

Síntesis Optimizada de Óxidos de Grafeno y Evaluación Comparativa de su Citotoxicidad Según el Grado de Oxidación Frente a Células Cancerígenas de Próstata

Optimized Synthesis of Graphene Oxides and Comparative Evaluation of Their Cytotoxicity According to the Oxidation Degree Against Prostate Cancer Cells

Jordan J. Astudillo¹ orcid.org/0009-0005-5995-3871, Oscar M. Galves ¹ orcid.org/0009-0001-4938-6229, Carlos David Grande-Tovar² orcid.org/0000-0002-6243-4571, David Martiliano² orcid.org/0009-0002-4434-6890, Juan David Rodríguez Macías³ orcid.org/0000-0001-5247-867X, José Herminul Mina-Hernandez^{1*} orcid.org/0000-0003-3767-4431

¹ Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de Materiales, Grupo de Investigación en Materiales Compuestos (GMC), Cali, Colombia.

² Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Química, Grupo de Investigación de Fotoquímica y Fotobiología, Barranquilla, Colombia.

³ Programa de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre, Barranquilla, Colombia.

Cite this article as: J. Astudillo, O. Galvez, C. Grande-Tovar, D. Martiliano, J. Rodríguez Macias, J. Mina-Hernandez, “*Síntesis Optimizada de Óxidos de Grafeno y Evaluación Comparativa de su Citotoxicidad Según el Grado de Oxidación Frente a Células Cancerígenas de Próstata*” “*Síntesis Optimizada de Óxidos de Grafeno y Evaluación Comparativa*”, *Prospectiva*, Vol. 24 N° 2 2026

Recibido: 26/11/2025 / Aceptado: 26/06/2026

RESUMEN

En este trabajo se sintetizó óxido de grafeno (GO) mediante métodos alternativos orientados a reducir el uso de reactivos tóxicos tradicionalmente empleados como el H_2O_2 y el H_2SO_4 , con el objetivo de minimizar el impacto ambiental y mejorar la biocompatibilidad del material. La síntesis se optimizó mediante el control de variables como la temperatura y el tiempo de reacción, lo que permitió ajustar el grado de oxidación del GO. Los espectros FTIR mostraron bandas características de grupos oxigenados, como el carbonilo, hidroxilo, epoxi y enlaces simples carbono-oxígeno, entre otros ($C=O$ // $O-C-O$ // $C-OH$ // $C-O$), mientras que los análisis XPS confirmaron un control efectivo del nivel de oxidación por encima del 70 %. La modificación del proceso permitió reducir la citotoxicidad del GO en células Vero sanas (alta viabilidad celular), a diferencia de las células neoplásicas PC-3 (cáncer de próstata), que presentaban baja viabilidad celular, con valores cercanos o inferiores al 60%. Esto favorece el material para aplicaciones biomédicas potenciales, como la ingeniería de tejidos, la administración controlada de fármacos y el desarrollo de superficies

antimicrobianas. Los resultados obtenidos validan la eficacia de los enfoques propuestos y destacan la importancia de implementar rutas de síntesis con menor impacto ambiental para potenciar las propiedades del GO en el ámbito de la nanotecnología aplicada a la salud.

Palabras clave: Óxido de grafeno, Óxido de grafeno, Síntesis optimizada con bajo impacto ambiental, Grados de oxidación, Cáncer de próstata.

ABSTRACT

Graphene oxide (GO) was synthesized using alternative methods aimed at reducing the use of traditionally employed toxic reagents such as H_2O_2 and H_2SO_4 , in order to minimize environmental impact and improve the biocompatibility of the material. The synthesis was optimized by controlling variables such as temperature and reaction time, allowing the degree of GO oxidation to be adjusted. FTIR spectra exhibited characteristic bands of oxygenated groups, including carbonyl, hydroxyl, epoxy, and single carbon-oxygen bonds ($\text{C}=\text{O}$ / $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ / $\text{C}-\text{OH}$ / $\text{C}-\text{O}$), confirming effective control of the oxidation level above 70%. The modification of the process allowed a reduction in the cytotoxicity of GO for healthy Vero cells (high cell viability), unlike PC-3 neoplastic cells (prostate cancer), which showed low cell viability with values close to or below 60%. These findings suggest potential biomedical applications, including tissue engineering, controlled drug delivery, and the development of antimicrobial surfaces. The results obtained validate the effectiveness of the proposed approaches, highlighting the importance of implementing synthesis routes with reduced environmental impact to enhance the properties of GO in the field of nanotechnology applied to health.

Keywords: Graphene oxide, optimized low-impact synthesis, oxidation degrees, prostate cancer.

1. INTRODUCCIÓN.

La ingeniería de materiales desempeña un papel fundamental en el desarrollo de nuevas tecnologías, ya que permite diseñar materiales con propiedades físicas, químicas y mecánicas específicas [1]. Uno de los materiales más estudiados en los últimos años es el grafeno, una lámina bidimensional compuesta por átomos de carbono organizados en una red hexagonal. Este material posee alta conductividad, gran resistencia y una amplia superficie específica, pero presenta limitaciones en medios biológicos debido a su hidrofobicidad y a su tendencia a agregarse [2].

Para mejorar su biocompatibilidad, el grafeno puede oxidarse, dando lugar al óxido de grafeno (GO), que incorpora grupos funcionales como carboxilos, hidroxilos y epóxidos en su superficie. Estos grupos permiten una mejor dispersión en soluciones polares y aumentan su interacción con otros compuestos, haciéndolo útil en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos, la ingeniería de tejidos y la creación de sensores [3].

Las propiedades del GO dependen en gran medida del grado de oxidación, determinado por el método de síntesis empleado. Sin embargo, los procesos convencionales, como el método de Hummers, emplean reactivos peligrosos y contaminantes, como H_2O_2 y H_2SO_4 , lo que representa un riesgo ambiental y para la salud [4, 5]. Además, el control de parámetros como la temperatura de reacción resulta clave para obtener materiales más homogéneos y funcionales [6].

En este trabajo se propuso una síntesis optimizada del GO mediante el ajuste de variables clave, como la temperatura, con el fin de mejorar su calidad, reducir la toxicidad del proceso y potenciar su aplicación en áreas biomédicas y tecnológicas, lo cual se verificó mediante el análisis de su citotoxicidad frente a las líneas celulares Vero y PC-3 (cáncer de próstata).

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

La metodología para la síntesis y caracterización del óxido de grafeno se llevó a cabo en múltiples etapas, como se observa en la **Figura 1**.

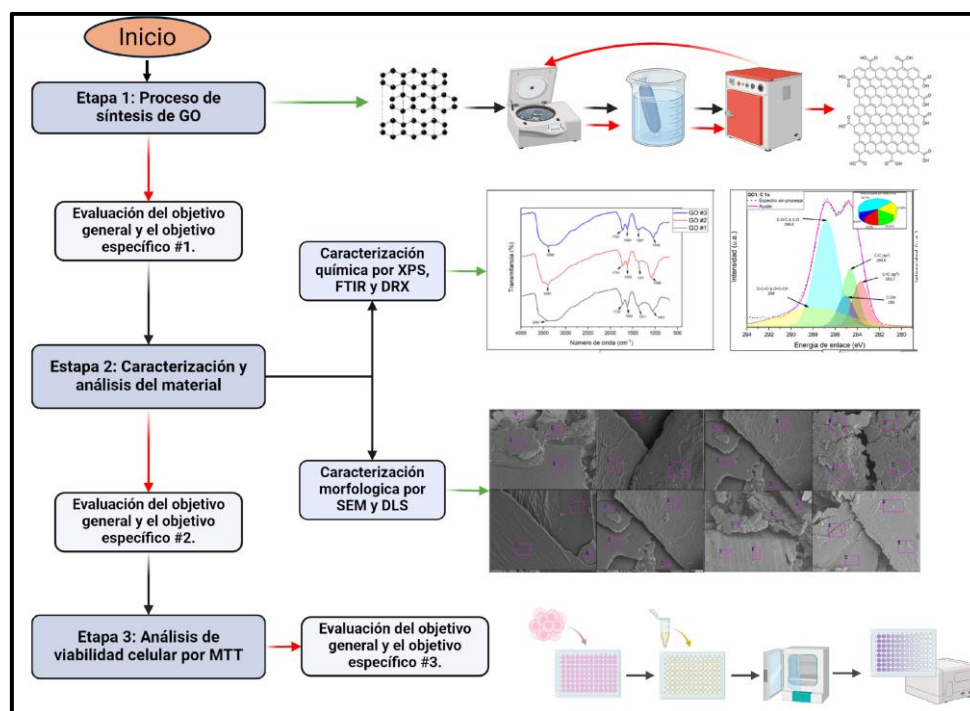


Figura 1. Metodología de síntesis y caracterización del GO.

