

Interacciones de nanoestructuras sobre óxido de grafeno

Interactions of nanostructures on graphene oxide

Rodríguez-González, C.,* Ayala-Fonseca, A.,** Salas, P.**,[†]

ABSTRACT: In the early history of graphene, graphene oxide represented only an intermediate step in the methodology for obtaining graphene sheets. However, subsequent results of the investigation of this material showed that graphene oxide exhibits a structure with defects and functional groups that give it unique properties. Given the versatility of its surface, different functionalization routes have been proposed that have resulted in obtaining a wide variety of hybrid materials. In this work, we present the obtaining and characterization of three functionalized materials based on graphene oxide sheets decorated with nanoparticles of silver, titanium dioxide and hydroxyapatite. These nanostructures were characterized by X-ray diffraction, Raman spectroscopy and transmission electron microscopy. In particular, the improvement in the thermal properties of oxidized graphene-silver nanoparticles was studied through thermogravimetric analysis (TGA), the improvement of Raman signals through the chemical mechanism of SERS in the material decorated with titanium dioxide and a MTT cell viability assay, in which it was observed that the oxidized graphene decorated with hydroxyapatite obtained using urea did not present cytotoxicity.

KEYWORDS: graphene oxide, nanoparticles, titanium dioxide, cytotoxicity, SERS.

RESUMEN: En el comienzo de la historia del grafeno, el óxido de grafeno representaba únicamente un paso intermedio en la metodología para la obtención de láminas de grafeno. Sin embargo, resultados posteriores en la investigación de este material mostraron que el óxido de grafeno exhibe una estructura con defectos y grupos funcionales que le confieren propiedades únicas. Dada la versatilidad de su superficie, se han propuesto distintas vías de funcionalización que han resultado en la obtención de gran variedad de materiales híbridos. En este trabajo, presentamos la obtención y caracterización de tres materiales funcionalizados basados en láminas de óxido de grafeno decoradas con nanopartículas de plata, dióxido de titanio e hidroxiapatita. Estas nanoestructuras fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X, espectroscopia Raman y microscopía electrónica de transmisión. De forma particular se estudió la mejora en las propiedades térmicas del grafeno oxidado-nanopartículas de plata mediante análisis termogravimétrico (TGA), la mejora de las señales Raman mediante el mecanismo químico de SERS en el material decorado con dióxido de titanio y se realizó un ensayo de viabilidad celular MTT, en el que se observó que no presentaba citotoxicidad el grafeno oxidado decorado con hidroxiapatita obtenido al usar urea para la precipitación del biocerámico.

PALABRAS CLAVE: grafeno oxidado, nanopartículas, dióxido de titanio, citotoxicidad, SERS.

Introducción

El carbono es un elemento cautivador. Presenta propiedades únicas que le permiten formar distintos tipos de enlaces y con ello una gran variedad de compuestos

Recibido: 27 de septiembre, 2022. Aceptado: 9 de enero, 2023. Publicado: 21 de febrero, 2023.

* Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, Querétaro, México.

** Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México.

[†] Autor de correspondencia: psalas@fata.unam.mx

consigo mismo y con otros elementos. Adicionalmente, el carbono puede existir en distintas formas o estructuras conocidas como alótropos. Los alótropos más comunes son el grafito y el diamante. Sin embargo, en las últimas décadas el inventario de estos alótropos se ha enriquecido con distintos descubrimientos. La lista agregó, en 1985, la agrupación de 60 átomos de carbono en forma de balón de fútbol conocidos como fullerenos; posteriormente, en 1991, se incorporó la forma alargada de estos balones conocida como nanotubos de carbono. Finalmente, en 2004, logró aislarse una única hoja de grafito que permaneció estable bajo condiciones ambientales conocida como grafeno. Es, precisamente, esta última forma alotrópica la que sustenta la materia de este documento.

Grafeno

El grafeno, además de ser famoso, es un material bastante elegante, compuesto por un único elemento: el carbono, el cual se localiza en cada uno de los vértices de anillos fusionados con arreglo hexagonal que dan lugar a una estructura tipo panal de abejas. Este tejido hexagonal extendido, con grosor de un solo átomo, es el que permite que se le identifique como una lámina bidimensional, plana, aunque con ligeras ondulaciones. Sin embargo, la existencia de una capa individual de grafito, que además poseyera un solo átomo de espesor, se antojaba, más bien, imposible, puesto que se creía que una estructura con estas características se plegaría de forma espontánea. Sorprendentemente, en 2004, Andre Geim y Konstantin Novoselov lograron obtener, en lo que ellos mismos denominaron “el experimento del viernes por la noche”, muestras reproducibles de hojuelas de grafeno (Draghi, 2022). La obtención de este material esquivo permitió corroborar las propiedades que le habían sido predichas teóricamente, las cuales se asocian, esencialmente, con su bidimensionalidad y entramado hexagonal.

Entre estas propiedades se encuentra una impresionante conductividad eléctrica, una elevada fortaleza mecánica y flexibilidad, la capacidad de propagar el calor dos veces mejor que el diamante (Berger, 2022). Siendo la fuerza de los enlaces covalentes entre los átomos de carbono que conforman la estructura del grafeno lo que proporciona en gran medida las inusuales propiedades térmicas y mecánicas de este material (Pop *et al.*, 2012). Adicionalmente, dado el hecho de que la red cristalina del grafeno se extiende de forma tal que cada átomo de carbono se encuentra en la superficie y está expuesto al medio circundante, este material presenta una elevada área superficial específica, lo cual significa que ambas caras son susceptibles de interactuar con su alrededor (Sanchez *et al.*, 2012). La comprobación de estas propiedades despertó un profundo interés que rápidamente se volcó en la búsqueda de estrategias de síntesis que permitieran obtener láminas de grafeno en mayores cantidades. Un método atractivo para tal fin fue la obtención de derivados de grafeno a partir de la oxidación química y exfoliación del grafito. Uno de estos derivados, el óxido de grafeno, es considerado la ruta más prometedora pues, mediante su reducción química o térmica, se obtienen cantidades importantes (aunque con algunos defectos estructurales) de láminas de grafeno. Es interesante observar que el óxido de grafeno es un ma-

terial con propiedades y características estructurales haciéndolo por sí mismo atractivo y del cual hablaremos en la siguiente sección.

Grafeno oxidado

El grafeno oxidado es una variante del grafeno y, en términos generales, puede visualizarse como una lámina que contiene tanto regiones conjugadas como regiones oxidadas. Las regiones conjugadas son áreas en las que la red de carbono se mantiene intacta mientras que las regiones oxidadas presentan abundantes grupos funcionales covalentemente unidos a los átomos de carbono. Entre los que se encuentran grupos carboxilo, lactona y carbonilo distribuidos en el borde de la lámina, mientras que abundantes grupos epóxido e hidroxilo adornan los planos basales de la hoja (A. Zhou *et al.*, 2022).

La presencia de grupos oxigenados interrumpe la red altamente ordenada de hexágonos, siendo esto la causa de que el grafeno oxidado exhiba una baja conductividad eléctrica y térmica (Ajala *et al.*, 2022). Más allá de estos inconvenientes, este nanomaterial conserva una elevada área superficial y una notable fortaleza mecánica y es la presencia de funcionalidades oxigenadas la que le confiere nuevas e interesantes propiedades fisicoquímicas (PA *et al.*, 2022); siendo las zonas que conservan intacta la conjugación aromática en el grafeno oxidado las facilitadoras de los contactos hidrofóbicos y las proveedoras de estabilidad mecánica (Dhamodharan *et al.*, 2022). Entre estas propiedades podemos mencionar una mejor dispersión del óxido de grafeno en agua y en otros solventes. La reactividad química también se ve beneficiada al aprovechar los grupos funcionales de las regiones oxidadas como sitios de anclaje para otras especies químicas, permitiendo que sus propiedades puedan ser ajustadas a la medida y facilitando el desarrollo de nanocompositos los cuales implican la integración de dos o más componentes distintos resultando en un material con propiedades mejoradas. Para que las características de los componentes puedan ser aprovechadas, se requiere de una buena dispersión y de un adecuado contacto entre los materiales (Amir *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2018). Adicionalmente, para aplicaciones biológicas la presencia de grupos funcionales en el grafeno oxidado puede facilitar la internalización celular, además, presenta propiedades antibacterianas específicas las cuales están asociadas con la capacidad de este material para actuar como aceptor de electrones gracias a dichas funcionalidades (Seifalian y Alexander, 2022).

