



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

PROGRAMA DE MAestrÍA Y DOCTORADO EN CIENCIA QUÍMICAS.

**REDUCCIÓN CONTROLADA DE ÓXIDO DE GRAFENO Y SU EFECTO EN LAS
PROPIEDADES SUPERFICIALES DE SUBSTRATOS GRAFENICOS.**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
PRESENTA**

Q. ALBA MARIANA ACEVEDO ARELLANO.

DR. JOSE MANUEL SANIGER BLESA.

**INSTITUTO DE CIENCIAS APLICADAS Y TECNOLOGÍA, UNAM
CIUDAD DE MEXICO, 2019.**

Ciudad de México, Octubre 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a lo largo de mis estudios de maestría, con número de becario 620934.

Al proyecto PAPIIT-DGAPA IN 111219 y al proyecto CONACYT 2014-Fronteras de la Ciencia 2016.

Al Dr. José Manuel Saniger por su apoyo para la realización del proyecto.

Al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE) y al técnico académico Selene Islas por la caracterización de las muestras mediante las técnicas de IR, Raman y UV-vis.

Al Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental (LUNA) y al técnico académico Viridiana Maturano Rojo por la caracterización de las muestras mediante las técnicas de DLS y Potencial Z.

Al Fis. Lázaro Huerta Arcos del Instituto de Investigaciones en Materiales y al Dr. Mario H. Farías Sánchez del Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la UNAM por su apoyo para los análisis XPS de las muestras.

Al Dr. Enrique J. Lima Muñoz del Instituto de Investigaciones en Materiales, por su apoyo para el análisis de RMN ¹³C.

Abreviaturas

GO	Óxido de grafeno
rGO	Óxido de grafeno reducido
HI	Ácido yodhídrico
SERS	Surface Enhancement Raman Scattering
GERS	Graphene Enhancement Raman Scattering
IR	Infrarrojo
Uv-vis	Ultravioleta visible
rGO 2h/0k	Óxido de grafeno reducido por 2h sin separar
rGO 4h/0k	Óxido de grafeno reducido por 4h sin separar
rGO 6h/0k	Óxido de grafeno reducido por 6h sin separar
rGO 4h/16k	Óxido de grafeno reducido por 4h separado a 16 000 rpm
rGO 4h/8k	Óxido de grafeno reducido por 4h separado a 8 000 rpm

ÍNDICE

	Página	
1	INTRODUCCIÓN	1
2	HIPÓTESIS	3
3	OBJETIVO	3
4	ANTECEDENTES	
4.1	Óxido de grafeno	4
4.2	Óxido de grafeno reducido	6
4.3	Reducción de óxido de grafeno con HI	7
5	DESARROLLO EXPERIMENTAL	9
5.1	Caracterización	10
6	RESULTADOS	
6.1	Óxido de grafeno	
6.1.1	Tamaño y Potencial Z	11
6.1.2	Espectroscopía UV-vis	13
6.1.3	Espectroscopía IR	13
6.1.4	Espectroscopía Raman	14
6.1.5	Resonancia magnética nuclear ¹³ C	15
6.1.6	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)	16
6.2	Óxido de grafeno reducido	
6.2.1	Espectroscopía ultravioleta visible	18
6.2.2	Espectroscopía Infrarroja	19
6.2.3	Espectroscopía Raman	20
6.2.4	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)	21
7	CONCLUSIONES	23
8	BIBLIOGRAFÍA	24

1. INTRODUCCIÓN

La aparición del grafeno en 2004 permitió el resurgimiento de la investigación del óxido de grafeno (GO), nanomaterial de carbono que se sintetizó por primera vez en el siglo XIX a partir de la oxidación del grafito. Esto debido a que el GO es un precursor del grafeno que se puede obtener a bajos costos y en grandes cantidades, por lo cual el GO es una de las alternativas más viables para producir grafeno¹.

Las propiedades electrónicas, mecánicas y ópticas del grafeno han hecho de este nanomaterial y de sus derivados, óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido, una importante área de estudio². En particular el óxido de grafeno, debido a la presencia de dominios aromáticos remanentes, junto con diferentes grupos funcionales oxigenados tanto en el plano basal de las hojuelas como en sus bordes, es un material capaz de tener una amplia variedad de interacciones (dispersivas, π - π , polares, puentes de hidrógeno o covalentes) con diferentes tipos de moléculas.

Dentro de las diferentes aplicaciones en las que se trabaja actualmente para estos nanomateriales, está su uso como película sensible de biosensores, y como sustrato modificador de las propiedades ópticas y/o amplificador de la dispersión Raman de las moléculas adsorbidas en su superficie. Esta amplificación de la señal Raman debida a un efecto superficial puede considerarse como una variante de SERS (Surface Enhancement Raman Scattering) y se denomina de manera más específica como GERS (Graphene Enhancement Raman Scattering)³.

Se sabe que las nanopartículas de oro y de plata son los materiales más usados y frecuentemente los más eficientes para la amplificación de la señal Raman de las moléculas depositadas en ellas, existiendo dos mecanismos responsables de esta amplificación. El mecanismo electromagnético (ME) es el responsable de la mayor parte del factor de amplificación y se relaciona con el hecho de que las nanopartículas de Au o Ag al ser excitadas por el campo electromagnético del láser funcionan como antenas amplificadoras de dicho campo de forma que las moléculas adsorbidas en ellas o que estén en su proximidad (unos pocos nanómetros) reciben no sólo el campo magnético del láser de excitación, sino también el que están emitiendo la o las nanopartículas vecinas. Esto hace que el campo electromagnético efectivo que actúa sobre estas moléculas sea considerablemente mayor que el que recibirían si no estuvieran unidas a las nanopartículas. El otro efecto de amplificación SERS se conoce como el mecanismo químico (MQ) y tiene que ver con el posible aumento de la polarizabilidad de las moléculas adsorbidas sobre las nanopartículas, derivado de algún tipo de transferencia de carga de la nanopartícula a la molécula. Un efecto adicional de la adsorción de las moléculas sobre nanopartículas metálicas de Au o Ag se relaciona con la modificación de las propiedades ópticas de las moléculas, en particular con el apagamiento

de su fluorescencia. Es decir, la radiación fluorescente que emiten algunas moléculas en su estado libre al ser excitadas por un láser tiende a desaparecer cuando dichas moléculas están adsorbidas sobre una nanopartícula de Au o Ag.

Los sustratos grafénicos presentan también propiedades similares a las anteriores, siendo capaces de amplificar la señal de dispersión Raman y apagar la fluorescencia de moléculas adsorbidas en ellos. No obstante, existen algunas diferencias entre ambos sustratos que son importantes de señalar. En primer lugar, la amplificación superficial de la señal Raman ocurre únicamente mediante el mecanismo químico, MQ, asociado con un aumento de la polarizabilidad de la molécula adsorbida. Si bien el factor de amplificación de la señal Raman es generalmente menor que en el efecto SERS, la amplificación GERS tiene como ventajas la menor alteración de los espectros de la molécula adsorbida y la mayor reproducibilidad de los resultados. Finalmente, el grafeno y sus derivados además de amplificar la señal Raman son capaces también de apagar la fluorescencia que presentan algunas moléculas⁴ favoreciendo la aparición de procesos de decaimiento no radiativos.

Una característica importante de los sustratos grafénicos se deriva de la presencia en ellos de grupos funcionales y de la posibilidad de modificarlos de manera controlada⁵, de manera que con una modificación adecuada de los grupos funcionales presentes podrían ser capaces de adsorber de forma preferencial moléculas que presenten buena afinidad por sustrato grafénico específico. Esta propiedad demuestra la importancia de conocer los tipos y proporciones de grupos funcionales en ellos, así como la de desarrollar metodologías para la modificación controlada de tales grupos.

2. HIPÓTESIS:

La reducción química de una dispersión acuosa de óxido de grafeno con ácido yodhídrico proporcionará un óxido de grafeno reducido con una alta relación C/O que dependerá del tiempo de reacción y del tamaño de las láminas de óxido de grafeno, lo que permitirá llevar a cabo una reducción controlada del óxido de grafeno. El rGO obtenido podrá ser empleado como un sustrato GERS capaz de apagar la fluorescencia mucho mejor que otros sustratos.

3. OBJETIVO:

Estudiar la reducción de óxido de grafeno (GO) con HI, modificando las condiciones de reacción y caracterizando los productos obtenidos para conocer su influencia sobre las propiedades (*) del producto final (óxido de grafeno reducido, rGO).

Objetivos particulares:

1. Caracterizar el GO de partida para conocer sus propiedades físico-químicas, poniendo especial atención en el efecto del tamaño de las láminas del GO sobre el tipo de grupos funcionales presentes en las mismas.
2. Realizar la reducción de óxido de grafeno modificando las condiciones de reacción y caracterizar cada uno de los productos obtenidos.
3. Definir la influencia de las condiciones de reacción sobre las propiedades físico-químicas del rGO obtenido.

() Propiedades de interés: Relación C/O, tipos y proporciones relativas de las especies oxigenadas, carga superficial (potencial Z) del material, distribución de tamaños de las hojuelas de GO y rGO, pKa de los grupos ácidos presentes en la superficie.*

4. ANTECEDENTES

4.1 Óxido de grafeno

El óxido de grafeno es una monocapa de átomos de carbonos altamente funcionalizada con grupos oxigenados. La variedad de grupos funcionales que se encuentran en las láminas de GO puede ser muy amplia, sin embargo, son tres los que se encuentran en mayores proporciones: hidroxilos, epóxidos y ácidos carboxílicos¹.

La presencia de grupos funcionales oxigenados hace que el óxido de grafeno tenga una gran disponibilidad para formar puentes de hidrógeno, por lo cual es capaz de dispersarse de forma estable en agua y en general en disolventes polares. Además, es altamente higroscópico, se sabe que en una muestra de GO en condiciones ambientales entre un 10 y 17 % en peso es agua superficial².

