

Obtención de grafeno mediante reducción biocatalítica e impresión 3D: Un acercamiento a un nuevo método de producción.

Ayala Julián^a, Escobar Geraldine^a, Álvarez Carlos^b, Díaz Carlos^c

^aDepartamento de Ingeniería bioquímica, Universidad Icesi

^bDepartamento Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería y Diseño, Universidad Icesi

^cJefe Departamento Ciencias Y Tecnologías, Facultad de Ingeniería y Diseño, Universidad Icesi

Palabras clave	RESUMEN
Grafeno reducido Óxido de grafeno Reducción Biocatalítica Biotinta Impresión 3D	El grafeno es un compuesto a base de carbono cuyas propiedades eléctricas y mecánicas superan las de los materiales convencionales, sin embargo, su producción es limitada debido a las altas exigencias que requiere. Como alternativa a esta problemática se ha observado la posibilidad de producir grafeno empleando agentes reductores naturales como biomasa, moléculas bioactivas y microorganismos. En este estudio se buscó la incorporación de dicha reducción empleando <i>E. Coli</i> con técnicas de impresión 3D a fin de generar estructuras a base de grafeno reducido (rOG). La verificación de la reducción se hizo mediante análisis FTIR, espectroscopia UV-Vis, y el comportamiento de la conductividad en el tiempo. La impresión se llevó a cabo haciendo uso de una biotinta a base de alginato y rOG y una impresora comercial modificada. Se obtuvo que la conductividad de la solución reaccionante se incrementa en el tiempo teniendo mayores cambios de esta propiedad en experimentos con 0,1 mg/mL de óxido de grafeno y 4 mg/mL de células. De la impresión 3D se obtuvieron estructuras homogéneas de grafeno, que se caracterizaron por ser flexibles, gomosas, pero con una alta resistividad eléctrica. Con ello si bien se comprobó que <i>E. coli</i> puede sintetizar rOG capaz de conducir la electricidad, también se identificó que, para la impresión, la matriz de la biotinta afecta las propiedades eléctricas que presenta el grafeno.

1. Introducción

Desde su descubrimiento en el 2004, el grafeno ha despertado interés en la comunidad científica debido a sus propiedades como alta conductividad eléctrica y fuerza mecánica. Sin embargo, sus métodos de síntesis se han dificultado debido a altos requerimientos energéticos y al uso de compuestos nocivos, un ejemplo de ello es la reducción por exposición a hidracina la cual genera vapores altamente tóxicos [1]. Para darle solución a estas

problemáticas se ha planteado como alternativa el uso de microorganismos como *E. coli* capaces de sintetizar Grafeno reducido (rOG) a partir de óxido de grafeno (OG) [1]. Así mismo, se ha abierto la posibilidad de producir estructuras de grafeno directamente sobre una superficie de trabajo a partir de células bacterianas mediante el uso de técnicas de impresión 3D [2].

Así pues, desarrollar un método efectivo para la síntesis de grafeno que sea menos

nocivo se presenta como una oportunidad para implementar estrategias biológicas eficientes. Una alternativa para la obtención de estructuras de grafeno se presenta en el ensamble de las dos tecnologías (reducción biocatalítica y técnicas de impresión 3D). Para ello es necesaria la elaboración de una biotinta que posea propiedades puntuales de viscosidad y densidad, para que pueda fluir a través del sistema de impresión y posteriormente depositarse sobre la superficie de trabajo. Sobre esto, Blanco y Yanala en su proyecto de grado elaboraron un sistema de extrusión que pudiera acoplarse a una impresora comercial y que permitiera mantener un control de la resolución y de la precisión de la impresión [3]. Además de preparar un prototipo de biotinta (compuesto de alginato de sodio, gelatina, solución de OG y células de *E.coli*) para llevar a cabo la reacción de reducción de forma in situ a lo largo de la impresión. Sin embargo, esta no presentó homogeneidad, no solidificó, ni se pudo comprobar el proceso de reducción.

Para darle solución a estas problemáticas, en el presente proyecto el proceso se dividió en dos etapas: en primer lugar, se buscó sintetizar el óxido de grafeno reducido por fuera de la matriz de la biotinta y en segundo lugar se incorporó el compuesto con los demás componentes de la mezcla necesarios para la solidificación, lo anterior dio paso a la impresión y caracterización de estructuras a base de grafeno reducido.