2.1. Reactivos, equipos y caracterización

Para la síntesis de óxido de grafeno (GO), se utilizaron grafito en escamas (99%, Alfa Aesar, EE.UU.) como precursor, ácido sulfúrico (H_2SO_4), permanganato de potasio (KMnO_4), nitrato de sodio (NaNO_3), agua desionizada tipo Milli-Q (obtenida por medio del purificador de agua Smart2Pure con sistema UV marca Thermo Scientific) e isopropanol (Merck, EE.UU.). La síntesis y el procesamiento posterior se realizaron con una plancha de calentamiento con agitación (Fisher Scientific), una centrífuga (Hermle Z206A), una balanza

analítica, un sonicador (Branson), una bomba de vacío (Welch) y un horno de secado (Binder).

La caracterización morfológica se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, JEOL JSM 6490 LV) con recubrimiento de oro (Denton Vacuum Model Desk IV) y análisis elemental mediante espectroscopía de dispersión de energía (EDS, Oxford INCA PentaFETx3). El tamaño hidrodinámico de las láminas de GO en suspensión acuosa se determinó mediante dispersión dinámica de luz (DLS) en un Zetasizer Nano ZS. Para ello, se preparó una dispersión acuosa a 100 µg/mL, previamente sonicada durante 15 minutos a 40 kHz para favorecer la dispersión homogénea del material. Las mediciones se realizaron a 25 °C, en condiciones isotérmicas.

La caracterización química de las muestras se realizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, Bruker LUMOS II µFTIR-ATR) y espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS, Specs PHOIBOS 150 2D-DLD con fuente Al-Kα); estos ensayos permitieron obtener la huella química del material y los enlaces presentes en su estructura. El software utilizado para el procesamiento de datos fue Microsoft Excel, mientras que para la obtención de curvas de convolución se utilizó OriginPro 2018 SR-1 b9.5.195.

La caracterización de los planos de difracción se realizó mediante un difractómetro PANalytical X'Pert PRO (Malvern PANalytical, Jarman Way, Royston, Reino Unido). Este equipo utilizó radiación de cobre (Cu) con longitudes de onda de Kα1 (1.540598 Å) y Kα2 (1.544426 Å), a 45 kV y 40 mA, con un rango de 2θ de 5° a 80°, utilizando una rejilla óptica de 1° para el haz incidente y una rejilla de 9,1 mm para el haz difractado. Para graficar las curvas características de difracción se usó el software OriginPro 2018 SR-1 b9.5.195. Para determinar la distancia interlamina (d) se utilizó la ecuación de Bragg (**Ecuación 1**), mientras que para determinar el tamaño de cristalito (D) se utilizó la ecuación de Scherrer (**Ecuación 2**); asimismo, el número de láminas (n) se determinó mediante la división entre el tamaño de cristalito y la distancia interlamina (**Ecuación 3**). Finalmente, se utilizó la ecuación de las microdeformaciones para determinar el porcentaje de microdeformaciones en el material (**Ecuación 4**).

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (\text{Ec.1})$$

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Ec.2})$$

$$n = \frac{D}{d} \quad (\text{Ec.3})$$

$$\varepsilon = \frac{\beta}{4 \tan \theta} \quad (\text{Ec.4})$$

2.2. Diseño experimental y síntesis de óxido de grafeno

Se aplicaron variantes del método de Hummers, integrando modificaciones propuestas por [6, 7], evitando el uso de H₂O₂ y ajustando el tiempo de reacción (30, 60 o 90 min) y la

cantidad de KMnO_4 (4–6 g) para obtener distintos grados de oxidación. Las condiciones específicas se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Cantidades experimentales utilizadas en cada síntesis de GO.

Muestra	Grafito [g]	KMnO_4 [mL]	NaNO_3 [mL]	H_2SO_4 [mL]	Agua desionizada [mL]	Tiempo de reacción [min]
GO1	1,0	4,0	0,5	30	40	30
GO2	1,0	5,0	0,5	30	40	30
GO3	1,0	6,0	0,5	30	40	30
GO4	1,0	4,0	0,5	30	40	60
GO5	1,0	5,0	0,5	30	40	60
GO6	1,0	6,0	0,5	30	40	60
GO7	1,0	4,0	0,5	30	40	90
GO8	1,0	5,0	0,5	30	40	90
GO9	1,0	6,0	0,5	30	40	90

La síntesis se inició con la mezcla de 1 g de grafito, 0,5 g de NaNO_3 y 30 mL de H_2SO_4 en un baño de hielo (10–15 °C) con agitación a 90 rpm durante 30 min. Luego se transfirió a un baño de aceite a 30 °C y se adicionó lentamente KMnO_4 durante 2 h. La mezcla se calentó a 100 °C y se incorporaron 40 mL de agua Milli-Q de forma controlada para evitar reacciones exotérmicas abruptas. La reacción se mantuvo a 100 °C durante el tiempo correspondiente (30, 60 o 90 min), como se muestra en la **Figura 2**.

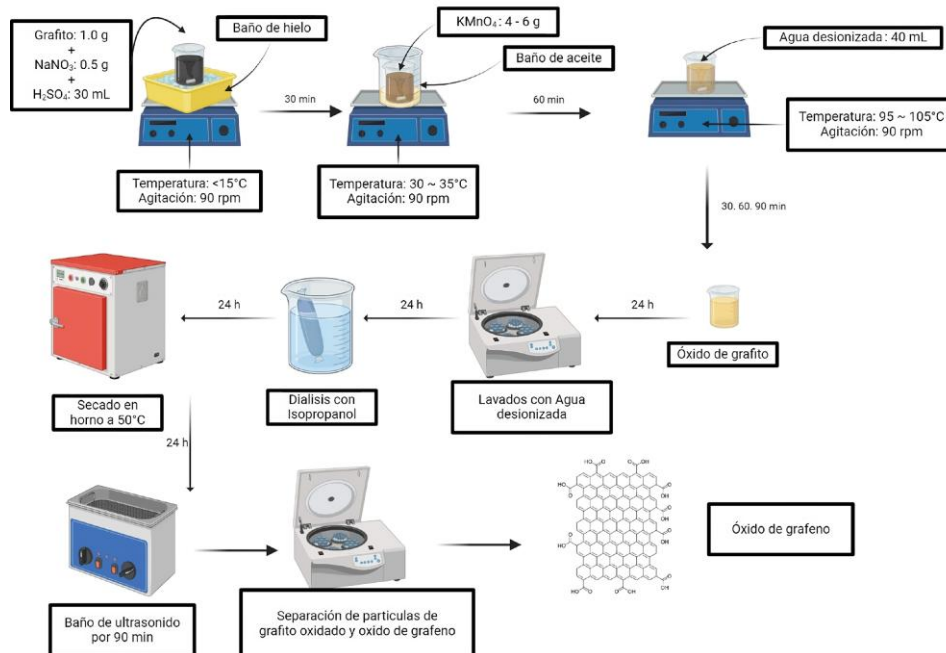


Figura 2. Esquema de síntesis de GO.

