Química verde en la síntesis de rGO partiendo de la exfoliación electroquímica del grafito

Gerardo Flores Jerónimo, Carlos A. Guerrero Salazar, Virgilio A. González González, Tania E. Guerrero Salas
Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica
Universidad Autónoma de Nuevo León
carlos.guerreros@uanl.mx

RESUMEN

Se sintetizó óxido de grafeno reducido (rGO) usando química verde. Se obtuvo óxido de grafeno (GO) mediante la exfoliación electroquímica de una placa de grafito, para después ser reducido químicamente utilizando un extracto acuoso de hojas del árbol Azadirachta Indica (comúnmente conocido como Neem). Las muestras de grafito, GO y rGO fueron caracterizadas por difracción de rayos X, espectroscopia de infrarrojo, espectroscopia Raman y microscopía electrónica de barrido. El extracto de Neem funciona bien como agente reductor, removiendo parcialmente el oxígeno en las muestras de GO. A mayor concentración del extracto de Neem, mayor la reducción del GO.

PALABRAS CLAVE

Óxido de grafeno reducido, óxido de grafeno, Neem, química verde.

ABSTRACT

Reduced graphene oxide (rGO) was synthesized by green chemistry. Graphene oxide (GO) was produced by electrochemical exfoliation of a graphite plate and, subsequently, the samples of GO were reduced using an aqueous extract of the leaves of Azadirachta Indica (commonly known as Neem). The samples of graphite, GO and rGO were characterized by X-Ray diffraction, infrared spectroscopy, Raman spectroscopy and scanning electron microscopy. Neem extract works well as a reducing agent, partially removing oxygen into samples of GO. Greater the concentration of the extract of Neem, further reduction of the GO.

KEYWORDS

Reduced graphene oxide, graphene oxide, Neem, green chemistry.

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es la rama de la ciencia que se encarga de estudiar los fenómenos que ocurren en la escala de 1 a 100nm. Dentro de los materiales nanométricos más estudiados actualmente se encuentra un alótropo del carbono, el grafeno. Éste es un material de tipo 2D que se obtiene exfoliando las láminas de carbono con hibridación sp^2 presentes en el grafito, las cuales se mantienen

unidas por fuerzas de Van der Waals e interacciones entre los orbitales π de los electrones deslocalizados del carbono, lo que provoca que se puedan separar fácilmente.

El grafeno fue descubierto, aislado y caracterizado en el año 2004 por los físicos rusos Andre Geim y Konstantin Novoselov en la Universidad de Manchester, en Inglaterra,[1] quienes posteriormente recibieron el Premio Nobel en el 2010 por sus experimentos con dicho material.[2,3] El grafeno posee propiedades físicas, químicas, mecánicas, térmicas, ópticas y eléctricas sobresalientes, lo que le da una enorme gama de aplicaciones en distintos sectores.

Dentro de los métodos más comunes para la síntesis de grafeno se encuentran: la exfoliación mecánica,[1] técnicas de deposición química con vapor (CVD),[4] descomposición térmica de carburo de silicio (SiC),[5] exfoliación electroquímica[6-12] y métodos químicos de oxidación y reducción, siendo el método de Hummers[13] (en sus distintas variantes), el más ampliamente usado[14] por su capacidad de producción en masa.

La separación de capas del grafito por exfoliación electroquímica es sencilla, amigable con el ambiente y no requiere de equipos ni reactivos complejos.[7] El equipo necesario para hacer uso de esta técnica consta de dos electrodos que se conectan a una fuente de voltaje, donde el ánodo (+) puede ser una barra o cilindro de grafito y el cátodo (-) puede ser también de grafito o metálico. Los electrodos son sumergidos en soluciones de ácidos (H_2SO_4, H_3PO_4) o sales inorgánicas (NH_4Cl, Na_2SO_4, $NaNO_3$, K_2SO_4, $NaClO_4$) que actúan como electrolitos. Al aplicar un voltaje, los electrodos se polarizan y atraen a las especies iónicas de carga opuesta y, en las capas más externas del ánodo de grafito, se introducen los iones y provocan la expansión y separación de láminas. El material que se obtiene al final consiste en láminas de carbono con impurezas de oxígeno e hidrógeno (principalmente) y se conoce como óxido de grafeno o GO.

