

Síntesis de nanocompuestos oro-grafeno para la cuantificación electroquímica de peróxido de hidrógeno y glucosa[◇]

Synthesis of gold-graphene nanocomposites for the electrochemical quantification of hydrogen peroxide and glucose

Salvador Fernández,* Edgar Cuara,* Maiby Valle Orta,* Uriel Sierra*,[†]

ABSTRACT: Electrochemical quantification of biomarkers in fluids frequently employs metallic nanoparticles as detection substrates. The development of quantification materials has evolved in recent decades with the incorporation of graphene materials into measurement systems, generating variants of graphene-nanometal composites. Composite materials take advantage of the great electronic conductivity of graphene and the increase in sensitivity and selectivity that it confers. Graphene oxide and its reduced products have traditionally been used in the manufacture of graphene-metal nanoparticle composites. The trend is explained by the relative ease of synthesis of graphene oxidized materials, however, this ease has as a drawback the loss of electrical properties of the synthesized materials and the possible decrease in their detection characteristics. To avoid these restrictions, ideally, non-oxidized graphene materials should be used as substrates, however their manufacture is not easy. This work reports a method of preparing pristine graphene nanoplatelets and their easy conversion to gold nanoparticle-decorated composites. We describe the use of the compounds as useful substrates for the electrochemical quantification of glucose and hydrogen peroxide in fluids.

KEYWORDS: gold nanoparticles, graphene, sensor, hydrogen peroxide, glucose.

RESUMEN: La cuantificación electroquímica de biomarcadores en fluidos frecuentemente emplea nanopartículas metálicas como sustratos de detección. El desarrollo de materiales de cuantificación ha evolucionado en las últimas décadas con la incorporación de materiales de grafeno a los sistemas de medición, generando variantes de compuestos de grafeno-nanometales. Los materiales compuestos aprovechan la gran conductividad electrónica del grafeno y el aumento en la sensibilidad y selectividad que les confiere. El óxido de grafeno y productos reducidos de este se han usado tradicionalmente en la manufactura de compuestos de grafeno-nanopartículas metálicas. La tendencia se explica por la relativa facilidad de síntesis de los materiales oxidados de grafeno, sin embargo, esta facilidad tiene como inconveniente la pérdida de propiedades eléctricas de los materiales sintetizados y la posible disminución de sus características de detección. Para evitar estas restricciones, idealmente se deberían de usar como sustratos materiales de grafeno no oxidados, sin embargo, su manufactura no es sencilla. Reportamos

Recibido: 30 de septiembre, 2022. Aceptado: 12 de diciembre, 2022. Publicado: 20 de febrero, 2023.

[◇] Agradecemos al laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos-2022, al Dr. Enrique Díaz Barriga Castro por el estudio de imágenes TEM y al Ing. Jesús Alfonso Mercado Silva por el apoyo en el soporte técnico de este trabajo.

* Centro de Investigación en Química Aplicada, Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos, Saltillo, Coahuila, México.

[†] Autor de correspondencia: uriel.sierra@ciqua.edu.mx

aquí un método de preparación de nanoplaquetas de grafeno prístino y su fácil conversión a compuestos decorados con nanopartículas de oro. Describimos el uso de los compuestos como sustratos útiles para la cuantificación electroquímica de glucosa y peróxido de hidrógeno en fluidos.

PALABRAS CLAVE: nanopartículas de oro, grafeno, sensor, peróxido de hidrógeno, glucosa.

Introducción

La cuantificación de moléculas de interés médico es de utilidad porque permite determinar la presencia de enfermedades o la propensión a estas, posibilitando así su control. En la actualidad, la diabetes mellitus es una enfermedad que afecta a un alto porcentaje de la población mundial y muestra una alarmante tendencia a incrementar en el futuro próximo. Es común que las personas que padecen esta enfermedad recurran al monitoreo continuo de niveles de glucosa presentes en el torrente sanguíneo, el que típicamente se realiza por la medición diaria del metabolito en muestras de sangre extraídas por medio de punciones con lancetas diseñadas para ese fin; usualmente, la muestra extraída se coloca sobre cintillas de detección que contienen materiales capaces de oxidar la glucosa y generar peróxido de hidrógeno (H_2O_2), cuya concentración se mide electroquímicamente.

El oro se utiliza con frecuencia en la elaboración de materiales que mimetizan la actividad de enzimas (biozimas) y en diferentes métodos de cuantificación electroquímica en los que históricamente se emplean enzimas como sustratos de detección. Uno de los primeros reportes de uso de nanopartículas de oro (NPsAu) como biozimas para la determinación amperométrica de contenidos de glucosa se debe a Jena y Retna quienes, en el año 2006, describieron la fabricación de una red tridimensional de silicato obtenida por una reacción de hidrólisis y condensación del (3-Mercaptopropil) trimetoxisilano depositada sobre un electrodo de oro (Au) y el autoensamble de nanopartículas de oro sobre los tioles terminales presentes en la red de silicato (Kumar y Raj 2006). El material mostró capacidad de medición de glucosa con una sensibilidad de $0.179 \text{ nAcm}^{-2}\text{nm}^{-1}$. Cheng y colaboradores reportaron un método de depósito electroquímico de oro sobre electrodos de carbón vítreo (ECV) a través del cual sintetizaron diferentes nanoestructuras del metal (Cheng *et al.*, 2010); los electrodos con depósitos de estructuras de nano coral de oro mostraron la mayor sensibilidad, alcanzando valores de $22.6 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ en solución búfer de PBS a pH 7.4. También, se ha reportado el electrodeposición directa de NPsAu sobre electrodos de carbón vítreo para la determinación de glucosa (Chang *et al.*, 2014). Los investigadores mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de $87.5 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$, con un límite de detección de 0.05 mM. En un estudio similar publicado por Shu y colaboradores, en el que se describe el electrodeposición de nanoestructuras dendríticas de oro obtenidas por electrodeposición del metal sobre ECV, se demuestra la capacidad de medición electroquímica de contenidos de glucosa con una sensibilidad reportada de $190.7 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$, utilizando una solución

búfer de PBS a pH 7.4 (Shu *et al.*, 2014). En el año 2016, Hebié y colaboradores publicaron un artículo donde señalan la influencia del tamaño de nanopartículas (NPs) esféricas de oro (4 – 15 nm) depositadas sobre un ECV; las determinaciones electroquímicas de contenidos de glucosa fueron hechas usando un electrolito de hidróxido de sodio 0.1 M, demostrando que las NPs de menor tamaño, 4.2 nm, tenían mayor capacidad electrocatalítica (Hebié *et al.*, 2016). El depósito sobre ECV de nanotubos o nanoalambres de oro fabricados por depósito galvanostático de sales de oro sobre una plantilla de óxido de aluminio fue descrito por (Tian *et al.*, 2016); el electrodo mostró una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de $44.2 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ a un pH de 7.2. En un trabajo publicado por Felix y colaboradores se describe el depósito de híbridos de Au-CuO sobre electrodos de carbón vítreo utilizando la generación *in situ* de nanopartículas de oro en presencia de láminas de óxido cúprico (Felix *et al.*, 2018). Los electrodos modificados se utilizaron para la determinación electroquímica de glucosa en una solución 0.1 M de NaOH; los electrodos revelaron tener una sensibilidad de medición de glucosa de $3,126.76 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. Así como se ha demostrado el uso de nanomateriales de oro en la cuantificación electroquímica de glucosa, del mismo modo han sido utilizados en la medición de contenidos de peróxido de hidrógeno. Uno de los primeros artículos sobre el tema es el de Li y colaboradores quienes, en el 2010, reportaron la preparación de compuestos de oro con dióxido de manganeso (Li *et al.*, 2010); los materiales, depositados sobre ECV, mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de H_2O_2 de $5.35 \times 10^{-5} \text{ AM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$. El grupo de Won publicó la manufactura de electrodos impresos sobre los que se depositaron nanoesferas o nanocilindros de oro con los que midieron contenidos de H_2O_2 (Won *et al.*, 2011), reportando sensibilidades de medición de 11.13, 54.53, y $58.51 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ para los materiales de nanoesferas y de nanocilindros con relaciones de aspecto 1:3 y 1:5, respectivamente. El uso de nanocajas de oro para la cuantificación electroquímica de H_2O_2 fue reportado por Zhang y colaboradores (Zhang *et al.*, 2011), los autores mostraron una sensibilidad de medición de peróxido de $273.83 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. La utilización de nanoestrellas de oro, sintetizadas por un método de crecimiento auxiliado con semillas de oro en presencia de cloruro de poli(dialildimetil amonio) como estabilizador, fue descrito por Li y colaboradores en la medición de peróxido de hidrógeno, en un búfer neutro de PBS (Li *et al.*, 2013). La preparación y uso de nanocristales bimetalicos de AuM (M = Pd, Rh, Pt) fue descrita por el grupo de Han; la mayor sensibilidad reportada fue de $195.3 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ a un potencial de 0.25 V vs SCE (Han *et al.*, 2015). La fabricación de ECV con depósitos de nanocompuestos de varillas de SiO_2 decoradas con oro, platino o compuestos bimetalicos de ambos fue descrita por Liu y colaboradores (Liu *et al.*, 2018); la sensibilidad de medición de los compuestos de Pt mostró ser de $110.3 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$, mientras que la de los compuestos de PtAu fue de $46.7 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. La preparación de nanocubos de oro, funcionalizados con la proteína citocromo c y depositados sobre un hidrogel entrecruzado de quito-