2. Materiales y Métodos

2.1. Preparación de biomasa

Para la preparación de la biomasa se reactivaron células de *E. Coli* ATCC 25922 del cepario de Ingeniería Bioquímica de la Universidad Icesi, en medio TGY durante

24 h en un volumen de 75 mL a 37 °C y 160 rpm, empleando un shaker Heidolph Unimax 1010. Las células se recogieron por centrifugación empleando una centrífuga Hettich Universal 320R por 10 minutos a 4500 rpm y 4 °C. Las células se reconstituyeron en 10 mL de solución salina y se inocularon en un volumen de 140 mL del mismo medio por 24 h más a las mismas condiciones. Para cosechar la biomasa se pasó el medio de cultivo a tubos falcon y se centrifugaron durante 10 minutos a 4500 rpm y 4 °C, finalmente se reconstituyó las células en 5 mL de agua estéril.

2.2. Preparación de la solución de Óxido de grafeno

Se utilizó una pasta de óxido de grafeno no exfoliada comercializada por Sigma Aldrich [4], y la preparación se realizó siguiendo la metodología expuesta por la misma comercializadora. Se pesó 1 g de la pasta de óxido de grafeno y se la agregó a 25 mL de agua desionizada, con agitación constante durante 16 h. Una vez la solución se homogeneizó, se ultrasonicó en un equipo SB-4200D durante media hora, la solución se llevó a centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se utilizó como solución de óxido de grafeno exfoliado al 2 %p/v.

2.3. Síntesis de óxido de grafeno reducido

Para la síntesis de grafeno, se utilizó la metodología propuesta por Gurunathan et al. (2013) [1]. Se agregó 200 mg de células de *e.coli* (inciso 2.1) a una solución de OG de 0,5 mg/mL y se dejó en agitación constante durante 72 h a 37 °C. Pasado este tiempo, se llevó a ultrasonificación durante 5 min y se centrifugó a 9000 rpm/min para

precipitar el rOG, el cual se diluyó en agua desionizada y se centrifugó a las mismas condiciones.

2.4. Verificación de la reducción

Muestras de OG y rOG obtenidos en los incisos 2.2 y 2.3 respectivamente se secaron empleando un horno al vacío y se llevaron a un análisis de FTIR por ATR en el equipo Espectrofotómetro IR Nicolet 6700, Thermoscientific en un rango de número de onda de 4000–1000 cm. Adicionalmente se efectuó un barrido de absorbancia (en un rango entre 200nm y 800nm) para el OG y el rOG en un espectrofotómetro de luz ultravioleta UV-VIS thermo scientific GENESYS 150.

Adicionalmente se verificó la reducción de forma indirecta mediante un cambio en la conductividad durante el tiempo de reacción. Para ello se realizó un diseño experimental 2² con una réplica donde los factores estudiados fueron la concentración (mg/mL) de OG y de células de *E. Coli* añadidos a la reacción de reducción. Se midió la conductividad de la solución durante los tres días de reacción empleando un conductímetro. La variable de respuesta fue el cambio de conductividad entre el día tres y el día cero.

2.5. Modificación de la impresora 3d

Se reemplazó el extrusor de una impresora 3D comercial de la universidad ICESI por el brazo robótico realizado por Blanco y Yanala en su proyecto de grado [3], adecuándole una jeringa de 10 mL a la cual previamente se le colocó una punta de micropipeta de 20 uL en la salida. La impresora se conectó a un Cnc Shield

incorporado a un Arduino al cual se le adaptó un controlador de libre acceso (GRBL). El Arduino se conectó a un PC, que contenía el software Universal Gcode sender y que sirvió de interfaz en la configuración de los patrones de movimiento de la impresora y del extrusor [5].

2.6. Impresión 3D de Estructuras de rOG

Para llevar a cabo la impresión se prepararon 20 mL de biotinta, correspondiente a una solución homogénea que contenía rOG al 2%p/v y alginato de sodio al 5% p/v. La biotinta se depositó en la jeringa del extrusor y se procedió con la impresión. Las estructuras se depositaron en CaCl₂ durante 6 horas, con un tratamiento adicional a una de las figuras en FeSO₄ y a otra en Al₂(SO₄)₃ durante 20 minutos. Las estructuras se caracterizaron visualmente y se midió su resistividad eléctrica con un voltímetro.