Con estos antecedentes, propusimos utilizar las láminas de grafeno oxidado como plataforma de anclaje químico, aprovechando los grupos funcionales en su superficie como sitios de nucleación para nanopartículas plata y de dióxido de titanio y para la decoración con nanoestructuras de hidroxipatita.

Plata

Las nanopartículas metálicas, en especial las de plata, exhiben interesantes propiedades asociadas con su dimensionalidad y con su elevada área superficial. La notoriedad de estas nanopartículas está vinculada con la actividad antibacteriana bien documentada de la plata iónica, con su excelente con-

ductividad eléctrica y térmica, con sus propiedades ópticas y con la dispersión Raman mejorada (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017). Sin embargo, estas nanopartículas tienen la tendencia a agregarse cuando se encuentran en dispersión, resultando en una disminución de sus propiedades y en la pérdida de estabilidad. Dada su particular configuración, el óxido de grafeno es utilizado como una plataforma para depositar las nanopartículas de plata permitiendo que estas se distribuyan a lo largo de la hoja, conservando, con ello, las propiedades asociadas con el nivel nanométrico.

TiO₂

El dióxido de titanio (TiO₂) es un material semiconductor y fotocatalítico que ha recibido mucha atención debido a su estabilidad química, baja toxicidad, abundancia y asequibilidad (Luo *et al.*, 2018). Entre sus áreas de aplicación se encuentra el desarrollo de tecnologías como las celdas solares de tipo Graetzel gracias a su capacidad de ser excitado a partir de la luz solar. Sin embargo, este material presenta una rápida recombinación de los pares electrón-hueco fotogenerados, lo cual reduce su eficiencia cuántica y limita su implementación. Para superar esta dificultad, el acoplamiento de TiO₂ con otros materiales ha demostrado ser una estrategia eficaz para reducir las tasas de recombinación de pares electrón-hueco y mejorar su desempeño. En este sentido, la alta área superficial y la movilidad de los transportadores electrónicos que presenta el grafeno ha resultado en una mejora de las propiedades electrónicas y fotocatalíticas del TiO₂ (Ayala-Fonseca *et al.*, 2020; Kusiak-Nejman *et al.*, 2017; Tayel *et al.*, 2018; Q. Zhou *et al.*, 2016).

Hidroxiapatita

Los huesos están formados por un mineral, la apatita, y un componente orgánico, el colágeno. La apatita biológica se caracteriza por ser deficiente en hidroxilo y rica en carbonatos y por presentar una relación Ca/P menor a 1.67. Interesantemente, la hidroxiapatita sintética presenta similitud química y cristalográfica con la apatita de los huesos por lo cual se le ha empleado como cubierta dental bioactiva, en implantes ortopédicos, en la reparación o sustitución de tejidos duros, para facilitar la adhesión y proliferación celular en la cubierta de prótesis, y otras aplicaciones biomédicas. No obstante, una de las limitaciones de la hidroxiapatita radica en sus propiedades mecánicas al presentar una baja resistencia a la fractura y ser difícil de moldear. Una estrategia para afrontar esta deficiencia es el uso de materiales de refuerzo. En este sentido, los grupos funcionales y la superficie del grafeno oxidado facilita la distribución de la hidroxiapatita nanométrica y mejora sus propiedades mecánicas (Li *et al.*, 2018; Szczeń *et al.*, 2017).

Métodos de síntesis

Distintas estrategias han sido exploradas para la síntesis y el anclaje simultáneo de nanopartículas en la superficie del óxido de grafeno. En este traba-

jo se abordaron, principalmente, la reducción química *in situ* y las estrategias hidrotermal y solvotermal.

Método de reducción química *in situ*

Las nanopartículas de plata usualmente se sintetizan mediante la técnica de reducción química empleando distintos agentes reductores orgánicos e inorgánicos. En términos generales, estos agentes reducen las sales de plata (Ag^+) y conducen a la formación de plata metálica Ag^0 . La plata metálica se agrupa en racimos y, durante la etapa de crecimiento, estos se ordenan y forman las nanopartículas. Esta técnica también suele requiere de un agente estabilizador para proteger las nanopartículas de su aglomeración (Irvani *et al.*, 2014; Vega-Baudrit *et al.*, 2019).

El método de reducción *in situ* facilita que las nanopartículas de plata se formen directamente en la superficie del grafeno oxidado. La reducción *in situ* puede ser química o biológica; al utilizar reactivos químicos como agentes reductores o estabilizadores hablamos de reducción química *in situ* y cuando se usan derivados de plantas, microorganismos o enzimas nos referimos a la reducción biológica *in situ* (Bao *et al.*, 2022). Dentro de la reducción biológica *in situ*, el uso de extractos de plantas tiene por ventajas la presencia de una variabilidad de metabolitos que pueden promover la reducción de los iones de plata, la disponibilidad y el manejo seguro de estos extractos (Chung *et al.*, 2016). Entonces, propusimos el uso del extracto de las hojas de geranio como reductor en la síntesis de nanopartículas de plata sobre grafeno oxidado, buscando mejorar la dispersión y estabilidad de estas nanoestructuras.

Método hidrotermal/solvotermal

El proceso hidrotermal consiste en una reacción química efectuada en una mezcla acuosa de precursores que se coloca en un recipiente sellado, casi siempre de acero inoxidable revestido con teflón, conocido como autoclave. Este recipiente se calienta a una temperatura por encima del punto de ebullición del agua provocando que la presión dentro de la autoclave sea mayor que la presión atmosférica. Esta combinación simultánea de presión y temperatura permite generar materiales altamente cristalinos (Huang *et al.*, 2019) y ofrece una vía de síntesis de un solo paso. Aprovechando estas ventajas, decoramos la superficie del óxido de grafeno con nanopartículas de hidroxiapatita altamente cristalinas y, mediante el ajuste de las condiciones de reacción, controlamos su morfología.

El fundamento del método solvotermal es el mismo que el hidrotermal con la particularidad de que en el primero se puede lograr un control más fino sobre la síntesis al modificar las características del medio utilizando distintos disolventes (Mamaghani *et al.*, 2019; Walton, 2011). En el caso de los óxidos metálicos, como el dióxido de titanio, esta ruta resulta particularmente interesante pues permite la preparación de nanopartículas de elevada área superfi-

cial, de alta pureza y buena cristalinidad. Mediante esta estrategia se logró la funcionalización y reducción *in situ* de óxido de grafeno con nanopartículas de TiO_2 utilizando una solución de metanol/agua al 50% v/v y una temperatura relativamente baja de 90 °C.

Procedimiento experimental

Síntesis de grafeno oxidado

Para la obtención de grafeno oxidado fue necesario preparar, en primer lugar, grafito oxidado mediante el método de Hummers modificado, el cual se ha reportado ampliamente (Stankovich *et al.*, 2006).

GO/AgNPs: Para esta síntesis se utilizaron dos relaciones en peso: 1:1 y 1:3. La primera corresponde a 30 mg de GO, 30 mg de Ag y 20 ml de extracto de geranio. La segunda, a 15 mg de GO, 45 mg de Ag y 30 ml de extracto de geranio. Previamente, 12.5 g de hojas frescas de geranio lavadas fueron hervidas en 100 ml de agua desionizada durante 15 minutos. El extracto fue filtrado y almacenado hasta su uso. Después, el GO fue dispersado en 15 ml de agua con ultrasonido. La dispersión se colocó en un matraz de tres bocas con 40 ml de EtOH a 60 °C bajo agitación. Posteriormente, el extracto de geranio fue añadido cuidadosamente a AgNO_3 27mM bajo agitación. Por último, los productos fueron lavados y secados a 60 °C durante 24 h. Las muestras se etiquetaron como rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3, respectivamente.

