

DETECCIÓN DE OXIDO DE GRAFENO EN SUSPENSIÓN ACUOSA (COMIRNATY™ (RD1))

ESTUDIO OBSERVACIONAL EN MICROSCOPIA ÓPTICA Y ELECTRÓNICA

Informe provisional (I)

28 de Junio de 2021



Prof. Dr. Pablo Campra Madrid

Doctor en Ciencias Químicas y Licenciado en Ciencias Biológicas

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERIA

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA, ESPAÑA

GRAPHENE OXIDE DETECTION
IN AQUEOUS SUSPENSION (COMIRNATY™ (RD1))
OBSERVATIONAL STUDY IN OPTICAL AND ELECTRONIC
MICROSCOPY
Interim report (I)
June 28, 2021

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/11L6TWQ==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campra Madrid

WHN2x8tkKPSiSy/11L6TWQ==

Fecha
PÁGINA
28/06/2021
1/24

WHN2x8tkKPSiSy/11L6TWQ==

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==			
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==	
			
		WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==	
	PÁGINA	Fecha	28/06/2021 2/24

AVISO IMPORTANTE

Seguidamente se presenta un estudio microscópico, observacional y meramente descriptivo de la muestra problema.

La identificación definitiva del material dominante en la muestra precisa de ulteriores fraccionamientos y análisis espectroscópicos específicos que permitan caracterizar la estructura del material.

IMPORTANT ANNOUNCEMENT

A microscopic study is presented below, observational and merely descriptive of the sample trouble.

Definitive identification of the dominant material in the accurate sample of further fractionation and analysis spectroscopic specimens that allow characterizing the structure of the material.

Antecedentes

- **D. Ricardo Delgado Martín** solicita PRESTACIÓN DE SERVICIOS de Investigación a la UAL denominada:

“DETECCIÓN DE GRAFENO EN MUESTRA DE SUSPENSIÓN ACUOSA”

- El 10/06/2021 se recibe por mensajería 1 vial, etiquetado con el texto siguiente:
 - ***“COMIRNATY™ .Sterile concentrate. COVID-19 mRNA. 6 doses after dilution.***
 - ***Discard date/time: PAA165994.LOT/EXP: EY3014 08/2021”***
- Procedencia y trazabilidad: se desconoce
- Estado de conservación: refrigerado
- Mantenimiento durante el estudio: refrigerado
- **Codificación de la muestra problema a analizar: RD1**

Background

Mr. Ricardo Delgado Martín requests PROVISION OF RESEARCH SERVICES to the UAL named: "DETECTION OF GRAPHENE IN AQUEOUS SUSPENSION SAMPLE" On 06/10/2021 1 vial was received by courier, labeled with the following text: "COMIRNATY™ M .Sterile concentrate. COVID-19 mRNA. 6 doses after dilution. Discard date / time: PAA165994.LOT / EXP: EY3014 08/2021 " Origin and traceability: unknown State of conservation: refrigerated Maintenance during the study: refrigerated Coding of the test sample to be analyzed: RD1

Firmado Por		Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==	
ID. FIRMA	afirma.ual.es	Pablo Campa Madrid	WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==
			
PÁGINA		Fecha	28/06/2021
3/24			

Observaciones preliminares de la muestra problema RD1

Descripción:

- Vial sellado, con goma y tapa de aluminio intactas, de 2ml de capacidad, conteniendo una suspensión acuosa turbia de 0,45 ml.
- Se realiza extracción y cuantificación de RNA
- Se observa presencia de microbiología nanométrica no caracterizada, visible a 600X en microscopio óptico

Preliminary observations of the test sample

RD1

Description:

Sealed vial, with rubber and aluminum cap intact, of 2 ml capacity, containing a 0.45 ml cloudy aqueous suspension.

RNA extraction and quantification is performed

Presence of uncharacterized nanometric microbiology is observed, visible at 600X

in optical microscope

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==			
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==	Fecha
			PÁGINA
			28/06/2021
			4/24

WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

Procesamiento de la muestra

1. Dilución en suero fisiológico estéril al 0,9% (0,45 ml + 1,2 ml)
2. Fraccionamiento por polaridad: 1,2 ml hexano+120 ul de muestra RD1
3. Extracción de fase hidrofílica
4. Extracción y cuantificación de RNA en la muestra
5. Microscopía electrónica y ópticas de fase acuosa

Sample processing

1. Dilution in 0.9% sterile physiological saline (0.45 ml + 1.2 ml)
2. Polarity fractionation: 1.2 ml hexane + 120 ul RD1 sample
3. Extraction of hydrophilic phase
4. Extraction and quantification of RNA in the sample
5. Electron and optical microscopy of aqueous phase

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==>

Firmado Por

ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
5/24



WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

Análisis preliminar: extracción y cuantificación de Rna en la muestra

1. Extracción RNA: Kit <https://www.fishersci.es/shop/products/ambion-purelink-rna-mini-kit-7/10307963>
2. Cuantificación de absorbancia UV total en espectrofotómetro NanoDrop™ <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-2000#/ND-2000>
3. Cuantificación específica de Rna por fluorescencia QUBIT2.0: <https://www.thermofisher.com/es/es/home/references/newsletters-and-journals/bioprobos-journal-of-cell-biology-applications/bioprobos-issues-2011/bioprobos-64-april-2011/the-qubit-2-0-fluorometer-april-2011.html>