3. Resultados y análisis

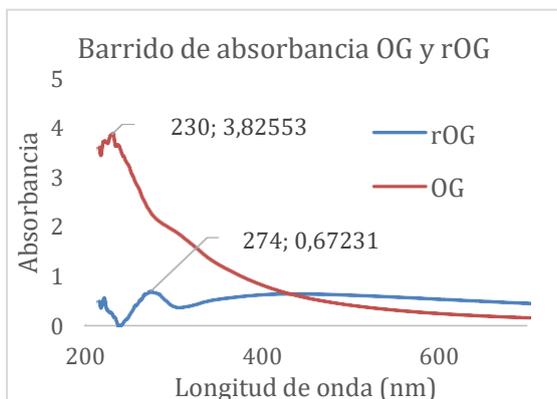
3.1. Caracterización OG y rOG.



Imagen 1: Soluciones de rOG y OG exfoliado.

La imagen 1 muestra un cambio de coloración después de la reacción donde el OG presentó un color entre amarillo y marrón claro, mientras que el rOG tiende a ser negro y precipitar. Estas características se deben a que el óxido de grafeno presenta en su plano basal grupos funcionales ricos en oxígeno (como epóxidos e hidroxilos), que interaccionan con moléculas de agua [6], generando una dispersión acuosa color café. No obstante, al haber un proceso de reducción los grupos funcionales oxigenados se remueven y el material adquiere un carácter hidrofóbico que causa una agregación de las láminas de grafeno y su posterior precipitación [6], [7].

Adicionalmente se verificó el proceso de reducción mediante espectroscopia UV-Vis obteniendo los resultados mostrados en la gráfica 1. La solución de OG mostró un pico de absorbancia a 230 nm, correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de los enlaces C=C aromáticos, que se desplaza hasta los 274 nm cuando el material se ha reducido. Este desplazamiento se debe a una recuperación de la conjugación electrónica de las láminas y a la transición $n \rightarrow \pi^*$ de los enlaces C=O.



Gráfica 1: Barrido de absorbancia en espectro UV-Vis para OG y rOG

Este resultado concuerda con los datos obtenidos por [1], [8], el primero mediante

reducción biológica con un desplazamiento de 230 nm a 300 nm y el segundo por medio de reducción química con absorbancia de 229 nm para OG y de 272 para rOG, confirmando que la reducción del óxido de grafeno se llevó a cabo con éxito.