sano- β -ciclodextrina fue publicada por Manickam y colaboradores (Manickam *et al.*, 2019), la determinación electroquímica de peróxido utilizando este material mostró una sensibilidad de $1.2 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ ($1,200 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$).

De acuerdo con lo anterior, se puede inferir que existe una relación de la morfología de las NPsAu (nanoesferas, nanocilindros, nanocajas, nanoestrellas, nanocubos, nanopartículas bimetalicas) en la determinación de contenidos de glucosa y H_2O_2 , indicando que los resultados de detección son variables, dependiendo del método utilizado en la manufactura de las nanopartículas de oro y su morfología. Los anteriores ejemplos destacan el uso de las nanopartículas de oro en ausencia de sustratos adicionales que intensifiquen su respuesta o sensibilidad de detección. En el año 2004, se inicia el estudio como plataforma de detección electroquímica (Novoselov *et al.*, 2004) del aislamiento del grafeno y de la demostración de sus propiedades de conducción eléctrica. Debido a su gran conductividad eléctrica, el material se ha convertido en uno de los principales componentes de los modernos sistemas y materiales de detección electroquímica. Como es de esperarse, los sustratos de compuestos de nanopartículas de oro con grafeno empezaron a ser de interés, con la expectativa de mejorar la respuesta de los sistemas de cuantificación de glucosa y H_2O_2 (Narang *et al.* 2011). Dada la dificultad de obtener grafeno monolaminar o de bajo número de capas, en las investigaciones iniciales se utilizó el óxido de grafeno (GO) o el óxido de grafeno reducido (rGO). Entre los primeros reportes de uso se encuentra el artículo de Yuan y colaboradores, en el que se describe la fabricación de ECV cubierto con óxido de grafeno (GO) y su funcionalización con polietilenimina (PEI) vía la formación de enlaces amídicos y la decoración subsecuente de los materiales por electrodeposición de NPs de oro (Yuan *et al.*, 2014); los electrodos desplegaron una sensibilidad de medición de H_2O_2 de $460 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. En un estudio publicado por Pogacean y colaboradores (2015) se comparan las propiedades electrocatalíticas de grafeno dopado con nitrógeno y de compuestos de grafeno reducido decorado con NPs de oro, demostrando la mayor actividad electrocatalítica del grafeno dopado con átomos de nitrógeno. La manufactura de un material tridimensional fabricado por tratamiento de GO con cisteína decorado con nanocilindros de oro fue descrito por Xue y colaboradores (Xue *et al.*, 2015), quienes demostraron que los electrodos hechos con el compuesto presentaban buena sensibilidad de medición de H_2O_2 . El grupo de Lv divulgó un sensor no enzimático preparado por electrodeposición de NPs de oro sobre un ECV recubierto con óxido de grafeno reducido (rGO); los electrodos mostraron actividad electrocatalítica y una buena sensibilidad de medición de H_2O_2 de $574.8 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ (Lv *et al.*, 2016). Así como una variedad de nanocompuestos de oro con materiales de grafeno han sido evaluados en la medición electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno, materiales parecidos han sido utilizados para determinar contenidos de glucosa en fluidos. Un método de depósito de nanoestructuras de oro generadas por medio de pulsos láser, para depositarlas sobre nanotubos de carbono, fue publicado por Gougis y colaboradores en el año 2014 (Gougis *et al.*, 2014); electrodos fabri-

cados con los materiales fueron utilizados para determinar contenidos de glucosa en un búfer de PBS con un pH de 7.2. La respuesta voltamétrica a la oxidación de glucosa pudo detectar sus contenidos con una sensibilidad de $25 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. La decoración de NPs de oro sobre nanolistones de GO fue revelada por el grupo de Ismail (Ismail *et al.*, 2014); los investigadores describieron la fabricación de electrodos de medición colocando los nanolistones oxidados sobre una hoja de carbón seguido del depósito de una suspensión de NPs de oro y el tratamiento térmico a 400°C de las hojas decoradas. Los electrodos mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de $59.1 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. Via la reacción de GO con pirrol en medio ácido, Xue y colaboradores prepararon un material de rGO funcionalizado con un polímero de pirrol (Xue *et al.*, 2014); el material de PPy/rGO fue posteriormente decorado por reducción *in situ* de HAuCl_4 con borohidruro de sodio. Los electrodos de medición de glucosa se elaboraron colocando suspensiones de AuNPs/PPy/RGO sobre ECV, con los que lograron determinaciones de glucosa con una sensibilidad de $123.8 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. La elaboración de un hidrogel fabricado con un nanohíbrido de rGO-Au fue reportada por Ruiyi y colaboradores (2015); el hidrogel se preparó por mezcla de NPs de oro con GO, reducción con ácido ascórbico y congelamiento unidireccional de la mezcla para obtener un hidrogel después de liofilizar la mezcla. Jeong y colaboradores han reportado la manufactura de un sensor no enzimático de glucosa constituido por una red tridimensional de láminas de grafeno dopado con nitrógeno y nanotubos de carbono. El material se sintetizó por tratamiento hidrotermal (180°C , 12 horas) de mezclas de GO con los nanotubos oxidados en presencia de urea; el producto se decoró con NPs de oro preparadas por reducción de HAuCl_4 con citrato de sodio. La medición de glucosa, con una sensibilidad de $0.9824 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$, se logró empleando electrodos de carbón vítreo sobre los que se colocaron suspensiones de los nanocompuestos preparados (Jeong, 2018).

En lo general, los ejemplos citados describen métodos preparativos relativamente complejos para obtener los nanomateriales de cuantificación electroquímica y/o procedimientos de fabricación complicados que no facilitan la elaboración de los electrodos de medición. Considerando lo anterior, es deseable contar con materiales compuestos capaces de cuantificar electroquímicamente tanto H_2O_2 como glucosa y tener métodos simples para prepararlos y utilizarlos.

En este trabajo, presentamos un método eficiente de fabricación de materiales compuestos de nanoplaquetas de grafeno prístino decoradas con nanopartículas de oro. El sencillo procedimiento evita el uso de derivados oxidados de grafeno y la necesidad de prepararlos utilizando mezclas oxidantes que no son medioambientalmente aceptables; el método permite la conversión cuantitativa de grafito a nanoplaquetas de grafeno prístino que pueden ser decoradas con facilidad y alto rendimiento con nanopartículas de oro preparadas *in situ*. La evaluación de los compuestos demostró su utilidad como sustratos de cuantificación electroquímica de contenidos de glucosa y peróxido de hidrógeno en fluidos.