GO/TiO₂: Para optimizar la funcionalización de GO con nanopartículas de TiO_2 se utilizaron 3 condiciones de temperatura (60 °C, 90 °C y 120 °C) y se comparó el efecto de la mezcla metanol/agua (50% v/v) como medio solvente, contra el solvente (99.8%) en tratamientos a 60 y 90 °C y en medio acuoso (100% H_2O) a 120 °C. Manteniendo una relación ponderal entre GO y TiO_2 de 1:4 y una concentración final de 25 mg/ml. La síntesis consistió en dispersar 100 mg de óxido de grafeno en 30 ml del medio correspondiente y sonicar 3 horas; luego, agregar 10 ml de TiO_2 coloidal (40 mg/ml) y sonicar 3 horas más. Más adelante, las mezclas se sometieron a 18 horas de tratamiento solvotermal. Finalmente, se secaron a 65 °C durante 18 horas y se etiquetaron haciendo referencia a la temperatura y al medio utilizado en el tratamiento (metanol/agua: MW, metanol: M y agua: W).

GO/Hidroxiapatita: En este caso se obtuvieron tres especímenes utilizando tiourea, urea e hidróxido de amonio como agentes precipitantes, respectivamente.

Inicialmente, 135 mg de GO fueron dispersados en agua desionizada durante 3h. A la dispersión se añadió 13.43 ml de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.1M) y 8.065 ml de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0.1M) bajo agitación. Enseguida, una solución de 2.184g de tiourea en 23 ml de agua fue añadida a la solución anterior. La mezcla resultante se transfirió a una autoclave y se mantuvo a 120 °C durante 24h. Tras el

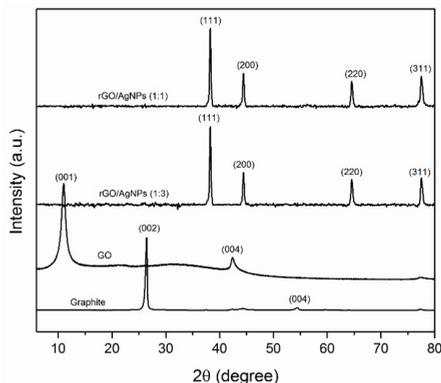
proceso hidrotérmico, la muestra se lavó y secó a temperatura ambiente durante 24 h. La muestra fue etiquetada como GO/HApT. Las muestras que utilizaron urea e hidróxido de amonio siguieron el mismo procedimiento señalado arriba, con algunas particularidades. El producto etiquetado como GO/HApU requirió una solución de 1.13g de urea disueltos en 23 ml de agua desionizada y un proceso hidrotérmico de 150 °C por 24 h. El producto etiquetado como GO/HApA requirió un goteo en exceso de NH_4OH y un proceso hidrotérmico de 100 °C por 24 h.

Resultados y discusión

GO/AgNPs

La figura 1 muestra los patrones de difracción del grafito, del grafeno oxidado y de los materiales modificados con plata. El grafito tiene un pico de difracción intenso a $2\theta=26.6^\circ$ correspondiente al plano (200), asociado con la alta cristalinidad del material. Por otra parte, el GO muestra un pico a $2\theta=10.7^\circ$ correspondiente al plano (001) asociado con un espacio intercapa de 8.3 Å, el cual es mayor comparado con el espaciado del grafito (3.34 Å) debido a los grupos funcionales oxigenados de sus hojas. En los materiales decorados con plata rGO/AgNPs 1:1 y 1:3, los picos a 38.1° , 44.3° , 64.5° y 77.5° se asignan a los planos (111), (200), (220) y (311) de la estructura cristalina cúbica centrada en la cara (FCC) de las nanopartículas de plata, con lo cual se confirma su presencia. El tamaño de los cristalitas de plata, calculado mediante la fórmula de Scherrer, es de 3.66 nm y 5.32 nm para rGO/AgNPs 1:1 y 1:3, respectivamente. Adicionalmente, en los patrones de difracción correspondientes a los materiales modificados la ausencia del pico asociado con el GO indica la funcionalización de las láminas con las nanopartículas.

FIGURA 1. Patrones de difracción del grafito, grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



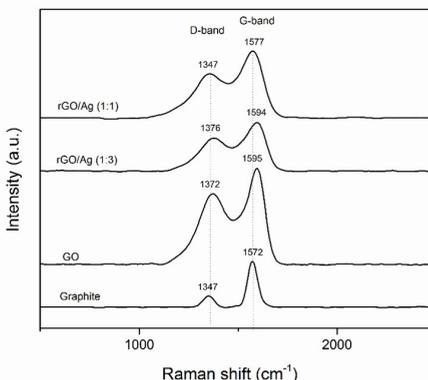
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2016). Copyright © 2016 WILEY.

En la figura 2 se aprecian los espectros Raman del grafito, GO y rGO/AgNPs 1:1 y 1:3. El grafito presenta un pico débil situado en aproximadamente 1347 cm^{-1} llamado banda D, y un pico agudo y bien definido a 1572 cm^{-1} llamado banda G. La banda D se atribuye a los defectos de los átomos de carbono, mientras que la banda G se asocia con la vibración en el plano de los átomos de carbono sp^2 . Tras la oxidación, la intensidad de la banda D aumenta significativamente y se desplaza a un número de onda mayor (1372 cm^{-1}), y la banda G se ensancha y se desplaza a $\sim 1595\text{ cm}^{-1}$. El aumento de la intensidad de la banda D podría deberse a la importante reducción de tamaño de los dominios sp^2 y a la presencia de defectos asociados con los grupos funcionales adheridos a las láminas de carbono.

Cuando las láminas de grafeno se decoran con nanopartículas de plata concretamente en el material híbrido rGO/AgNPs 1:1, las bandas D y G sufren un desplazamiento hacia números de onda menores en comparación con las observadas en el GO localizadas en 1347 y 1577 cm^{-1} , respectivamente. Este comportamiento puede asociarse con la fuerte interacción de las AgNP con las láminas de GO. En el caso del material híbrido rGO/AgNPs 1:3, las bandas D y G están ligeramente desplazadas, lo que indica una funcionalización menos eficaz (lo cual está en concordancia con las micrografías TEM). La relación de intensidad de las bandas D y G se utiliza para determinar el grado de desorden grafítico. Así, el GO presenta una relación ID/IG de 1.03, mientras que para el rGO/AgNPs 1:1 y 1:3 es de 0.83 y 0.84, respectivamente. La disminución de la relación de intensidades D/G sugiere la restauración parcial de la red grafítica en el GO atribuida probablemente al proceso de reducción realizado a través de la decoración con AgNPs. Se ha informado de resultados similares para diversas nanopartículas y óxidos metálicos.

La microscopía electrónica de transmisión fue empleada para estudiar la morfología del GO y de los materiales modificados con plata, tal como se muestra

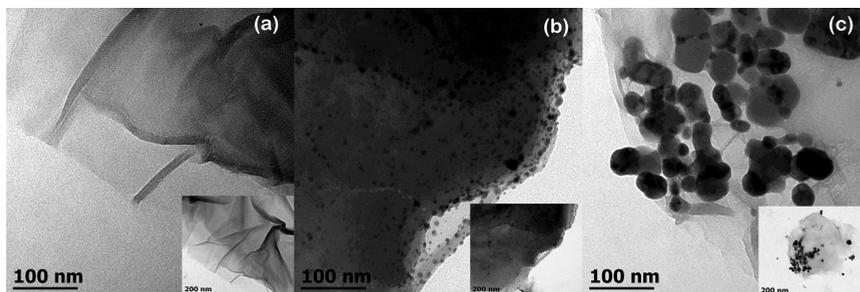
FIGURA 2. Espectros Raman del grafito, grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2016). Copyright © 2016 WILEY.

en la figura 3. Las láminas de GO se aprecian en la figura 3a, las cuales presentan grandes dimensiones laterales y un aspecto traslúcido, arrugado y con ondulaciones. La micrografía TEM de la muestra rGO/AgNPs 1:1 (figura 3b) muestra una distribución uniforme de las AgNPs en la superficie de las láminas de GO. El tamaño de las nanoparticulas, sin embargo, muestra una distribución relativamente amplia, indicando que la reducción se ve afectada por la interacción con las láminas de GO. Las AgNP tienen una forma predominantemente esférica. La ausencia de nanoparticulas fuera de la superficie del GO indica una buena interacción con el soporte. Por el contrario, en la muestra rGO/AgNPs 1:3 (figura 3c) las AgNPs forman grandes aglomerados, compuestos por pequeñas nanoparticulas. Esto podría deberse al mayor contenido de plata en esta muestra, favoreciendo su acumulación.

