



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
GRAFENO: SÍNTESIS,
PROPIEDADES Y APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

Autor: Alba Rodríguez Villalón

Tutor: Isabel Izquierdo Barba

Convocatoria: Junio 2016

ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS.....	4
METODOLOGÍA.....	5
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
1. SÍNTESIS Y FABRICACIÓN DEL GRAFENO.....	6
<i>Exfoliación mecánica.....</i>	<i>6</i>
<i>Solución de exfoliación.....</i>	<i>6</i>
<i>Crecimiento epitaxial utilizando SiC como sustrato</i>	<i>7</i>
<i>Deposición química de vapor.....</i>	<i>7</i>
<i>Níquel como catalizador.....</i>	<i>8</i>
<i>Cobre como catalizador.....</i>	<i>8</i>
<i>Mecanismo de transferencia</i>	<i>9</i>
2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y PROPIEDADES DEL GRAFENO	10
<i>Propiedades eléctricas.....</i>	<i>10</i>
<i>Permeabilidad.....</i>	<i>10</i>
<i>Propiedades mecánicas y elasticidad</i>	<i>10</i>
<i>Otras propiedades</i>	<i>11</i>
<i>Toxicidad</i>	<i>11</i>
3. APLICACIONES BIOMÉDICAS DEL GRAFENO	12
<i>Biosensores.....</i>	<i>12</i>
<i>Espectroscopía de masa</i>	<i>13</i>
<i>Control del crecimiento celular.....</i>	<i>13</i>
<i>Crecimiento bacteriano</i>	<i>13</i>
<i>Cultivo de células de mamíferos</i>	<i>13</i>
<i>Diferenciación de células madre.....</i>	<i>13</i>
<i>Portadores.....</i>	<i>14</i>
<i>De genes.....</i>	<i>14</i>
<i>De fármacos.....</i>	<i>14</i>
<i>Tratamiento del cáncer</i>	<i>14</i>
V. CONCLUSIONES	15
BIBLIOGRAFÍA	16

EL GRAFENO: SÍNTESIS, PROPIEDADES Y APLICACIONES BIOMÉDICAS

RESUMEN

Introducción: El grafeno es un material excepcional en cuanto a estar formado por una única lámina de átomos de carbono con unas propiedades únicas que ha generado un fuerte interés en el campo biomédico desde que sus descubridores ganaron el Premio Nobel en el año 2010.

Objetivos: Se ha realizado una revisión completa de los métodos de síntesis del grafeno, análisis de sus propiedades y sus aplicaciones biomédicas más importantes hoy en día.

Material y métodos: Revisión, documentación e investigación bibliográfica de varios artículos científicos de gran relevancia con un posterior análisis de los resultados.

Resultados: El método de síntesis que permite la fabricación a gran escala y controlar mejor el crecimiento del grafeno es la deposición por química del vapor (CVD) utilizando cobre como catalizador. Sin embargo, para la síntesis del óxido del grafeno es preferible utilizar el método basado en la solución de exfoliación. El grafeno se caracteriza por sus propiedades eléctricas y mecánicas, lo que le confiere una elevada conductividad eléctrica y una resistencia a la rotura superior a otros materiales. Sin embargo, uno de sus inconvenientes es la elevada citotoxicidad, aunque esta disminuye notablemente al funcionalizar las láminas de grafeno o óxido de grafeno (GO). Así podemos utilizar el grafeno funcionalizado en la fabricación de biosensores para la detección de biomoléculas, en la espectroscopía de masas, en el crecimiento de células madre y un importante avance en el tratamiento del cáncer.

Conclusión: El grafeno y sus derivados son materiales prometedores para aplicaciones biomédicas ya que al funcionalizarse puede dirigirse a las células donde debe ejercer su acción, además de eliminarse de manera rápida en el organismo. Por lo tanto, no resulta increíble que este material tan novedoso esté en apogeo.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El grafeno se define como una fina lámina plana de átomos de carbono con hibridación sp^2 en dos dimensiones (2D), formando una estructura similar a un panel de abeja¹ (Ilustración 1). Fue aislado por primera vez en el año 2004, por los físicos Andre K. Geim y Konstantin S. Novoselov, al pegar un trozo de celo sobre la superficie de un grafito, pero no fue hasta el año 2010 cuando el grafeno comenzó a generar interés en el resto de los científicos, al ganar sus descubridores el Premio Nobel de física.