Las propiedades del GO son muy diferentes a las del grafeno por lo que, si se quieren recuperar las magníficas propiedades de este último material, se tienen que eliminar la mayor parte de las impurezas insertadas en las láminas durante la oxidación. Para la remoción del oxígeno se debe hacer uso de un agente reductor, siendo el más eficiente la hidrazina N_2H_4; sin embargo, este reactivo es altamente nocivo para el ambiente y la salud de los seres vivos. Es por eso, que se han planteado métodos amigables con el ambiente para la exfoliación del grafito, su oxidación y posterior reducción. Una alternativa consiste en efectuar la reducción con "agentes reductores verdes", los cuales no producen residuos tóxicos.[15] Entre los agentes reductores verdes se han investigado ácidos orgánicos, microorganismos, azúcares de origen vegetal, antioxidantes, aminoácidos, proteínas y algunos extractos de plantas.

En la literatura científica hay reportados trabajos en donde se ha logrado la reducción del GO haciendo uso de distintos extractos de plantas. En la tabla I se citan algunas de las plantas que se han usado como agentes reductores para la síntesis de rGO.

La Azadirachta Indica, planta comúnmente conocida como Neem, es un árbol perteneciente a la familia Meliaceae, originario de la India y Birmania, el cual se desarrolla en regiones tropicales y subtropicales. Algunos autores han demostrado las propiedades reductoras del extracto de dicha planta en la síntesis

Tabla I. Extractos de plantas usados para la reducción de GO

Agente reductor	Referencia	Agente reductor	Referencia
Agua de coco	16	Extracto de hoja de cerezo	17
Cafeína	18	Extracto de hoja de espinaca	19
Extracto de albahaca	20	Extracto de hoja de eucalipto	21
Extracto de clavo	22	Extracto de hoja de salvadora pérsica	23
Extracto de flor de crisantemo	24	Ginkgo Biloba	25
Extracto de flor de Jamaica	26	Raíz de zanahoria	27

de nanopartículas de oro[28] y plata,[28-31] así como de nanocompósitos Au-rGO y Ag-rGO,[32] donde los fitoquímicos presentes en la planta son los responsables de la reducción de los iones metálicos Ag+ y Au+ con la consecuente formación de nanopartículas metálicas.[32]

Un esquema de la reducción del GO mediante el extracto de las hojas de Neem se muestra en la figura 1. Se pueden encontrar una gran cantidad de fitoquímicos en el extracto de hojas, los cuales son los responsables de la reducción del GO. Entre los más importantes se pueden citar los flavonoides, quinonas, cetonas, aldehídos y ácidos orgánicos.[33, 34] En principio, los grupos carboxilo e hidroxilo existentes en el extracto de las hojas, reaccionarían con los grupos oxigenados del GO procediendo a la reducción de este último.

Siguiendo el orden de ideas presentado en párrafos anteriores, en este trabajo se realizó la síntesis de GO por exfoliación electroquímica haciendo uso de una placa de grafito como ánodo (+) y malla de acero inoxidable como cátodo (-); se empleó H_3PO_4 como electrolito. Posteriormente, se obtuvo rGO mediante la reducción química del GO, para lo cual se utilizó el extracto acuoso de hojas de Neem.

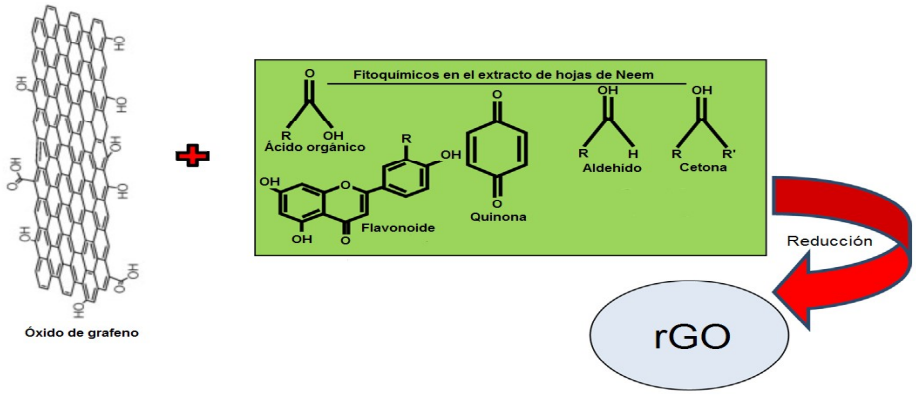

Fig. 1. Esquema de la reducción del óxido de grafeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la síntesis de GO se empleó como ánodo una placa de grafito de 2.5 x 3 x 1cm (Especialidades de Grafito S.A. de C.V.) y cómo cátodo, un rectángulo de malla de acero inoxidable (calibre 16) con las mismas dimensiones de área que la placa de grafito. Ambos electrodos fueron conectados a una fuente de voltaje (QW® modelo QW-MS305D), sumergiéndose en 20mL de una solución ácida de H_3PO_4 (CTR Scientific®, 85%), contenidos en un vaso de precipitados de 50mL; se ajustó el voltaje en 10V y la corriente en 5A, aplicándose éstos durante 10min. El procedimiento se repitió hasta obtener una cantidad considerable de grafito exfoliado (GO). Posteriormente la dispersión ácido/GO se neutralizó con KOH 10M (CTR Scientific®) revisando el pH con tiras de papel indicador. El GO se lavó y se separó de la solución mediante filtrado al vacío, añadiendo 1L de agua desionizada. El filtrado se secó durante 24h en una estufa a 60°C y se pulverizó en un mortero de ágata.