FIGURA 3. Imágenes TEM de: a) láminas de grafeno oxidado; b) grafeno oxidado decorado con nanoparticulas de plata rGO/AgNPs 1:1, y, c) rGO/AgNPs 1:3.

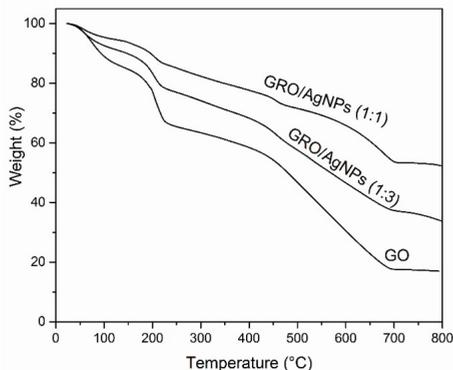


Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2016). Copyright © 2016 WILEY.

Las curvas TGA del GO y de los materiales decorados se muestran en la figura 4. El primer paso de la degradación del GO se produjo alrededor de 160 °C y 240 °C con una pérdida de peso del 15%, correspondiente a la pérdida de grupos polares en las hojas de GO mientras que en los materiales decorados se produjo en torno a los 190 °C.

La pérdida de peso del 37%, entre 440 °C y 690 °C, es el resultado de pirólisis del esqueleto de carbono. En consecuencia, la pérdida de peso total en el GO es de alrededor del 66% (entre 150 °C y 690 °C). La muestra rGO/AgNPs presenta una pérdida de peso evidente del 4% (rGO/AgNPs 1:1) y 6% (rGO/AgNPs 1:3) entre 190 °C y 240 °C debido a pirólisis de los grupos funcionales lábiles que contienen oxígeno grupos funcionales lábiles. Además, la pérdida de peso entre 440 °C y 690 °C tiene una importante disminución en los materiales rGO/AgNPs 1:1 y 1:3 de 20 y 25%, respectivamente. En el rGO/AgNPs 1:1 la pérdida de peso total fue del 37% entre 190 °C y 690 °C, mientras que en rGO/AgNPs 1:3 fue del 46%. Los diferentes valores en la pérdida de peso total podrían deberse a una mejor distribución de las AgNPs en las láminas de GO. La disminución de la pérdida de peso total en los materiales decorados en comparación con el GO confirma el éxito en la formación del material modificado rGO/AgNPs.

FIGURA 4. Curvas TGA de grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



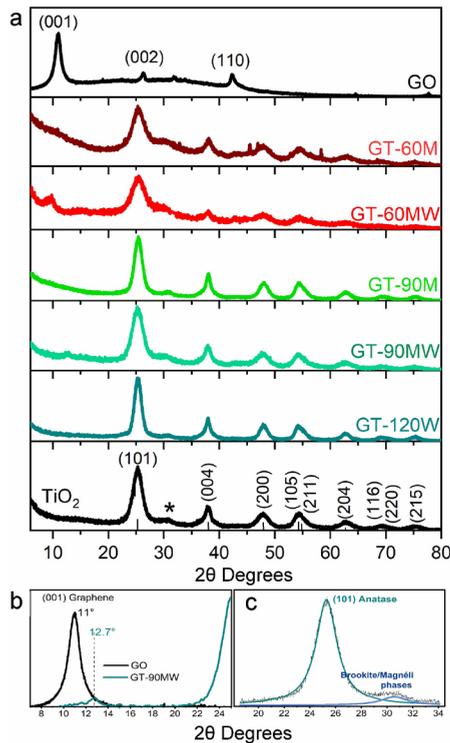
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2016). Copyright © 2016 WILEY.

GO/TiO₂

En la figura 5 se presentan los patrones XRD de los materiales precursores y los compuestos GO/TiO₂ obtenidos. En el caso del grafito oxidado (figura 5a), el pico de difracción característico principal (001) de este material se observa en $2\theta \approx 12.3^\circ$ lo que representa una distancia interplanar de las láminas de 0.718 nm (Stobinski *et al.*, 2014; Warren, 1941). La figura 5b muestra un cambio del pico de difracción (100) entre el precursor GO (11.0°) y el compuesto GT-90 MW (12.7°) asociado con una disminución en la distancia entre capas debido a la reducción *in situ* y disminución de grupos oxigenados presentes en la superficie de las hojas GO.

Para los compuestos rGO/TiO₂, los difractogramas revelan que los cristales de TiO₂ corresponden principalmente a la fase anatasa (JCPDS 89–4921), mostrando picos característicos en $2\theta \approx 25,5^\circ, 38^\circ, 48^\circ, 54^\circ, 55^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 69^\circ$ y 75° . Sin embargo, un pico adicional a $2\theta \approx 30^\circ$ también sugiere la presencia de brookita o fases reducidas no estequiométricas (Magnéli) (Arif *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2016). La figura 5c muestra una deconvolución del patrón de difracción del precursor TiO₂ que permite observar mejor la contribución de la fase extra cuya intensidad es unas veinte veces menor que el pico principal de la fase anatasa. A partir de los patrones de difracción se determinó el tamaño de cristalito mediante la ecuación de Scherrer. En todos los casos se observó que el tamaño medio de los cristalitos se mantiene por debajo de los 10 nm, así como una relación directa entre la temperatura de los tratamientos y el crecimiento de los cristalitos. En el caso de los composites, también se observa un efecto significativo de la temperatura sobre la cristalinidad en los tratamientos con metanol puro, lo cual se puede observar por la disminución de FWHM entre las muestras tratadas a 60°C y 90°C , y está asociado con la diferencia de presión de vapor y al efecto reductor del alcohol que también representa un mayor crecimiento de los cristalitos.

FIGURA 5. Patrones XRD de compuestos GO/TiO₂ y sus precursores: a) desplazamiento del pico de difracción (001) en el tratamiento solvotérmico GT-90 MW; b) deconvolución de la curva del precursor de TiO₂, y, c) deconvolución del patrón de difracción del precursor TiO₂.

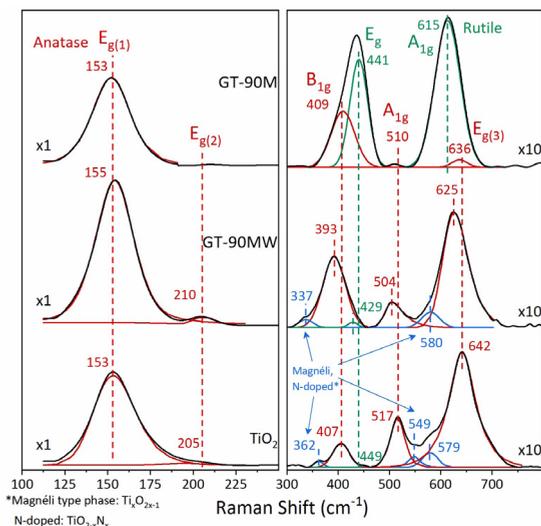


Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca *et al.* (2020). Copyright © 2020 WILEY.