El óxido de grafeno se sintetizó por primera vez en 1859 por el químico británico B. Brodie, el método general para obtenerlo es a partir del grafito por medio de oxidantes fuertes en medio ácido⁶. Como resultado de la oxidación del grafito se obtiene óxido de grafito. Para preparar el óxido de grafeno, hay que someter el óxido de grafito a un proceso de exfoliación, generalmente mediante ultrasonido. Existen distintos métodos para la obtención de óxido de grafito (Tabla 1)⁶.

Tabla 1.- Métodos de oxidación del grafito a óxido de grafito⁶

	Brodie	Staudenmaier	Hummers	Hummers Modificado	
Año	1859	1898	1958	1999	2004
Oxidantes	KClO ₃ , HNO ₃	KClO ₃ , HNO ₃ , HSO ₄	NaNO ₃ , KMnO ₄ , H ₂ SO ₄	Pre-ox: K ₂ S ₂ O ₈ , P ₂ O ₅ , H ₂ SO ₄ Ox: KMnO ₄ , H ₂ SO ₄	NaNO ₃ , KMnO ₄ , H ₂ SO ₄
Proporción C/O	2.28	1.85	2.17	1.3	1.8
Tiempo de reacción	10 h	10 días	9-10 h	6 h pre-ox + 2h ox	5 días
Espacio entre laminas (Å)	5.95	6.23	6.67	6.9	8.3

El grafeno, GO y rGO tienen una estructura similar, son materiales 2D compuestos de carbonos ordenados hexagonalmente. En la imagen 1⁷ del lado izquierdo se pueden observar microscopías HRTEM, para cada uno de estos tres materiales, del lado derecho se muestra la misma microscopia con código de colores, en las zonas verdes se encuentran carbonos que tienen una hibridación sp^2 , en las zonas en rosa se encuentran zonas con carbonos sp^3 , y las zonas azules son defectos en la red, orificios.

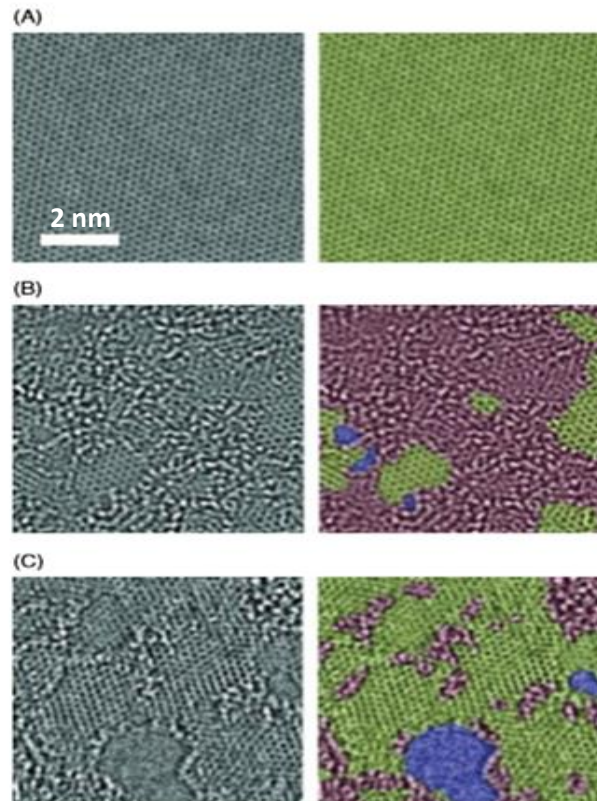


Imagen 1. Microscopías TEM para A) grafeno B) óxido de grafeno y C) óxido de grafeno reducido ⁷.

El óxido de grafeno es un material con zonas de carbonos con hibridación sp^2 (dominios grafénicos) y zonas de carbonos con hibridación sp^3 , estas últimas son las zonas que se encuentran funcionalizadas por grupos oxigenados. Debido a la presencia de grupos oxigenados el GO es un material aislante o con muy baja conductividad.

En el óxido de grafeno reducido podemos observar que predominan los carbonos con hibridación sp^2 sobre los carbonos sp^3 , esto hace del rGO un semiconductor de energía de banda prohibida variable dependiendo del grado de reducción⁵. Como se mencionó anteriormente las zonas azules corresponden a defectos extendidos en la red, en el caso del rGO se puede observar que después del proceso de reducción además de la pérdida de grupos funcionales oxigenados, hay pérdidas de carbono, originando así orificios en la red.

El modelo estructural que mejor se ajusta a las características antes mencionadas para el óxido de grafeno es el propuesto por Lerf-Klinowski (imagen 2), y su principal característica es que considera al GO como un material no estequiométrico y amorfo⁶.

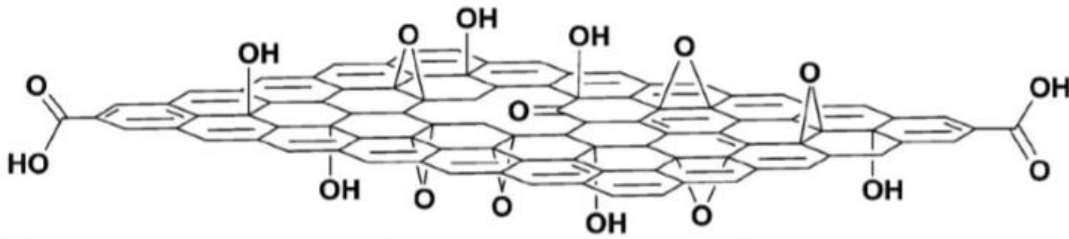


Imagen 2. GO modelo Lerf-Klinowski.

4.2 Óxido de grafeno reducido

La principal característica del rGO es un aumento en la proporción C/O con respecto del GO de partida, sin embargo, además de la eliminación de grupos funcionales oxigenados, es importante cuidar que la pérdida de carbonos sea mínima, de tal forma que se restaure en mayor medida la zona con carbonos sp^2 . Del grado de restauración depende la energía de la banda prohibida y por lo tanto la conductividad⁸.

En la actualidad existen diferentes estrategias de reducción, las cuales pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: reducción térmica y reducción química⁸.

La reducción térmica se lleva a cabo por un aumento rápido de temperatura que permite que los grupos funcionales oxigenados unidos a la red de carbonos se descompongan o volatilicen pasando a una fase gaseosa y creando una alta presión entre las láminas. Esto permite la reducción y exfoliación de las láminas simultáneamente, haciendo de este método una buena estrategia para la producción de grafeno en grandes cantidades. Sin embargo, mediante este procedimiento sólo es posible obtener láminas pequeñas, esto debido a que durante la eliminación de los grupos oxigenados también se desprenden átomos de carbono generando daño estructural⁸.

La reducción química usualmente se lleva a cabo a temperaturas moderadas, es un método que al igual que el térmico permite la producción en masa de óxido de grafeno reducido, pero que a diferencia del método térmico es capaz de regenerar más eficientemente la red de carbonos. Como desventaja cabe señalar que, mediante este método, además de la reducción deseada, frecuentemente se obtiene la funcionalización del óxido de grafeno por medio del agente

reductor⁹. Algunos de los agentes reductores que se utilizan más frecuentemente se muestran en la tabla 2.

Tabla 2.- Reducción química de GO⁹

Agente reductor	Relación C/O	Condiciones
NaBH ₄	----	80 °C/1h
LiAlH ₄	12	THF, 70 °C/24h
Hidracina	10.3	100 °C/ 24 h
L-ácido ascórbico/NH ₃	12.5	Reflujo/ 48h
Etanol	6.0	100 °C / 5 días
HBr	3.9	110 °C/24 h
Zn/NaOH	5.7	Reflujo/ 6 h

4.3 Reducción de óxido de grafeno con HI

Los haluros como nucleófilos pueden reaccionar a través de la vía SN1 o SN2 dependiendo de las características de los sustratos con los que reaccionan. Además, son capaces de abrir epóxidos. Esto hace que los ácidos hidrohálicos sean excelentes candidatos para eliminar los alcoholes y epóxidos encontrados en el óxido de grafeno. De entre los haluros el yodo es el nucleófilo más fuerte⁹.

El posible mecanismo de reacción se presenta en la Imagen 3, (a) la reacción de apertura de anillo de un grupo epoxi, (b) la reacción de sustitución de un grupo hidroxilo por un átomo de halógeno. Se espera que los átomos de halógeno sustituidos sean eliminados fácilmente de la red de carbono como I₂ y produzcan grafeno como se muestra en la etapa final¹⁰.

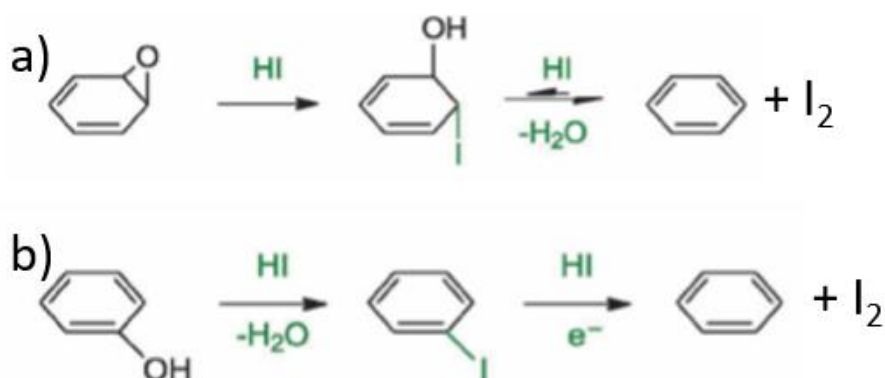


Imagen 3. Mecanismo de reacción de la reducción de óxido de grafeno.