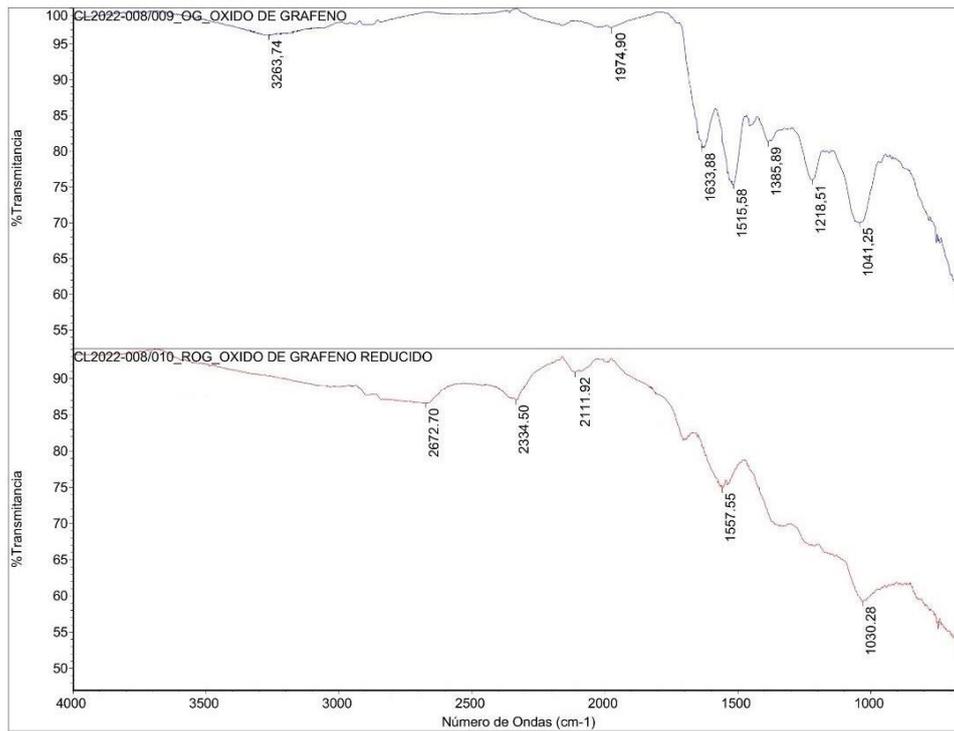
3.2. Análisis FTIR

Los espectros infrarrojos obtenidos para el OG y el rOG se muestran en la gráfica 2. En ellos se proporciona información sobre los grupos funcionales de cada compuesto. En el caso del óxido de grafeno se evidenció la presencia de bandas características para grupos funcionales que contienen oxígeno [9], entre ellos se observó un pico ancho a $3263,74 \text{ cm}^{-1}$ referente a grupos hidroxilo (OH), un pico leve a $1974,9 \text{ cm}^{-1}$ asignado al grupo benceno, una banda a $1515,55$ que se debe a hibridaciones sp^2 , a $1385,89 \text{ cm}^{-1}$ atribuido a ácidos carboxílicos (COOH) y un pico a $1218,51$ que se designó al estiramiento de los grupos epoxi (C-O-C) [10]–[12]. Para el caso del rOG las bandas de absorbancia se presentaron a $1557,55$ conservando la hibridación sp^2 , a 2672 , 2334 y 2111 asignadas a sales de amina [10], [12], [13] que no son características del grafeno pero que puede deberse a la presencia de proteínas de células residuales que quedaron después de la reducción. Como se puede observar la mayoría de los picos presentes en el OG desaparecen en el rGO debido al proceso de reducción.

Lo anterior podría atribuirse a la acción de enzimas presentes en las paredes de *e. coli*. pues Chen et al. (2017) en su estudio reducción de óxido de grafeno empleando *Azotobacter chroococcum* sugirieron que la reducción se da por la acción catalítica de enzimas nitrogenasas [14].

En este proceso las hojas de OG se unen a una proteína de la nitrogenasa donde los enlaces C-O-C y C-O se rompen debido a la adición de electrones y protones, lo que resulta en la formación de enlaces C-O-H y en la liberación de moléculas de agua, que se eliminan por reacciones de

deshidratación [14]. De esta forma la eliminación de grupos hidroxilo, epóxido, carbonilo y carboxilo presentes en el OG, da paso a la formación de hidrocarburos aromáticos propios del grafeno. El mecanismo de reacción se muestra en la ilustración 1.



Gráfica 2: espectros infrarrojos para OG y rOG

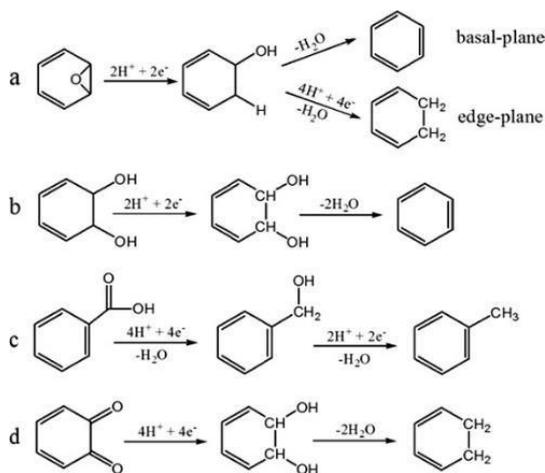


Ilustración 1: Mecanismo de reducción del GO por la nitrogenasa para: (a) el grupo epoxi en los planos basal y exterior, (b) el grupo hidroxilo en el plano basal, (c) el grupo carboxilo y (d) el grupo carbonilo en el plano exterior [14]

3.3. análisis de la conductividad a partir del diseño experimental.

Los resultados obtenidos del diseño experimental se indican en la tabla 1. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de inspeccionar el nivel de contribución de los parámetros seleccionados en el diseño. Dado que la interacción de los factores no fue significativa se ajustó el modelo eliminando la interacción, los resultados se muestran en la tabla 2. Se puede observar que la influencia de cada efecto independiente es significativa con un valor

$P < 0,05$, por otra parte, también se nota en la tabla 3 una validación del modelo estadístico presentado, pues se evidencia una alta correlación del modelo con los datos experimentales lo cual indica confiabilidad en la descripción e influencia de los efectos involucrados.