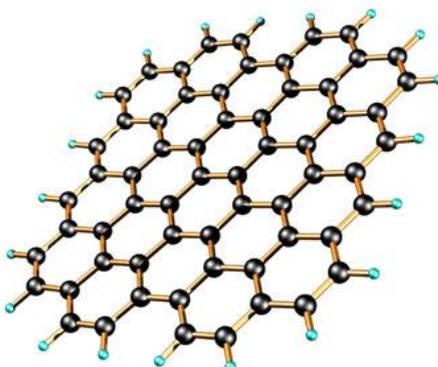


Ilustración 1: Estructura de una lámina de grafeno

Este interés fue debido a las características únicas del material, como la excelente conductividad eléctrica², su amplia superficie³, dureza⁴ y una gran conductividad térmica⁵. Además, al proceder de una sustancia natural como el grafito, tiene menor riesgo ambiental que los materiales inorgánicos.

Debido a que tiene un tamaño de 50 nm^5 es considerado un “nanomaterial”. La nanotecnología se basa en el control de la materia a escalas de entre 1 y 100 nanómetros⁶ y ha sufrido un gran avance en los últimos años. Uno de sus avances a destacar se encuentra en el campo biomédico, con el uso de materiales con características especiales como los puntos cuánticos (QD) o los nanotubos de carbono, utilizados para la obtención de imágenes o tratamiento de cáncer⁷. El grafeno y sus derivados, el óxido de grafeno, están siendo estudiados para sus aplicaciones biomédicas como sensores FET/FRET, espectroscopia de masa, diferenciación celular y control de su crecimiento y en el tratamiento del cáncer, entre otros.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es dar una visión general sobre el grafeno en diferentes aplicaciones biomédicas. Se revisarán los diferentes métodos de síntesis del grafeno que existen, así como sus ventajas e inconvenientes. Además, se enumeran las propiedades físico químicas que hacen a este material tan interesante y con tanta repercusión hoy en día.

Se analizará también la toxicidad del grafeno y sus derivados, así como las diferentes estrategias para evitarla, con el fin de poder utilizarlos en aplicaciones biomédicas. Por último, se expondrán algunas de las aplicaciones biomédicas más importantes del grafeno.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica en las principales bases de datos online y bibliotecas. En primer lugar, se utilizó la base de datos Pubmed (NCBI) utilizando las palabras clave “*graphene*”, “*graphene oxide*”, “*nanotechnology*” o “*Chemical Vapor Deposition*”. Así mismo, se ha realizado una búsqueda de nuevos artículos de interés en Google Scholar y páginas oficiales del grafeno.

A continuación, se han seleccionado y estudiado los artículos encontrados, basándonos en primer lugar en la lectura del “abstract” de cada uno, y, en caso de concordancia con nuestro objeto de estudio, el artículo completo.

A partir de las ideas sustraídas de cada uno de los artículos seleccionados se ha procedido a la redacción del trabajo atendiendo a la estructura establecida para la realización del Trabajo de Fin de Grado por la Facultad de Farmacia.

Por último, se ha añadido al final del trabajo la bibliografía utilizada, siguiendo la aparición cronológica en el texto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. SÍNTESIS Y FABRICACIÓN DEL GRAFENO

La síntesis de grafeno es muy complicada debido a que el objetivo es separar una única lámina de carbono de un mineral, el grafito. Tras varios intentos, la primera manera de obtenerlo fue pegando celo sobre la superficie del grafito⁸, de tal manera que se conseguían láminas de grafeno a partir de grafito pirolítico altamente orientado (HOPG); estas láminas eran estables en condiciones ambientales con una alta calidad. Este método se le denominó “**Exfoliación mecánica**” (*Mechanical Exfoliation*). Sin embargo, esta técnica tiene múltiples limitaciones, puesto que no se puede controlar el tamaño, el grosor, ni la orientación de las láminas de carbono, lo que obstaculizaba la producción a mayor escala.

Por ello, se han investigado nuevas técnicas de síntesis aplicables a gran escala. Una de ellas es la denominada “**Solución de exfoliación**” (*Solution based exfoliation of Graphene Oxide*) a partir del cual obtenemos Oxido de Grafeno (GO)⁹ (**Ilustración 2**). En esta técnica se parte de polvos de grafito, estos son posteriormente oxidados utilizando *el método de Hummer* que consiste en primer lugar en oxidar este polvo con NaNO_3 y H_2SO_4 a continuación se le añade KMnO_4 y agua desionizada, y, finalmente, se agrega H_2O_2 para eliminar los residuos de KMnO_4 , de manera que obtenemos GO dispersable en agua. Una vez obtenido, se somete a un proceso mecánico (ultrasonido, sonicación) que permite la interacción de los grupos funcionales con oxígeno, obtenidos en el proceso de oxidación, con el agua. A continuación, se tiene que separar el GO obtenido de las trazas de grafito mediante un proceso de centrifugado. Este GO puede ser reducido o restaurado por procesos térmicos o químicos utilizando agentes reductores obteniendo así un compuesto conocido como “Oxido de grafeno reducido” (rGO). Sin embargo, los derivados de grafeno obtenidos durante esta síntesis presentan múltiples impurezas en su estructura debido a procesos de oxidación y reducción incompletos, dejando grupos funcionales con oxígeno en su estructura.¹