Para reducir GO con HI se han utilizado diferentes condiciones de reacciones que dan rGO con relaciones C/O desde 7.23¹¹ hasta 15.3¹². Las diferentes condiciones para obtener rGO que se han probado hasta ahora se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3. Reducción de GO con HI.

Relación C/O	Condiciones	Referencia
12	1h/ 100°C/película de GO/HI 55%	10
7.3	10h / 60 °C/ GO en dispersión (8.3 mg/ml) / HI/ atmosfera inerte	11
14	10 h/ 90°C/GO en dispersión (8.3 mg/ml) / HI/ atmosfera inerte	11
15.3	40 h/40 °C/dispersión de GO en HAc(2.7 mg/ml) / HI	12
25.6	100 s/ 100°C/ película GO/ HI 45% posterior tratamiento térmico a 1100 °C por 1h	13
12.5	-10 °C/ HI y TFA	14
5.28	Temperatura ambiente/ 6h/ GO en dispersión (1.6 mg/ml)/ HCl (6M) y 0.5 g de KI/agitación constante	15

Como se mencionó anteriormente, se pretende que los distintos óxidos de grafeno reducido se puedan utilizar para generar sustratos que mejoren la detección e identificación por espectroscopía Raman de diferentes biomoléculas, aprovechando tanto la amplificación de la señal espectroscópica como el apagamiento de la fluorescencia de las moléculas adsorbidas en ellos.

Los átomos pesados han sido utilizados extensivamente en el estudio experimental de procesos radiativos cuando se sustituyen en la molécula de interés o cuando está presente en el disolvente. Estos efectos surgen de un mayor acoplamiento de la órbita de espín debido a la interacción del espín electrónico con el núcleo altamente cargado positivamente del átomo pesado. Esta interacción sirve para aumentar los procesos de cruzamiento entre sistemas ($T_1 \leftarrow S_1, S_0 \leftarrow T_1$). Por lo que, cuanto mayor es la carga nuclear estas transiciones son cada vez más probables y la fluorescencia disminuye¹⁶.

El agente reductor en este caso HI, funcionaliza la lámina de óxido de grafeno reducido con moléculas de I₂ y yoduros (I⁻). Lo cual en este caso puede ser una ventaja, ya que se sabe que el yodo es un buen desactivador de la fluorescencia. Algunas de las moléculas con las cuales el yodo se ha usado como desactivador de la fluorescencia son el pireno¹⁶, la fluoresceína¹⁷ y la p-Ciano fenilalanina¹⁸.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Óxido de grafeno y preparación de óxido de grafeno reducido.

El óxido de grafeno usado se encuentra en una dispersión de 4mg/ml de Graphenea, a partir del cual se preparó una dispersión de 0.4 mg/ml con agua desionizada, esta dispersión se sónico por 5 minutos en un baño ultrasónico y después se centrifugó por 20 minutos a una velocidad de 16,000 rpm y se extrajo con una micropipeta el sobrenadante (Muestra GO 16k). El sedimento así separado se redispersó y posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm, del mismo modo se extrajo el sobrenadante, se redispersó el sedimento y se centrifugo a 12,000 rpm; se siguió el mismo procedimiento a 10 000 y 8 000 rpm. Las muestras así obtenidas se etiquetaron como GO14k, GO12k, GO10k y GO8k. De esta manera a partir de la muestra original de GO, se obtuvieron fracciones de tamaño promedio variable, donde la fracción de menor tamaño corresponde al GO16k y la de mayor al GO8k.

Para llevar a cabo la reducción la dispersión de óxido de grafeno se burbujeo con nitrógeno para disminuir la cantidad de oxígeno disuelto en ella. Inmediatamente después se cerro el sistema como en la imagen 4, esto para tener una atmosfera libre de oxígeno, ya que sin ella la reducción no se lleva a cabo. Mediante una jeringa se agregó el HI al 57% marca Sigma Aldrich.

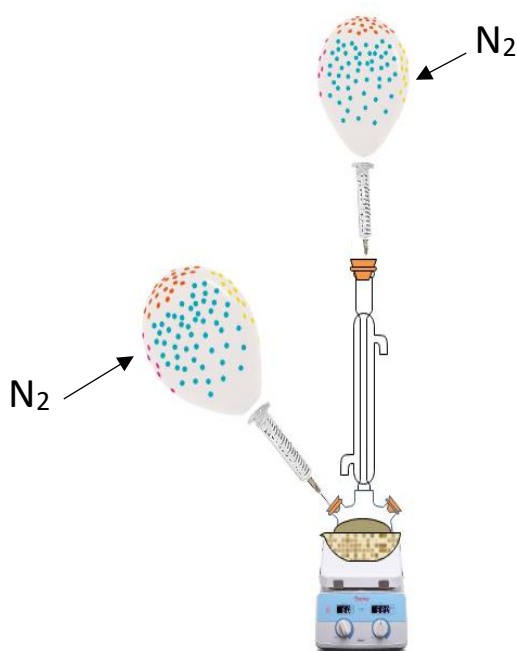


Imagen 4. Sistema para la reducción de GO.

Las distintas condiciones de síntesis de rGO que se utilizaron se muestran en la tabla 4. Después de terminada la reacción se filtró el producto y se lavó tres veces con agua desionizada.

Tabla 4. Condiciones de reacción de diferentes óxidos de grafeno reducidos.

Nombre	Velocidad de separación de GO	Concentración GO (mg/mL)	volumen de GO (mL)	Volumen de HI al 57% (mL)	Tiempo (h)
rGO 2h/0K	Sin separar	0.3	200	1	2
rGO 4h/0K	Sin separar	0.3	200	1	4
rGO 6h/0K	Sin separar	0.3	200	1	6
rGO 4h/16k	16 000 rpm	0.3	40	0.1	4
rGO 4h/8k	8 000 rpm	0.3	40	0.1	4



GO rGO 2h/0k rGO 4h/0K rGO 6h/0K rGO 4h/16K GO 16k rGO 4h/8k GO

5.1 Caracterización

- Espectrofotómetro Cary 5000 UV-Vis-NIR, el análisis se realizó en un rango de 200-800 nm, las muestras fueron dispersiones de 0.1 mg/ml. (ICAT)
- Nicolet iS50 FTIR Spectrometer, tiene un rango de 10-25,000 cm^{-1} y una resolución óptica de 0.09 cm^{-1} . El rango de adquisición de los espectros fue de 500-4000 cm^{-1} , se hizo uso del aditamento ATR de diamante. Las muestras se llevaron a cabo a partir de dispersiones de GO y rGO, de las dispersiones se colocó una gota un portaobjetos cubierto de aluminio y se dejaron secar, posteriormente se obtuvo el espectro. (ICAT)
- Zeta-sizer. La concentración de las dispersiones que se midieron fue de 0.01 mg/ml, el pH al que se encontraban las muestras es de entre 6.2 a 6.4. (ICAT)
- Espectrómetro de fotoelectrones de rayos X (XPS) SPECS GmbH, analizador hemisférico PHOIBOS 150 WAL, fuente de rayos X monocromados (μ -FOCUS 500) con una radiación de Al K α 1 ($h = 1,486.7$ eV). Para obtener los espectros de XPS, se secaron 10 mg de cada una de las muestras. (CNyN)
- Equipo Raman: WITec alpha300, láser de 532 nm. (ICAT)
- RMN Bruker Avance 400. En sólido. (IMM)

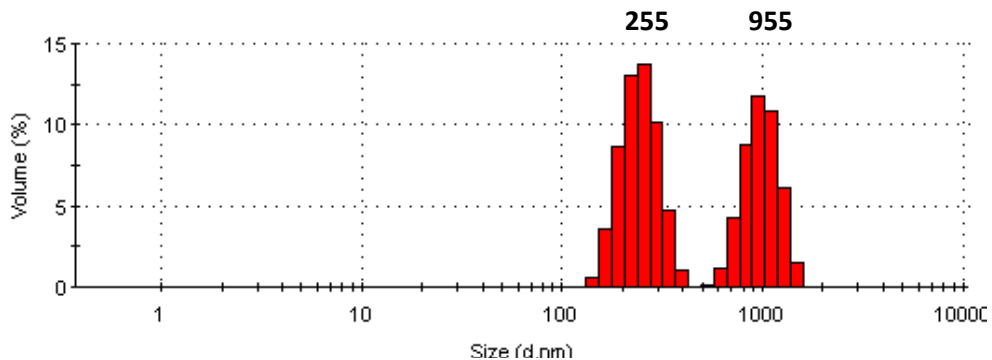
6. RESULTADOS

6.1 Óxido de Grafeno

6.1.1 Tamaño y Potencial Z

La dispersión dinámica de la luz (DLS) es una técnica adecuada para estimar el tamaño promedio de partículas esféricas. Los coloides de óxido de grafeno están formados por láminas bidimensionales con áreas de decenas de micras cuadradas frente a un espesor de alrededor de un nanómetro. Por lo tanto, el diagrama DLS de tal sistema proporciona un resultado menor al correspondiente con el tamaño de las láminas, sin embargo, nos da una información cualitativa sobre la evolución de la distribución de poblaciones a partir de los resultados obtenidos.¹⁹

Existe una gran variedad de tamaños en las láminas que encontramos en la dispersión de óxido de grafeno de partida, la gráfica 1 muestra dos poblaciones en donde los tamaños más representativos son 255 nm y 955 nm. Además, la primera población va de tamaños desde 140 nm hasta 450 nm, y la segunda desde 500 nm hasta 1600 nm. El potencial Z de la dispersión de GO sin separar es de -50 mV.