El producto fue lavado mediante centrifugación (5000 rpm, 20 min) y reposado en agua Milli-Q durante 24 h; el lavado se repitió hasta alcanzar un pH neutro. Posteriormente, se realizó diálisis en isopropanol durante 24 h, secado a 50°C durante 24 h y trituration manual. Las muestras fueron dispersadas en agua (1 g/L), sonicadas durante 90 min, centrifugadas a 1000 rpm durante 30 min y el sobrenadante fue recolectado como GO. Finalmente, se secó nuevamente a 50°C durante 24 h, se trituró y se almacenó en viales de vidrio. El esquema completo del proceso se muestra en la **Figura 3**.

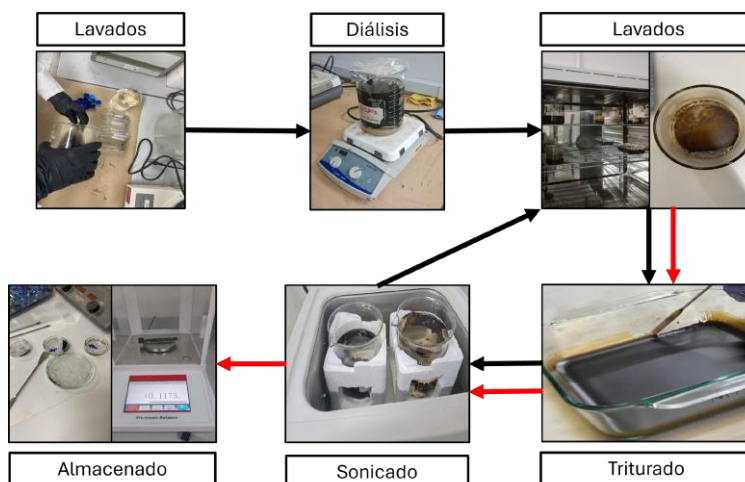


Figura 3. Descripción detallada del proceso tras la síntesis. Las líneas negras representan el primer secado, triturado y sonicado; las líneas rojas, el segundo secado, triturado y sonicado, que finaliza con el almacenamiento.

2.3. Ensayo de viabilidad celular (MTT)

Para el ensayo de viabilidad celular se utilizaron las líneas celulares PC-3 (cáncer de próstata) y Vero (Riñón de mono verde africano) pertenecientes al cepario de la Universidad Libre Seccional Barranquilla. Las células fueron sembradas en una placa de 96 pocillos a una densidad de 11.000 células por pocillo (110 células/ μ L). Estas células se incubaron durante 24 h a 37 °C y 5% de CO₂ antes de la prueba de viabilidad celular. Posteriormente, se prepararon suspensiones stock de 2 mg/mL y 1 mg/mL para cada muestra en PBS. A partir de la dispersión stock de 1 mg/mL, se obtuvieron dispersiones de 500, 200, 100, 50, 25 y 10 μ g/mL, respectivamente, cubriendo el rango de concentraciones evaluadas en el ensayo (10, 25, 50, 100 y 200 μ g/mL).

El reactivo MTT se preparó a una concentración de 5 mg/mL en PBS, el cual se mezcló posteriormente con medio RPMI 1640 en una proporción 1:9. Se añadió el reactivo MTT en combinación con el medio (100 μ L por pocillo) y se incubó durante 3 horas bajo condiciones estándar. Transcurrido este tiempo, se retiró el medio con MTT de cada pocillo y se añadió 100 μ L de DMSO a cada uno de ellos. Los pocillos se agitaron a 100 rpm durante 10 minutos a 37 °C y, finalmente, se procedió a la lectura de la absorbancia a 570 nm.

El análisis estadístico del ensayo de viabilidad celular con MTT para las líneas celulares PC-3 y Vero se realizó con el software OriginPro 2018 SR-1 b9.5.195 y Microsoft Excel 365, mediante el análisis de varianza bidireccional (Two-Way ANOVA) y post hoc con la prueba de Tukey. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de p inferiores a 0,05 ($p < 0.05$).

3. RESULTADOS

3.1. Síntesis del óxido de grafeno (GO)

El óxido de grafeno obtenido presentó una coloración marrón oscuro con matices más claros, característica que sugiere un proceso de oxidación eficiente y una exfoliación adecuada de las láminas de grafito [6]. Durante la síntesis se logró una incorporación efectiva de grupos oxigenados entre las capas de grafeno, favoreciendo la formación de estructuras laminares más separadas y con elevada capacidad de dispersión en medios acuosos. Tras la liofilización, el material evidenció una alta estabilidad coloidal y una textura esponjosa, atributos que suelen asociarse con una oxidación controlada y con la eliminación efectiva de residuos ácidos e impurezas inorgánicas [8]

La homogeneidad en la coloración y la ausencia de agregados visibles en el sólido final indican una adecuada dispersión previa y una exfoliación uniforme de las láminas. Las diferencias cromáticas observadas en las dispersiones —desde tonalidades mostaza hasta café oscuro— reflejan variaciones en el grado de oxidación del GO. En particular, las tonalidades mostaza se relacionan con un mayor contenido de grupos oxigenados (GO altamente oxidado), mientras que el color café se asocia con niveles de oxidación más bajos y con la presencia parcial de dominios grafiticos [9]. Estas variaciones visuales anticipan

posibles diferencias en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del material, especialmente en su actividad frente a células cancerígenas.

3.2. Caracterización morfológica mediante SEM

La morfología superficial del óxido de grafeno fue caracterizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las micrografías obtenidas revelan una estructura típica de hojas delgadas con apariencia arrugada, lo cual es característico de materiales grafénicos exfoliados [10]. Adicionalmente, se observan láminas con bordes irregulares y zonas superpuestas, lo cual es coherente con una exfoliación parcial y una distribución no homogénea a lo largo del espesor de las capas (**Figura 4**) [11].