La espectroscopía Raman es una técnica capaz de brindar gran cantidad de información acerca de la estructura del grafeno y de su grado de oxidación/funcionalización (Rajender *et al.*, 2018). Varios reportes indican que esta técnica ha demostrado ser más sensible que XRD para la detección e identificación de fases cristalinas en TiO₂ (Cho *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2016). La figura 6 muestra los espectros Raman de los materiales precursores GO y TiO₂, así como los materiales híbridos. En el caso del espectro del óxido de grafeno, este presenta las dos bandas características del material antes mencionadas y cuyos cambios pueden asociarse con el grado de restauración grafítica de las láminas de grafeno, así como de manera indirecta a su grado de funcionalización (Ferrari, 2007; Rajender *et al.*, 2018; Stankovich *et al.*, 2007). Por otro lado, el espectro del TiO₂ presenta cinco bandas características de la fase anatasa, E_{g(1)}, E_{g(2)}, B_{1g} asociadas con un modo de vibración δ(O-Ti-O), así como las bandas A_{1g} y E_{g(3)} asociadas con ν(Ti-O) (Hardwick *et al.*, 2007).

muestra GT-90 M exhibe un comportamiento considerablemente distinto en esta región. Aunque GT-90 M presenta una banda $E_{g(1)}$ intensa en 153 cm^{-1} asociada con la fase anatasa, los componentes principales en la región entre 300 y 800 cm^{-1} ubicados a 441 y 615 cm^{-1} corresponden mejor a la fase rutilo (Yan *et al.*, 2013), y los componentes secundarios o menos intensos (409 , 510 y 636 cm^{-1}) a anatasa. El mismo comportamiento, aunque más difícil de observar debido a su baja intensidad, se contempla en la muestra GT-60 M (figura 7). Consideramos que las nanopartículas de TiO_2 mantuvieron en mayor medida la estructura cristalina de la fase anatasa, como lo muestran los resultados de DRX, pero en la interfase rGO/ TiO_2 es probable que una transformación de fase hacia el rutilo tenga lugar y que esta se vea favorecida en los procesos de metanol puro como medio solvente. Se ha reportado antes que el metanol, entre otros medios, puede llegar tener un efecto significativo sobre la fase cristalina del TiO_2 en síntesis solvotermales, promoviendo la formación de otras fases distintas a la anatasa (Nam *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2003).

FIGURA 7. Espectros Raman y curvas de ajuste para TiO_2 y muestras sintetizadas a $90\text{ }^\circ\text{C}$. (*Fase tipo Magnéli: $\text{Ti}_x\text{O}_{2x-1}$. N-dopado: $\text{TiO}_{2-x}\text{N}_x$).

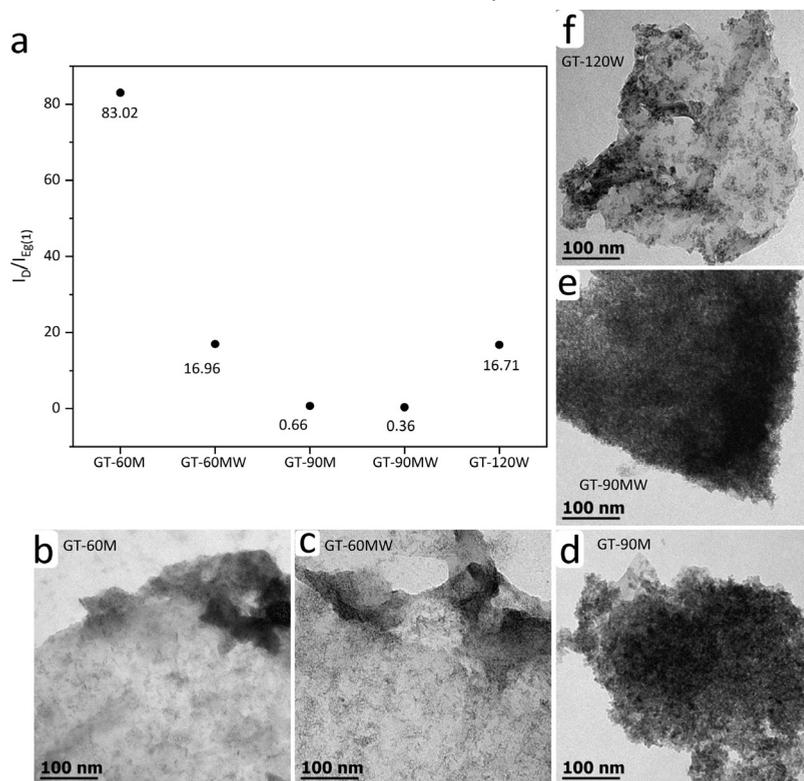


Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca *et al.* (2020). Copyright © 2020 WILEY.

Consideramos que una posible mejora en la dispersión Raman mediante el mecanismo químico de SERS, producida en la interfaz entre las nanopartículas del TiO_2 y el óxido de grafeno reducido, podría ser responsable de la alta intensidad de las bandas de rutilo en estas muestras (GT-90M y GT-60M) al formarse principalmente en la superficie de las nanopartículas y, por lo tanto, cerca de la interfaz con el GO. Este mismo incremento a partir del mecanismo químico de SERS explicaría el aumento en la intensidad de la banda $E_{g(1)}$ de la

fase anatasa en relación con el grado de incorporación o funcionalización del grafeno observado en TEM (figura 8). Las muestras sintetizadas a 90 °C cuyas imágenes de TEM muestran una alta inmovilización del TiO₂ sobre la superficie de las láminas de grafeno, presentan también una banda E_{g(1)} particularmente intensa en comparación con la intensidad del resto de las muestras en hasta 2 órdenes de magnitud (figura 7). Para analizar esta hipótesis decidimos evaluar el grado relativo de funcionalización a partir de contrastar las imágenes de TEM obtenidas de los materiales compuestos y la relación de intensidades entre la banda D de GO y la banda E_{g(1)} de TiO₂. En este sentido, como se observa en la gráfica de la figura 4a, el menor grado de funcionalización se asociaría con la muestra GT-60 M; mientras que las muestras GT-60 MW y GT-120 W presentarían un grado de funcionalización intermedio. Por último, las muestras GT-90 M y GT-90 MW exhiben la menor relación (D/E_{g(1)}) lo cual se puede asociar con un grado más alto de inmovilización e interacción de las nanopartículas con la superficie del GO.

FIGURA 8. a) Relación D y E_{g(1)} de rGO y TiO₂, respectivamente. Imágenes TEM de los materiales compuestos; b) GT-60-M; c) GT-60-MW; d) GT-90-M; e) GT-90-MW, y f) GT-120 W.



Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca et al. (2020). Copyright © 2020 WILEY.

GO/Hidroxiapatita

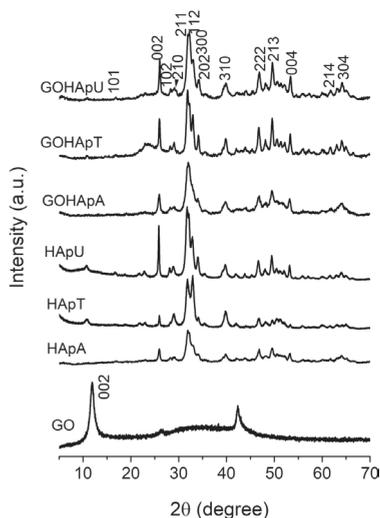
En la figura 9 se muestra los patrones de DRX del GO, las muestras de HAp puro y las muestras de grafeno oxidado decoradas con hidroxiapatita (GO/HAp).

El difractograma del GO mostró un pico dominante a $2\theta = 11,9^\circ$, que corresponde al plano de reflexión (001). El espacio entre capas calculado fue de 7,9 Å, lo que indica una oxidación completa del grafito.

Los patrones de DRX de los nanocompuestos de GO/HAp son similares a los del HAp puro con estructura hexagonal (JCPDS: 09-0432). Los principales picos se observaron en los valores 2θ de 16.75° , 25.99° , 28.30° , 29.06° , 31.86° , 32.16° , 32.9° , 34.12° , 39.85° , 46.81° , 49.56° , 53.28° , 61.83° y 64.09° . Los tamaños medios de los cristalitas, calculados mediante la fórmula de Sherrer, de la HAp en los nanocompuestos GOHApA, GOHApT y GOHApU fueron de 18.03 nm, 23.26 nm y 23.58nm, respectivamente. Cabe destacar que no se observó el ángulo de difracción característico del GO, lo cual puede estar asociado con la pérdida de regularidad en el apilamiento de las láminas por el crecimiento de las nanopartículas de HAp en su superficie.

Adicionalmente, se calculó la relación de intensidad entre los planos $I_{(211)}/I_{(002)}$ a partir de los patrones de rayos X de los nanocompositos GO/HAp. La relación de intensidad entre los planos $I_{(211)}/I_{(002)}$, para los nanocompuestos GO/HApA, GO/HApT y GO/HApU fue de 2.1, 1.6 y 1.5, respectivamente. Esto sugiere que el crecimiento preferente es a lo largo del plano (002) para la estructura en forma de varilla y cinta en el caso de los nanocompuestos GO/HApT y GO/HApU.