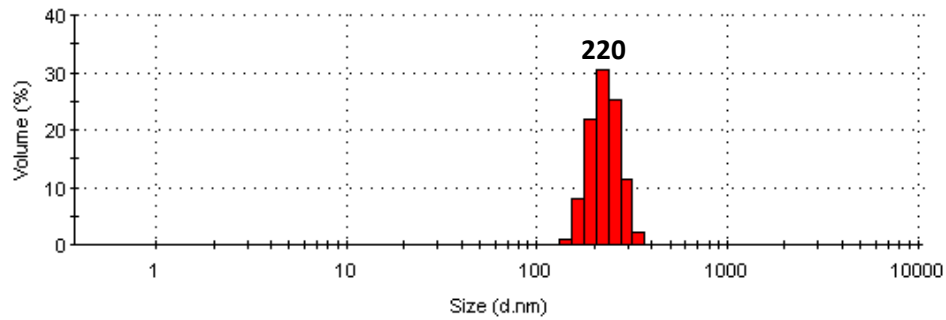


Gráfica 1 . Dispersión de tamaños de óxido de grafeno sin separar.

Se utilizó la centrifugación de la dispersión de GO a diferentes velocidades como una forma de separación en tamaños de las láminas que se encuentran en ella, a mayor velocidad en la centrifuga, los tamaños de las laminas en el sobrenadante son mas pequeños.

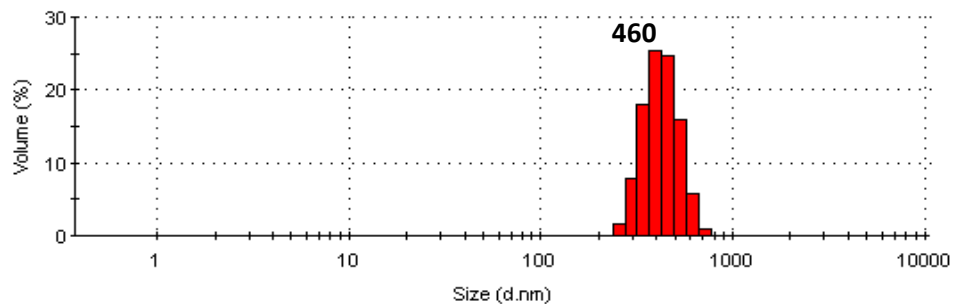
Al llevar a cabo la separación de las láminas de GO se observó que es importante la sonicación antes de separar. Pues cuando se mete a la centrifuga la dispersión sin sonicar a 16,000 rpm se observa que el sobrenadante es transparente, a diferencia de cuando se sonica que tiene una ligera coloración café. Lo cual nos indica que las láminas antes de sonicarse permanecen aglomeradas entre ellas debido a interacciones de tipo Van der Waals, la sonicación disminuyen estas interacciones por lo cual las laminas que antes se encontraban en cúmulos ahora están separadas.

La gráfica 2 muestra la dispersión de tamaños del grafeno separado a 16 000 rpm, el tamaño en mayor proporción es de 220 nm, y la dispersión en tamaños va de 140 nm a 370 nm.



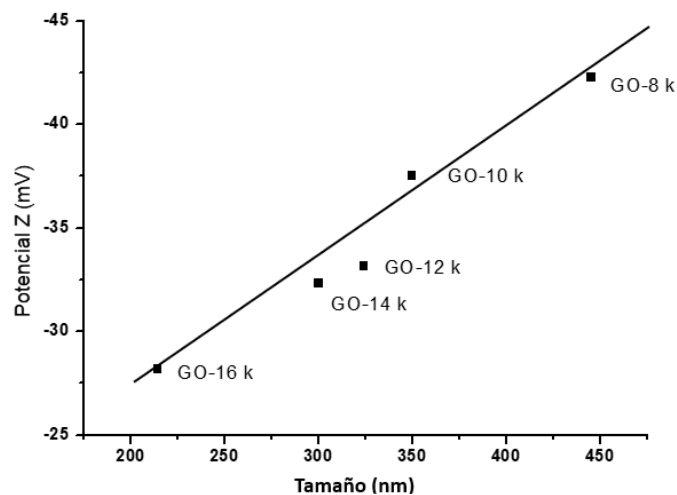
Gráfica 2. Dispersión de tamaños de óxido de grafeno separado a 16 000 rpm.

La gráfica 3 muestra la dispersión de tamaños del grafeno separado a 8 000 rpm, el tamaño en mayor proporción es de 460 nm, y la dispersión en tamaños va de 250 nm a 760 nm.



Gráfica 3. Dispersión de tamaños de óxido de grafeno separado a 8 000 rpm.

En la gráfica 4 se observa la relación entre tamaño y potencial Z, a mayor tamaño de láminas menor potencial Z, lo que sugiere que las láminas más grandes tienen una mayor concentración de carga superficial. Las diferencias en la carga superficial se deben a las distintas concentraciones de grupos oxigenados sobre las láminas.



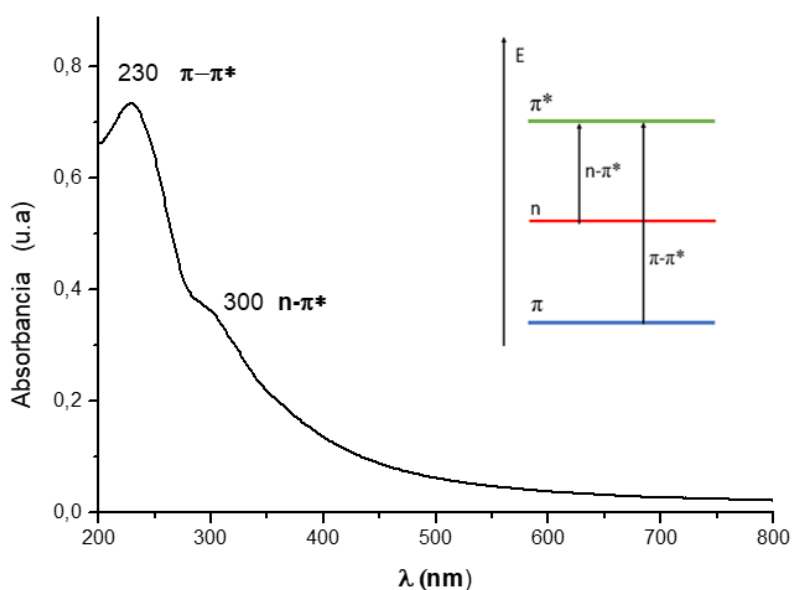
Gráfica 4. Potencial Z vs tamaño

6.1.2 Espectroscopía UV-VIS

El espectro de absorción del GO (gráfica 5) tiene dos bandas características con máximos en 230 nm y 300 nm. La banda con mayor intensidad es también la de mayor energía y se encuentra en 230 nm, corresponde con la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$, la cual se presenta cuando hay enlaces C=C en compuestos aromáticos.

La banda en 300 nm, que aparece como un pequeño hombro, se atribuye a la transición $n \rightarrow \pi^*$, común en los enlaces C=O de grupos funcionales oxigenados. Esta transición involucra promover un electrón que se encuentra en un orbital de no enlace, proveniente del par libre presente en el oxígeno, a un orbital π^* del carbono.

Los espectros Uv-vis de GO 8k y GO 16k no son distintos al espectro de GO.



Gráfica 5. Espectro UV-vis de GO

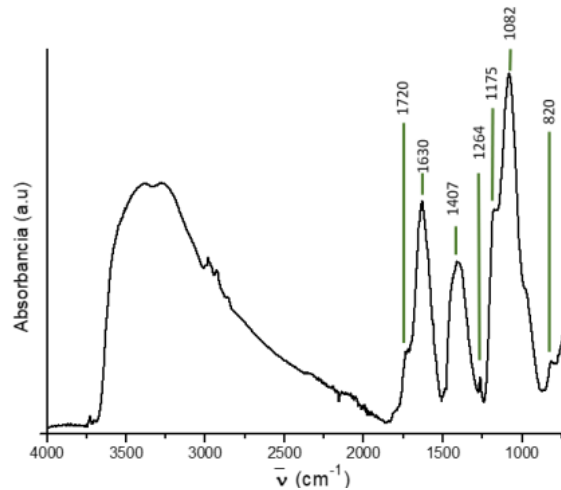
6.1.3 Espectroscopía IR

El GO es un material anisotrópico (no estequiométrico, y su composición puede variar de una hoja a otra) por lo cual los espectros IR de dos muestras diferentes aun teniendo un perfil similar pueden presentar diferencias en cuanto a intensidad relativa y el valor de sus máximos.

Las bandas que tenemos presentes en este espectro IR (gráfica 6) se encuentran identificadas en la tabla 5, mostrando la presencia de grupos carboxilos, alcoholes, epóxidos y agua asociada al GO.

Tabla 5. Grupos funcionales del GO de acuerdo con el IR.

Banda (cm ⁻¹)	Vibración asociada	Referencia
1720	Estiramiento C-O de carbonilos	5,11,15
1630	Flexión de moléculas de agua	5,15
1407	Flexión -OH de alcoholes terciarios	5
1264 y 820	Estiramiento asimétrico y flexión del grupo epoxi	5,11,15
1175	Estiramiento C-O de ácidos carboxílicos	5,11
1082	Estiramiento C-O de alcoholes secundarios	5,11



Gráfica 6. Espectro IR de GO.

6.1.4 Espectroscopía Raman

El espectro Raman del óxido de grafeno presenta dos bandas, una en 1580 cm⁻¹, conocida como banda G, y una en 1350 cm⁻¹, banda D (gráfica 7). La banda G corresponde a la dispersión de primer orden del modo E_{2g} de los átomos de carbono sp². La banda D está asociada con los modos de respiración de los anillos de seis átomos y requiere para su activación la existencia de “defectos” tales como los derivados de la unión de grupos epóxidos o hidroxilos en el plano basal del GO.