Metodología

Para realizar la cuantificación de glucosa o H_2O_2 se utilizaron nanoplaquetas de grafeno prístino (NPG) producidas por exfoliación de grafito en agua, decorándolas con NPs de oro. Las NPG se obtuvieron por tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte de suspensiones acuosas de grafito sintético polvo, sin emplear tensoactivos como ayudas de exfoliación. Los nanocompuestos NPG-NPsAu se obtuvieron tratando con agitación magnética una suspensión de nanoplaquetas en etilenglicol con ácido cloroáurico trihidratado; la formación *in situ* de nanopartículas de oro se genera al agregar sosa cáustica a la suspensión (Kurihara *et al.*, 1995).

En el proceso de exfoliación en medio acuoso se emplearon mezclas de grafito sintético polvo y agua, la deslaminación del grafito se logró al someterlo a un tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte a 8,000 rpm durante una hora. Terminado el tratamiento, la suspensión se filtró y el sólido (NPG) se secó durante 12 horas a 70 °C en un horno eléctrico.

Para preparar las nanopartículas de oro se utilizó el método de reducción de polioles de baja temperatura sin adición de oxidante adicional (Fievet *et al.*, 1989).

Las suspensiones de NPG se prepararon en etilenglicol (EG), mezclándolas con ácido cloroáurico trihidratado. La mezcla se trató por medio de agitación magnética por 60 minutos y, posteriormente, se le agregó una solución de hidróxido de sodio disuelto en EG, permitiendo que la reducción se llevara a cabo durante 60 minutos. Terminada la reducción, la suspensión se filtró al vacío y el sólido se lavó repetidamente (agua, etanol, acetona) para, finalmente, secarlo varias horas a 70 °C en un horno eléctrico.

Las caracterizaciones electroquímicas de los materiales, así como sus respuestas ante la presencia de peróxido fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s^{-1} y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV *vs* SHE, incorporando alícuotas de 200 μL de peróxido de hidrógeno 174 mMol en 200 mL de electrolito. Las respuestas a la presencia de glucosa fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s^{-1} y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV *vs* SHE, incorporando alícuotas de 200 μL de glucosa 200 mMol en 200 mL de electrolito. La determinación de la capacidad de cuantificación de los materiales fue obtenida mediante la regresión lineal de la corriente con respecto a la concentración de glucosa o de peróxido de hidrógeno en disolución, utilizando la técnica de cronoamperometría a un potencial de 810 mV *vs* SHE y un sistema de disco rotatorio a 400 rpm.

La medición de la concentración de peróxido de hidrógeno o glucosa se hizo utilizando un potencióstato “Biologic” SP-50, una celda electroquímica con capacidad de 200 mL equipada con tres electrodos, un contraelectrodo de platino, uno de referencia de Ag/AgCl 3.5 Mol y un electrodo de carbón vítreo a modo de sustrato para la fabricación del electrodo de trabajo. Para medir los

contenidos de H_2O_2 , en la celda electroquímica se introduce un electrolito de PBS 0.1 M ajustado a pH 7; para las determinaciones de contenidos de glucosa a pH 12 se usa una disolución de NaOH 0.05 M.

Los electrodos de trabajo se elaboraron depositando sobre el sustrato de carbón vítreo 5 μL de las suspensiones preparadas; el contenido de sólidos de las suspensiones fue de 5 mg/mL usando soluciones de PEDOT-PSS en agua (0.1 mg/mL); a un mililitro de esas mezclas se agregaron volúmenes variables de solución de Nafion. La tinta se trató 10 minutos por inmersión en un baño de limpieza de ultrasonido para, inmediatamente después, colocar volúmenes variables de tinta sobre el ECV. Los electrodos se sometieron a un tratamiento térmico de 60 °C durante 20 min para después ser enfriados hasta temperatura ambiente.

Reactivos

Se utilizó grafito sintético en polvo ($< 20 \mu\text{m}$), HAuCl_4 , Nafion de Sigma Aldrich; el hidróxido de sodio, acetona, etanol y etilenglicol se adquirieron de Fermont. El PBS (fosfato de potasio dibásico y fosfato de potasio monobásico) por FAGALab. El PEDOT fue preparado por el Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos.

Síntesis de nanoplaquetas de grafeno (NPG) utilizando tratamiento de alto esfuerzo de corte

En un vaso de precipitado de 2 L se colocan 10 g de grafito sintético polvo (Aldrich $< 20 \mu\text{m}$) con 1 L de agua destilada. La mezcla se trata por mezclado de alto esfuerzo de corte utilizando un equipo Ross operado a 8,000 rpm. Después de agitar durante una hora, la suspensión se filtra por gravedad y el sólido se seca a 70 °C durante 12 horas en un horno eléctrico, generando cuantitativamente las NPG.

Dopado de NPG con NPsAu utilizando reducción *in situ* de suspensiones de NPG y HAuCl_4 en etilenglicol utilizando NaOH por agitación magnética

En un matraz de 125 mL se colocan 200 mg de NPG y 35 mg de HAuCl_4 (para formar 0.1 mMol, relación en peso 1:0.05); se añaden 50 mL de etilenglicol (EG) y se agita magnéticamente (300 rpm) durante una hora. Se prepara una solución de 200 mg de NaOH en 10 mL en etilenglicol (EG), agregando 500 μL de esta a la suspensión de NPG previamente preparada. Se continúa el mezclado durante 60 minutos adicionales; la suspensión se filtra al vacío y el sólido se lava secuencialmente con agua caliente, etanol y acetona. El sólido se seca 12 horas a 70 °C en horno eléctrico.

Caracterización

Difracción de rayos X (XRD): los estudios de difracción de rayos X (XRD) de los materiales fueron realizados usando un equipo Bruker D8Advance



ECO. La frecuencia de radiación seleccionada fue de λ_{Cu} de Cu (1.5418 Å), utilizando una fuente de poder de 40 kV y 25 mA.

Espectroscopía Raman: los análisis Raman se realizaron en un equipo Xplora (Horiba Scientific) usando un el láser argón-ion de 532 nm.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM): los estudios por TEM fueron llevados a cabo en un microscopio de emisión de campo FEI-TITAN-80-300 kV.

Cuantificación electroquímica: las caracterizaciones electroquímicas de los materiales, así como sus respuestas ante la presencia de peróxido fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s⁻¹ y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV vs SHE, incorporando alícuotas de 200 µL de peróxido de hidrógeno 174 mMol en 200 mL de electrolito. Las respuestas a la presencia de glucosa fueron adquiridas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s⁻¹ y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV vs SHE, incorporando alícuotas de 200 µL de glucosa 200 mMol en 200 mL de electrolito. La medición de la concentración de peróxido de hidrógeno o glucosa se hizo utilizando un potencióstato “Biologic” SP-50, una celda electroquímica con capacidad de 200 mL equipada con tres electrodos, un contraelectrodo de platino, uno de referencia de Ag/AgCl 3.5 Mol y un electrodo de carbón vítreo (ECV) a modo de sustrato para la fabricación del electrodo de trabajo. Para medir los contenidos de H₂O₂, en la celda electroquímica se introduce un electrolito de PBS 0.1 M ajustado a pH 7; para las determinaciones de contenidos de glucosa a pH 12 se usa una disolución de NaOH 0.05 M.

Los electrodos de trabajo se elaboraron depositando sobre el sustrato de carbón vítreo 5 µL suspensiones acuosas de los nanocompuestos; el contenido de sólidos de las suspensiones es de 10 mg/mL usando agua destilada como medio de dispersión o soluciones de PEDOT-PSS en agua (0.1 mg/mL). A un mililitro de esas mezclas se agregaron volúmenes variables de solución de Nafion a diferentes porcentajes en peso. La tinta se trató 10 minutos por inmersión en un baño de limpieza de ultrasonido para inmediatamente después colocar volúmenes variables de tinta sobre el ECV. Los electrodos se sometieron a un tratamiento térmico de 60 °C durante 20 min para después ser enfriados hasta temperatura ambiente.