Para reducir el GO se usó extracto acuoso de hojas de neem. Las hojas fueron recolectadas en la Facultad de Agronomía, Unidad Marín, Nuevo León, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, y se lavaron con agua desionizada para remover el polvo y suciedad. Posteriormente fueron secadas colocándolas en una estufa a 60°C durante 3 días, hasta que estas pasaron de una coloración verde a café y se volvieron quebradizas. Las hojas se pulverizaron en una licuadora y el polvo obtenido se almacenó en bolsas plásticas transparentes. El extracto fue preparado colocando 1g de polvo de neem por cada 20mL de agua desionizada en un matraz Erlenmeyer. El matraz fue tapado con un tapón de hule y calentado a 90°C durante 2h con agitación magnética. La coloración del agua pasó de ser transparente a café turbia. El líquido obtenido se filtró al vacío y se desechó el filtrado sólido.

A 20, 40 y 60mL de extracto de neem, con la concentración de 0.05g/mL, se añadieron 80, 60 y 40mL de agua desionizada respectivamente, para completar 100mL en volumen de solución. A cada solución fueron añadidos 100mg de GO obtenido por exfoliación electroquímica y se colocó en un sistema de ultrasonido (BRANSON® 2800) durante 2h para dispersar el GO. Posteriormente las dispersiones, con diferente cantidad de extracto de neem, se colocaron en un sistema de calentamiento con reflujo y agitación magnética y se dejaron reaccionar durante 48h a 90°C. Transcurrido el tiempo de reacción, las dispersiones se colocaron en tubos de ensayo de teflón y se centrifugaron a 9000rpm durante 20min (Beckman Coulter® modelo Allegra X-22R). El procedimiento se repitió en 4 ocasiones, retirando el líquido con extracto de neem y añadiendo agua desionizada a los tubos de ensayo para lavar el rGO y remover las trazas del extracto de neem. Al no observarse más la coloración café turbia del extracto de neem, el líquido fue removido y los tubos con rGO se colocaron en una estufa a 60°C durante 24h. Los polvos de rGO fueron retirados de los tubos de ensayo con una espátula metálica y pulverizados en un mortero de ágata.

La caracterización estructural de las muestras de grafito, GO y rGO fue llevada a cabo mediante la técnica de difracción con rayos X (XRD) en polvo, con radiación de Cu Kα (λ = 1.5406Å), detector de centello y filtros de níquel (XRD Bruker Advanced D8). Las mediciones se realizaron en un rango 2θ de 10 a 80° con un tamaño de paso de 0.05° y con un intervalo de 0.5 por cada paso.

Los grupos funcionales en las muestras de rGO fueron caracterizados usando un espectrofotómetro FTIR (Thermo Scientific ® Nicolet 6700) en un rango de 400 a 4000cm^{-1} con una resolución de 2cm^{-1} Los espectros se obtuvieron en modo transmitancia y las muestras en polvo se analizaron directamente con la técnica de reflexión total atenuada, ATR, con cristal de diamante. Las muestras fueron colocadas en una estufa a 60°C durante 24h y se colocaron en viales de vidrio con tapa rosca antes de realizar los análisis.

Los polvos de grafito, GO y rGO con diferentes cantidades de extracto de neem, fueron caracterizados mediante espectroscopia Raman (DXR Raman Microscope Thermo Scientific®) con un haz monocromático de 532nm a temperatura ambiente. Las mediciones se llevaron a cabo en un rango de 900 a 2400cm^{-1} con una resolución de 4cm^{-1}.

Para analizar la morfología de las muestras, se usó un microscopio electrónico de barrido (FEI®, Nova Nano SEM200). Las muestras fueron colocadas sobre cinta adhesiva de grafito, montándose ésta sobre un portamuestras de aluminio; el exceso de material fue retirado con aire comprimido. Las muestras se observaron a 10kV de voltaje de aceleración y 5mm de distancia de trabajo en modo de campo libre.