Usualmente se utiliza la relación de intensidades de la banda D y la banda G para discriminar entre muestras con distintas densidades de defectos en la lámina, una mayor relación I_D/I_G correspondería con una muestra con más defectos o también más funcionalizada. Sin embargo, de acuerdo con Eigler (2014)²⁰, el ancho total en la mitad de las bandas es más confiable para determinar los defectos en la lámina que la relación I_D/I_G, pues una misma relación I_D/I_G puede corresponder a una densidad de defectos distinta. Para ejemplificar lo anterior, en la imagen 5²⁰ se muestran los espectros Raman de óxidos de grafeno con diferentes cantidades de defectos, las cuales se muestran en la esquina superior derecha. En los espectros se muestra la relación I_D/I_G, y los valores del ancho en la mitad de la banda, que corresponden a los números a un lado de las bandas. Se observa que el mayor porcentaje de defectos corresponde al 1%, sin embargo, este

valor no corresponde con la mayor relación I_D/I_G , pero si con los valores más grandes de ancho a la mitad del pico. En general, los picos estrechos se relacionan con un menor grado de defectos y los picos anchos con un mayor grado de defectos¹³.

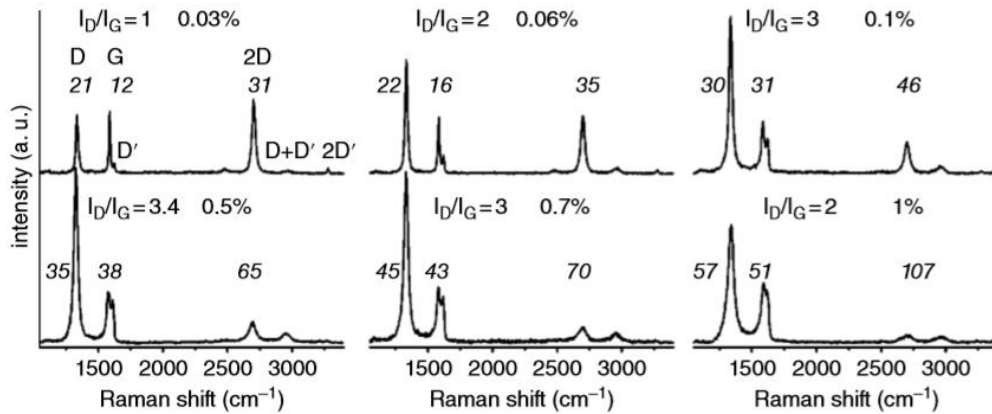
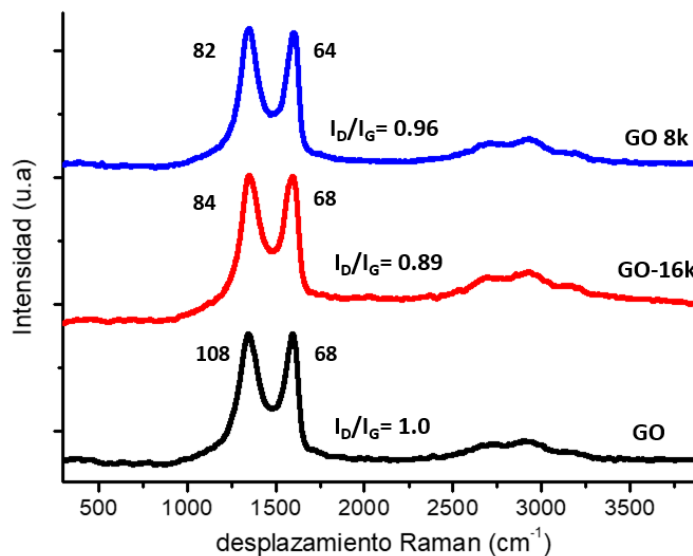


Imagen 5. Espectros Raman de GO con distintas cantidades de defectos.²⁰

La relación I_D/I_G de los espectros Raman obtenidos muestran que el GO es el que tiene la mayor relación I_D/I_G y por lo tanto la mayor cantidad de defectos; del GO separado, GO 16k y GO 8k, el que tiene la mayor cantidad de defectos es el GO 8k, pues tiene relación I_D/I_G mayor.

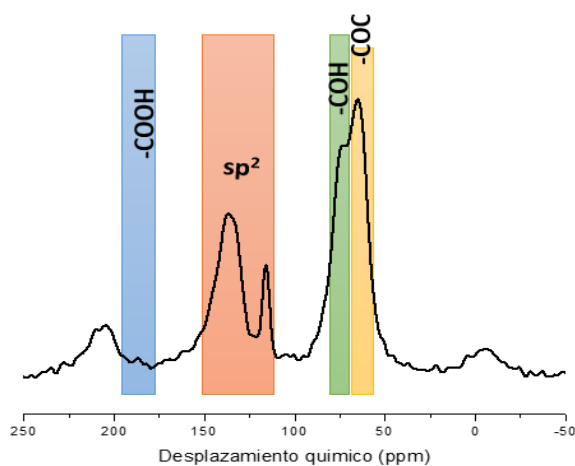
Los números escritos a un lado de los picos en los espectros Raman de la gráfica 7 corresponden a los anchos de pico, tanto para la banda D, como para la G. El espectro con un ancho de banda medio mayor es el de GO el cual tendría la mayor proporción de defectos. El que tiene los menores anchos medios es el GO 8k, lo cual quiere decir que es el que tiene menor cantidad de defectos.



Gráfica 7. Espectro Raman de GO

6.1.5 RMN ¹³C

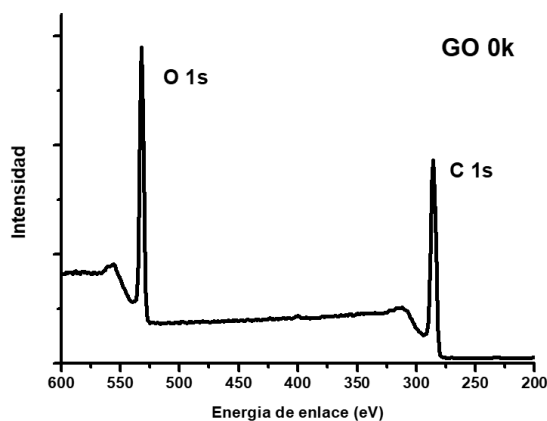
La gráfica 8 muestra el espectro de RMN de ¹³C para el GO de partida, en ella se pueden observar bandas a 64, 73, 115, 136 y 186 ppm. La banda en 63 ppm se asigna a epóxidos, la banda en 73 ppm a alcoholes, las bandas en 115 y 136 corresponden con carbonos sp², y la banda en 186 ppm a ácidos carboxílicos. Las bandas en -10 y 205 ppm, se conocen como bandas laterales y no aportan información sobre la muestra^{21,22}.



Gráfica 8. Espectro RMN ¹³C de GO

6.1.6 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)

A partir del espectro de baja resolución de XPS (gráfica 9) se pueden obtener la relación C/O. El GO tiene una relación C/O de 1.67, el GO 8k de 1.78 y el GO 16k de 1.82. Lo que quiere decir que el GO separado a 16,000 rpm, al tener la mayor relación C/O es la muestra menos oxidada, y el GO sin separar la muestra más oxidada, lo que es coherente con el resultado del potencial Z en función del tamaño mostrado anteriormente; pues podemos relacionar el potencial Z con la carga superficial y a su vez con la relación C/O. El GO es el que tiene el potencial Z más negativo y por lo tanto el que se encuentra más oxidado

