum se poate observa, tratamentul termic nu modifică compoziția chimică a compozitelor însă îmbunătățește gradul de cristalinitate, fapt demonstrat prin creșterea în intensitate a peak-urilor caracteristice hidroxiapatitei.

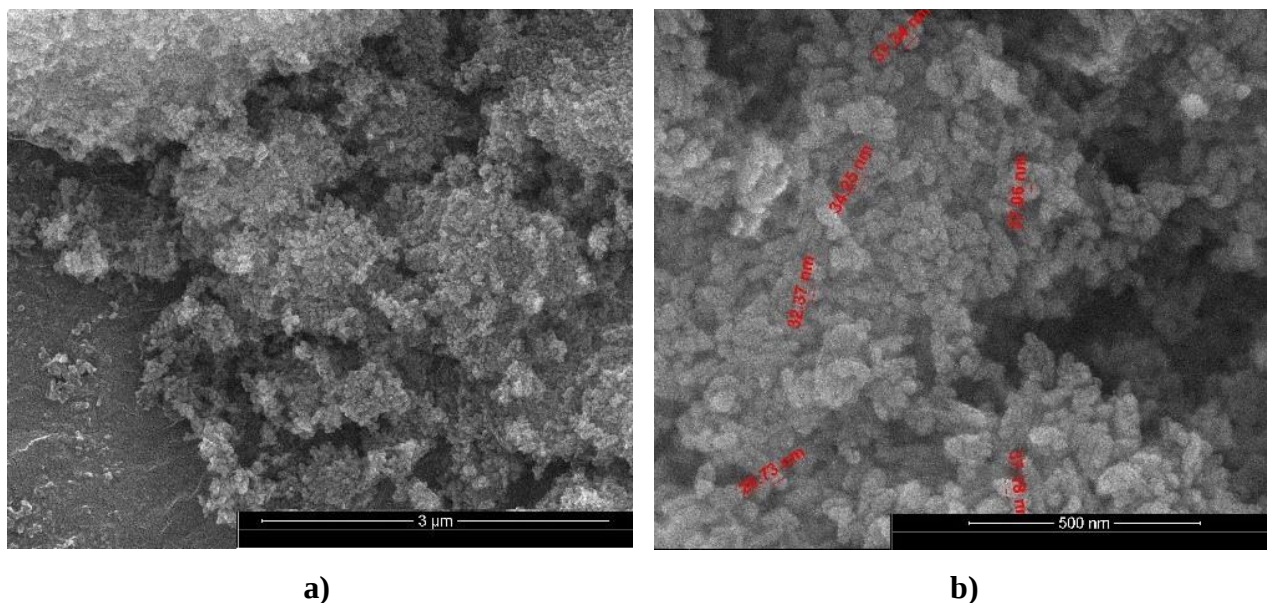
6.2. Microscopia de baleiaj

Probele pulverulente au fost analizate prin microscopie electronică de baleiaj la diferite magnificații. Rezultatele sunt prezentate în figurile 15, 16, 17.