FIGURA 9. Patrones de difracción de rayos X de óxido de grafeno (GO), muestras de hidroxiapatita pura sintetizadas utilizando amoníaco, tiourea y urea como agentes precipitantes (HApA, HApT y HApU) y nanocompuestos de GO/HAp.

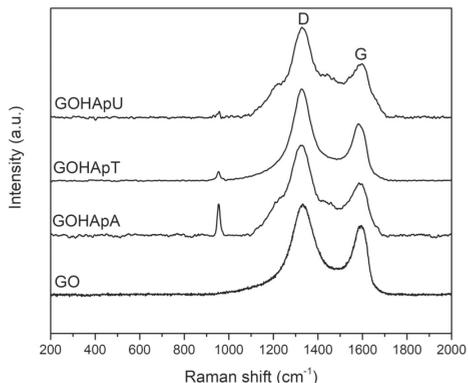


Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

Otros cambios estructurales se investigaron mediante la espectroscopía Raman. La figura 10 muestra el espectro Raman del GO y de los nanocompuestos GO/HAp. En el caso del GO, se observaron las bandas D y G características en 1333 cm^{-1} y 1588 cm^{-1} , respectivamente. La banda D está asociada con la presencia de defectos estructurales relacionados con la formación de enlaces sp^3 en la disposición atómica, mientras que la banda G se atribuye a la vibración plana de los átomos de carbono sp^2 . Los espectros Raman de los nanocompuestos de GO/HAp combinan las bandas D y G del GO con un nuevo pico situado en $\sim 957\text{ cm}^{-1}$ asignado a la vibración de estiramiento simétrica de PO_4^{3-} que evidencia la presencia de HAp. Además, la relación de intensidad I_D/I_G está asociada con el grado de desorden en los materiales de grafeno. Como se puede ver en la tabla 1, la relación I_D/I_G de los nanocompuestos de GO/HAp aumentó en comparación con la del GO, lo que sugiere la introducción de defectos en la superficie del GO después de la funcionalización. Además, la posición de las bandas D y G está ligeramente desplazada a un número de onda más bajo, lo que confirma la formación de los materiales modificados.

Las morfologías de las muestras obtenidas se observaron mediante análisis TEM. La figura 11(a) muestra la imagen TEM de las láminas de óxido de grafeno prístinas. Como se puede apreciar, el GO tiene el aspecto de una escama transparente, con algunos pliegues en la superficie. Las micrografías TEM de

FIGURA 10. Espectros Raman del grafeno oxidado (GO) y de los nanocompositos GO/HAp sintetizados utilizando amoníaco (GO/HApA), tiourea (GO/HApT) y urea (GO/HApU) como agentes precipitantes.



Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

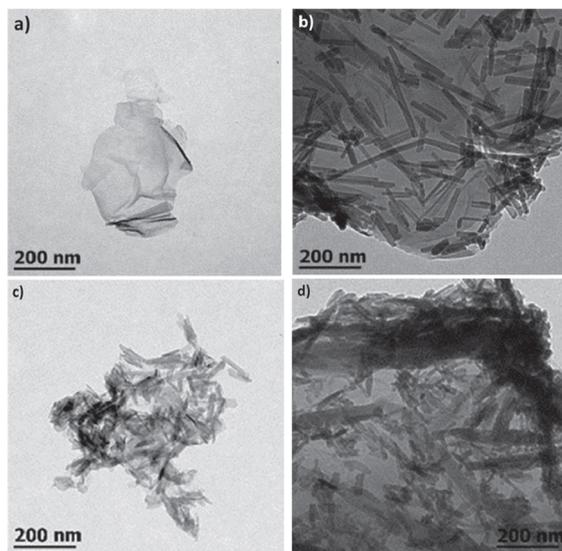
TABLA 1. Posiciones y proporciones entre las intensidades de las bandas D y G en los espectros Raman.

Muestra	GO	GO/HApA	GO/HApT	GO/HApU
Banda D (cm^{-1})	1333	1322	1328	1331
Banda G (cm^{-1})	1588	1581	1581	1581
I_D/I_G	1,37	1.77	1.61	1.76

Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

los nanocompuestos de GO/HAp se muestran en figuras 11(b-d). Como se muestra en la figura 3(b), el nanocompuesto GO/HApT muestra *nanorods* de HAp depositados sobre láminas de óxido de grafeno. Los nanocristales de HAp están bien dispersos y separados entre sí. El nanocompuesto GO/HApU mostró una capa uniforme y densa de nanopartículas de HAp en forma de cinta (figura 11c). Finalmente, el análisis ultraestructural del nanocompuesto GO/HApA mostró pequeñas nanopartículas de HAp en forma de rodillos depositadas en la superficie de la hoja de GO (figura 11d). Estas imágenes confirmaron la formación exitosa de nanocompuestos de GO/Hap mediante el uso de diferentes agentes precipitantes y revelaron, como se esperaba, que se produjeran formas de nanocristales muy diferentes.

FIGURA 11. Imágenes TEM de: a) óxido de grafeno (GO) y nanocompositos de GO/HAp sintetizados usando: b) tiourea (GO/HApT), c) urea (GO/HApU), y, d) amoníaco (GO/HApA).



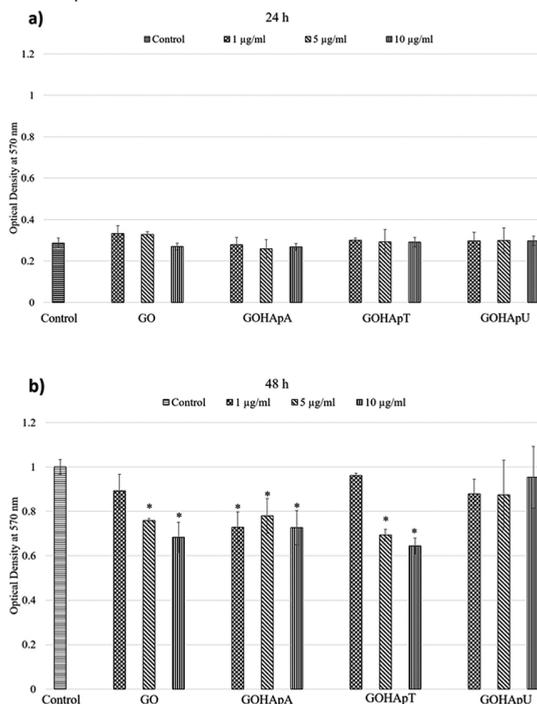
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

Al haberse demostrado que las características ultraestructurales de los biomateriales son cruciales para la biocompatibilidad, han sido evaluados los tres nanocompuestos de GO/HAp para comprobar sus posibles efectos sobre la viabilidad de las células de mamífero. Se cultivaron células NIH 3T3 en presencia de cantidades crecientes de nanocompuestos (1, 5 y 10 μg por ml de medio de cultivo).

En la figura 12a es posible apreciar que no hay cambios en la supervivencia celular tras la incubación de las células con los nanocompuestos de GO/HAp después de 24 h. Sin embargo, el número de células viables tras 48 h de exposición disminuyó en presencia de algunos tipos y dosis de nanocompuestos (figura

12b). Cabe destacar que las nanoestructuras de GO/HApA que presentan pequeñas nanopartículas en forma de rodillo, indujeron una pronunciada disminución de la viabilidad celular. Las tasas de supervivencia fueron tan bajas como el 73.16% y el 68.24%, en comparación con las células de control, cuando se probaron a 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{pozo}$, respectivamente, lo cual indica una severa citotoxicidad del compuesto. Por su parte, los nanocompuestos GO/HApT también indujeron un efecto citotóxico dependiente de la dosis, con una supervivencia celular del 90.22% (a una dosis de 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$), al 65.08% y 60.45% tras 48 h de exposición a 5 y 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. Como se esperaba, se encontraron efectos tóxicos similares sobre la supervivencia celular con el GO solo, induciendo una disminución de la supervivencia celular del 83.80%, al 71.25% y al 64.17% a dosis de 1, 5 y 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. Por el contrario, no se encontró citotoxicidad tras la exposición de las células a los nanocompuestos GO/HApU (figura 12b). Por lo tanto, estos resultados mostraron que la biocompatibilidad de los nanocompuestos de GO/HAp está determinada por la morfología de la ultraestructura de los cristales de HAp en el material compuesto.