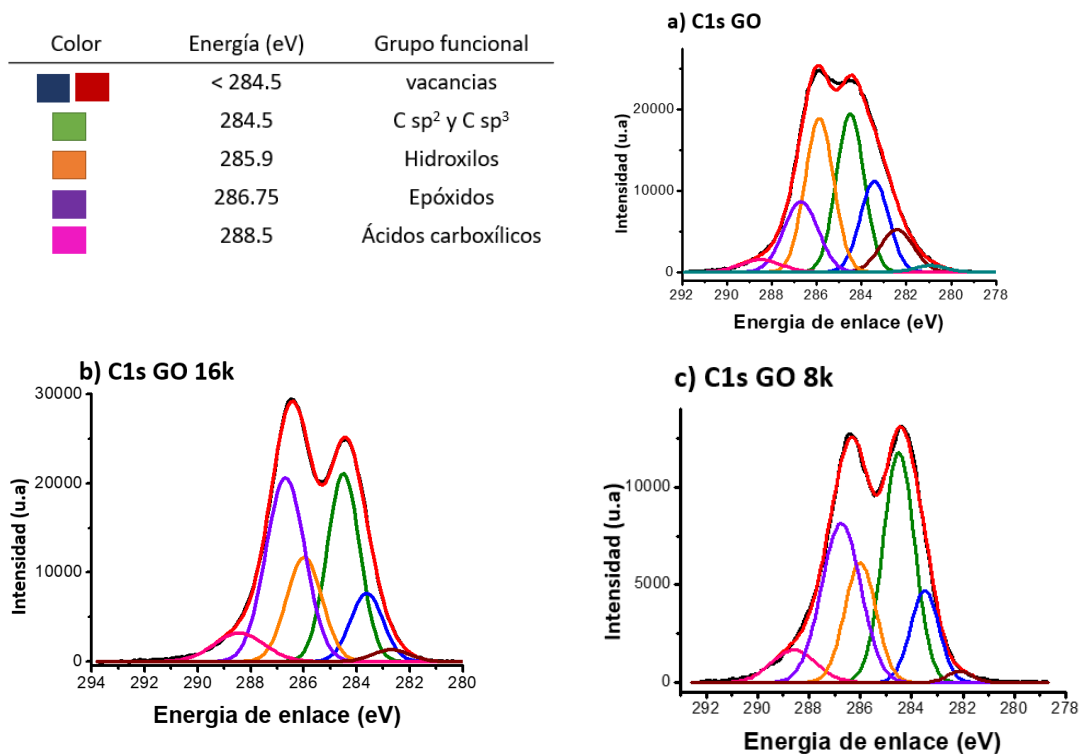


Gráfica 9. Espectro de baja resolución de XPS

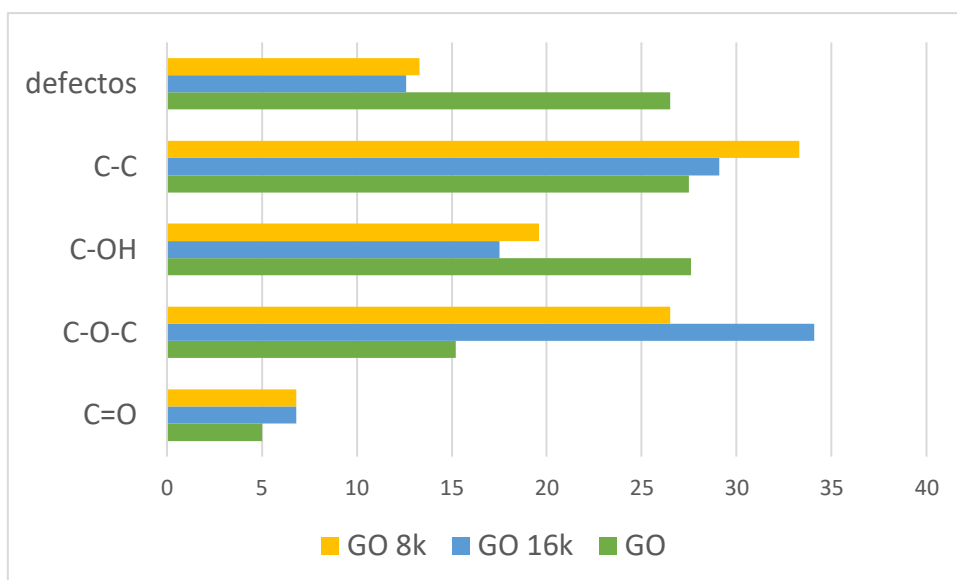
Mediante la deconvolución del pico de carbono correspondiente al espectro XPS se puede obtener la relación en la que se encuentran los distintos grupos oxigenados (gráficas 10a, 10b, 10c). En este caso se ajustó el espectro a 284.5 eV, el cual se asigna al enlace C-C de carbonos sp^2 y sp^3 , y en este caso corresponde a la banda en color verde para todos los casos. Las energías de enlace menores a 284.5 eV, es decir 283.4, 282.4, 280.9 en GO y 283.5 y 282.2 eV en GO 16k y en GO 8k, se asignan a vacancias en la red⁷. El GO sin separar es el que contiene mayor cantidad de vacancias.

Las bandas posteriores a 284.5 eV corresponden a carbonos unidos a diferentes grupos funcionales, en este caso a grupos oxigenados. Debido a que el GO es un material amorfo las energías mencionadas para los carbonos funcionalizados no es exactamente la misma en los distintos GO mencionados. La banda naranja corresponde al carbono unido a hidroxilos y tiene una energía promedio de 285.9 eV, la banda morada corresponde al carbono de un epóxido con una energía 286.7 eV y la banda rosa al carbono en un ácido carboxílico con energía de 288.5 eV¹⁰.

De acuerdo con la grafica 11, en el caso de las fracciones separadas, GO16 k y GO8k, tienen una menor proporción de alcoholes y una mayor proporción de epóxidos, en comparación con el GO sin separar. Este resultado indica una diferenciación de las proporciones relativas de los grupos funcionales en función del tamaño de las láminas de GO, pareciendo señalar que la concentración relativa de OH sea mayor en las láminas de mayor tamaño.



Gráfica 10. Pico C1s de los espectros de XPS a) GO b) GO 16 k c)GO 8k



Gráfica 11. Porcentaje de área de grupos funcionales en el pico de carbono.

6.2 Óxido de grafeno reducido

6.2.1 Espectroscopía UV-VIS

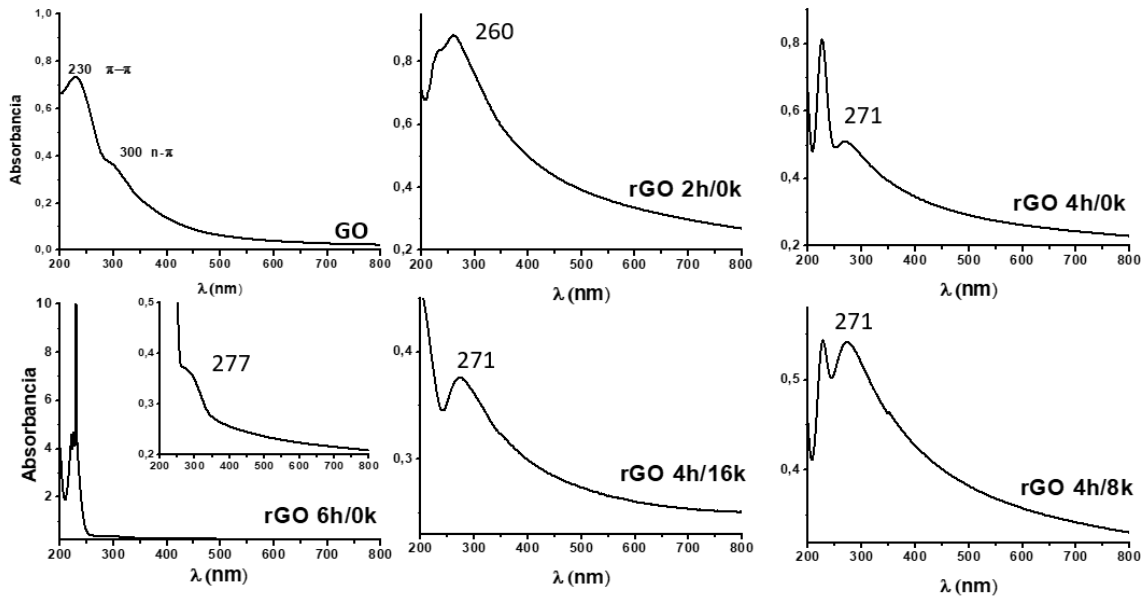
En un espectro de óxido de grafeno reducido la banda en 300 nm desaparece, y la banda de 230 nm se desplaza hacia el rojo, es decir es una transición de menor energía ya que la distancia entre los orbitales π y π^* disminuye, esto debido a que aumentan los enlaces π en la lámina de rGO.

A diferencia del espectro de GO de partida en los espectros de los diferentes rGO (11a,11b,11c,11d,11e) se observa una banda de distintas intensidades a 226 nm. Esta banda se puede observar en el espectro Uv-vis del HI (gráfica 13), por lo que se puede asociar con la presencia de yodo en las muestras de rGO, y su intensidad es función directa de la cantidad de yodo presente. EL rGO 6h tiene la mayor cantidad de yodo y en el rGO 16k la menor cantidad.

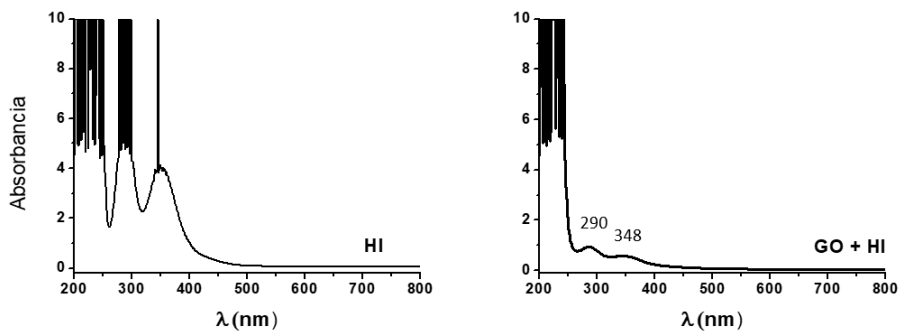
Se sabe que el GO y rGO apagan la fluorescencia de moléculas adsorbidas que la presentan, en la gráfica 12 se observa que la interacción del GO (0.01 mg/ml) con HI (0.1M) también es capaz de disminuir la absorción. Cuando se coloca una dispersión de GO en una disolución de HI, las bandas en 290nm y 380 nm disminuyen mucho su intensidad, no así la de 226 nm.

En cuanto a la banda de absorción de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$, se puede observar en la gráfica 12 que el menor corrimiento es para el rGO con menor tiempo de reacción, el rGO 2h/0k (dos horas de reacción) tienen un máximo de absorción en 260nm. Las muestras con tiempos de reacción de 4h, (rGO 4h/0k), rGO 4h/16k y rGO 4h/8k, tienen un máximo de absorción de 271 nm. La mayor

longitud de onda de absorción es para el rGO 6h/0k, el cual tuvo un tiempo de reacción de 6h y sería el que presenta mayor grado de reducción.



Gráfica 12. Espectros UV-VIS de a) rGO 2h/0k, b) rGO 4h/0k, c) rGO 6h/0k, d) 4h/16k, e)4h/8k

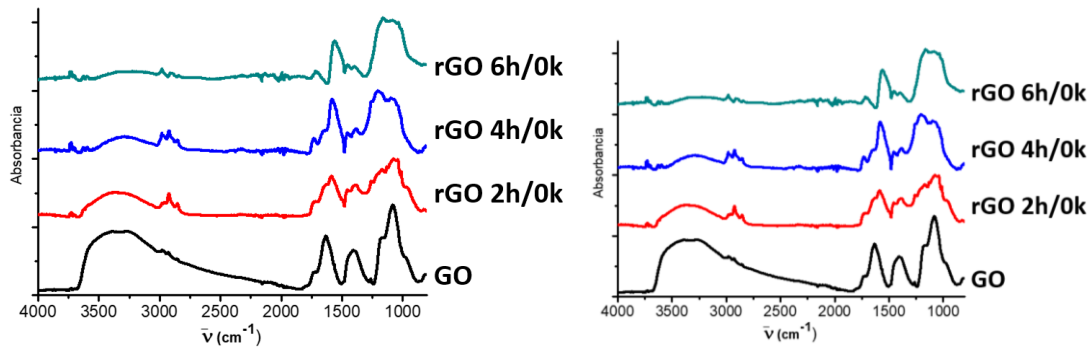


Gráfica 13. Espectros UV-vis de HI y de HI+GO.