Muestras	%p/v OG	%p/v Células	Cambio conductividad (μS)
A	0,3	2	55
B	0,1	4	206
C	0,1	2	138
D	0,1	4	340
E	0,3	2	57
F	0,3	4	236
G	0,1	2	136
H	0,1	4	305

Tabla 1. Diseño experimental

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
Modelo	2	78078,3	39039,1	152,90	0,00003
Lineal	2	78078,3	39039,1	152,90	0,00003
Células	1	61425,1	61425,1	240,58	0,00002
[OG]	1	16653,1	16653,1	65,22	0,00047
Error	5	1276,6	255,3		
Falta de ajuste	1	210,1	210,1	0,79	0,42484
Error puro	4	1066,5	266,6		
Total	7	79354,9			

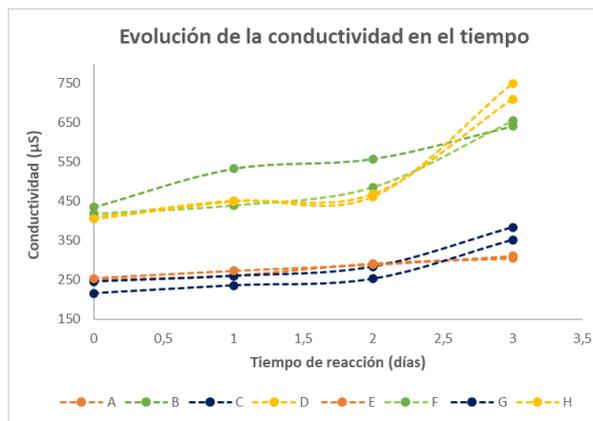
Tabla 2. Análisis de varianza

S	R-cuadrado	R-cuadrado (ajustado)	R-cuadrado (pred)
15,9789	98,39%	97,75%	95,88%

Tabla 3. Resumen del modelo

Se graficó el comportamiento de la conductividad durante los tres días de reacción arrojando los resultados mostrados en la gráfica 3. Se puede evidenciar el progreso de la reducción del OG debido a las crecientes curvas presentadas en todos los experimentos, exhibiendo mayores crecimientos los experimentos D y H correspondientes a 4mg/mL de células y 0,1mg/mL de OG.

El hecho de que se haya presentado un crecimiento de la conductividad en todos los experimentos muestra que hay un



Gráfica 3. Evolución de la conductividad en el tiempo de reacción

proceso de reducción que da paso a la formación de grafeno. Esto se debe a que en la medida en que se eliminan los grupos funcionales oxigenados se generan cuatro electrones de valencia en los átomos de carbono presentes, 3 de ellos debido a su hibridación SP^3 forman enlaces tipo σ que son los responsables de la robustez de la estructura de red en todos los alótropos del carbono [6], mientras que el electrón de valencia restante se encuentra en un orbital p , el cual durante el segundo paso de la reacción (la deshidratación) se traslapa con orbitales de átomos vecinos dando paso a la formación de enlaces π , generando un sistema de electrones altamente móviles de baja masa y baja resistencia [15].

Si bien, es cierto que la conductividad del rOG respecto al grafeno puro no es la de un superconductor esta sigue siendo muy baja respecto a otros métodos de síntesis. Esto puede deberse a que la concentración del OG inicial no es lo suficientemente alta en la solución como para generar un alto flujo de electrones, hay una eliminación incompleta de los grupos funcionales que cortan la capa de electrones π , y a que se

presentan deformaciones espaciales en el nanomaterial, pues se ha visto que por mucho que se aumente las fracciones de electrones sp^2/sp^3 por reducción, las propiedades no se logran igualar a las propiedades eléctricas del grafeno prístino [16].

Sumado a lo anterior, las concentraciones de OG y células también influye en el comportamiento de esta propiedad, pues como se dijo previamente el cambio en la conductividad fue mayor en los experimentos con concentraciones de OG de 0,1 mg/mL lo cual es contrario a lo esperado, pues se pensaba que a mayor concentración de óxido de grafeno en la solución se generaría más grafeno y la conductividad aumentaría. Sin embargo, esto se puede deber a la acción antimicrobiana que poseen las láminas de OG pues se ha visto que es posible una afectación a las paredes celulares de bacterias tanto gramnegativas como grampositivas [17], pues las láminas afiladas que presenta el grafeno en sus bordes pueden romper la integridad de las proteínas estructurales de membrana.