FIGURA 12. Supervivencia de las células NIH 3T3 tras la exposición al GO y a los nanocompositos GO/HAp: a) a las 24 h, y, b) a las 48 h, según el ensayo colorimétrico MTT. Se utilizaron como control cultivos celulares idénticos sin nanopartículas.



Nota: * representa una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los grupos tratados con nanocompuestos y el control e indica la toxicidad.

Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

Conclusiones

GO/AgNPs

Este material funcionalizado se sintetizó mediante un método sostenible y respetuoso con el medio ambiente utilizando extracto de geranio (*P. graveolens*) como agente reductor ecológico en condiciones de reacción media, generando nanopartículas de plata con una sola fase cristalina.

Los grupos funcionales ricos en oxígeno permitieron el anclaje químico de las nanopartículas y su adecuada distribución en las láminas de GO. Los resultados indicaron que las condiciones óptimas para la síntesis de GO/AgNPs se lograron con una relación de peso de 1:1 de GO/Ag, en donde las láminas de GO muestran una distribución homogénea de AgNPs. Este método, respetuoso con el medio ambiente, evita el uso de cualesquiera químicos adicionales. Por lo tanto, teniendo en cuenta las propiedades de la Ag y el GO, el nanocompuesto rGO/AgNPs tiene importante potencial para ser explotado en aplicaciones biomédicas (Rodríguez-González *et al.*, 2016).

GO/TiO₂

Se logró obtener de forma simultánea una alta y homogénea funcionalización de GO con nanopartículas de TiO₂, junto a una significativa reducción química de las láminas de GO. Las NPs de TiO₂ crecidas sobre el GO mostraron ser monocristalinas, con un tamaño máximo de 6 nm y una fase cristalina anatasa predominante en todos los nanocompositos.

Como resultado del anclaje sobre la superficie del GO a partir de la funcionalización solvotermal, se observó una mejora en la señal de la dispersión Raman por parte del TiO₂. Los resultados obtenidos mediante espectroscopía Raman sugieren también que un cambio de fase del TiO₂ de anatasa a rutilo tiene lugar en la interfase rGO/TiO₂, el cual probablemente es inducido por el uso de metanol como medio solvente. El sistema metanol-agua mostró una mayor eficiencia en el proceso de incorporación de las NPs de TiO₂ en la superficie del GO, favoreciendo la funcionalización sobre el proceso de reducción, probablemente debido a la disminución en la concentración y movilidad de los aniones o radicales metoxilos (-O-CH₃) en el medio (Ayala-Fonseca *et al.*, 2020). Estos nanocompuestos rGO/TiO₂ pueden encontrar uso en células solares, dispositivos de almacenamiento de energía y aplicaciones fotocatalíticas, además del potencial que han presentado en investigaciones recientes en el desarrollo de sensores a partir de propiedades emergentes derivadas de un mayor control de sus características morfológicas, tales como fotoluminiscencia en el caso de puntos cuánticos de GO (Ayala-Fonseca *et al.*, 2022).

GO/Hidroxiapatita

Los nanocompuestos de GO/HAp se sintetizaron con éxito mediante un método hidrotérmico sencillo utilizando condiciones de reacción moderadamente suaves. La morfología de las nanopartículas de HAp se ha controlado mediante la va-

riación de los agentes precipitantes. Se comprobó que las características ultraestructurales de los compuestos de GO/HAp son fundamentales para los efectos citotóxicos hacia las células de mamíferos, subrayando la importancia de describir procedimientos altamente reproducibles y bien controlados para la síntesis de nanocompuestos de GO/HAp destinados a usos biomédicos. En este trabajo, un método sintético basado en la urea, como agente precipitante, condujo a estructuras de nanocristales de HAp en forma de cinta (GO/HApU) de muy alta biocompatibilidad. Los compuestos mostraron un carácter de biocompatibilidad muy superior al de las láminas de GO prístinas, y similar al de los compuestos tradicionales de HAp (Rodríguez-González *et al.*, 2018). Ahora se anima a seguir investigando para evaluar si la presencia de GO en esta estructura de HAp altamente biocompatible puede dar lugar también a características mecánicas mejoradas, permitiendo así aplicaciones en el campo de los biomateriales para implantes.

Referencias

- Ajala, O. J., Tijani, J. O., Bankole, M. T. y Abdulkareem, A. S. (2022). A critical review on graphene oxide nanostructured material: properties, synthesis, characterization and application in water and wastewater treatment. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 18, 100673. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100673>.
- Amir, M. N. I., Halilu, A., Julkapli, N. M. y Ma'amor, A. (2020). Gold-graphene oxide nanohybrids: a review on their chemical catalysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 83: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.11.029>.
- Arif, A. F., Balgjs, R., Ogi, T., Iskandar, F., Kinoshita, A., Nakamura, K. y Okuyama, K. (2017). Highly conductive nano-sized Magnéli phases titanium oxide (TiO_x). *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03509-y>.
- Ayala-Fonseca, A., Amieva, E. J. C., Rodríguez-González, C., Loske, A. M., Fernández, F., De Luna Bugallo, A., Romero, V. H. y Salas, P. (2022). Highly dispersible and fluorescent graphene-based materials obtained by underwater shock wave-induced oxidative cleavage. *FlatChem*, 32, 100338. <https://doi.org/10.1016/j.flatc.2022.100338>.
- Ayala-Fonseca, L. A., Amieva, E. J. -C., Rodriguez-Gonzalez, C., Angeles-Chavez, C., De la Rosa, E., Castaño, V. M. y Salas, P. (2020). Enhanced Raman effect of solvothermal synthesized reduced graphene oxide/titanium dioxide nanocomposites. *ChemistrySelect*, 5(13): 3789-3797. <https://doi.org/10.1002/slct.202000335>.
- Bao, Y., Tian, C., Yu, H., He, J., Song, K., Guo, J., Zhou, X., Zhuo, O. y Liu, S. (2022). *In situ* green synthesis of graphene oxide-silver nanoparticles composite with using gallic acid. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.905781>.
- Berger, M. (2022). *Graphene – all you need to know*. https://www.nanowerk.com/what_is_graphene.php.
- Borges, K. A., Santos, L. M., Paniago, R. M., Barbosa Neto, N. M., Schneider, J., Bahnemann, D. W., Patrocinio, A. O. T. y Machado, A. E. H. (2016). Characterization of a highly efficient N-doped TiO₂ photocatalyst prepared: Via factorial design.

- New Journal of Chemistry*, 40(9): 7846-7855. <https://doi.org/10.1039/c6nj00704j>.
- Calderón-Jiménez, B., Johnson, M. E., Montoro Bustos, A. R., Murphy, K. E., Winchester, M. R. y Vega Baudrit, J. R. (2017). Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in Chemistry*, 5. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00006>.
- Chen, J., Liu, B., Gao, X. y Xu, D. (2018). A review of the interfacial characteristics of polymer nanocomposites containing carbon nanotubes. *RSC Advances*, 8(49): 28048-28085. <https://doi.org/10.1039/C8RA04205E>.
- Cho, H.-W., Liao, K.-L., Yang, J.-S. y Wu, J.-J. (2018). Revelation of rutile phase by Raman scattering for enhanced photoelectrochemical performance of hydrothermally-grown anatase TiO₂ film. *Applied Surface Science*, 440: 125-132. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2018.01.139>.
- Chung, I.-M., Park, I., Seung-Hyun, K., Thiruvengadam, M. y Rajakumar, G. (2016). Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications. *Nanoscale Research Letters*, 11(1): 40. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1257-4>.
- Dhamodharan, D., Ghoderao, P. P., Dhinakaran, V., Mubarak, S., Divakaran, N. y Byun, H.-S. (2022). A review on graphene oxide effect in energy storage devices. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 106: 20-36. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.10.033>.
- Draghi, C. (2022). *Los rusos del grafeno*. <https://exactas.uba.ar/los-rusos-del-grafeno/>.
- Ferrari, A. C. (2007). Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, electron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects. *Solid State Communications*, 143(1-2): 47-57. <https://doi.org/10.1016/J.SSC.2007.03.052>.
- Hardwick, L. J., Holzapfel, M., Novák, P., Dupont, L. y Baudrin, E. (2007). Electrochemical lithium insertion into anatase-type TiO₂: An *in situ* Raman microscopy investigation. *Electrochimica Acta*, 52(17): 5357-5367. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2007.02.050>.
- Huang, G., Lu, C.-H. y Yang, H.-H. (2019). Magnetic nanomaterials for magnetic bioanalysis. En *Novel nanomaterials for biomedical, environmental and energy applications*, 89-109. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-8144497-8.00003-5>.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V y Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6): 385-406. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26339255>.
- Kusiak-Nejman, E., Wanag, A., Kowalczyk, Ł., Kapica-Kozar, J., Colbeau-Justin, C., Mendez Medrano, M. G., y Morawski, A. W. (2017). Graphene oxide-TiO₂ and reduced graphene oxide-TiO₂ nanocomposites: Insight in charge-carrier lifetime measurements. *Catalysis Today*, 287: 189-195. <https://doi.org/10.1016/J.CATTOD.2016.11.008>.
- Li, M., Xiong, P., Yan, F., Li, S., Ren, C., Yin, Z., Li, A., Li, H., Ji, X., Zheng, Y. y Cheng, Y. (2018). An overview of graphene-based hydroxyapatite composites for orthopedic applications. *Bioactive Materials*, 3(1): 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.01.001>.