6.1.2 Espectroscopía IR

En los IR, se puede observar cómo con el aumento del tiempo de reacción disminuye la banda asociada al agua (3200 cm^{-1}), esto se debe a que, al disminuir los grupos oxigenados en las láminas, los puentes de hidrógeno que se pueden formar son menos, por lo cual el rGO es menos higroscópico entre más reducido se encuentre (gráfica 14).

Se observa una disminución significativa con respecto a otros grupos funcionales, como es el caso de la banda en 1407 cm^{-1} de los alcoholes terciarios.

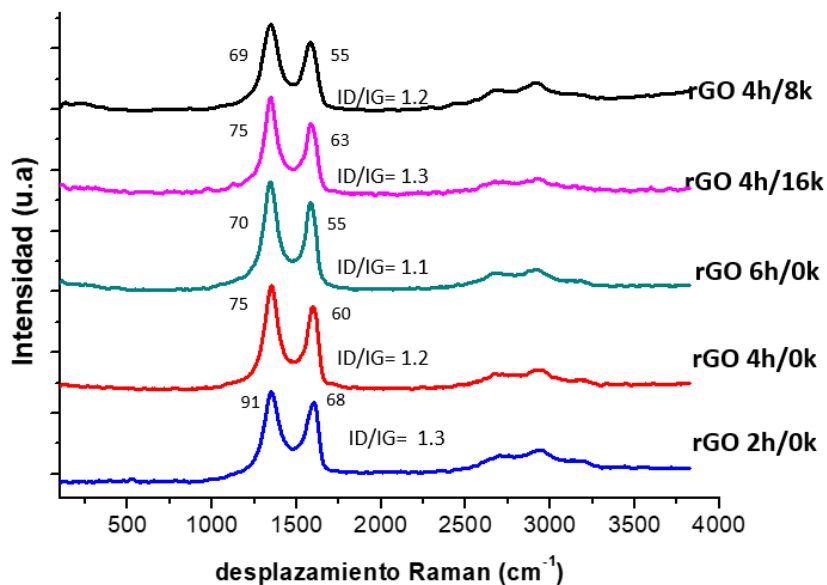


Gráfica 14. Espectros IR de rGO

Espectroscopía Raman

La relación I_D/I_G de todos los rGO obtenidos es mayor que las de los GO de partida. La anchura a la mitad de la altura de la banda, en todos los casos son menores que las de los de los GO de partida (ver gráfica 7). Por lo cual, se puede decir que mediante la reducción con yodo hay restauración de los dobles enlaces en la lámina de grafeno, o disminución de defectos en comparación con el óxido de grafeno reducido. Además, las anchuras de las bandas G y D disminuyen conforme aumenta el tiempo de reacción, y con respecto a las fracciones separadas, también disminuyen las anchuras después de 4h de reacción.

De los rGO obtenidos el que tiene la menor cantidad de defectos es el rGO 4h/8k, la cual proviene del GO 8k, que es la dispersión de GO con láminas más grandes y que de un inicio tiene la menor cantidad de defectos.



Gráfica 14. Espectros Raman de rGO

6.2.4 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)

En la tabla 6 se muestran las relaciones C/O en los distintos rGO's, en todos ellos se observa una relación mayor que la correspondiente al GO, lo cual es indicativo de que efectivamente se dio la reducción de las muestras de GO originales. Adicionalmente, la relación C/O mayor de 4.73 corresponde al rGO 6, el cual tiene el mayor tiempo de reducción. Y la menor relación de 2.46 que corresponde al menor tiempo de reducción.

Los óxidos de grafeno reducidos 4 h, rGO 4, rGO 16k y rGO 8k, tienen distintas relaciones C/O siendo la mayor para rGO 16k y la menor para rGO 8k. Lo cual nos indica que el GO con láminas más pequeñas se redujo más.

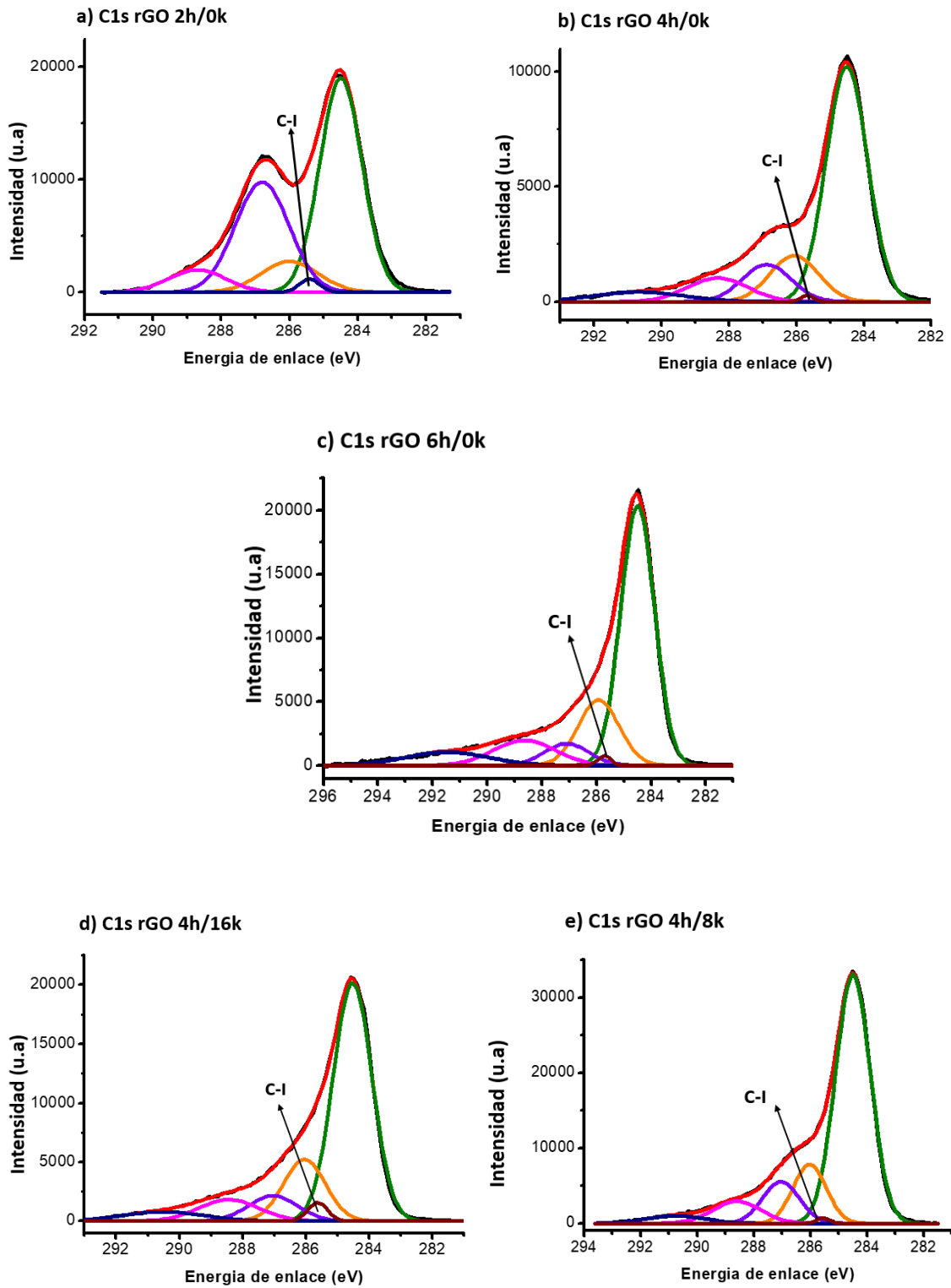
	C/O	%I	%N
rGO 2h/0k	2.46	0.1	0
rGO 4h/0k	3.99	0.2	0.8
rGO 6h/0k	4.73	0.6	1.8
rGO 4h/16k	4.32	0.1	2.5
rGO4h/8k	3.95	0.1	0

Tabla 6. Relación C/O, %I y % N en los distintos rGOs.

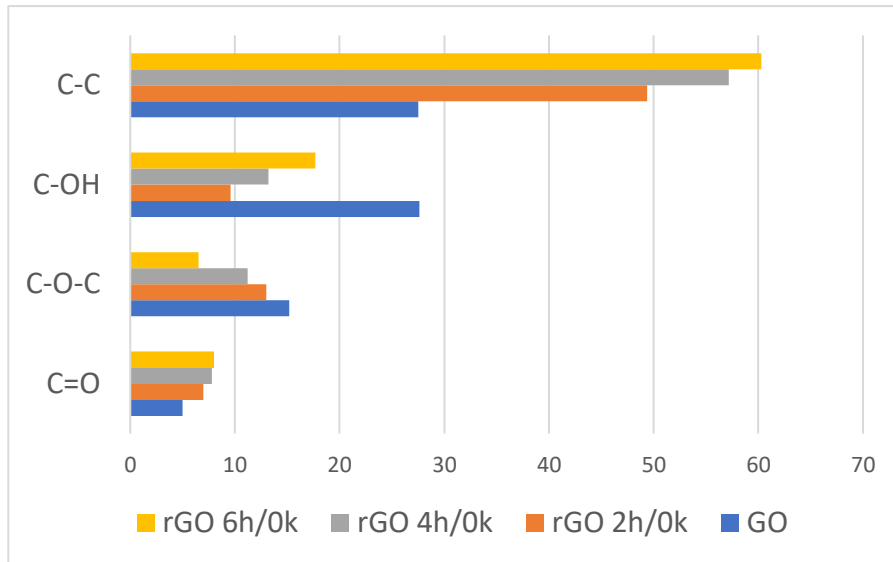
En los espectros de XPS de las muestras de rGO, se encontró una banda a 620 eV, la cual corresponde al desplazamiento químico del yodo que proviene del HI que se usó como reductor. El rGO con la mayor cantidad de yodo es el rGO 6h/0k. Además, en algunas muestras se observa una banda a 400 eV, que corresponde con el desplazamiento químico del nitrógeno, este proveniente de la atmósfera de nitrógeno que se utilizó durante la reacción de reducción. A pesar de que el nitrógeno provee de una atmósfera inerte, este puede ser fisisorbido por la superficie de rGO²³.