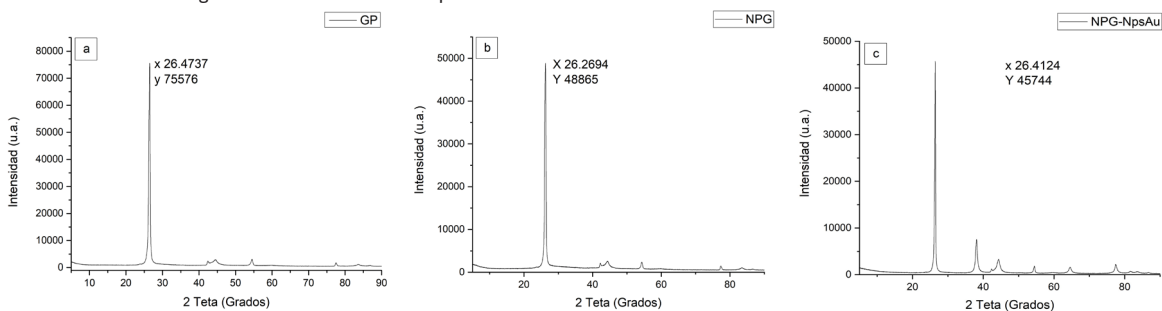
Resultados

Difracción de rayos X (XRD)

En la figura 1 se muestran los difractogramas de rayos X (XRD) del grafito de partida polvo (GP), las nanoplaquetas de grafeno (NPG) y el grafito polvo exfoliado por alto esfuerzo de corte decorado con nanopartículas de oro (NPG-NP-sAu). En XRD del GP (figura 1a) se observa una señal en 26.4° 2θ, característica del plano (002) de la estructura cristalina del grafito, que nos indica que su fase cristalina corresponde a la fase 2H (hexagonal). Las NPG (figura 1b) muestran una señal similar en 26.2° 2θ (002), señalando que el material sigue conservando su fase cristalina, sin embargo, su intensidad disminuye en un 60% por el

tratamiento de alto esfuerzo de corte. Esta disminución puede explicarse por la deslaminación parcial del material y su posible reducción de tamaño. Los materiales NPG-NPsAu (figura 1c) muestran picos característicos de reflexión tanto para las NPG 2θ 24.4° (002), 44.4° 2θ (101), 54.5° 2θ (004), 77.4° 2θ (110) (carta 41-1487) y para las NPs-Au en 38.2° 2θ (111), 64.68° 2θ (220), 77.55° 2θ (311) y a 44.6° 2θ (200) (carta 00-001-1172), es de notar que esta última señal del oro se solapa con la señal de las NPG del plano (101). Los resultados obtenidos indican que la estructura cristalina de las NPs-Au corresponde a una estructura cúbica. Comparando los tres difractogramas de rayos X, puede observarse una disminución en la intensidad del plano grafitico (002) de las NPG al compararla con la intensidad de la señal grafitica adquirida del grafito polvo precursor; la intensidad es de 75,57 u.a. para el precursor y de 48,86 u.a. para las NPG, resultado atribuible a la exfoliación parcial del material de partida. El proceso de dopado de las NPG por depósito de las NPsAu bajo las condiciones de formación *in situ* ocasiona un corrimiento del pico (002) de las NPG de 26.2° a 26.4°. El producto obtenido muestra las señales características de las NPsAu, lo cual corrobora la formación del compuesto NPG-NPsAu esperado. Igualmente, se observa una disminución de la intensidad de las NPG de 48,865 u.a. a 45,744 u.a. en el material compuesto con las NPsAu; aunque es una disminución modesta de la intensidad, esta puede deberse a que, durante el proceso de formación de las nanopartículas de oro, los núcleos metálicos precursores de las partículas pudieron intercalarse entre las láminas de grafito que fueron parcialmente separadas durante el tratamiento de exfoliación, seguidamente, los núcleos dieron lugar a la formación de nanopartículas cuyo mayor tamaño separó las láminas sobre las que se formaron.

FIGURA 1. Difractogramas de rayos X de: a) grafito polvo; b) nanoplacas de grafeno, y, c) nanoplacas de grafeno decoradas con nanopartículas de oro.



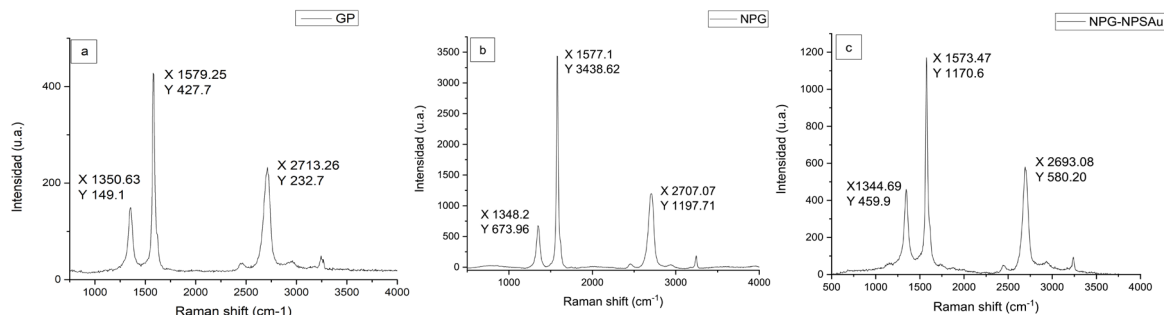
Fuente: Elaboración de los autores.

Spectroscopía Raman

En la figura 2 se muestran los resultados de la caracterización de los materiales por medio de espectroscopía Raman. Las bandas D (1350 cm^{-1}), G (1579 cm^{-1}) y 2D (2713 cm^{-1}) son características de los materiales de grafito; la señal D de-

termina los defectos presentes en las láminas de los materiales grafénicos, la señal G se atribuye al estiramiento de los enlaces Csp^2 de la estructura grafitica. La señal 2D corresponde a un proceso de alta energía de segundo orden, su posición, forma y la relación de la intensidad con la señal de G, usualmente se utiliza para identificar el número de capas de los materiales de grafeno (Ferrari *et al.*, 2006, Malard *et al.*, 2009, Ferrari 2007, Tang *et al.*, 2010). En términos generales, se conoce que al reducirse el número de capas de los materiales de grafeno, esta señal se desplaza al rojo y adquiere una forma cónica simétrica. Comparando la posición de la señal 2D en los espectros Raman del grafito precursor y el material deslaminado mostrados en la figura 2a y 2b, se puede observar que el primero muestra la señal 2D en 2713 cm^{-1} , mientras que la posición en el segundo se encuentra en 2707 cm^{-1} . Este desplazamiento es indicativo del menor número de hojas apiladas en el segundo material, lo cual sugiere la utilidad del tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte como método de exfoliación. Al comparar la posición de las señales Raman de las nanoplaquetas de grafeno y el compuesto con nanopartículas de oro (NPG-NPsAu) (figuras 2 b y 2c) se observa un desplazamiento de 14 cm^{-1} al rojo de la señal 2D del material compuesto. La posición de la señal G muestra también un desplazamiento al rojo de 4 cm^{-1} al comparar los espectros de las nanoplaquetas y el material compuesto. Los resultados son consistentes con las observaciones reportadas en artículos sobre materiales compuestos grafeno-oro. Por ejemplo, los desplazamientos de las señales 2D y G de Raman de materiales compuestos de grafeno-oro han sido documentados por Zheng y colaboradores quienes observan un desplazamiento modesto al rojo en la posición de la banda G y un bastante mayor desplazamiento de la posición de la banda 2D; los cambios observados los atribuyen a la tensión generada sobre la lámina de grafeno por las nanopartículas (Zheng *et al.*, 2015). Por su parte, Wu y colaboradores han reportado que las nanopartículas de oro sobre grafeno dan lugar a un dopaje n y al desplazamiento batocrómico de la señal 2D (Yaping *et al.*, 2012).