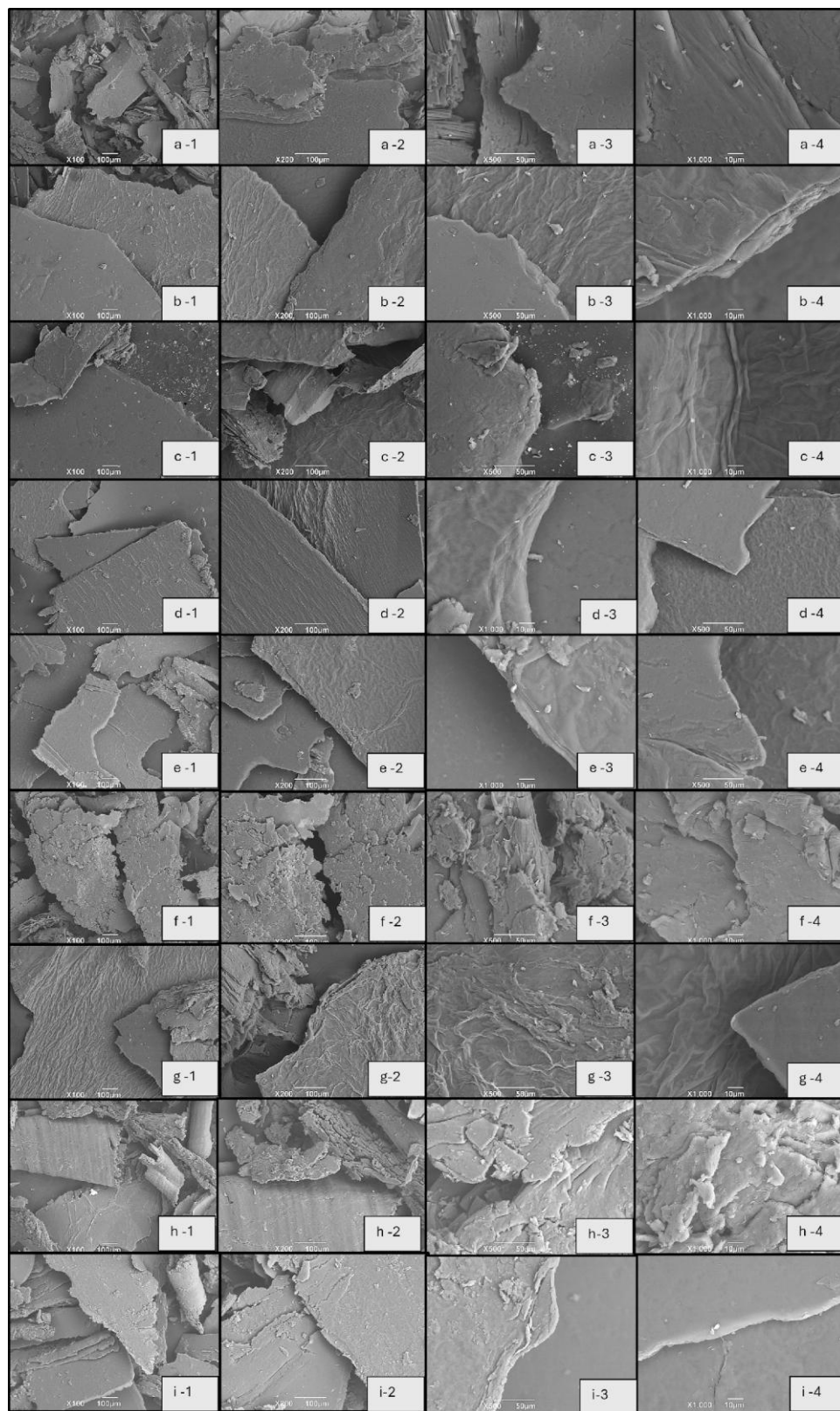


Figura 4. Imágenes SEM de las muestras: a) GO1; b) GO2; c) GO3; d) GO4; e) GO5; f) GO6; g) GO7; h) GO8; i) GO9. Cada muestra a diferentes aumentos: 1- $\times 100$; 2- $\times 200$; 3- $\times 500$; 4- $\times 1000$.

3.3. Análisis elemental mediante EDS

El análisis elemental por espectroscopía de dispersión de energía (EDS), mostrado en la **Figura 5**, confirma que los principales elementos presentes en la muestra son carbono (C) y oxígeno (O). El espectro no evidencia señales relevantes de otros elementos, lo que indica la ausencia de contaminantes metálicos derivados de los reactivos empleados [12]. La relación atómica O/C fue estimada en aproximadamente 0,37 (**Tabla 2**), valor que concuerda con los de materiales obtenidos mediante oxidación química intensa e implica una densidad significativa de grupos funcionales como hidroxilos, epóxidos y carboxilos [13].

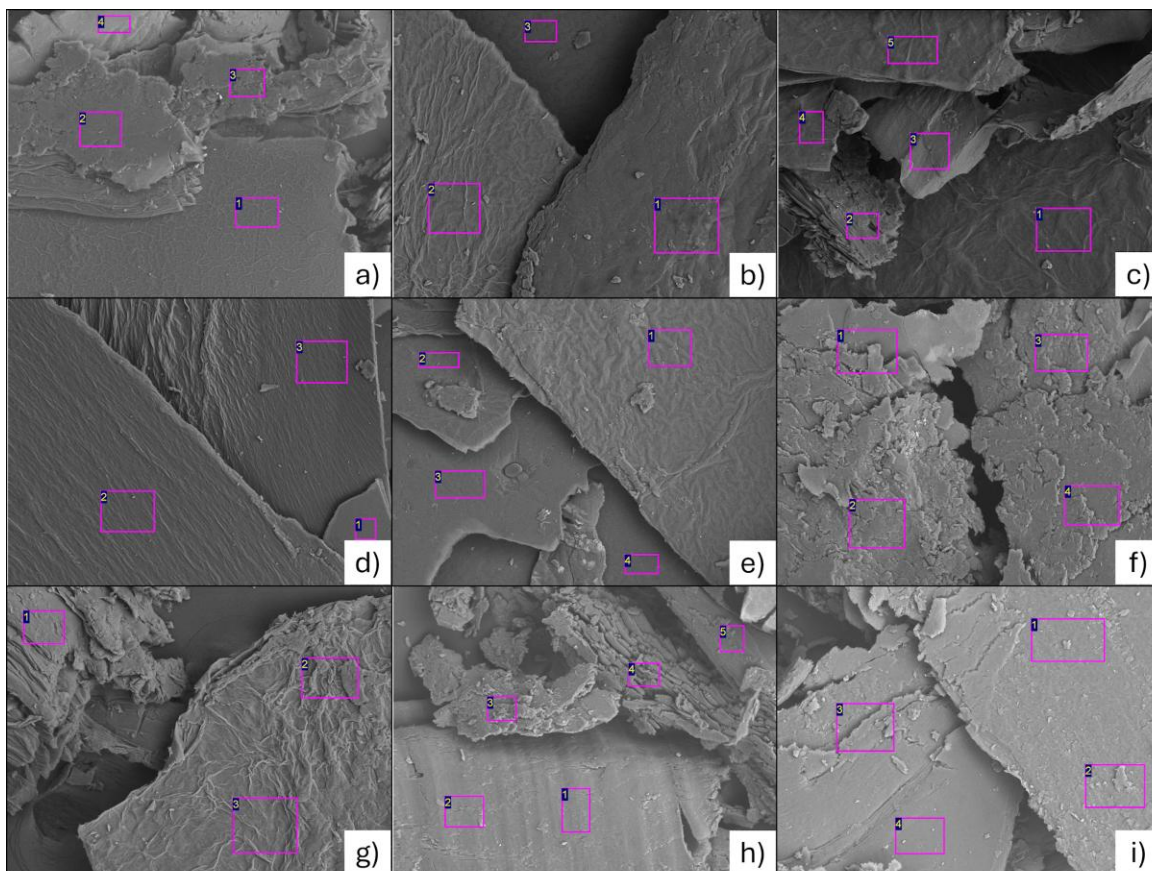


Figura 5. Análisis SEM-EDS de las diferentes muestras de GO. a) GO1; b) GO2; c) GO3; d) GO4; e) GO5; f) GO6; g) GO7; h) GO8; i) GO9.

Tabla 2. Composición elemental determinada mediante la técnica SEM-EDS.