Por otra parte, también el óxido de grafeno puede generar aislamientos de las bacterias mediante una encapsulación [18] por lo cual se puede ver reducida la acción catalítica de las enzimas responsables de la reducción, así a mayores concentraciones de OG la inhibición puede ser proporcional, pues la mayoría de los efectos antimicrobianos de nanomateriales a base de carbono dependen de la dosis en el medio [19]–[21]. Lo anterior sugiere que en soluciones con concentraciones menores como 0,1 mg/mL se dé una mejor reacción ya que se conserva las propiedades catalíticas de las enzimas involucradas.

3.4. Caracterización del material impreso y aplicabilidad de la técnica.

De las estructuras impresas se obtuvo que la estructura que fue tratada con $FeSO_4$ se oxidaba y luego se deformaban, la que se trató con $Al_2(SO_4)_3$ producía un recubrimiento blanco sobre la figura de grafeno correspondiente a sulfato de calcio. Mientras que las que solo pasaron por cloruro de calcio no presentaron ningún inconveniente por lo cual se decidió continuar con la impresión realizando este último tratamiento. Las estructuras se caracterizaron visualmente observando que eran flexibles, de consistencia gomosa y con una coloración negro opaco (Imagen 2).



Imagen 2: Estructura impresa a base de rOG.

Adicionalmente, se evaluó la resistividad del material correspondiente a $0,35 M\Omega/cm^2$, lo cual indicó que el material se comportaba como un aislante y no como un superconductor. Esto se atribuye a que el alginato de calcio no tiene un flujo libre de electrones capaces de ser movibles como lo hace el grafeno, la cantidad de rOG que se adiciona estaba en muy baja proporción para la estructura impresa, y como se señaló previamente las soluciones de rOG no poseían grandes conductividades, lo que no

aportó significativamente en disminuir la resistencia que genera el alginato de calcio.

Si bien se obtuvo que la reacción entre el cloruro de calcio y el alginato de sodio afecta la conductividad eléctrica del grafeno, en el presente estudio se presenta un acercamiento a la impresión 3D de este material, pues esta técnica exhibe una gran oportunidad para la fabricación de diversos materiales que requieren mucha complejidad o que no siempre pueden adaptarse a las necesidades de las personas.

Dentro de las aplicaciones que puede tener la impresión 3D de grafeno se encuentra la obtención de sensores capacitivos (touch) utilizados en una amplia gama de productos electrónicos, en la creación de circuitos superconductores de electricidad para usos en electrónica, en electrodos de baterías y en partes mecánicas y funcionales de alta resistencia [22].

Otra aplicabilidad de esta técnica incluye el uso del grafeno como un aditivo en la fabricación de materiales biomédicos como lo demostraron García et al. [23] en donde fabricaron una resina reforzada con grafeno, que se usó como aproximación en la impresión 3D de un material que sirviera de andamiaje óseo. Adicionalmente, en el estudio llevado a cabo por Campaña et al. [24] se incorporó grafeno al ácido poliláctico (PLA) obteniendo una mejora en las propiedades mecánicas de este polímero, lo cual se muestra como una gran alternativa en la fabricación de prótesis e implantes quirúrgicos. Incluso dentro de este mismo sector se ha visualizado su implementación en la fabricación personalizada de prótesis, y férulas.

Aunque la mayoría de las aplicaciones nombradas anteriormente se han hecho a partir de grafeno puro, en un estudio realizado por Investigadores del Imperial College of London elaboraron una biotinta a partir de rOG obtenido mediante reducción química, el cual lo emplearon en la creación de estructuras geométricas, pinturas y films, no obstante algunas de sus figuras se encogieron macroscópicamente entre un 4% y un 7%, aunque sus propiedades como la conductividad eléctrica se mantuvieron alcanzando valores de $0,4 \text{ S cm}^{-1}$ [25].

Así pues, se muestra que la impresión biológica en 3D de óxido de grafeno reducido es una alternativa de alta aplicabilidad para la síntesis de diversos materiales. Sin embargo, es necesario ampliar su investigación de manera que se optimicen sus propiedades, rendimientos y resolución.