RESULTADOS

La figura 2 muestra los difractogramas obtenidos para las muestras de grafito, GO y rGO que se sintetizaron. El difractograma del grafito muestra un pico intenso en el ángulo 26.46° el cual corresponde a la reflexión en el plano (002) de la estructura grafítica.[35] La distancia interplanar calculada fue de 0.337nm. En el difractograma del GO, la intensidad del pico en 26.46° disminuye considerablemente, apareciendo un nuevo pico en 11.30° lo cual se ocasiona debido a la expansión entre las capas de grafito por la introducción de grupos funcionales que contienen oxígeno[34] y la consecuente distorsión del arreglo hexagonal de los átomos de carbono del grafito. Sin embargo, se sigue observando un pico menos intenso a 26.69°, indicando que la oxidación del grafito no fue completa.

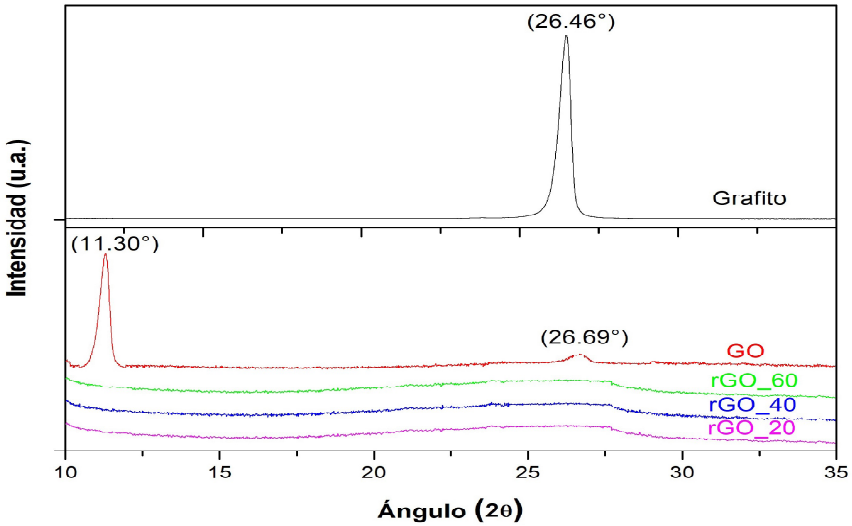

Fig. 2. Patrones de difracción de rayos X en polvo de Grafito, GO y rGO.

La distancia interplanar para el GO es 0.782nm, mucho mayor a la del grafito debido a, como ya se mencionó, la expansión entre las capas al anclarse los grupos funcionales que contienen oxígeno.

En los difractogramas del rGO reducido con diferentes concentraciones del extracto de neem, se puede apreciar la desaparición del pico en 11.40° del GO lo cual es indicio de la remoción de impurezas de grupos funcionales de oxígeno que ocasionaban la distorsión de los planos de carbono. Además se observa la reaparición de picos bastante anchos con punto máximo en el ángulo 27.49°, lo que se atribuye a la reestructuración de las láminas de carbono a una hibridación de tipo sp^2. La baja intensidad de los picos obtenidos comparados con el que exhibe el grafito, se debe a que las láminas de carbono que se obtienen no poseen una orientación uniforme y se encuentran bastante desordenadas, lo que disminuye considerablemente las interferencias constructivas de los rayos X difractados. Se calculó la distancia interplanar para las diferentes muestras de rGO, encontrándose prácticamente el mismo valor para las tres 0.323nm, valor muy cercano al del grafito, siendo esto una prueba de la reducción del GO.

Para corroborar la oxidación del grafito y la posterior remoción de los grupos funcionales de oxígeno en las muestras de rGO, se realizó un análisis de espectroscopia de infrarrojo, el resultado se aprecia en la figura 3.

El espectro IR del grafito exhibe una banda ancha que se extiende desde ~3650 hasta 2970 cm^{-1} la cual se atribuye a las vibraciones de estiramiento y flexión de los enlaces *O-H*. Este grupo funcional se encuentra presente en la muestra de grafito debido a que trazas de humedad ambiental pudieron adsorberse en la superficie de la muestra. Además se puede observar una banda en 1632cm^{-1} la cual corresponde a las vibraciones de estiramiento de los enlaces *C=C.*

En el espectro de GO se puede observar un ensanchamiento en la banda característica del grupo funcional O-H que se extiende desde ~3670 hasta 2430 cm^{-1} además de ser más intensa. También se pueden observar bandas características