Muestra	Porcentaje atómico (at. %)									
	C	O	Na	S	K	Ca	Mn	Mo	O/C	Impurezas
GO1	60,27	38,13	0,37	1,01	0,12	0,91	-	-	0,64	2,41
GO2	60,91	37,00	-	1,76	0,49	-	-	-	0,61	2,25
GO3	60,89	38,47	-	0,59	0,09	0,10	-	-	0,63	0,78
GO4	59,44	39,61	-	0,19	-	0,14	-	0,19	0,67	0,52
GO5	58,09	40,52	-	1,31	0,13	0,16	-	-	0,70	1,6
GO6	58,95	39,18	-	1,35	0,35	0,31	0,38	-	0,67	2,39
GO7	59,45	40,14	-	0,42	-	-	-	-	0,68	0,42
GO8	57,89	41,41	0,39	0,57	0,21	-	-	-	0,72	1,1
GO9	59,41	40,22	-	-	0,19	0,22	0,33	-	0,68	0,74

3.4. Análisis de tamaño de lámina mediante DLS

La distribución del tamaño de las láminas obtenidas (**Tabla 3**) reveló un tamaño promedio de $325,5 \pm 28,7$ nm y un índice de polidispersidad (PDI) de 0,234. Estos valores sugieren una distribución moderadamente monodispersa del GO en suspensión, lo que indica una exfoliación eficiente y una agregación limitada. No se observaron múltiples picos en la distribución, lo que respalda la existencia de una población dominante de láminas de tamaño homogéneo [14].

Este comportamiento es consistente con lo reportado para GO sintetizado mediante métodos similares, en los cuales la presencia de grupos funcionales oxigenados favorece la estabilidad coloidal al inducir repulsión electrostática entre las láminas [15].

Tabla 3. Tamaños de las láminas de GO.

Muestra	GO1	GO2	GO3	GO4	GO5	GO6	GO7	GO8	GO9
Tamaño de láminas [nm]	655,4	823,5	665,5	509,3	493,1	210,3	280,9	363,5	402,1
Polidispersidad	0,2707	0,2823	0,043	0,2986	0,2429	0,0807	1	0,0578	0,5023

3.5. Caracterización química mediante FTIR

El análisis por espectroscopía infrarroja mediante transformada de Fourier (FTIR) permitió identificar la presencia de grupos funcionales oxigenados en la estructura del GO. En el espectro FTIR (**Figura 6**), se observaron bandas características atribuidas a vibraciones de enlaces correspondientes a distintos grupos funcionales: una banda ancha centrada en 3400 cm^{-1} asociada a los grupos hidroxilo (O-H), una señal en 1725 cm^{-1} correspondiente a grupos carbonilo (C=O) [10]. Una banda en 1620 cm^{-1} , debida a la vibración del esqueleto C=C del anillo aromático, y bandas adicionales en 1220 y 1050 cm^{-1} , asignadas a los grupos epóxido

(C–O–C) y alcoxi (C–O), respectivamente. La presencia de estos picos confirma la oxidación del grafito y la funcionalización química de las láminas de GO; las bandas mencionadas se presentan en la **Tabla 4**.

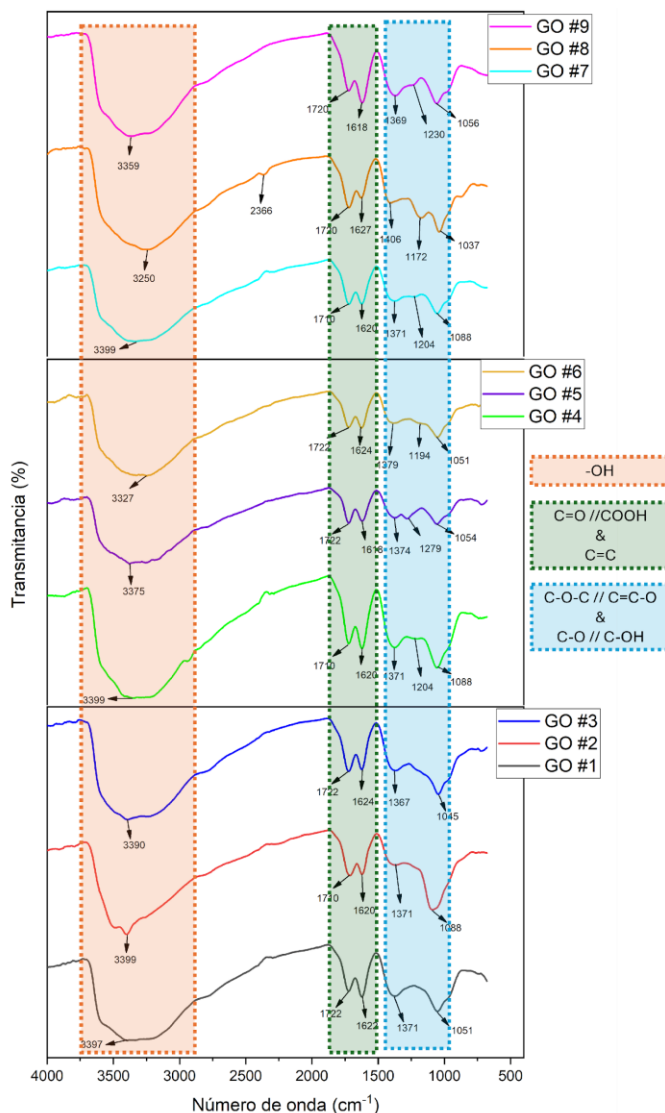


Figura 6. FTIR de las muestras de GO. Los diferentes colores indican los rangos aproximados de cada vibración de enlace de los principales grupos funcionales presentes en el GO.

Tabla 4. Información sobre las bandas de vibración FTIR de cada muestra.

Muestra	Números de onda (cm ⁻¹)					
	Hidroxilo (-OH)	Carbonilo /ácido carboxílico (-C=O / -COOH)	Alqueno (C=C)	Aldehído (H-CO-)	Éter [Aromático o vinílico] / Epoxi (C=C-O- / O-C-O)	Alcoholes, éteres, ésteres, ácidos (-C-O / -C-OH)
GO1	3397	1722	1622	1371	-	1051
GO2	3399	1710	1620	1371	-	1088
GO3	3390	1722	1624	1367	-	1045
GO4	3350	1720	1620	1372	1204	1054
GO5	3375	1722	1618	1374	1279	1054
GO6	3327	1722	1624	1379	1194	1051
GO7	3332	1720	1624	1371	1232	1054
GO8	3250	1720	1627	1406	1172	1037
GO9	3359	1720	1618	1369	1230	1056

3.6. Caracterización química superficial mediante XPS

La espectroscopía XPS se utilizó para analizar la composición superficial y los grupos funcionales del óxido de grafeno (GO) en las muestras GO1, GO2 y GO3. Estas muestras fueron seleccionadas como representativas del efecto de la concentración de KMnO_4 (4, 5 y 6 g) a tiempo de reacción constante (30 min), con el fin de evaluar el efecto de este parámetro sobre la química superficial del material de forma sistemática. Los espectros de barrido amplio (**Figura 7**) mostraron picos característicos de carbono (C 1s, 278–294 eV) y de oxígeno (O 1s, 528–535 eV), lo que confirma la estructura básica del GO [10].

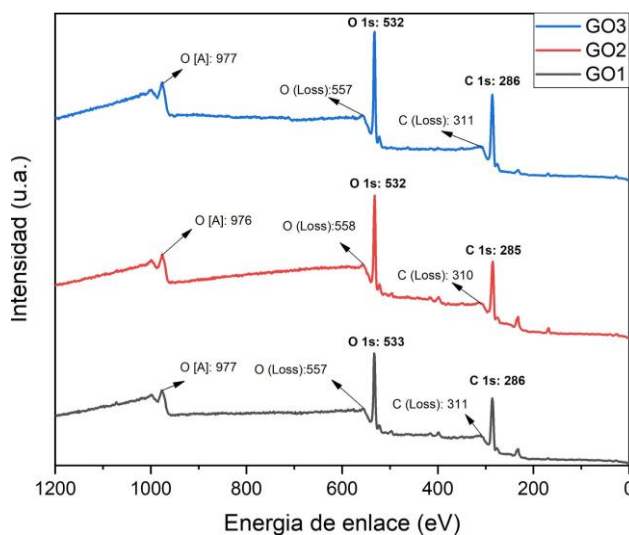


Figura 7. Espectro XPS de amplio rango de las muestras GO1, GO2 y GO3.