4. Conclusión

A partir de los resultados obtenidos se comprobó que *E.coli* es capaz de sintetizar grafeno a partir de la reducción del óxido de grafeno, lo cual se probó mediante un análisis FTIR, espectroscopia UV-visible y un aumento de la conductividad a lo largo del tiempo de reacción, viéndose favorecida cuando se utiliza $0,1 \text{ mg/mL}$ de OG y 4 mg/mL de células. Adicionalmente se evidenció que la mezcla entre alginato y rOG es capaz de fluir a través del sistema de extrusión permitiendo la impresión 3D de estructuras semisólidas. No obstante, el alginato de calcio, así como la proporción del rOG hace que la estructura de grafeno se comporte como un material aislante y no como un conductor. Se recomienda

evaluar otra matriz para la elaboración de la biotinta, así como la proporción de OG y células empleadas en la reducción, de manera que incremente la conductividad del material resultante.

5. Agradecimientos

Agradecemos infinitamente a aquellas personas que estuvieron durante este largo proceso de formación, a nuestros amigos con quienes compartimos la mayor parte de nuestro tiempo, a nuestros familiares que aún siguen con nosotros y aquellos que a lo largo del camino nos han dejado pero que desde el cielo nos protegen, pues su memoria y amor nunca nos abandonaran.

Por último, pero no menos importante, agradecer a la universidad ICESI y a sus profesores por la formación recibida y a los asistentes de laboratorios quienes siempre fueron una mano en momentos de duda.

6. Referencias

- [1] S. Gurunathan, J. W. Han, V. Eppakayala, and J. H. Kim, "Microbial reduction of graphene oxide by *Escherichia coli*: A green chemistry approach," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 102, pp. 772–777, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.09.011.
- [2] B. A. E. Lehner, D. T. Schmieden, and A. S. Meyer, "A Straightforward Approach for 3D Bacterial Printing," *ACS Synthetic Biology*, vol. 6, no. 7, pp. 1124–1130, Jul. 2017, doi: 10.1021/acssynbio.6b00395.
- [3] J. Blanco, V. Yanala, C. Álvarez, and Díaz Carlos, "Reducción biocatalítica del óxido de grafeno mediante deposición in situ y técnicas de impresión en 3D," 2021.
- [4] Sigma Aldrich, "Graphene oxide." <https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/product/aldrich/900704> (accessed Jun. 09, 2022).
- [5] Dejan, "How to Setup GRBL & Control CNC Machine with Arduino," Jan. 26, 2022. <https://howtomechatronics.com/tutorials/how-to-setup-grbl-control-cnc-machine-with-arduino/> (accessed Jun. 09, 2022).
- [6] R. Romero, "Síntesis de Grafeno Derivado Químicamente mediante la Reducción Química de Óxido de Grafeno," Apr. 2015, Accessed: Jun. 09, 2022. [Online]. Available: <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/811/3/TMI-PICYTR6S52015.pdf>
- [7] V. García, "ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DEL ÓXIDO DE GRAFENO CON EL TIEMPO," Jul. 2013, Accessed: Jun. 09, 2022. [Online]. Available: <http://hdl.handle.net/10651/19083>
- [8] C. De and I. Mecánica, "ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE MECÁNICA 'SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ÓXIDO DE GRAFENO Y ÓXIDO DE GRAFENO REDUCIDO.'" [9] C. H. Manoratne, S. R. D. Rosa, and I. R. M. Kottegoda, "XRD-HTA, UV Visible, FTIR and SEM Interpretation of Reduced Graphene Oxide Synthesized from High Purity Vein Graphite," *Material Science Research India*, vol. 14, no. 1, pp. 19–30, Jun. 2017, doi: 10.13005/msri/140104.
- [10] R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, and D. L. Bryce, "SPECTROMETRIC IDENTIFICATION OF ORGANIC COMPOUNDS."
- [11] G. Surekha, K. V. Krishnaiah, N. Ravi, and R. Padma Suvarna,