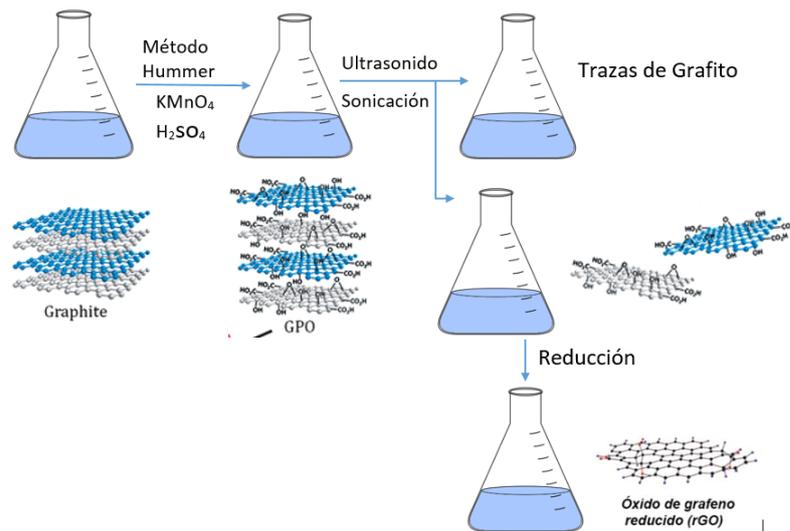


Ilustración 2: Esquema de obtención de GO por el método de solución de exfoliación

El grafeno puede obtenerse también a partir de un proceso de sublimación de los átomos de silicio procedentes de SiC a elevadas temperaturas (1300°C), y condiciones de alto vacío en un proceso denominado **“Crecimiento epitaxial utilizando SiC como catalizador”** (*Epitaxial growth using SiC substrates*)¹⁰. De este modo se han conseguido láminas de grafeno con alta movilidad y un importante comportamiento de electrones gaseosos. Sin embargo, las estrictas condiciones de síntesis de este proceso limitan la producción a gran escala del mismo.

El método de síntesis que mayor interés y mejores resultados ha conseguido es el denominado **“Deposición química de vapor”** (CVD) (Chemical vapor deposition). Este método se basa en la posibilidad del grafeno para crecer sobre Ni¹¹, Pd¹², Ru¹³, Ir¹⁴ y Cu¹⁵. Esta metodología requiere un horno de tubo que sirva para elevadas temperaturas, una cámara de vacío de cuarzo, un sistema de control de vacío y presión, para ajustar las condiciones de crecimiento, así como controladores de flujo másico para proporcionar una fuente de carbono y gases reactivos con el caudal necesario¹. (Ilustración 3)

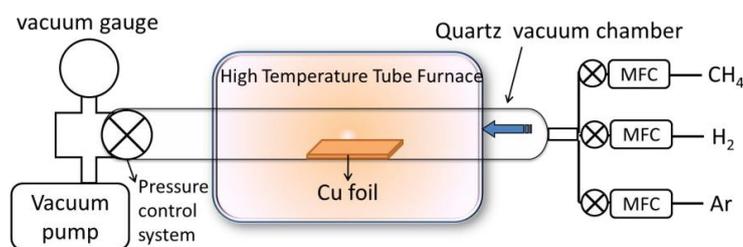


Ilustración 3: Esquema de una máquina de Deposición Química de Vapor (CDV)¹

Fundamentalmente se utilizan Cu o Ni como catalizadores de la reacción.

Níquel

La ventaja de utilizar Ni como catalizador es poder trabajar a una presión inferior a la utilizada con el método CVD, incluso es posible trabajar a presión atmosférica. El grafeno crecido sobre Ni puede ser modelado por un proceso litográfico estándar después de un proceso de transferencia. De manera alterativa, se puede moldear la lámina de níquel para conseguir que el grafeno crezca con la posición adecuada. Así, dependiendo de si utilizamos metano diluido o concentrado, podemos obtener una única capa de grafeno o multicapas, respectivamente.