El análisis de C 1s (**Figura 8**) reveló los siguientes grupos funcionales: C=C (sp^2 , ~283.6 eV), C–C (sp^3 , ~284.5 eV), C–OH (~285.6 eV), C–O–C (~286.7 eV), C=O (~287.1 eV) y O=C–O / O=C–OH (~288.5 eV). GO1 presentó cinco picos principales, sin C=O, mientras

que GO2 y GO3 mostraron C=O, con una disminución de los grupos oxigenados. Este patrón sugiere que el aumento de la concentración de permanganato de potasio (KMnO₄) favoreció la oxidación, reduciendo grupos como C–OH y O=C–O [16].

El análisis térmico también influyó en la estructura del GO, ya que las temperaturas más altas favorecieron la formación de enlaces C=C (sp²) y la generación de epóxidos y alcoholes, con una disminución de la concentración de C–OH a temperaturas elevadas

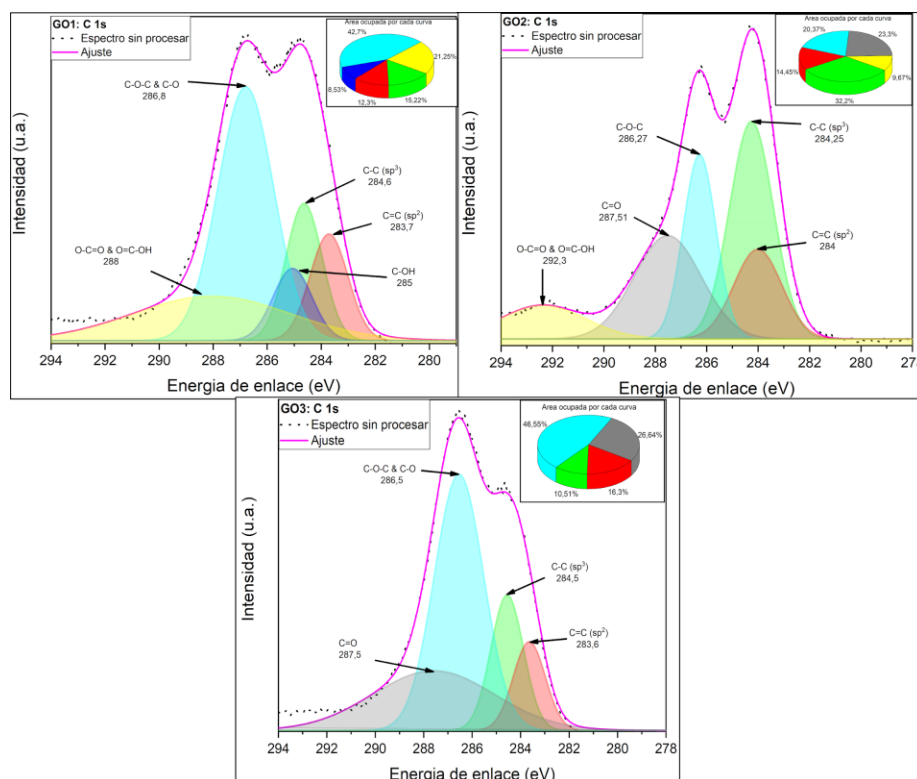


Figura 8. Espectros de alta resolución XPS del C1s con las deconvoluciones de las muestras GO1, GO2 y GO3.

La deconvolución del pico O 1s (**Figura 9**) reveló tres componentes principales: O=C–O (~531.1 eV), C–O–C (~532.5 eV) y C–OH (~533.5 eV), y un cuarto pico en GO3, atribuido a C=O (~531.7 eV). Estos resultados indican que los grupos epóxido y hidroxilo son predominantes en la superficie basal, mientras que los grupos carboxilo se encuentran en los bordes de las láminas de grafeno [7].

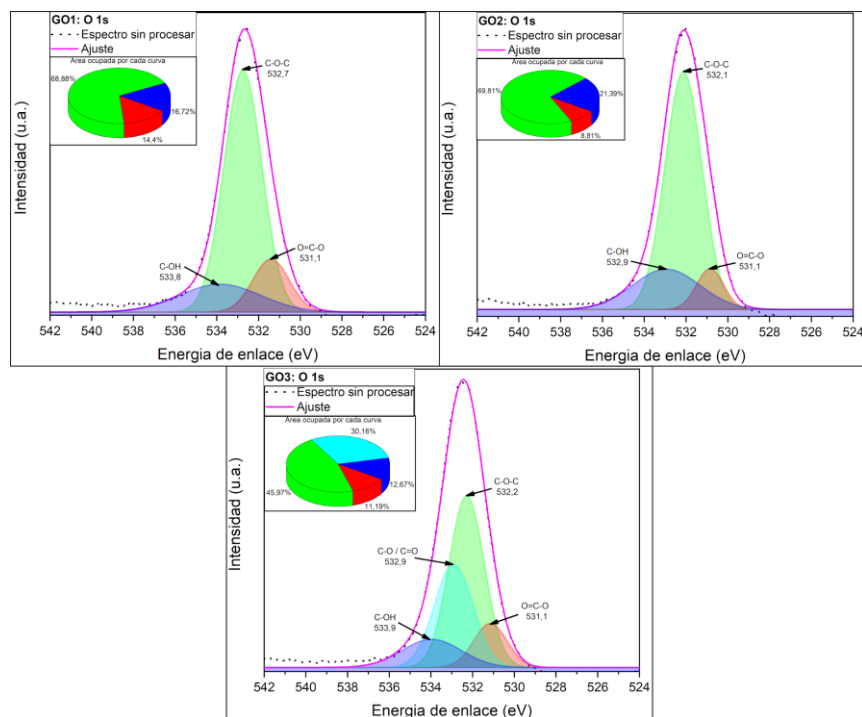


Figura 9. Espectros de alta resolución de XPS de O 1s con las deconvoluciones de las muestras GO1, GO2 y GO3.

Finalmente, la **Tabla 5** muestra que la relación O/C obtenida por XPS es un 12,5 % superior a la obtenida por EDS, debido a que XPS proporciona un análisis más detallado de la química superficial, mientras que EDS ofrece un análisis volumétrico más amplio [16]. Estas diferencias subrayan la importancia de emplear ambas técnicas para obtener una caracterización completa del material.

Tabla 5. Composiciones elementales y relación O/C de muestras GO1 del análisis XPS.

Muestra	Pico	Intensidad	Factor de sensibilidad	I/S	Concentración (%)	Relación O/C
GO1	C 1s	34574	1	34574	57,0	0,754
	O 1s	76415	2,93	26080	43,0	
GO2	C 1s	42405	1	42405	56,8	0,762
	O 1s	94622	2,93	32294	43,2	
GO3	C 1s	52220	1	52220	57,8	0,729
	O 1s	111561	2,93	38075	42,2	

3.7. Análisis estructural mediante DRX

El análisis estructural del GO se realizó mediante difracción de rayos X (DRX). En el difractograma obtenido (**Figura 10**), se observó un pico principal centrado en $2\theta \approx 10.8^\circ$, correspondiente al plano (001), típico de materiales grafénicos fuertemente oxidados [17]. Este desplazamiento respecto al pico característico del grafito (alrededor de 26°) indica un aumento de la distancia interlaminar, atribuible a la inserción de grupos funcionales oxigenados y a la adsorción de moléculas de agua [18].