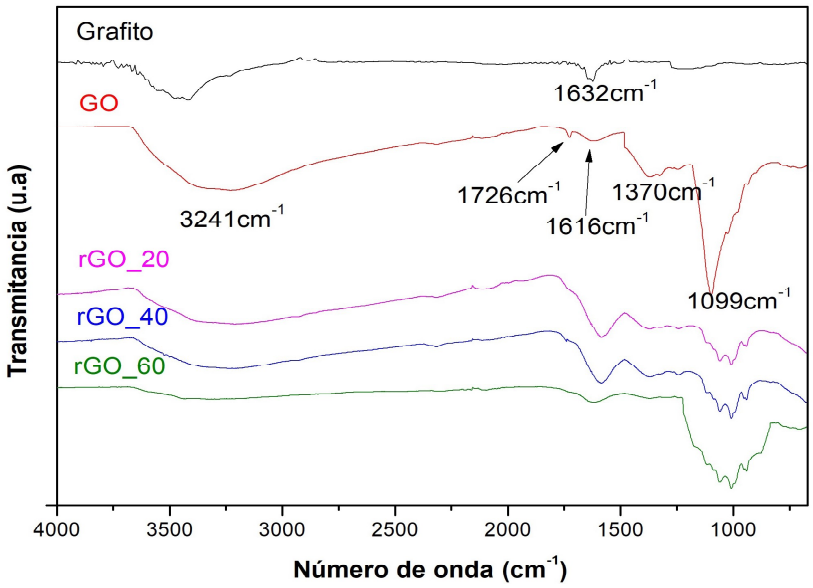

Fig. 3. Espectros FTIR-ATR de grafito, GO y rGO.

de una estructura oxigenada. En 1726cm^{-1} se observa la banda característica de las vibraciones de los enlaces de tipo carbonilo y carboxilo *C=O*; la banda a 1370cm^{-1} corresponde a vibraciones de enlaces tipo *O-H;* por último, la banda que se observa a 1099cm^{-1} es característica de los grupos epoxi *C-O-C* y alcoxi *C-O.* Los resultados anteriores muestran que el GO contiene una estructura con abundantes grupos funcionales de oxígeno. La banda que se observa a 1616cm^{-1} corresponde a los enlaces *C=C* y es menos intensa que en la muestra de grafito, indicando un decremento en la cantidad este tipo de enlaces.

Los espectros de las muestras de rGO muestran una disminución en la intensidad de las bandas asociadas a los grupos funcionales con oxígeno. La banda característica del grupo funcional *O-H* no es tan intensa ni tiene una amplitud tan grande como en el GO. La banda de absorción de los grupos funcionales carbonilo y carboxilo *C=O* que en el espectro de GO se ubica en 1726cm^{-1} desaparece por completo al reducir con extracto de neem. La banda de los grupos epoxi *C-O-C* y alcoxi *C-O* disminuye su intensidad en los espectros de rGO, sin embargo, se puede apreciar un ensanchamiento en dicha banda en el rango de 1100cm^{-1} a 900cm^{-1} la cual se atribuye a vibraciones de estiramiento de los enlaces *Si-O* que se encuentra presente hasta en un 2.58% de composición química en las hojas de neem.[37] La banda característica del grupo funcional *C=C* localizada a 1632cm^{-1} en el espectro de grafito y a 1616cm^{-1} en el espectro de GO tiene un corrimiento a un número de onda menor (~1600cm^{-1}) en las muestras de rGO además de que se incrementa su intensidad indicando la restauración de los enlaces entre carbono, lo cual aunado a la disminución en intensidad de las bandas de grupos funcionales de oxígeno indica una reducción parcial del GO.

La espectroscopia Raman es una técnica de caracterización no destructiva que se usa ampliamente para caracterizar materiales de tipo grafítico, ya que puede proporcionar información acerca del tamaño de cristalito, agrupamiento de la fase sp^2, presencia de hibridación sp^2-sp^3, desorden de cristales por introducción de impurezas químicas, número de hojas de grafeno, entre otras.[3] Las principales bandas que se pueden encontrar en los espectros Raman de materiales de carbono con estructura grafítica son la G y la D. La banda G, ubicada a ~1580cm^{-1}, se puede encontrar en todos los materiales de carbono con hibridación sp^2. Dicha banda se debe a las vibraciones de estiramiento de los enlaces *C-C* y su existencia no requiere la presencia de anillos aromáticos. La banda D, ubicada a ~1345cm^{-1}, se comienza a hacer presente en los espectros de materiales de carbono cuya estructura no difiere mucho a la del grafito, pero con un grado de desorden significativo respecto al mismo y su origen se debe a los movimientos radiales de los átomos de carbono en los anillos aromáticos.[38] La relación en la intensidad entre ambas bandas (I_D/I_G) indica el grado de desorden estructural relacionado con la cantidad de defectos, la orientación de las láminas de carbono y bordes de láminas.[39] En la figura 4 se pueden apreciar los espectros Raman de las muestras de grafito, GO y rGO.