**Figura 15 - Microscopie electronică de baleiaj HAp-0,5%GO - diverse magnificații
a)x50000x, b) 240000x**

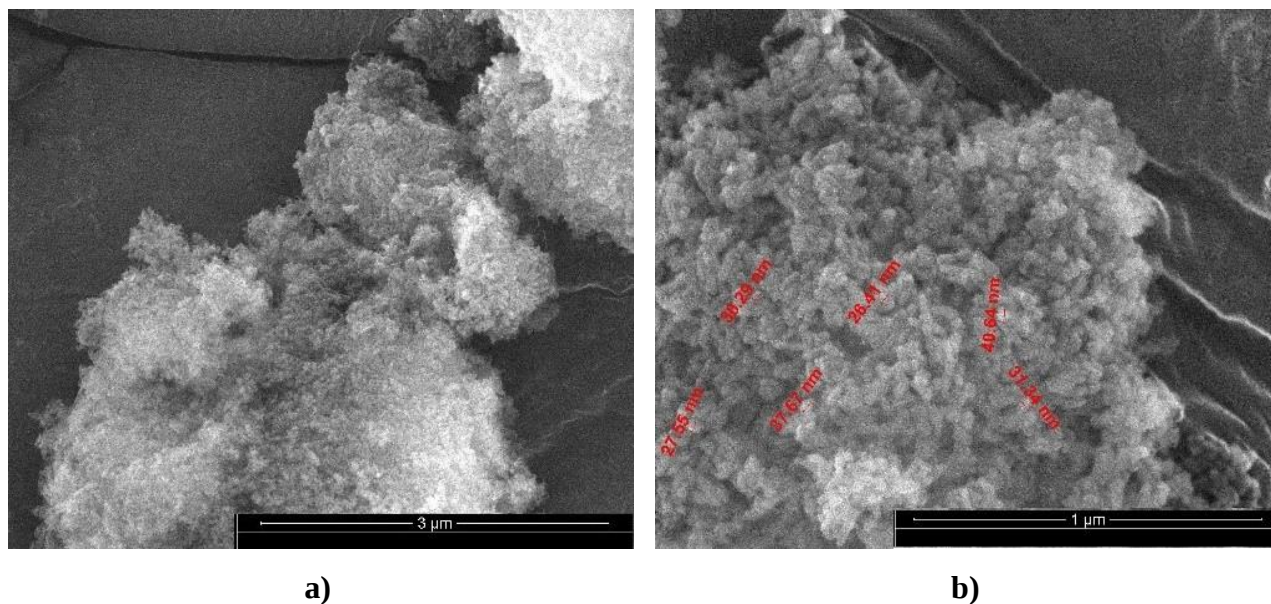
Conform micrografelor SEM luate la diferite mărimi, particulele de HAp cu un adaos de 0,5%GO au o dimensiune medie de 20-30nm (figura 12b).



**Figura 16 - Microscopie electronică de baleiaj HAp-1,5%GO - diverse magnificații
a)x50000x, b) 200000x**

Imaginile SEM realizate pe eșantionul conținând hidroxiapatită și 1,5% oxid de grafenă (figura 16) prezintă același aspect general și aceeași forma a particulelor ca și probele anterioare.

Dimensiunea medie a particulelor este de 34nm ceea ce confirmă ipoteza că pe măsură ce crește cantitatea de oxid de grafenă, crește și dimensiunea particulelor.



**Figura 17 - Microscopie electronică de baleiaj HAp-2,5%GO - diverse magnificații
a)x50000x, b) 150000x**

În cazul probelor cu un conținut mai ridicat de oxid de grafenă (2,5%), microscopia electronică de baleiaj nu pune în evidență o modificare a morfologiei particulelor, dar dimensiunea medie a particulei ajunge până la aproximativ 37 nm (figura 17).

De asemenea s-a constatat o creștere a gradului de aglomerare care poate fi pusă pe seama prezenței oxidului de grafenă în cantitate mai mare.

7. Concluzii

Scopul acestei cercetări a fost acela de a realiza și caracteriza un material bazat pe hidroxiapatită și un material carbonic de tipul oxidului de grafenă

În sensul realizării scopului propus s-a pornit de la obținerea oxidului de grafenă prin metoda Hummers modificată, această fiind cea mai folosită în literatură. Caracterizarea pulberii de oxid de grafenă obținute a demonstrat prezența unor formațiuni de oxid de grafenă compuse din 6-7 straturi grafenice oxidate.

Această pulbere de oxid de grafenă a fost folosită ulterior în sinteza compozitelor HAp/oxid de grafenă, fiind dozată în procente foarte mici de la 0,5% la 2,5%. Aceste compozite au fost sintetizate prin metoda hidrotermală asistată de microunde, metoda care scurtează timpul de reacție

și care are un consum energetic mult mai mic decât metoda hidrotermală clasică; această făcând ca și ciclul de viață al acestor compozite cu proprietăți fotocatalitice să fie unul foarte bun.

Caracterizarea XRD a demonstrat prezența hidroxiapatitei în eșantioane datorită fișierelor ASTM și, de asemenea, că adăugarea de oxid de grafenă a făcut ca vârfurile să treacă de la dreapta la stânga, cu cât mai multă GO a fost adăugată. Tratamentul termic a exprimat dus la îmbunătățire a cristalinității probelor.

Studiul microstructurilor a arătat forma particulelor și a confirmat nanodimensionările lor. În privința influenței procentului de oxid de grafenă nu se pot trage deduce tendințe clare din caracterizările efectuate, iar cauza pentru acest lucru ar putea fi faptul că proporția oxidului de grafenă este mică și este posibil ca și omogenitatea probei să nu fi fost foarte bună.

8. Bibliografie

[1] Kovtyukhova, N.I., et al., Layer-by-Layer Assembly of Ultrathin Composite Films from Micron-Sized Graphite Oxide Sheets and Polycations. *Chemistry of Materials*, 1999. **11**(3): p. 771-778.