FIGURA 2. Espectros Raman de: a) grafito polvo; b) nanoplaquetas de grafeno, y, c) nanoplaquetas de grafeno decoradas con nanopartículas de oro.

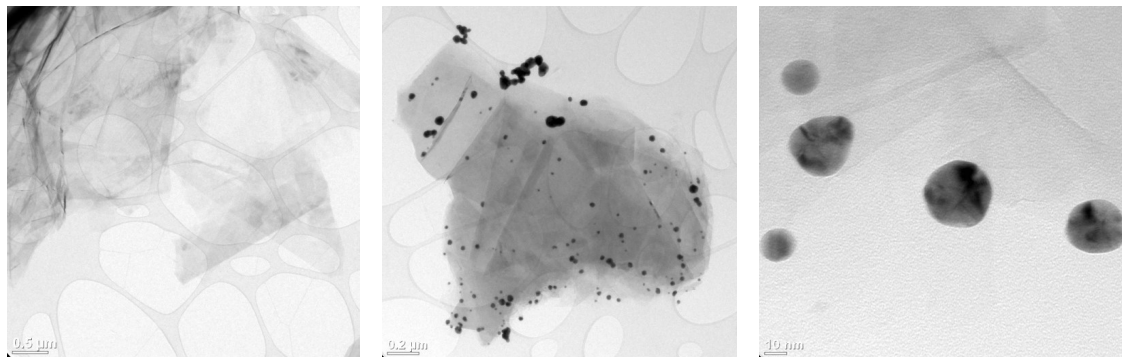


Fuente: Elaboración de los autores.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las microfotografías adquiridas por microscopía electrónica de transmisión en un equipo FEI TITAN se muestran en la figura 3. En la imagen 3a puede observarse que las NPG obtenidas por el proceso de exfoliación de alto esfuerzo de corte están formadas por materiales de bajo número de capas, con tamaño lateral mayor a $1\mu\text{m}$ y una clara estructura gráfica; en la estructura no se observan daños en los bordes de plano ni el plano basal. En la microfotografía mostrada en la figura 3b puede observarse que las NPG-NPsAu tienen NPsAu con tamaños variables, que van desde los 12 hasta los 60 nm. También puede verse que las nanopartículas de oro se encuentran distribuidas sobre el plano basal de la lámina, teniendo mayor población de estas hacia las orillas. Sin embargo, también se observan aglomeraciones de las NPsAu en los bordes del plano, lo cual puede deberse a que las nanopartículas no están lo suficientemente protegidas por los derivados de ácido glicólico formados por reacción de EG con el NaOH. Por último, en la microfotografía mostrada en la figura 3c, se observa que las NPsAu sobre la lámina de NPG presentan una morfología circular; no obstante, una observación cuidadosa de las NPs muestra que en su superficie se encuentran estructuras cúbicas, en concordancia con la fase cristalina detectada por difracción de rayos X, pudiendo concluir que las NPs depositadas están formadas por aglomerados de cristales cúbicos de oro.

FIGURA 3. Microscopía electrónica de transmisión (TEM) de: a) nanoplacas de grafeno; b) nanoplacas de grafeno decoradas con nanopartículas de oro, y, c) nanopartículas de oro sobre nanoplacas de grafeno.



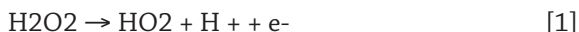
Fuente: Elaboración de los autores.

Determinación electroquímica de glucosa y peróxido de hidrógeno

La determinación electroquímica del peróxido de hidrógeno se realiza analizando el comportamiento electroquímico para NPG-NPsAu ante la presencia de H_2O_2 en diferentes intervalos de concentración. En la gráfica de la figura 4a se muestra la presencia de cuatro señales, en donde la señal I, ubicada a 706mV vs SHE en dirección catódica, corresponde a la oxidación del H_2O_2 mediante un

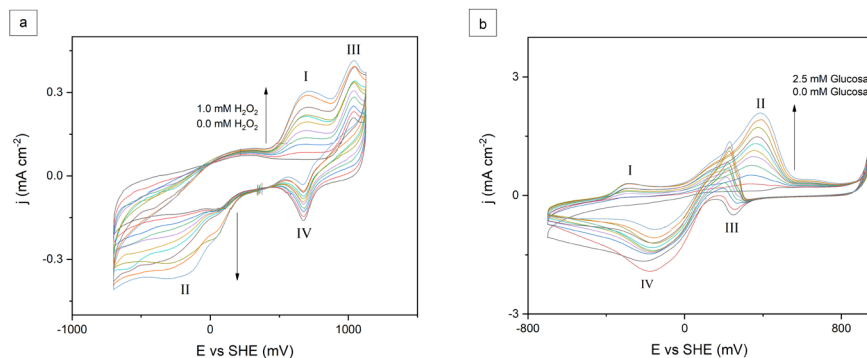
mecanismo de dos pasos [Reacciones [1] y [2]] (Bockris y Oldfield, 1955). De acuerdo con Bockris y Oldfield, dicho mecanismo no se lleva a cabo de manera espontánea lo cual requiere de la aplicación de un sobrepotencial, así como de la participación de partículas metálicas que reduzcan la energía libre a valores negativos durante la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno. La señal II, ubicada alrededor de los -200mV vs SHE, corresponde a la reducción de los productos de oxidación del H_2O_2 en un solo paso [reacción 3] (Bockris y Oldfield 1955, Huq y Makrides 1965) cuyo ancho pico denota un mecanismo complejo durante la reducción de reducción.

Reacciones que ocurren en la cuantificación de H_2O_2 :



Las señales III y IV ubicadas a 1040 y 675mV vs SHE, respectivamente, corresponden a reacciones intrínsecas del material analizado. Asimismo, la intensidad de la corriente de la señal IV disminuye con respecto a la concentración del H_2O_2 lo cual sugiere un aislamiento de los sitios activos donde se lleva a cabo la reacción de reducción de material sintetizado, con respecto a la concentración del analito.

FIGURA 4. Serie de voltamperometría cíclica de determinación de: a) peróxido de hidrógeno de 0 a 1mM, y, b) glucosa de 0 a 2.5mM.



Fuente: Elaboración de los autores.

En la figura 4b se muestra el comportamiento electroquímico de NPG-NPsAu ante la presencia de glucosa a diferentes intervalos de concentración. La reacción de oxidación de la glucosa denota un comportamiento complejo, presentando dos señales en sentido anódico, el pico I, ubicado -297mV vs SHE, indica que el proceso de descomposición de la glucosa adopta un mecanismo en donde se genera principalmente ácido glucurónico. No obstante,

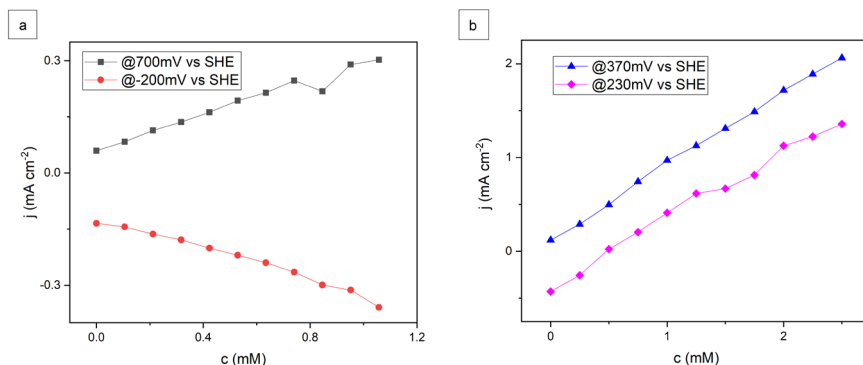
dicha ruta de reacción puede coexistir con otros mecanismos como lo son la producción del ácido glucónico, la 2-desoxi-D-glucosa y el ácido glucárico (Larew y Johnson 1989, Ocón *et al.*, 1986). El pico II, cuyo máximo se encuentra en un potencial de 388 mV vs SHE, comprende procesos de deshidrogenación de los radicales hidroxilos para los carbonos 2 y 3 de la molécula de glucosa, dicho proceso se lleva a cabo mediante la oxidación vía un electrón (Larew y Johnson 1989). Estas reacciones son catalizadas por la presencia de $\text{Au}(\text{OH})_3$ electroactivo el cual es generado mediante reacciones netamente químicas a partir de las nanopartículas de Au^0 en medio alcalino (Larew y Johnson 1989, Ocón *et al.*, 1986).