En el espectro del grafito se observa que la intensidad de la banda G (1580cm^{-1}) es significativamente más grande que las de la banda D (1345cm^{-1}) teniendo una relación I_D/I_G =0.32. Ese resultado indica una baja cantidad de defectos y/o desorden en el material ocasionado principalmente por las moléculas de agua cristalizadas y/o adsorbidas dentro de la estructura, como lo muestra el espectro IR.

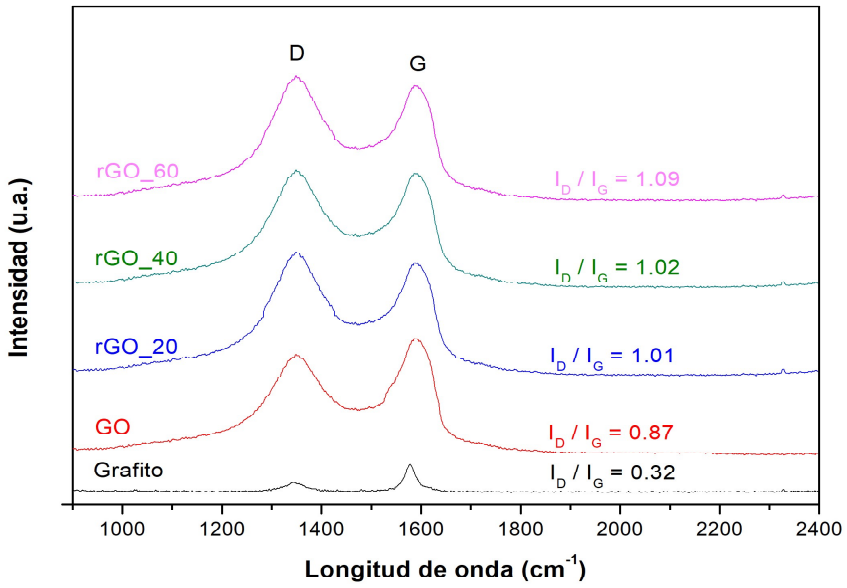

Fig. 4. Espectros Raman y relación I_D/I_G de grafito, GO y rGO.

El espectro de GO muestra un incremento significativo en la relación I_D/I_G =0.87 lo cual se debe a la disminución de enlaces tipo sp^2 entre átomos de carbono por el intercalamiento de grupos funcionales oxigenados durante la exfoliación electroquímica. El resultado concuerda con el espectro infrarrojo, donde se confirma una mayor cantidad de grupos funcionales de oxígeno comparado con la muestra de grafito que solo contiene el grupo funcional *–OH.* Al efectuar la reducción de las muestras de GO con extracto de neem, la relación I_D/I_G incrementa a valores de 1.01 – 1.09, que se atribuyen a una extensa variación en la orientación de los planos hexagonales de carbono. Debido a que el espectro de IR muestra una menor cantidad de grupos funcionales presentes en las muestras, se sugiere que la reducción del GO ocasiona la fragmentación de la estructura dando como resultado una gran cantidad de dominios con estructura de tipo grafeno de diferentes tamaños.

En la figura 5 se observan las imágenes obtenidas mediante SEM de las muestras de grafito y GO y rGO. El polvo de grafito se obtuvo limando la placa de grafito, en consecuencia, sus partículas son relativamente grandes, del orden de micras, y con mucha variación en su morfología.

La figura 5 (b) muestra un aglomerado de hojas de GO con espesores bastante finos, del orden de nanómetros, indicando una buena exfoliación del grafito durante el proceso de oxidación. Los aglomerados son ocasionados por la alta cantidad de grupos funcionales de oxígeno presentes en las muestra lo cuales se enlazan covalentemente con los átomos de carbono distorsionando y uniendo las capas de carbono con hibridación sp^2. Las micrografías de las muestras de óxido de grafeno reducido (rGO_40 y rGO_60) muestran pliegos finos con arrugas y dobleces de una morfología bidimensional, libre de impurezas, y con menos aglomeraciones como exhibe la muestra de GO debido a la remoción de grupos funcionales de oxígeno y a la restauración de enlaces de tipo sp^2.