El valor calculado de la distancia interplanar d , a partir de la ecuación de Bragg, fue de aproximadamente 0,82 nm, significativamente mayor que el valor típico del grafito (0,34 nm). Esta expansión interlaminar respalda la hipótesis de una oxidación efectiva del material, lo cual concuerda con los resultados obtenidos mediante FTIR y XPS [19]. Los valores generales del análisis DRX se presentan en la **Tabla 6**.

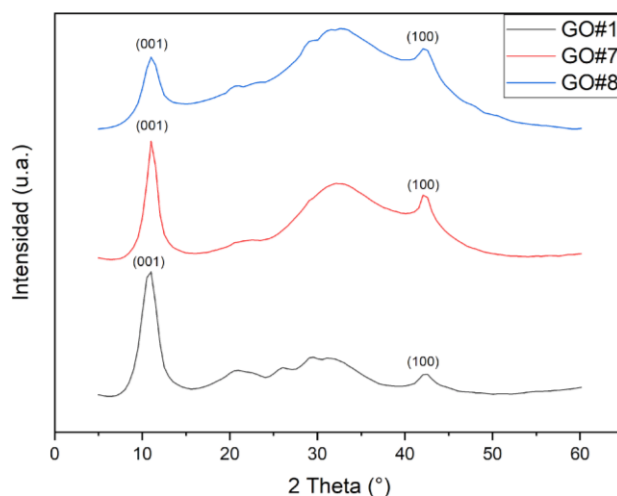


Figura 10. Espectro DRX de las muestras GO1, GO7 y GO8.

Tabla 6. Datos obtenidos del análisis DRX de las muestras de GO sintetizadas.

Muestra	Plano	Ángulo 2θ (°)	Ancho (°)	Distancia Interlaminar (nm)	Tamaño de cristalita (nm)	Número de láminas (n)	Deformación reticular (%)
GO#1	001	11,013	1,859	0,803	4,292	5	8,42%
	100	42,078	2,665	0,215	3,194	15	3,02%
GO#7	001	11,013	1,457	0,803	5,478	7	6,59%
	100	42,078	2,366	0,215	3,597	17	2,68%
GO#8	001	11,013	2,552	0,803	3,128	4	11,55%
	100	42,078	2,043	0,215	4,166	19	2,32%

3.8. Ensayo de viabilidad celular (MTT)

La citotoxicidad del óxido de grafeno (GO) se evaluó mediante el ensayo colorimétrico MTT en células Vero (células renales de mono verde africano) y en células neoplásicas PC-3 (cáncer de próstata humano). Este ensayo permite cuantificar la actividad metabólica mitocondrial como indicador indirecto de la viabilidad celular mediante la reducción del MTT a formazán por enzimas mitocondriales activas [20]

Las células fueron expuestas durante 24 horas a diferentes concentraciones de GO (10, 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$), siguiendo los lineamientos de la norma ISO 10993-5 [21]. Posteriormente, se observó una disminución gradual de la viabilidad celular dependiente de la concentración del material. La **Figura 11** muestra el porcentaje de viabilidad en relación con el control (sin tratamiento).

En el caso de las células PC-3, se observaron diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas. A bajas concentraciones (10 y 25 $\mu\text{g/mL}$), el GO no presentó efectos citotóxicos apreciables, manteniéndose una viabilidad celular superior al 85% y sin diferencias estadísticamente significativas frente al control ($p > 0.05$). A partir de 50 $\mu\text{g/mL}$, la viabilidad celular comenzó a disminuir progresivamente hasta que fue significativa a 100 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0.05$), con valores cercanos al 70%. En la concentración más alta (200 $\mu\text{g/mL}$), la viabilidad se redujo por debajo del 60%, lo que indica un efecto tóxico considerable. En general, el GO presenta efectos citotóxicos en las células PC-3, que se intensifican con la concentración [22].

Por el contrario, las células Vero mostraron una alta viabilidad celular frente a las distintas concentraciones de GO, con valores promedio cercanos al 100%. Este comportamiento evidencia que el material no produjo efectos citotóxicos relevantes en células sanas bajo las condiciones evaluadas, lo que sugiere una posible diferencia en la respuesta citotóxica entre ambas líneas celulares. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para confirmar la biocompatibilidad selectiva del GO frente a células neoplásicas.

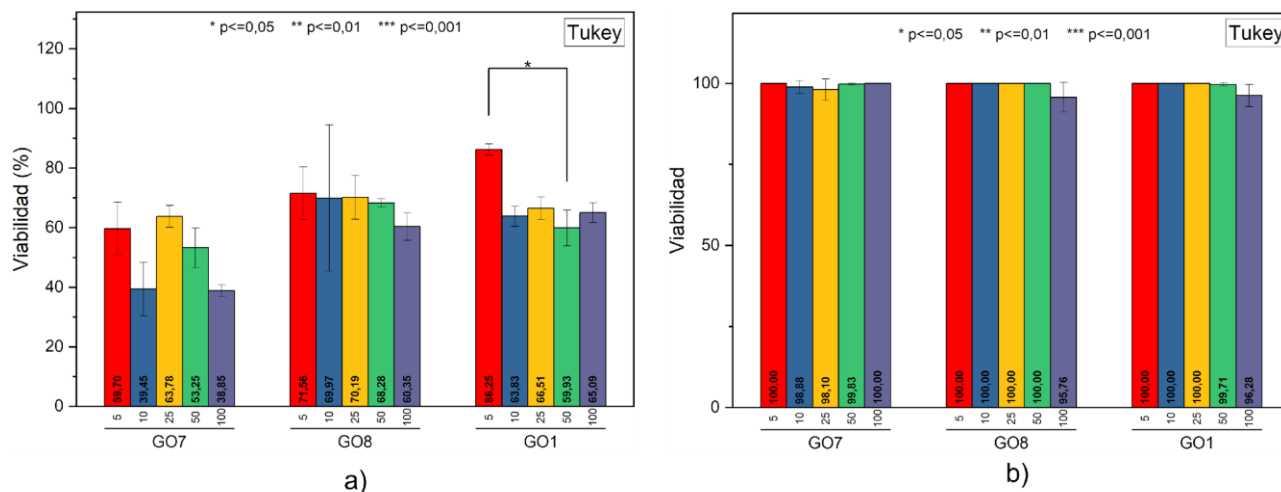


Figura 11. Conteo de viabilidad: a) línea celular PC-3; b) línea celular Vero.

4. CONCLUSIONES

La modificación controlada del tiempo de reacción y de la concentración de permanganato de potasio permitió obtener óxidos de grafeno (GO) con grados de oxidación diferenciados, demostrando una relación directa entre las condiciones de síntesis, la estructura superficial y la respuesta biológica del material. A medida que aumentó el grado de oxidación, se observó un incremento en la relación O/C, una exfoliación más eficiente y una reducción en el tamaño laminar, resultados corroborados mediante SEM-EDS, FTIR, XPS y DRX.

Entre las muestras analizadas, GO7 y GO1 exhibieron los niveles de oxidación más elevados, asociados a una mayor densidad de grupos funcionales oxigenados (hidroxilo, epoxi, carbonilo y carboxilo) y a una arquitectura laminar más fina y homogénea. Estas características tuvieron un impacto significativo en la respuesta biológica: GO7 mostró la citotoxicidad más pronunciada frente a células PC-3, disminuyendo su viabilidad por debajo del 60 % a concentraciones de 100–200 µg/mL, mientras que en células Vero no se detectaron efectos citotóxicos relevantes, manteniéndose valores superiores al 90 %. Este comportamiento sugiere una posible diferencia en la respuesta citotóxica entre células tumorales y sanas, modulada por la densidad y el tipo de grupos oxigenados presentes; no obstante, se requieren estudios complementarios para confirmar esta selectividad.