Cobre

Se parte de una lámina de Cu natural que contiene óxido. En primer lugar, se somete a un proceso de recocido (annealing), por el cual se lleva a elevada temperatura en un ambiente de H₂. Con esto conseguimos eliminar el óxido que se encontraba de manera natural en la lámina de Cu. Además, permite la aparición de los primeros granos de Cu. A continuación, se adiciona metano a una velocidad de flujo pequeña durante 30 minutos, que actuará como fuente de carbono. Esto permite el crecimiento al azar del grafeno, sobretodo alrededor de los bordes de los granos anteriormente formados en la superficie de la lámina. Al mantenerse este ambiente CH₄/H₂ se continua el crecimiento del grafeno, hasta cubrir toda la superficie de la lámina.¹ (**Ilustración 4**)

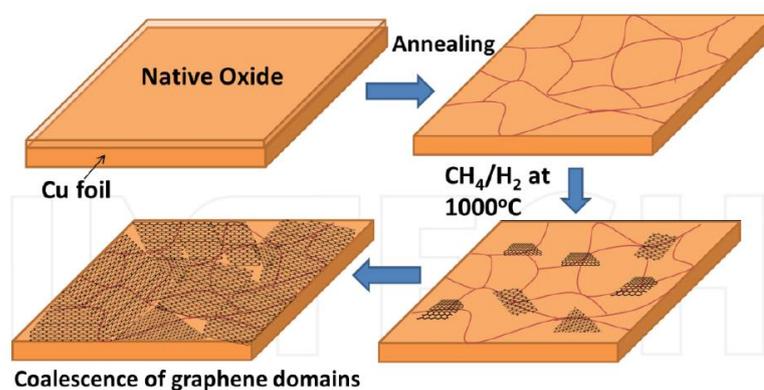


Ilustración 4: Esquema de una síntesis CVD utilizando Cu como catalizador ¹

El grafeno que crece sobre lámina de Cu es más robusto que el que crece sobre Ni.¹⁵ Una vez obtenida la lámina de grafeno es necesario trasladarla a un material aislante como tereftalato de polietileno (PET), cristal o SiO₂.

Mecanismo de transferencia

En primer lugar, la lámina de grafeno es recubierta por una lámina polimérica como polimetilmetacrilato (PMMA) o polidimetilsiloxano (PDMS), de tal manera que le va a aportar un apoyo para la posterior transferencia. A continuación, la lámina de cobre es eliminada por un proceso de “*etching*” (grabado) utilizando una solución de cloruro férrico (FeCl_3). Este proceso también puede realizarse utilizando HCl , HNO_3 , $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_8$, y CuCl_2 . Después de que el cobre haya sido completamente disuelto se traslada la membrana de grafeno unida a la PMMA a una sustancia aislante. La membrana polimérica es disuelta utilizando acetona o cloroformo, obteniendo así la lámina de grafeno sobre el material aislante.¹ (Ilustración 5)

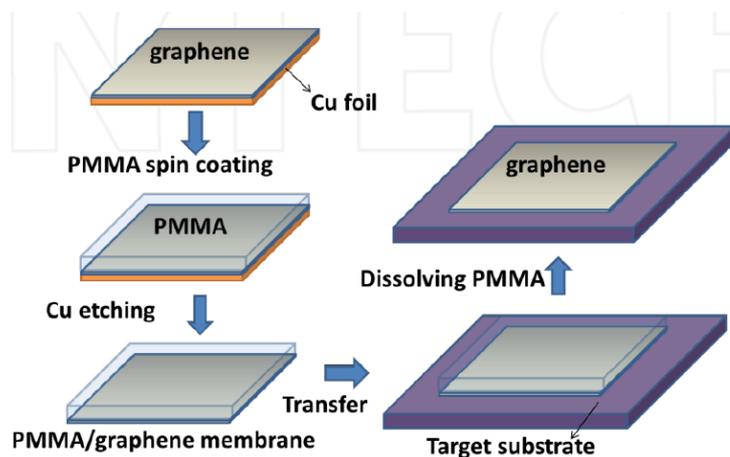


Ilustración 5: Esquema del proceso de transferencia de una lámina de grafeno sintetizada sobre Cu a una sustancia aislante¹