La proporción de ácidos carboxílicos se modifica muy poco en todos los casos, por lo que se puede decir que en la obtención de rGO con HI los ácidos carboxílicos no se reducen. El GO de partida tiene la mayor proporción de hidroxilos sobre su superficie, sin embargo, después de dos horas de reacción la cantidad de hidroxilos disminuye drásticamente y aumenta después de 4h y 6h. Los epóxidos disminuyen progresivamente conforme pasa el tiempo de reacción, así la muestra con menor cantidad de epóxidos es el rGO 6h/0k.

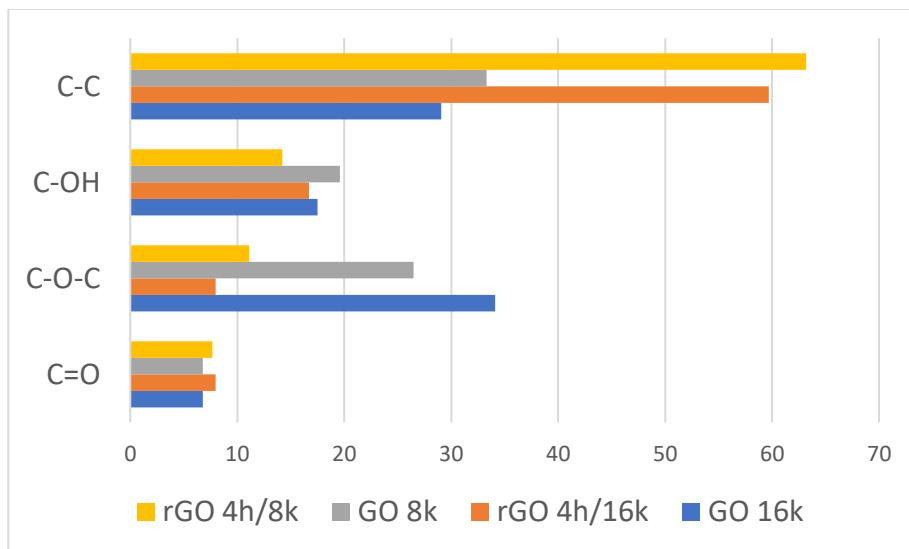
Debido a que las proporciones de epóxidos y alcoholes iniciales en el GO separados son distintas los rGO obtenidos son distintos, en comparación con el rGO 4h/0k, rGO 4h/16k y rGO 4h/8k presentan una mayor proporción de alcoholes sobre su superficie.



Gráfica 15. XPS de rGO a) 2h/0k, b) rGO 4h/0k, c) rGO 6h/0k, d) rGO 4h/16k, e) rGO 4h/8k.



Gráfica 16. Porcentaje de área de grupos funcionales en el pico de carbono 1s de rGO 0k.



Gráfica 16. Porcentaje de área de grupos funcionales en el pico de carbono 1s de rGO 16k y 8k.

7. CONCLUSIONES

Las laminas de óxido de grafeno de diferentes tamaños tienen características diferentes. Su relación C/O es distinta, siendo las láminas más pequeñas las que tienen mayor grado de oxidación. De acuerdo con los espectros Raman tienen una menor cantidad de defectos sobre su superficie y tienen una menor carga superficial.

Mediante la reducción de óxido de grafeno con yodo a diferentes tiempos y con distintos tamaños es posible obtener óxidos de grafeno con distintas propiedades. De acuerdo con la literatura el

óxido de grafeno reducido con yodo tiene las mejores relaciones C/O de las reducciones químicas, la mayor relación C/O obtenida es de 4.73, sin embargo, esta relación se obtuvo de un tiempo de reacción de 6 horas, mientras que en la literatura se observan tiempos de reacción desde 10 horas hasta 40 horas.

El óxido de grafeno reducido con menor cantidad de defectos fue el de rGO 4h/16k a pesar de que no fue el rGO con mayor relación C/O, sin embargo, el GO de partida si fue el de menor cantidad de defectos.

Todos los óxidos de grafeno reducidos están funcionalizados con yodo y debido a la atmósfera de nitrógeno dos de las muestras también presentan nitrógeno en su superficie.

La siguiente etapa del proyecto consta de probar el funcionamiento de los sustratos obtenidos en GERS con distintas biomoléculas, tanto para amplificar su señal, como para comprobar su eficiencia en el apagamiento de la fluorescencia.

8. Bibliografía

1. Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W., & Ruoff, R. S. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chemical society reviews*, 39(1), 228-240.
2. Dimiev, A. M., & Eigler, S. (Eds.). (2016). *Graphene oxide: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
3. Xu, W., Mao, N., & Zhang, J. (2013). Graphene: a platform for surface-enhanced Raman spectroscopy. *Small*, 9(8), 1206-1224.
4. Loh, K. P., Bao, Q., Eda, G., & Chhowalla, M. (2010). Graphene oxide as a chemically tunable platform for optical applications. *Nature chemistry*, 2(12), 1015.
5. Mathkar, A., Tozier, D., Cox, P., Ong, P., Galande, C., Balakrishnan, K., ... & Ajayan, P. M. (2012). Controlled, stepwise reduction and band gap manipulation of graphene oxide. *The journal of physical chemistry letters*, 3(8), 986-991.
6. Compton, O. C., & Nguyen, S. T. (2010). Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: versatile building blocks for carbon-based materials. *small*, 6(6), 711-723.
7. Erickson, K.; Erni, R.; Lee, Z.; et al., Determination of the local chemical structure of graphene oxide and reduced graphene oxide. *Adv. Mater.* 2010, 22 (40), 4467–4472.
8. Pei, S., & Cheng, H. M. (2012). The reduction of graphene oxide. *Carbon*, 50(9), 3210-3228.
9. Chua, C. K., & Pumera, M. (2014). Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry viewpoint. *Chemical Society Reviews*, 43(1), 291-312.
10. Pei, S., Zhao, J., Du, J., Ren, W., & Cheng, H. M. (2010). Direct reduction of graphene oxide films into highly conductive and flexible graphene films by hydrohalic acids. *Carbon*, 48(15), 4466-4474.

11. Leo, I. M., Soto, E., Vaquero, F., Mota, N., Garcia, B., Liuzzi, D., ... & Fierro, J. L. G. (2017). Influence of the reduction of graphene oxide with hydroiodic acid on the structure and photoactivity of CdS–rGO hybrids. *Topics in Catalysis*, 60(15-16), 1183-1195.
12. Moon, I. K., Lee, J., Ruoff, R. S., & Lee, H. (2010). Reduced graphene oxide by chemical graphitization. *Naturecommunications*, 1, 73.
13. Meng-Meng, Q., Wei, J., Yi-Yu, F., & Wei, F. (2013). Transparent conductive graphene films prepared by hydroiodic acid and thermal reduction. *ChinesePhysics B*, 23(2), 028103.
14. Cui, P., Lee, J., Hwang, E., & Lee, H. (2011). One-pot reduction of graphene oxide at subzero temperatures. *Chemical Communications*, 47(45), 12370-12372.
15. Das, A. K., Srivastav, M., Layek, R. K., Uddin, M. E., Jung, D., Kim, N. H., & Lee, J. H. (2014). Iodide-mediated room temperature reduction of graphene oxide: a rapid chemical route for the synthesis of a bifunctional electrocatalyst. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(5), 1332-1340.
16. Castano, F., Lazaro, A., Lombrana, S., & Martinez, E. (1983). On the fluorescence quenching of pyrene by iodine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 39(1), 33-35.
17. Naim, J. O., Lanzafame, R. J., Blackman, J. R., & Hinshaw, J. R. (1986). The in vitro quenching effects of iron and iodine on fluorescein fluorescence. *Journal of Surgical Research*, 40(3), 225-228.
18. Pazos, I. M., Roesch, R. M., & Gai, F. (2013). Quenching of p-cyanophenylalanine fluorescence by various anions. *Chemical physics letters*, 563, 93-96.
19. Kashyap, S., Mishra, S., & Behera, S. K. (2014). Aqueous colloidal stability of graphene oxide and chemically converted graphene. *Journal of Nanoparticles*, 2014.
20. Eigler, S., Hof, F., Enzelberger-Heim, M., Grimm, S., Müller, P., & Hirsch, A. (2014). Statistical Raman microscopy and atomic force microscopy on heterogeneous graphene obtained after reduction of graphene oxide. *The Journal of Physical Chemistry C*, 118(14), 7698-7704.
21. Cai, W., Piner, R. D., Stadermann, F. J., Park, S., Shaibat, M. A., Ishii, Y., ... & An, J. (2008). Synthesis and solid-state NMR structural characterization of ¹³C-labeled graphite oxide. *Science*, 321(5897), 1815-1817.
22. Khandelwal, M., & Kumar, A. (2015). One-step chemically controlled wet synthesis of graphene nanoribbons from graphene oxide for high performance supercapacitor applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(45), 22975-22988.
23. Kjems, J. K., Passell, L., Taub, H., Dash, J., & Novaco, A. D. (1976). Neutron scattering study of nitrogen adsorbed on basal-plane-oriented graphite. *Physical Review B*, 13(4), 1446.