- "FTIR, Raman and XRD analysis of graphene oxide films prepared by modified Hummers method," in *Journal of Physics: Conference Series*, Jun. 2020, vol. 1495, no. 1. doi: 10.1088/1742-6596/1495/1/012012.
- [12] S. M. S. Al-Mufti, A. Almontasser, and S. J. A. Rizvi, "Influence of temperature variations on the dielectric parameters of thermally reduced graphene oxide," *Materials Today: Proceedings*, vol. 57, pp. 1713–1718, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2021.12.344.
- [13] V. Țucureanu, A. Matei, and A. M. Avram, "FTIR Spectroscopy for Carbon Family Study," *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 46, no. 6. Taylor and Francis Ltd., pp. 502–520, Nov. 01, 2016. doi: 10.1080/10408347.2016.1157013.
- [14] Y. Chen *et al.*, "Microbial reduction of graphene oxide by *Azotobacter chroococcum*," *Chemical Physics Letters*, vol. 677, pp. 143–147, 2017, doi: 10.1016/j.cplett.2017.04.002.
- [15] Z. Wang, H. Gao, Q. Zhang, Y. Liu, J. Chen, and Z. Guo, "Recent Advances in 3D Graphene Architectures and Their Composites for Energy Storage Applications," *Small*, vol. 15, no. 3. Wiley-VCH Verlag, Jan. 18, 2019. doi: 10.1002/smll.201803858.
- [16] applynano, "PROPIEDADES Y APLICACIONES ELÉCTRICAS DEL GRAFENO," Apr. 30, 2018. <https://applynano.com/propiedades-y-aplicaciones-electricas-del-grafeno/#:~:text=La%20conductividad%20el%C3%A9ctrica%20se%20ve,de%20resistencia%20el%C3%A9ctrica%204M%CE%A9%2Fsq> (accessed Jun. 08, 2022).
- [17] O. Akhavan and E. Ghaderi, "Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria," *ACS Nano*, vol. 4, no. 10, pp. 5731–5736, Oct. 2010, doi: 10.1021/nn101390x.
- [18] O. Akhavan, E. Ghaderi, and A. Esfandiari, "Wrapping bacteria by graphene nanosheets for isolation from environment, reactivation by sonication, and inactivation by near-infrared irradiation," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 115, no. 19, pp. 6279–6288, May 2011, doi: 10.1021/jp200686k.
- [19] X. Kang, J. Wang, H. Wu, I. A. Aksay, J. Liu, and Y. Lin, "Glucose Oxidase-graphene-chitosan modified electrode for direct electrochemistry and glucose sensing," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 25, no. 4, pp. 901–905, Dec. 2009, doi: 10.1016/j.bios.2009.09.004.
- [20] D. Y. Lyon, L. Brunet, G. W. Hinkal, M. R. Wiesner, and P. J. J. Alvarez, "Antibacterial activity of fullerene water suspensions (nC 60) is not due to ROS-mediated damage," *Nano Letters*, vol. 8, no. 5, pp. 1539–1543, May 2008, doi: 10.1021/nl0726398.
- [21] M. Fang, Z. Zhang, J. Li, H. Zhang, H. Lu, and Y. Yang, "Constructing hierarchically structured interphases for strong and tough epoxy nanocomposites by amine-rich graphene surfaces," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 20, no. 43, pp. 9635–9643, Nov. 2010, doi: 10.1039/c0jm01620a.
- [22] A. Prieto, "Estudio comparativo entre la obtención de piezas mediante impresión 3D y su obtención mediante moldes u otros procesos de fabricación," Jul. 2020.
- [23] S. Hernández, "FABRICACIÓN DE ESTRUCTURAS REFORZADAS CON GRAFENO MEDIANTE IMPRESIÓN 3D PARA

- APLICACIONES BIOMÉDICAS,” Aug. 2021, Accessed: Jun. 09, 2022. [Online]. Available: <https://repositorio.comillas.edu/xmlui/bitstream/handle/11531/51314/TFM-Hernandez%20Blanco%2C%20Sergio.pdf?sequence=1>
- [24] F. Campaña G., J. Uquillas S., E. Villamarín B., G. Yáñez-Jácome, D. Romero-Estévez, and F. Pilaquinga F., “POTENCIAL USO DE NANOMATERIALES COMBINADOS CON ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA) EN PRÓTESIS ORTOPÉDICAS: UNA REVISIÓN,” *infoANALÍTICA*, vol. 10, no. 1, pp. 15–41, Jan. 2022, doi: 10.26807/ia.v10i1.204.
- [25] E. García-T̂ On *et al.*, “Printing three dimensions with Graphene,” *Advanced Materials*, vol. 27, no. 10, pp. 1688–1693, Mar. 2015, doi: 10.1002/adma.201405046.



Geraldine Escobar G.