- Luo, Y., Li, M., Hu, G., Tang, T., Wen, J., Li, X., y Wang, L. (2018). Enhanced photocatalytic activity of sulfur-doped graphene quantum dots decorated with TiO₂ nanocomposites. *Materials Research Bulletin*, 97: 428-435. <https://doi.org/10.1016/J.MATERRESBULL.2017.09.038>.
- Mamaghani, A. H., Haghighat, F. y Lee, C.-S. (2019). Hydrothermal/solvothermal synthesis and treatment of TiO₂ for photocatalytic degradation of air pollutants: Preparation, characterization, properties, and performance. *Chemosphere*, 219: 804-825. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.029>.
- Nam, C. T., Yang, W.-D. y Duc, L. M. (2013). Study on photocatalysis of TiO₂ nanotubes prepared by methanol-thermal synthesis at low temperature. *Bulletin of Materials Science*, 36(5): 779-788. <https://doi.org/10.1007/s12034-013-0546-0>.
- PA, Naina Mohamed, S., Singaravelu, D. L., Brindhadevi, K., y Pugazhendhi, A. (2022). A review on graphene / graphene oxide supported electrodes for microbial fuel cell applications: Challenges and prospects. *Chemosphere*, 296, 133983. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133983>.
- Pop, E., Varshney, V. y Roy, A. K. (2012). Thermal properties of graphene: fundamentals and applications. *MRS Bulletin*, 37(12): 1273-1281. <https://doi.org/10.1557/mrs.2012.203>.
- Pougin, A., Lüken, A., Klinkhammer, C., Hiltrop, D., Kauer, M., Tölle, K., Havenith-Newen, M., Morgenstern, K., Grünert, W., Muhler, M. y Strunk, J. (2017). Probing oxide reduction and phase transformations at the Au-TiO₂ interface by vibrational spectroscopy. *Topics in Catalysis*, 60(19-20): 1744-1753. <https://doi.org/10.1007/s11244-017-0851-8>.
- Rajender, G., Kumar, J. y Giri, P. K. (2018). Interfacial charge transfer in oxygen deficient TiO₂-graphene quantum dot hybrid and its influence on the enhanced visible light photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental*, 224: 960-972. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2017.11.042>.
- Rodríguez-González, C., Salas, P., López-Marín, L. M., Millán-Chiu, B. y De la Rosa, E. (2018). Hydrothermal synthesis of graphene oxide/multiform hydroxyapatite nanocomposite: its influence on cell cytotoxicity. *Materials Research Express*, 5(12), 125023. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aae29c>.
- Rodríguez-González, C., Velázquez-Villalba, P., Salas, P., y Castaño, V. M. (2016). Green synthesis of nanosilver-decorated graphene oxide sheets. *IET Nanobiotechnology*, 10(5): 301-307. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0043>.
- Sanchez, V. C., Jachak, A., Hurt, R. H. y Kane, A. B. (2012). Biological interactions of graphene-family nanomaterials: an interdisciplinary review. *Chemical Research in Toxicology*, 25(1): 15-34. <https://doi.org/10.1021/tx200339h>.
- Seifalian, A. y Alexander, B. (2022). *Graphene oxide and biological properties*. <https://encyclopedia.pub/entry/history/show/22459>.
- Stankovich, S., Dikin, D. A., Piner, R. D., Kohlhaas, K. A., Kleinhammes, A., Jia, Y., Wu, Y., Nguyen, S. T. y Ruoff, R. S. (2007). Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon*, 45(7): 1558-1565. <https://doi.org/10.1016/J.CARBON.2007.02.034>.
- Stankovich, S., Piner, R. D., Nguyen, S. B. T. y Ruoff, R. S. (2006). Synthesis and ex-

- foliation of isocyanate-treated graphene oxide nanoplatelets. *Carbon*, 44(15): 3342-3347. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2006.06.004>.
- Stobinski, L., Lesiak, B., Malolepszy, A., Mazurkiewicz, M., Mierzwa, B., Zemek, J., Jiricek, P. y Bieloshapka, I. (2014). Graphene oxide and reduced graphene oxide studied by the XRD, TEM and electron spectroscopy methods. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 195: 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.elspec.2014.07.003>.
- Szczęś, A., Hołysz, L. y Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249: 321-330. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>.
- Tayel, A., Ramadan, A., El Seoud, O., Tayel, A., Ramadan, A. R. y El Seoud, O. A. (2018). Titanium dioxide/graphene and titanium dioxide/graphene oxide nanocomposites: synthesis, characterization and photocatalytic applications for water decontamination. *Catalysts*, 8(11): 491. <https://doi.org/10.3390/catal8110491>.
- Vega-Baudrit, J., Gamboa, S. M., Rojas, E. R. y Martinez, V. V. (2019). Synthesis and characterization of silver nanoparticles and their application as an antibacterial agent. *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 5(5). <https://doi.org/10.15406/ijbsbe.2019.05.00172>.
- Walton, R. I. (2011). Solvothermal synthesis of cerium oxides. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 57(4): 93-108. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2011.10.002>.
- Warren, B. E. (1941). X-ray diffraction in random layer lattices. *Physical Review*, 59(9): 693-698. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.59.693>.
- Yan, J., Wu, G., Guan, N., Li, L., Li, Z. y Cao, X. (2013). Understanding the effect of surface/bulk defects on the photocatalytic activity of TiO₂: anatase versus rutile. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(26), 10978. <https://doi.org/10.1039/c3cp50927c>.
- Ye Cong, Jinlong Zhang, Feng Chen y Masakazu Anpo. (2007). *Synthesis and characterization of nitrogen-doped TiO₂ nanophotocatalyst with high visible light activity*. <https://doi.org/10.1021/JP0685030>.
- Yin, S., Fujishiro, Y., Wu, J., Aki, M. y Sato, T. (2003). Synthesis and photocatalytic properties of fibrous titania by solvothermal reactions. *Journal of Materials Processing Technology*, 137(1-3): 45-48. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(02\)01065-8](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(02)01065-8).
- Zhang, Y., Wu, W., Zhang, K., Liu, C., Yu, A., Peng, M. y Zhai, J. (2016). Raman study of 2D anatase TiO₂ nanosheets. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18(47): 32178-32184. <https://doi.org/10.1039/C6CP05496J>.
- Zhou, A., Bai, J., Hong, W. y Bai, H. (2022). Electrochemically reduced graphene oxide: preparation, composites, and applications. *Carbon*, 191: 301-332. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.01.056>.
- Zhou, Q., Zhong, Y.-H., Chen, X., Wang, Y., Huang, X.-J. y Wu, Y.-C. (2016). Graphene-TiO₂ functional nanocomposite: from synthesis to applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(9): 9327-9345. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.12454>.