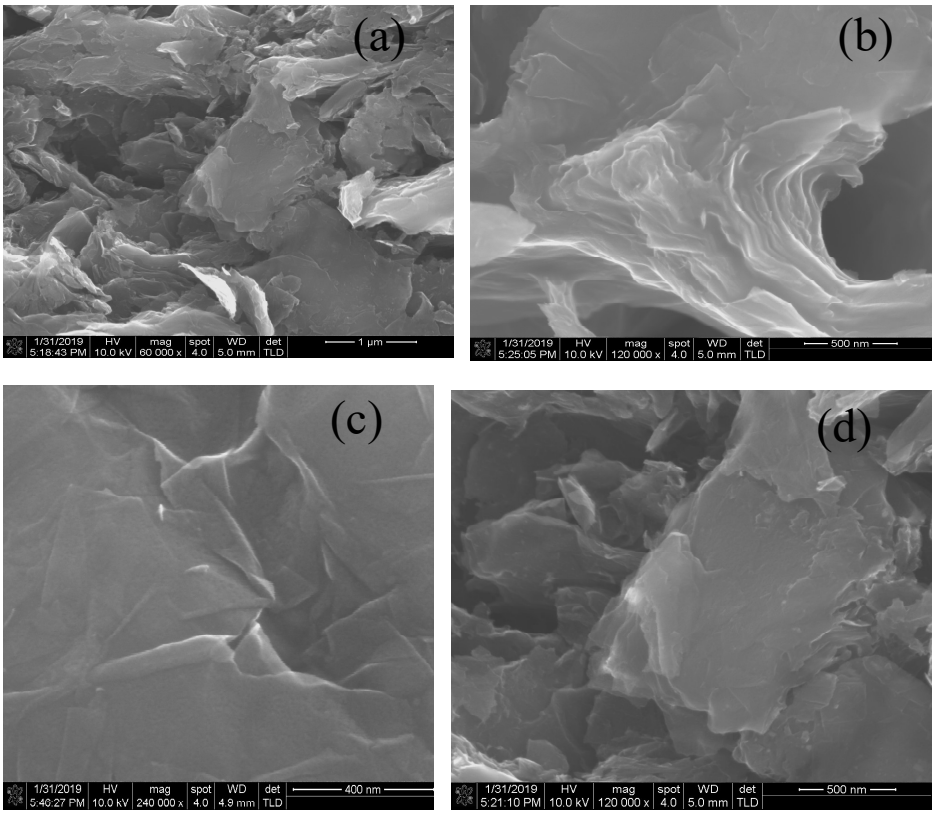

Fig. 5. Imágenes de SEM de (a) grafito, (b) GO, (c) rGO_40 y (d) rGO_60.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de neem demostró ser capaz de remover las impurezas de oxígeno enlazadas a la superficie del GO, reduciendo este compuesto. Se observa que el grado de reducción obtenido en cada muestra es proporcional a la cantidad de extracto agregado, por lo que a mayor concentración de extracto de neem, menos grupos funcionales de oxígeno en las láminas de óxido de grafeno reducido.

REFERENCIAS

1. Novoselov, K.S., *et al*., Electric field effect in atomically thin carbon films. science, 2004. 306(5696): p. 666-669.
2. Hancock, Y., The 2010 Nobel Prize in physics—Ground-breaking experiments on graphene. Journal of Physics D: Applied Physics, 2011. 44(47): p. 473001.
3. Dresselhaus, M.S., *et al*., Perspectives on carbon nanotubes and graphene Raman spectroscopy. Nano letters, 2010. 10(3): p. 751-758.
4. Somani, P.R., S.P. Somani, and M. Umeno, Planer nano-graphenes from camphor by CVD. Chemical Physics Letters, 2006. 430(1-3): p. 56-59.
5. Rollings, E., *et al*., Synthesis and characterization of atomically thin graphite films on a silicon carbide substrate. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 2006. 67(9-10): p. 2172-2177.