Esta transferencia se puede realizar con otra técnica en un proceso llamado “*roll-to-roll*”. Se une una cinta de liberación modificada a la película de grafeno que se encuentra en la lámina de cobre, esta lámina de cobre desaparece como anteriormente por un proceso de “*etching*” con agua desionizada. El grafeno unido a la cinta térmica se introduce en un rodillo y son sometidos a calor suave, que desemboca en la separación de la cinta y la lámina del grafeno y la unión de este al material diana.¹

2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y PROPIEDADES DEL GRAFENO

El grafeno tiene unas propiedades muy interesantes que lo convierten en un material muy versátil con infinitas aplicaciones en numerosos ámbitos. Como se ha explicado anteriormente, puede ser sintetizado con ayuda de diversos elementos de manera que dependiendo del elemento utilizado, el producto final puede tener diferentes propiedades.

Propiedades eléctricas

Su estructura de red hexagonal en dos dimensiones permite una superposición de las bandas de valencia (orbitales p_z) y de conductancia, proporcionándole una dispersión lineal. Es decir, permite que sus electrones se comporten como partículas sin masa que pueden moverse libremente por toda la lámina. Esta cualidad, además es independiente a la temperatura, lo que presenta una gran ventaja frente a otros dispositivos electrónicos. Otros materiales, al poseer impurezas en su estructura, dificultan y ralentizan el movimiento de los electrones, sin embargo, el grafeno al provenir únicamente de un compuesto puro carece de dichas impurezas ¹⁶.

Permeabilidad

Permite el paso de agua, sin embargo, impide el paso de elementos pequeños como el helio. ¹⁶

Propiedades mecánicas y elasticidad

Un microscopio de fuerza atómica es un instrumento capaz de detectar fuerzas de cohesión, este se aplicó de forma perpendicular a una lámina de grafeno, (**Ilustración 6**) con el objetivo de medir su límite elástico. Como el grafeno apenas presenta defectos en su red puede estirarse de forma reversible hasta un 10% de su tamaño habitual, mientras que el resto de los sólidos soportan sólo alrededor del 3%. ¹⁷.

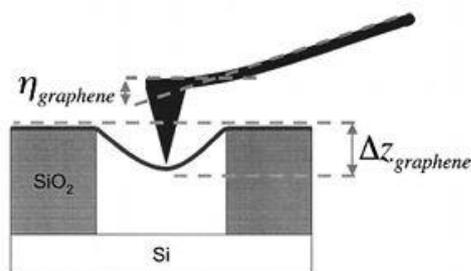


Ilustración 6: Esquema de la aplicación de un microscopio de fuerza atómica sobre una lámina de grafeno ¹⁹

El valor módulo de Young del grafeno es 0.5 TPa¹⁷, esto supone el doble que el del acero (0.21TPa) o el silicio (0.19 TPa), aunque menor que el del diamante (1.05 TPa). Esto quiere decir que tiene una gran resistencia a la rotura sin deformarse, propiedad muy útil en nanotecnología.

Estas propiedades difieren tanto del grafito, del cual procede, debido a que el grafito está constituido por láminas de grafeno unidas por fuerzas de Van der Waals las cuales, al aplicar una fuerza mecánica, se rompen con mayor facilidad que las uniones covalentes que hay entre los átomos de carbono de una lámina de grafeno.

Otras propiedades

Ligereza, capacidad de soportar radiación ionizante, evita la corrosión de otros materiales¹⁸ y capacidad de reacción con otras sustancias¹⁹.

Toxicidad

Para poder utilizar el grafeno en aplicaciones biomédicas es imprescindible conocer su toxicidad. Estudios recientes han demostrado cierta citotoxicidad celular del grafeno, que puede provocar una disminución de la adhesión celular, inducción de la apoptosis celular e introducción en ciertos compartimentos celulares²⁰. Sin embargo, al realizar estos estudios sobre GO se afirma una ausencia de citotoxicidad celular. También ha sido evaluada la influencia en la citotoxicidad de diversos factores tales como la concentración o la forma, siendo estos relevantes. Aunque el factor más relevante de todos es la funcionalización de la superficie²⁰, es decir, la introducción de grupos funcionales en la superficie del grafeno. Esta técnica puede ayudar a disminuir la fuerte interacción que hay entre el grafeno/GO y las células y tejidos. Además, puede ayudar a reducir la generación de especies reactivas de oxígeno, que desencadenan apoptosis celular por la activación de la caspasa-3. Al utilizar GO funcionalizado en estudios en vivo, se pudo comprobar como este se acumula en el sistema retículo endotelial en hígado y bazo, de tal manera que era fácilmente eliminado del cuerpo del ratón sin provocarle citotoxicidad, mientras que al administrar GO, este se acumulaba en pulmón pudiendo producir edema y formación de granulomas en el mismo²¹.