La señal III, ubicada a 227mV en sentido catódico, posee un comportamiento de oxidación atípico conforme a la dirección de barrido. Este tipo de comportamientos se presenta en reacciones de oxidación incompletas durante los incrementos de potencial en dirección anódica. La señal IV, ubicada a -157mV vs SHE, corresponde a la caracterización del sustrato cuya intensidad disminuye con respecto al incremento de la concentración de glucosa, infiriéndose que los sitios de reacción se ven bloqueados ya sea por el analito o por el aumento de los productos de descomposición de este último.

Curvas de calibración para determinar cuantificación de glucosa y peróxido de hidrógeno

La figura 5a muestra el incremento de las densidades de corriente tanto catódicas (■) como anódicas (●) obtenidas a partir de la descomposición del peróxido de hidrógeno al utilizar NPG-NPsAu como material electro catalítico en una solución 0.1M PBS (Phosphate Buffer Solution) con pH de 7. La grafica muestra que, al incorporar alícuotas de 200 mL y 5 mM de peróxido de hidrógeno, las densidades de corriente asociadas con las reacciones de descomposi-

FIGURA 5. a) Regresión lineal correspondiente a las densidades de corriente pico de (■) oxidación del peróxido de hidrógeno y (●) reducción para el peróxido de hidrógeno al incorporar alícuotas de 200uL, y, b) regresión lineal correspondiente a las densidades de corriente pico para la (▲) oxidación de la glucosa y (◆) descomposición de subproductos de la glucosa al incorporar alícuotas de 200uL.



Fuente: Elaboración de los autores.

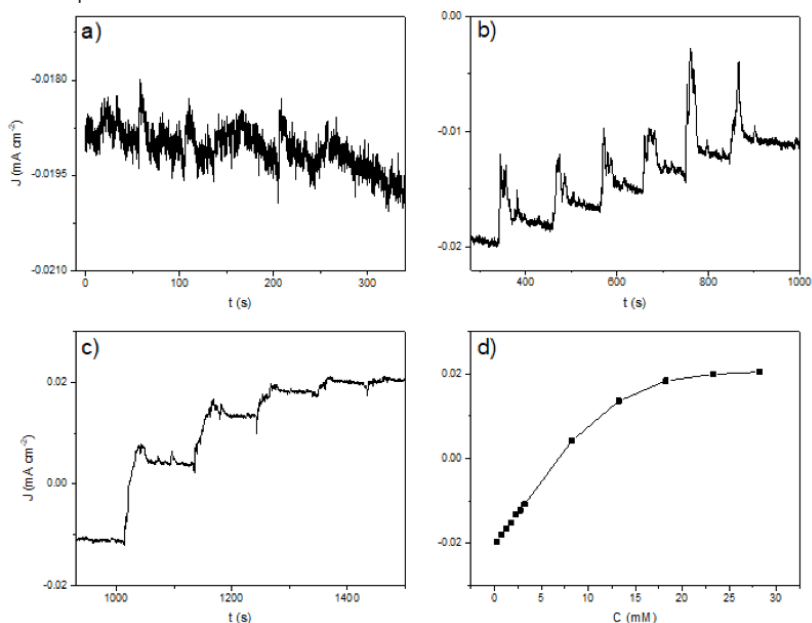
ción del peróxido de hidrógeno incrementan en proporción a la cantidad de analito añadido. Este comportamiento fue aprovechado para la obtención de líneas de calibración a partir de la generación de regresiones lineales, cuyas pendientes definen la sensibilidad de las NPG-NPsAu ante la presencia del peróxido de hidrógeno. Los potenciales utilizados para la generación de estas regresiones lineales fueron de 700mV *vs* SHE para la oxidación del peróxido (■), obteniendo una sensibilidad de 225.92 $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$; mientras que los procesos de reducción (●), ante la presencia del peróxido de hidrógeno, denotan una sensibilidad de 207.64 $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$.

Así como la gráfica anterior, la figura 5b muestra las densidades de corriente del pico anódico (▲) para la descomposición de glucosa, utilizando NPG-NPsAu como sustrato de electrodo y una disolución alcalina de 0.1M NaOH a un pH de 12. Al igual que en el caso anterior se muestra cómo, al incorporar alícuotas de glucosa, la densidad de corriente asociada a la descomposición del analito también incrementa de manera lineal, de forma directamente proporcional a la concentración de glucosa en el medio, a razón de 785.75 $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$. Por otro lado, la señal asociada con la oxidación incompleta de la glucosa (◆), la cual se observa a un potencial de 230 mV *vs* SHE en sentido catódico, tiene una sensibilidad de 714.01 $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$.

Con el fin de definir los límites de detección para los materiales analizados, se hizo uso de la técnica de cronoamperometría en donde, luego de dejar estabilizar el material por 120 min en una solución de 0.1M NaOH y un potencial de 387 mV *vs* SHE, se incorporaron de manera intermitente alícuotas de 200 μL con un intervalo de concentración que parte desde 5×10^{-5} y hasta 5×10^0 mM. Para este trabajo, el límite inferior de detección (LDI) fue definido como aquella señal cuya intensidad de corriente fuese al menos 3 veces mayor que la señal de ruido, mientras que el límite de detección superior (LDS) fue establecido cuando la intensidad de corriente obtenida decayerá en un 5% con respecto a la proyección de linealidad de las mediciones. La figura 6 (cronoamperometría) muestra el incremento de la corriente al incorporar alícuotas de diferentes concentraciones de glucosa comenzando a observar incrementos importantes de corriente a partir de 5×10^{-1} mM, estableciendo dicho valor como el LDI. De igual forma, la gráfica 6d muestra que a partir de la incorporación de la segunda alícuota de 5×10^0 mM la corriente resultante se desvía del comportamiento lineal esperado definiendo el LDS en 2.05×10^{-2} M.

En la tabla 1 se hace una comparativa de algunos ejemplos publicados en la literatura científica y se comparan con los resultados de este trabajo. Teniendo en cuenta que el proceso de obtención de estos materiales es más sencillo que los reportados, la sensibilidad obtenida resulta ser competitiva y de interés para la cuantificación de glucosa y peróxido de hidrógeno.

FIGURA 6. Cronoamperometría de NPG-NPsAu a 387mV vs SHE en una disolución 0.1M NaOH con incorporación de alícuotas de glucosa de 200uL: a) 5×10^{-2} mM; b) 5×10^{-1} mM; c) 5×10^0 mM, y, d) curva de calibración para NPG-NPsAu.



Fuente: Elaboración de los autores.

TABLA 1. Ejemplos comparativos de sensibilidad de diferentes metodologías para la determinación de glucosa y peróxido de hidrógeno.