6. Abdelkader, A., *et al*., How to get between the sheets: a review of recent works on the electrochemical exfoliation of graphene materials from bulk graphite. Nanoscale, 2015. 7(16): p. 6944-6956.
7. Liu, J., *et al*., A green approach to the synthesis of high-quality graphene oxide flakes via electrochemical exfoliation of pencil core. Rsc Advances, 2013. 3(29): p. 11745-11750.
8. Mir, A. and A. Shukla, Bilayer-rich graphene suspension from electrochemical exfoliation of graphite. Materials & Design, 2018.
9. Yu, P., et al., Electrochemical exfoliation of graphite and production of functional graphene. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2015. 20(5-6): p. 329-338.
10. Liu, J., *et al*., Improved synthesis of graphene flakes from the multiple electrochemical exfoliation of graphite rod. Nano Energy, 2013. 2(3): p. 377-386.
11. Jibrael, R.I. and M.K. Mohammed, Production of graphene powder by electrochemical exfoliation of graphite electrodes immersed in aqueous solution. Optik-International Journal for Light and Electron Optics, 2016. 127(16): p. 6384-6389.
12. Coroş, M., *et al*., Simple and cost-effective synthesis of graphene by electrochemical exfoliation of graphite rods. RSC Advances, 2016. 6(4): p. 2651-2661.
13. Hummers Jr, W.S. and R.E. Offeman, Preparation of graphitic oxide. Journal of the american chemical society, 1958. 80(6): p. 1339-1339.
14. Khan, M.B., M. Parvaz, and Z.H. Khan, Graphene Oxide: Synthesis and Characterization, in Recent Trends in Nanomaterials. 2017, Springer. p. 1-28.
15. De Silva, K., *et al*., Chemical reduction of graphene oxide using green reductants. Carbon, 2017. 119: p. 190-199.
16. Kartick, B. and S. Srivastava, Green synthesis of graphene. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2013. 13(6): p. 4320-4324.
17. Lee, G. and B.S. Kim, Biological reduction of graphene oxide using plant leaf extracts. Biotechnology progress, 2014. 30(2): p. 463-469.
18. Vu, T.H.T., *et al*., A new green approach for the reduction of graphene oxide nanosheets using caffeine. Bulletin of Materials Science, 2015. 38(3): p. 667-671.
19. Suresh, D., *et al*., Spinach assisted green reduction of graphene oxide and its antioxidant and dye absorption properties. Ceramics International, 2015. 41(3): p. 4810-4813.
20. Shubha, P., *et al*., Facile green reduction of graphene oxide using Ocimum sanctum hydroalcoholic extract and evaluation of its cellular toxicity. Materials Chemistry and Physics, 2017. 198: p. 66-72.
21. Li, C., *et al*., A facile and green preparation of reduced graphene oxide using Eucalyptus leaf extract. Applied Surface Science, 2017. 422: p. 469-474.
22. Suresh, D., H. Nagabhushana, and S. Sharma, Clove extract mediated facile

green reduction of graphene oxide, its dye elimination and antioxidant properties. Materials Letters, 2015. 142: p. 4-6.

23. Khan, M., *et al*., Green approach for the effective reduction of graphene oxide using Salvadora persica L. root (Miswak) extract. Nanoscale research letters, 2015. 10(1): p. 281.
24. Hou, D., *et al*., Chrysanthemum extract assisted green reduction of graphene oxide. Materials Chemistry and Physics, 2016. 183: p. 76-82.
25. Gurunathan, S., *et al*., Ginkgo biloba: a natural reducing agent for the synthesis of cytocompatible graphene. International journal of nanomedicine, 2014. 9: p. 363.
26. Chu, H.-J., C.-Y. Lee, and N.-H. Tai, Green reduction of graphene oxide by Hibiscus sabdariffa L. to fabricate flexible graphene electrode. Carbon, 2014. 80: p. 725-733.
27. Kuila, T., *et al*., A green approach for the reduction of graphene oxide by wild carrot root. Carbon, 2012. 50(3): p. 914-921.
28. Shankar, S.S., *et al*., Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. Journal of colloid and interface science, 2004. 275(2): p. 496-502.
29. Tripathi, A., *et al*., Antibacterial applications of silver nanoparticles synthesized by aqueous extract of Azadirachta indica (Neem) leaves. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2009. 5(1): p. 93-98.
30. Verma, A. and M.S. Mehata, Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. Journal of radiation Research and applied sciences, 2016. 9(1): p. 109-115.
31. Ahmed, S., *et al*., Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 2016. 9(1): p. 1-7.
32. Hareesh, K., *et al*., Bio-green synthesis of Ag–GO, Au–GO and Ag–Au–GO nanocomposites using Azadirachta indica: its application in SERS and cell viability. Materials Research Express, 2016. 3(7): p. 075010.

33 Tamanna Bhuyan, Kavita Mishra, Manika Khanuja, Ram Prasad, Ajit Varma, Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from Azadirachta indica for antibacterial and photocatalytic applications, Materials Science in Semiconductor Processing 32 (2015) 55–61.

34 Sushree Priyanka Dash, Sangita Dixit, Soubhagyalaxmi Sahoo, Phytochemical and Biochemical Characterizations from Leaf Extracts from Azadirachta Indica: An Important Medicinal Plant, Biochem Anal Biochem 2017, 6:2 DOI: 10.4172/2161-1009.1000323

35. Dong, L.-l., *et al*., A novel fabrication of graphene by chemical reaction with a green reductant. Chemical Engineering Journal, 2016. 306: p. 754-762.
36. Zhu, Y., *et al*., Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. Advanced materials, 2010. 22(35): p. 3906-3924.

37. Khattri, S. and M. Singh, Removal of malachite green from dye wastewater using neem sawdust by adsorption. Journal of hazardous materials, 2009. 167(1-3): p. 1089-1094.
38. Malard, L., *et al*., Raman spectroscopy in graphene. Physics Reports, 2009. 473(5-6): p. 51-87.
39. Chua, C.K. and M. Pumera, Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry viewpoint. Chemical Society Reviews, 2014. 43(1): p. 291-312.