Por lo tanto, es **necesario** funcionalizar las láminas de GO y grafeno para poder utilizar en aplicaciones biomédicas.

3. APLICACIONES BIOMÉDICAS DEL GRAFENO

Biosensores

El transistor de efecto de campo (FET) de grafeno ha sido utilizado para desarrollar biosensores capaces de detectar biomoléculas importantes como ácidos nucleicos, proteínas y factores de crecimiento, funcionalizando el grafeno con ácidos nucleicos, aptámeros e hidratos de carbono. Con estos transistores ha sido también posible la detección de bioseñales en células vivas, como moléculas de catecolamina en las células PC12²² (células del feocromocitoma de la médula adrenal de ratas) o glóbulos rojos infectados con malaria²³.

El óxido de grafeno se ha utilizado como un biosensor de transferencia de energía de resonancia (FRET), basándose en la fuerte interacción con el DNA monocatenario (muy superior a la interacción con el bicatenario). Esta técnica consiste en ligar a la superficie de una lámina de GO, DNA monocatenario marcado fluorescentemente, este estará inactivado mientras esté unido a GO. Al llegar a la célula el DNA hibrida con su DNA monocatenario complementario y se separa de GO, activándose la fluorescencia inactivada, que entonces podrá ser detectada. (Ilustración 7). De esta manera, ha sido posible la detección de varias moléculas de DNA monocatenario, microRNA, proteínas (utilizando aptámeros), hormonas, ATP y toxinas fúngicas²³.

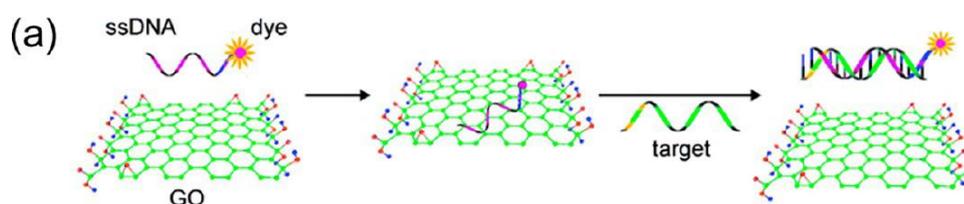


Ilustración 7: Esquema de un biosensor GO para la detección de DNA monocatenario²⁴

También se ha permitido la detección de DNA bicatenario marcándose una de sus hebras, después es desenrollado por la actuación de una helicasa, así la cadena monocatenaria del DNA desenrollado se une a GO y como anteriormente obtenemos la respuesta fluorescente. Aplicando esta técnica se han marcado péptidos permitiendo medir la actividad de proteasas como tripsina, trombina y metaloproteínasa²³.

Finalmente ha podido aplicarse en células vivas para la detección de ATP o monitorizar la actividad de la enzima Caspasa 3.

Espectroscopía de masa

El grafeno puede sustituir a las matrices orgánicas de la espectroscopía de masa utilizadas hoy un día. Las propiedades de disipación de calor y transferencia electrónica hacen que el grafeno sea más eficaz que GO o rGO. Gracias a la conjugación de aptámeros a GO, este se utiliza como sonda con una afinidad específica, sustrato de la espectroscopía y de analitos diana. Además, GO se puede utilizar como soporte para la síntesis de nanocompuestos con Fe_3O_4 (magnetita) para el enriquecimiento de antibióticos

Control del crecimiento celular

Crecimiento bacteriano

Se ha demostrado la inhibición del crecimiento bacteriano (tanto Gram positivas como Gram negativas) sobre placas de GO y rGO, siendo más eficaz este efecto antibacteriano en rGO que en GO, debido a su mayor capacidad de transferencia de carga. Se especuló que el efecto antibacteriano era debido a un estrés oxidativo, sin embargo, otro estudio también observó un crecimiento bacteriano en láminas de grafeno, en lugar de inhibición.

Cultivo de células de mamíferos

Se ha visto una alta biocompatibilidad entre tejidos tisulares y nanomateriales procedentes de carbono, lo que supone que podrían ser utilizados para la reparación de las funciones tisulares.