Electrodo	Analito	Potencial aplicado (vs Ag/AgCl)	Sensibilidad $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$	Electrolito	Referencia
NPs-Pt-CNT@Carbón vítreo	Oxidación de H_2O_2	0.55 V	1,850	PBS, pH 7.2	Hrapovic <i>et al.</i> (2004)
Lámina de cobre decorada con AuPd seguido de depósito químico de vapor G. Depósito sobre ITO	Reducción de H_2O_2	-0.6 V	186.86	PBS, pH 7.4	Thanh <i>et al.</i> (2016)
rGO-Au electrodo serigrafiado	Reducción de H_2O_2	-0.4 V	1,238	0.1M PBS	Dhara <i>et al.</i> (2016)
NPs-Au@Gr/espuma níquel	Reducción de H_2O_2	-0.2 V	47.4	PBS, pH 7.4	Wang <i>et al.</i> (2017)
Fibra GO lámina Au	Reducción de H_2O_2	-0.25 V	378.1	0.05M PBS	Peng <i>et al.</i> (2018)
Fibra GO lámina Au	Oxidación de glucosa	0.2 V	1045.9	0.1M NaOH	Peng <i>et al.</i> (2018)
Electrodepósito de NPs-Au en forma de mora sobre espuma de Ni recubierta de rGO	Reducción de H_2O_2	-0.36	51.28	0.1M PBS	Thi <i>et al.</i> (2020)
Película de TiO_2 -NPs-Au-KI@Carbón vítreo	Oxidación de H_2O_2	0.5 V	19.4	PBS, pH 7.0	Thiagarajan <i>et al.</i> (2009)
NGP-NPs-Au@Carbón vítreo	Oxidación de glucosa	0.17 V	785.8	0.1M NaOH	Método propuesto
NGP-NPs-Au@Carbón vítreo	Oxidación de H_2O_2	0.5 V	225.9	0.1M PBS	Método propuesto
NGP-NPs-Au@Carbón vítreo	Reducción de H_2O	-0.4 V	207.6	0.1M PBS	Método propuesto

Fuente: Elaboración de los autores.

Conclusiones

Se ha demostrado que los compuestos de nanoplaquetas de grafeno prístino-nanopartículas de oro tienen respuestas de alta sensibilidad en la medición electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno y glucosa en fluidos. Las sensibilidades encontradas compiten con las reportadas en artículos en los que se preparan los materiales de medición a través de métodos complejos, utilizando óxido de grafeno como sustrato conductor. En contraste, mostramos un método simple de manufactura de los compuestos con evidentes ventajas preparativas. En el procedimiento se utiliza un método de exfoliación de grafito en agua por medio de mezclado de alto esfuerzo de corte con el que se preparan cuantitativamente nanoplaquetas de grafeno prístino, seguido por el depósito de nanopartículas de oro generadas en presencia de las nanoplaquetas. El procedimiento es medioambientalmente amigable al utilizar solo agua como medio de tratamiento; tiene la ventaja adicional de posibilitar el uso del total del material de grafito tratado, evitando los procedimientos de conversión a óxido de grafeno usados tradicionalmente. Tras la modificación de electrodos de carbón vítreo por depósito de suspensiones de los materiales compuestos, comprobamos que los electrodos modificados muestran buena sensibilidad en la determinación electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno y glucosa en fluidos.

Referencias

- Bockris, J. O'M. y Oldfield, L. (1955). The oxidation-reduction reactions of hydrogen peroxide at inert metal electrodes and mercury cathodes. *Transactions of the faraday society*, 51: 249 <https://doi.org/10.1039/TF9555100249>.
- Chang, Gang, Honghui Shu, Kai Ji, Munetaka Oyama, Xiong Liu, Yunbin He. (2014). Gold nanoparticles directly modified glassy carbon electrode for non-enzymatic detection of glucose. *Applied Surface Science*, 288: 524-529. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.064>.
- Cheng, Ta-Ming, Ting-Kai Huang, Huang-Kai Lin, Sze-Ping Tung, Yu-Liang Chen, Chi-Young Lee y Hsin-Tien Chiu. (2010). (110)-Exposed gold nanocoral electrode as low onset potential selective glucose sensor. *Applied Materials Interfaces*, 2(10): 2773-2780. <https://doi.org/10.1021/am100432a>.
- Dhara, Keerthy, T. Ramachandran, Bipin G. Nair, T.G. (2016). Satheesh Babu Au nanoparticles decorated reduced graphene oxide for the fabrication of disposable nonenzymatic hydrogen peroxide sensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 764: 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.01.011>.
- Felix, Sathiyathan, Andrews Nirmala Grace, Ramasamy Jayavel. (2018). Sensitive electrochemical detection of glucose based on Au-CuO nanocomposites. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 122: 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.jpics.2018.06.038>.
- Ferrari, A. C. (2007). Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, elec-

- tron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects. *Solid State Communications*, 143(1-2): 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2007.03.052>.
- Ferrari, A. C., Meyer, J. C., Scardaci, V., Casiraghi, C., Lazzeri, M., Mauri, F., Geim, A. K. (2006). Raman spectrum of graphene and graphene layers. *Physical Review Letters*, 97(18). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.97.187401>.
- Fievet, F., Lagier, J. P., Figlarz, M. (1989). Preparing monodisperse metal powders in micrometer and submicrometer sizes by the polyol process. *MRS Bulletin*, 14(12): 29-34. <https://doi.org/10.1557/S0883769400060930>.
- Gougis, Maxime, Amel Tabet-Aoul, Dongling Ma, Mohamed Mohamedi. (2014). Laser synthesis and tailor-design of nanosized gold onto carbon nanotubes for non-enzymatic electrochemical glucose sensor. *Sensors and Actuators B*. 193: 363-369. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.12.008>.
- Han, Tingting, Yuan Zhang, Jiaqiang Xu, Junping Dong, Liu, Chung-Chiun. (2015). Monodisperse AuM (M = Pd, Rh, Pt) bimetallic nanocrystals for enhanced electrochemical detection of H₂O₂. *Sensors and Actuators B*, 207: 404-412. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.028>.
- Hebié, Seydou, Teko W. Napporn, Claudia Morais y K. Boniface Kokoh. (2016). Size-dependent electrocatalytic activity of free gold nanoparticles for the glucose oxidation reaction. *Chem Phys. Chem.*, 17: 1454-1462. <https://doi.org/10.1002/cphc.201600065>.
- Hrapovic, Sabahudin, Yali Liu, Keith B. Male y John H. T. Luong. (2004). Electrochemical biosensing platforms using platinum nanoparticles and carbon nanotubes. *Analytical Chemistry*, 76: 1083-1088 <https://doi.org/10.1021/ac035143t>.
- Huq, A. K. M. S., A. C., Makrides. (1965). Hydrogen peroxide reactions on gold electrodes. *Journal of the Electrochemical Society*, 112(7): 756. <https://doi.org/10.1149/1.2423684>.
- Ismail, Nur Syakimah, Quynh Hoa Le, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito. (2014). Development of non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on graphene oxide nanoribbon – gold nanoparticle hybrid. *Electrochimica Acta*, 146: 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.08.123>.
- Jeong, Hun, Dang Mao Nguyen, Min Sang Lee, Hong Gun Kim, Sang Cheol Ko, Lee Ku Kwac. (2018). N-doped graphene-carbon nanotube hybrid networks attaching with gold nanoparticles for glucose non-enzymatic sensor. *Materials Science and Engineering: C*, 90(1): 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.039>.
- Kurihara, L., G. Chow y P. Schoen. (1995). Nanocrystalline metallic powders and films produced by the polyol method. *Nanostructured Materials*, 5(6): 607-613. [https://doi.org/10.1016/0965-9773\(95\)00275-J](https://doi.org/10.1016/0965-9773(95)00275-J).
- Larew, Larry A., Johnson, Dennis C. (1989). Concentration dependence of the mechanism of glucose oxidation at gold electrodes in alkaline media. *Interfacial Electrochemistry*, 262(1-2): 167-182. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(89\)80020-8](https://doi.org/10.1016/0022-0728(89)80020-8).
- Li, Yali, Jia Zhang, Hui Zhu, Fan Yang, Xiurong Yang. (2010). Gold nanoparticles mediate the assembly of manganese dioxide nanoparticles for H₂O₂ amperometric sensing. *Electrochimica Acta*, 55: 5123-5128. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.04.017>.