La elevada pureza de las muestras ($\geq 97,5$ %) garantizó la reproducibilidad y consistencia de los datos, en tanto que las variaciones en la distancia interlaminar y en la rugosidad superficial confirmaron su influencia en la interacción célula-material. En conjunto, los resultados demuestran que el grado de oxidación, la topografía superficial y la organización estructural del GO constituyen parámetros clave para definir su biocompatibilidad y funcionalidad.

Estos hallazgos proporcionan una base sólida para el desarrollo de rutas de síntesis optimizadas con menor impacto ambiental y para la funcionalización dirigida del GO en aplicaciones biomédicas, incluyendo sistemas de liberación controlada de fármacos y recubrimientos bioactivos. Para avanzar hacia aplicaciones terapéuticas antitumorales, se requieren estudios complementarios *in vitro* e *in vivo* que permitan validar la selectividad observada.

AGRADECIMIENTOS Y FINANCIAMIENTO

Los autores desean agradecer a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle por financiar parte de la investigación a partir del proyecto “Estudio de propiedades anticancerígenas de nanopartículas de óxido de grafeno frente a células de cáncer óseo” de la Convocatoria Interna 111-2018 (CI 21026).

REFERENCIAS

- [1] Restrepo, J. M. C., & Jaramillo, J. (2024). Contribuciones de la formación en el área de materiales. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, *13*(25), 65–80. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-33242014000200006
- [2] Silva, C., Pina, D., Hernández, H., & Román, M. (2018). Revisión Sistemática sobre la toxicidad derivada de la exposición al Grafeno. *Medicina y seguridad del trabajo*, *64*(250), 75–88. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2018000100075
- [3] Cao, W., He, L., Cao, W., Huang, X., Jia, K., & Dai, J. (2020). Recent progress of graphene oxide as a potential vaccine carrier and adjuvant. *Acta Biomaterialia*, 112, 14–28. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.009export>
- [4] Zolezzi, I. C. A. (2017). Efecto del grado de oxidación del óxido de grafeno sobre la remoción de contaminantes solubles y particulados [Tesis, Universidad de Chile]. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/148988>
- [5] Zhou, Y., Xie, C., Su, L., & Han, X. (2019). Study of the risks of the graphene oxide preparation process by reaction calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *139*(1), 101–112. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08364-9>
- [6] Zhou, A., Yu, T., Liang, X., & Yin, S. (2023). H₂O₂-Free strategy derived from hummers method for preparing graphene oxide with high oxidation degree. *FlatChem*, 100487. <https://doi.org/10.1016/j.flatc.2023.100487>
- [7] Alkhouzaam, A., Qiblawey, H., Khraisheh, M., Atieh, M., & Al-Ghouti, M. (2020). Synthesis of graphene oxides particle of high oxidation degree using a modified Hummers method. *Ceramics International*, *46*(15), 23997–24007. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.06.177>

- [8] Li, X., Wu, C., Hou, B., Wu, J., Sun, R., & Chen, M. (2023). Molecular investigation of interplay mechanism between polydopamine and graphene oxide: The effect of oxidation degree on the adsorption behavior of polydopamine. *Applied Surface Science*, 611, 155759. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.155759>
- [9] Park, J., Lee, W., Nam, J., Han, J. T., Choi, C.-J., & Hwang, J. Y. (2022). A study of the correlation between the oxidation degree and thickness of graphene oxides. *Carbon*, 189, 579–585. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2021.12.101>
- [10] Suhaimin, N. S., Hanifah, M. F. R., Azhar, M., Jaafar, J., Aziz, M., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., Rahman, M. A., Aziz, F., Yusof, N., & Mohamud, R. (2022). The evolution of oxygen-functional groups of graphene oxide as a function of oxidation degree. *Materials Chemistry and Physics*, 278, 125629. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.125629>
- [11] Cano, F. J., Coste, S., Reyes-Vallejo, O., Makowska-Janusik, M., Velumani, S., Olvera, M. d. I. L., & Kassiba, A. (2024). Influence of GO oxidation degrees on the organization and physical features of TiO₂-GO-based nanocomposites for water dye removal. *Surfaces and Interfaces*, 104004. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2024.104004>
- [12] Salagare, S., Adarakatti, P. S., Venkataramanappa, Y., & Almalki, A. S. A. (2021). Electrochemical nitrite sensing employing palladium oxide–reduced graphene oxide (PdO-RGO) nanocomposites: Application to food and environmental samples. *Ionics*, *28*(2), 927–938. <https://doi.org/10.1007/s11581-021-04355-9>
- [13] Tahmasbi, B., Darabi, M., Moradi, P., Abbasi Tyula, Y., & Nikoorazm, M. (2024). Gadolinium Schiff-base complex on nanocomposite of graphene oxide magnetic nanoparticles as a robust, reusable and chemoselective nanocatalyst in the C–C coupling reactions. *Polyhedron*, 117038. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2024.117038>
- [14] Ma, L., Lyu, S.-S., Dai, Y., Pei, X.-Y., Mo, D.-C., & Fu, Y.-X. (2019). Lithium storage properties of NiO/reduced graphene oxide composites derived from different oxidation degrees of graphite oxide. *Journal of Alloys and Compounds*, 810, 151954. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.151954>
- [15] Zhou, A., Bai, J., Hong, W. y Bai, H. (2022). Electrochemically reduced graphene oxide: preparation, composites, and applications. *Carbon*, 191: 301-332. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.01.056>. (PDF) Interacciones de nanoestructuras sobre óxido de grafeno. Available from: https://www.researchgate.net/publication/370850028_Interacciones_de_nanoestructuras_sobre_oxido_de_grafeno
- [16] Crist, B. V. (2021). The XPS library website: A resource for the XPS community including - The XPS library of information, XPS spectra-base having >70,000 monochromatic XPS spectra, and spectral data processor (SDP) v8.0 software. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 248, 147046. <https://doi.org/10.1016/j.elspec.2021.147046>

- [17] Manjushree, S. G., Adarakatti, P. S., Udayakumar, V., & Almalki, A. S. A. (2021). Hexagonal cerium oxide decorated on β -Ni(OH)₂ nanosheets stabilized by reduced graphene oxide for effective sensing of H₂O₂. *Carbon Letters*, 32(2), 591–604. <https://doi.org/10.1007/s42823-021-00296-5>
- [18] Mansoori Mosleh, F., Mortazavi, Y., Hosseinpour, N., & Khodadadi, A. A. (2019). Asphaltene adsorption onto carbonaceous nanostructures. *Energy & Fuels*, 34(1), 211–224. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b03466>
- [19] Ain, Q. T., Haq, S. H., Alshammari, A., Al-Mutlaq, M. A., & Anjum, M. N. (2019). The systemic effect of PEG-nGO-induced oxidative stress in vivo in a rodent model. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 10, 901–911. <https://doi.org/10.3762/bjnano.10.91>
- [20] Feng, W., Wang, J., Li, B., Liu, Y., Xu, D., Cheng, K., & Zhuang, J. (2022). Graphene oxide leads to mitochondrial-dependent apoptosis by activating ROS-p53-mPTP pathway in intestinal cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 146, 106206. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2022.106206>
- [21] International Organization for Standardization. (2009). Biological evaluation of medical devices (ISO 10993-5). <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/buscatu-norma/norma?c=N0044389>
- [22] Hou, Y., Wang, W., & Bartolo, P. (2023). The effect of graphene and graphene oxide induced reactive oxygen species on polycaprolactone scaffolds for bone cancer applications. *Materials Today Bio*, 100886. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100886>