Diferenciación de células madre

Debido a la gran importancia de la diferenciación de células madre en las distintas líneas celulares se ha investigado la opción de utilizar el grafeno en este fin. Así un estudio reciente demuestra una mayor diferenciación neuronal de células madre mesenquimales humanas utilizando al grafeno como superficie. Esto es así porque sirve como una capa de adhesión celular con efecto de acoplamiento eléctrico para la estimulación eléctrica para la diferenciación. Además, al utilizar el grafeno como superficie también ha favorecido una mayor diferenciación de células osteogénicas. Sin embargo, la diferenciación adipogénica fue suprimida con el uso de grafeno, pero aumentada por el uso de GO, esta diferencia se explica por las diferentes propiedades que adquiere cada uno al ser funcionalizado con diferentes estructuras.

Portadores

- De genes

El transporte y liberación de genes a través de complejos de polietilenimina con plásmidos de DNA tiene una elevada citotoxicidad, esto ha sido resuelto con la introducción de GO. La polietilenimina actúa como un modificador de superficie de GO al que se une por uniones covalentes e interacciones electrostáticas, de tal manera que se consigue una alta eficacia en el transporte de plásmidos de DNA sin citotoxicidad.

Estos complejos han sido utilizados satisfactoriamente para la introducción de una secuencia de BCL-2 (cuya diana es el ARN) y doxorubicina en células HeLa, consiguiéndose así buena eficacia terapéutica²⁴.

- De fármacos

Los fármacos con solubilidad dependiente de pH pueden administrarse utilizando GO como vehículo. Al llegar al pH adecuado se produce la liberación del fármaco de GO y la correspondiente solubilidad del fármaco. Por ejemplo, es utilizado para la administración conjunta del antibiótico doxorubicina con el citotóxico camptotecina, solubles a bajos niveles pH, utilizando como portador GO conjugado con ácido fólico²⁵.

Tratamiento del cáncer

La funcionalización de GO con seis brazos de polietilenglicol ha supuesto una importante revolución en el tratamiento del cáncer. Se utiliza en terapia fototérmica, gracias a su alta absorción del espectro de infrarrojo cercano, que provoca una inducción del estrés oxidativo, una despolarización mitocondrial y una activación de la caspasa que conduce a muerte celular²⁵. Esto ha sido demostrado en ratones con carcinoma.

Para mejorar la eficacia terapéutica se ha recurrido a la combinación de la terapia química y la fototérmica, es decir, utilizar GO funcionalizado con seis brazos de polietilenglicol como vehículo de derivados de porfirina (que tienen una intensa banda de absorción, para la terapia fototérmica) y de fármacos anticancerosos (utilizado como terapia química)²⁶.

CONCLUSIONES

El grafeno es un material muy versátil, una de sus características más importantes es la posibilidad de funcionalizarlo, es decir, introducir grupos reactivos en su estructura, de manera que lo podemos dirigir a la diana que nos interese. Además, nos permite reducir su citotoxicidad permitiendo por lo tanto su uso en seres vivos. Esta funcionalización puede utilizarse también para la introducción de medicamentos. Por lo tanto, resulta evidente que el gran avance biomédico de este material, es la posibilidad de dirigir tratamientos a células o tejidos concretos por los que tiene una elevada afinidad, gracias a los grupos incorporados, además se disminuyen los efectos tóxicos de estos tratamientos gracias a su rápida eliminación. La posibilidad de utilizarlo en numerosos campos biomédicos ha sido posible gracias al diseño de un mecanismo de síntesis barato y sencillo que permite sintetizar numerosas láminas de grafeno y derivados, a nivel industrial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ajay Kumar and Chee Huei Lee (2013). Synthesis and Biomedical Applications of Graphene: Present and Future Trends, *Advances in Graphene Science*, Dr. M. Aliofkhazraei (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/55728
2. Bunch, J. S. (2008). Mechanical and electrical properties of graphene sheets (Doctoral dissertation, Cornell University).
3. Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. W., Potts, J. R., & Ruoff, R. S. (2010). Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. *Advanced materials*, 22(35), 3906-3924.
4. An, X., Butler, T. W., Washington, M., Nayak, S. K., & Kar, S. (2011). Optical and sensing properties of 1-pyrenecarboxylic acid-functionalized graphene films laminated on polydimethylsiloxane membranes. *ACS nano*, 5(2), 1003-1011.
5. Balandin, A. A., Ghosh, S., Bao, W., Calizo, I., Teweldebrhan, D., Miao, F., & Lau, C. N. (2008). Superior thermal conductivity of single-layer graphene. *Nano letters*, 8(3), 902-907.
6. Mejias Sánchez, Y., Cabrera Cruz, N., Toledo Fernández, A. M., & Duany Machado, O. J. (2009). La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico. *Revista Cubana de Salud Pública*, 35(3), 0-0.
7. Vardharajula, S., Ali, S. Z., Tiwari, P. M., Eroğlu, E., Vig, K., Dennis, V. A., & Singh, S. R. (2012). Functionalized carbon nanotubes: biomedical applications. *International journal of nanomedicine*, 7, 5361.
8. Novoselov, K. S., Geim, A. K., Morozov, S. V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S. A., & Firsov, A. A. (2004). Electric field effect in atomically thin carbon films. *science*, 306(5696), 666-669.
9. Stankovich, S., Dikin, D. A., Dommett, G. H., Kohlhaas, K. M., Zimney, E. J., Stach, E. A., & Ruoff, R. S. (2006). Graphene-based composite materials. *Nature*, 442(7100), 282-286.
10. Park, J. U., Nam, S., Lee, M. S., & Lieber, C. M. (2012). Synthesis of monolithic graphene-graphite integrated electronics. *Nature materials*, 11(2), 120-125.
11. Kim, K. S., Zhao, Y., Jang, H., Lee, S. Y., Kim, J. M., Kim, K. S., & Hong, B. H. (2009). Large-scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes. *Nature*, 457(7230), 706-710.