- Li, Yanxiao, Jie Ma, Zhanfang Ma. (2013). Synthesis of gold nanostars with tunable morphology and their electrochemical application for hydrogen peroxide sensing. *Electrochimica Acta*, 108: 435-440. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.06.141>.
- Liu, Wei, Karl Hiekel, René Hübner, Hanjun Sun, Adriana Ferancova, Mika Sillanpää. (2018). Pt and Au bimetallic and monometallic nanostructured amperometric sensors for direct detection of hydrogen peroxide: Influences of bimetallic effect and silica support. *Sensors and Actuators B.*, 255: 1325-1334. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.123>.
- Lv, Yajie, Fang Wang, Hui Zhu, Xiaorong Zou, Cheng-an Tao y Jianfang Wang. (2016). Electrochemically reduced graphene oxide-nafion/Au nanoparticle modified electrode for hydrogen peroxide sensing. *Nanomater Nanotechnol.*, 6: 30. <https://doi.org/10.5772/63519>.
- Malard, L. M., Pimenta, M. A., Dresselhaus, G. y Dresselhaus, M. S. (2009). Raman spectroscopy in graphene. *Physics Reports*, 473(5-6): 51-87. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2009.02.003>.
- Manickam, Pandiaraj, Arti Vashist, Sekar Madhu, Mohanraj Sadasivam, Arunkumar Sakthivel, Ajeet Kaushik, Madhavan Nair. (2020). Gold nanocubes embedded biocompatible hybrid hydrogels for electrochemical detection of H₂O₂. *Bioelectrochemistry*, 131: 107373. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107373>.
- Narang, Jagriti, Nidhi Chauhan y C. S. Pundir. (2011). A non-enzymatic sensor for hydrogen peroxide based on polyaniline, multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles modified Au electrode. *Analyst*, 136: 4460. <https://doi.org/10.1039/C1AN15543A>.
- Novoselov, K. S., A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva y A. A. Firsov. (2004). Electric field effect in atomically thin carbón films. *Science*, 306(56969): 666-669. <https://doi.org/10.1126/science.1102896>.
- Ocón, P., C. Alonso, R. Celdrán, J. González Velasco. (1986). Study of the electrooxidation of n-propanol on an Au electrode in basic medium. *Interfacial Electrochemistry*, 206(1-2): 179-196. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(86\)90267-6](https://doi.org/10.1016/0022-0728(86)90267-6).
- Peng, Yu, Deqing Lin, J. Justin Gooding, Yuhua Xue, Liming Dai. (2018). Flexible fiber-shaped non-enzymatic sensors with a graphene-metal heterostructure based on graphene fibres decorated with gold nanosheets. *Carbon*, 136: 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.05.004>.
- Pogacean, Florina, Crina Socaci, Stela Pruneanu, Alexandru R. Biris, Maria Coros, Lidia Magerusan, Gabriel Katona, Rodica Turcu, Gheorghe Borodi. (2015). Graphene based nanomaterials as chemical sensors for hydrogen peroxide – A comparison study of their intrinsic peroxidase catalytic behavior. *Sensors and Actuators B.*, 213: 474-483. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.124>.
- Ruiyi, Li, Zhang Juanjuan, Wang Zhouping, Li Zaijun, Liu Junkang, Gu Zhiguo, Wang Guanglia. (2015). Novel graphene-gold nanohybrid with excellent electrocatalytic performance for the electrochemical detection of glucose. *Sensors and Actuators B.*, 208: 421-428. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.004>.
- Shu, Honghui, Leilei Cao, Gang Chang, Hanping He, Yuting Zhang, Yunbin He. (2014). Direct electrodeposition of gold nanostructures onto glassy carbon

- electrodes for non-enzymatic detection of glucose. *Electrochimica Acta*, 132: 524-532. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.04.031>.
- Tang, B., Guoxin, H. y Gao, H. (2010). Raman spectroscopic characterization of graphene. *Applied Spectroscopy Reviews*, 45(5): 369-407. <https://doi.org/10.1080/05704928.2010.483886>.
- Thanh, Tran Duy, Jayaraman Balamurugan, Seung Hee Lee, Nam Hoon Kim, Joong Hee Lee. (2016). Novel porous gold-palladium nanoalloy network-supported graphene as an advanced catalyst for non-enzymatic hydrogen peroxide sensing. *Biosensors and Bioelectronics*, 85: 669-678. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.075>.
- Thi, M.L.N., V.T. Pham, Q.B. Bui, P.H. Ai-Le, H.-T. Nhac-Vu. (2020). Novel nanohybrid of blackberry-like gold structures deposited graphene as a free-standing sensor for effective hydrogen peroxide detection. *Journal of Solid State Chemistry*, 286: 121299. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121299>.
- Thiagarajan, Soundappan, Buo Wei Su, Shen Ming Chen. Nano TiO₂-Au-KI film sensor for the electrocatalytic oxidation of hydrogen peroxide. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 136(2): 464-471. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.11.009>.
- Tian, Taolei, Junping Dong, Jiaqiang Xu. (2016). Direct electrodeposition of highly ordered gold nanotube arrays for use in non-enzymatic amperometric sensing of glucose. *Microchimica Acta*, 183: 1925-1932. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1835-2>.
- Wang, Xiaojuan, Xinli Guo, Jian Chen, Chuang Ge, Hongyi Zhang, Yuanyuan Liu, Li Zhao, Yao Zhang, Zengmei Wang, Litao Sun. (2017). Au nanoparticles decorated graphene/nickel foam nanocomposite for sensitive detection of hydrogen peroxide. *Journal of Materials Science and Technology*, 33: 246-250. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2016.11.029>.
- Won, Yu-Ho, Keon Huh, Lia A. Stanciu. (2011). Au nanospheres and nanorods for enzyme-free electrochemical biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26: 4514-4519. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.05.012>.
- Xue, Chenming, Chih-Chien Kung, Min Gao, Chung-Chiun Liu, Liming Dai, Augustine Urbas, Quan Li. (2015). Facile fabrication of 3D layer-by-layer graphene-gold nanorod hybrid architecture for hydrogen peroxide based electrochemical biosensor. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 3: 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2014.10.008>.
- Xue, Kaiwen, Shenghai Zhou, Hongyan Shi, Xun Feng, Hua Xin, Wenbo Song. (2014). A novel amperometric glucose biosensor based on ternary gold nanoparticles/polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite. *Sensors and Actuators B*, 203: 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.018>.
- Yaping Wu; Wei Jiang; Yujie Ren; Weiwei Cai; Wi Hyoung Lee; Huifeng Li; Richard D. Piner; Cody W. Pope; Yufeng Hao; Hengxing Ji; Junyong Kang; Rodney S. Ruoff (2012). *Tuning the doping type and level of graphene with different gold configurations*. <https://doi.org/10.1002/sml.201200520>.
- Yuan, Baiqing, Chunying Xu, Lin Liu, Yunfeng Shi, Sujuan Li, Renchun Zhang, Daojun Zhang. (2014). Polyethylenimine-bridged graphene oxide-gold film on glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity toward nitrite and hydrogen

peroxide. *Sensors and Actuators B.*, 198: 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.014>.

Zhang, Yue, Yujing Sun, Zhelin Liu, Fugang Xu, Kang Cui, Yan Shi, Zhiwei Wen, Zhuang Li. (2011). Au nanocages for highly sensitive and selective detection of H_2O_2 . *Journal of Electroanalytical Chemistry* 656: 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.01.037>.

Zheng, Xiaoming; Chen, Wei; Wang, Guang; Yu, Yayun; Qin, Shiqiao; Fang, Jingyue; Wang, Fei; Zhang, Xue-Ao (2015). The Raman redshift of graphene impacted by gold nanoparticles. *AIPA Advances*, 5(5): 057133. <https://doi.org/10.1063/1.4921316>.