12. Kwon, S. Y., Ciobanu, C. V., Petrova, V., Shenoy, V. B., Bareno, J., Gambin, V., & Kodambaka, S. (2009). Growth of semiconducting graphene on palladium. *Nano letters*, 9(12), 3985-3990.
13. Sutter, P. W., Flege, J. I., & Sutter, E. A. (2008). Epitaxial graphene on ruthenium. *Nature materials*, 7(5), 406-411.
14. Coraux, J., N'Diaye, A. T., Busse, C., & Michely, T. (2008). Structural coherency of graphene on Ir (111). *Nano letters*, 8(2), 565-570.
15. Li, X., Cai, W., An, J., Kim, S., Nah, J., Yang, D., & Banerjee, S. K. (2009). Large-area synthesis of high-quality and uniform graphene films on copper foils. *Science*, 324(5932), 1312-1314.
16. Alcoeda Carmen, Ballesteros Yolanda. Obtención de grafeno mediante métodos químicos de Exfoliación. Universidad Pontificia ICAI ICADE Comillas; Madrid 2013
17. Frank, I. W., Tanenbaum, D. M., Van der Zande, A. M., & McEuen, P. L. (2007). Mechanical properties of suspended graphene sheets. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 25(6), 2558-2561.
18. Principales usos del grafeno en la industria <http://grafeno.com/principales--usos-del-grafeno-en-la-industria/>
19. Propiedades del grafeno varían ante la presencia de otros materiales <http://grafeno.com/propiedades-del-grafeno-varian-ante-presencia-de-otros-materiales/>
20. Zhang, Y., Nayak, T. R., Hong, H., & Cai, W. (2012). Graphene: a versatile nanoplatform for biomedical applications. *Nanoscale*, 4(13), 3833-3842.
21. Chung, C., Kim, Y. K., Shin, D., Ryoo, S. R., Hong, B. H., & Min, D. H. (2013). Biomedical applications of graphene and graphene oxide. *Accounts of chemical research*, 46(10), 2211-2224.
22. He, Q., Sudibya, H. G., Yin, Z., Wu, S., Li, H., Boey, F., ... & Zhang, H. (2010). Centimeter-long and large-scale micropatterns of reduced graphene oxide films: fabrication and sensing applications. *Acs Nano*, 4(6), 3201-3208.
23. Ang, P. K., Li, A., Jaiswal, M., Wang, Y., Hou, H. W., Thong, J. T., & Loh, K. P. (2011). Flow sensing of single cell by graphene transistor in a microfluidic channel. *Nano letters*, 11(12), 5240-5246.

24. Zhang, L., Lu, Z., Zhao, Q., Huang, J., Shen, H., & Zhang, Z. (2011). Enhanced chemotherapy efficacy by sequential delivery of siRNA and anticancer drugs using PEI-grafted graphene oxide. *Small*, 7(4), 460-464.
25. Zhang, L., Xia, J., Zhao, Q., Liu, L., & Zhang, Z. (2010). Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs. *Small*, 6(4), 537-544.
26. Huang, P., Xu, C., Lin, J., Wang, C., Wang, X., Zhang, C., & Cui, D. (2011). Folic acid-conjugated graphene oxide loaded with photosensitizers for targeting photodynamic therapy. *Theranostics*, 1(13), 240-50.