Preliminary analysis: extraction and quantification of Rna in the sample

. RNA extraction: Kit <https://www.fishersci.es/shop/products/ambion-purelink-rna-mini-kit-7/10307963>

2. Quantification of total UV absorbance in spectrophotometer

NanoDrop™

<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-2000#/ND-2000>

3. Specific quantification of Rna by fluorescence

QUBIT2.0:

<https://www.thermofisher.com/es/es/home/references/newsletters-and-journals/bioprobos-journal-of-cell-biology-applications/bioprobos-issues-2011/bioprobos-64-april-2011/the-qubit-2-0-fluorometer-april-2011.html>

of-cell-biology-applications / bioprobos-issues-2011 / bioprobos-64-april-2011 / the-qubit-2-0-fluorometer-april-2011.html

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==>

Firmado Por

ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==

Fecha

PÁGINA

28/06/2021

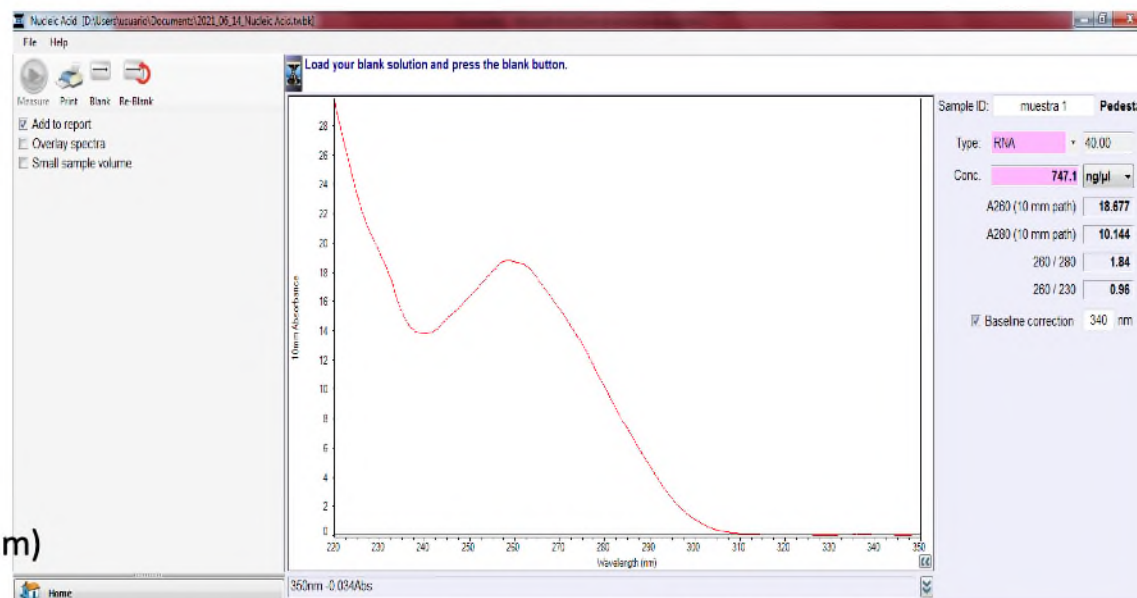
6/24

WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==

UV absorption spectrum of the aqueous phase of the sample RD1

Espectro de absorción UV de la fase acuosa de la muestra RD1 (Equipo Nano-drop)

Maximum absorption of SAMPLE RD1 (260-270 nm)



Máximo de absorción de la MUESTRA RD1 (260-270 nm)

- RNA. Presenta máximos habituales a 260 nm. Concentración total estimada por fluorometría QUBIT2.0 : **6 ng/ul**
- El espectro revela presencia de elevada cantidad de sustancias o sustancia diferentes al Rna con máximo de absorción en la misma región, con un total estimado en **747 ng/ul** (estimación no calibrada)
- El óxido de grafeno reducido (RGO) presenta máximos de absorción a 270 nm, **compatibles** con el espectro obtenido (*Thema et al, 2013. Journal of Chemistry ID 150536*)
- **El máximo de absorción obtenido NO PERMITE DESCARTAR la presencia de grafeno en la muestra. La cantidad mínima de RNA detectado por QUBIT2.0 sólo explica un porcentaje residual de la absorción total UV de la muestra.**

RNA. It presents usual maximums at 260 nm. Total concentration estimated by QUBIT2.0 fluorometry: 6 ng / ul

The spectrum reveals the presence of a high quantity of substances or substances other than RNA with maximum absorption in the same region, with a total estimated at 747 ng / ul (uncalibrated estimate)

Reduced graphene oxide (RGO) has absorption maximums at 270 nm, compatible with the spectrum obtained

(Thema et al, 2013. Journal of Chemistry ID 150536)

The maximum absorption obtained DOES NOT ALLOW TO DISCARD the presence of graphene in the sample. The minimum amount of RNA detected by QUBIT2.0 only explains a residual percentage of the total UV absorption of the sample.

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKpSiSy/1l16TW0==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKpSiSy/1l16TW0==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
7/24

OBJETIVO: Identificación microscópica de derivados de grafeno

METODOLOGIA:

1. Toma de imágenes en microscopia óptica y electrónica
2. Comparativa con imágenes de literatura y patrón de oxido de grafeno reducido

OBJECTIVE: Microscopic identification of graphene derivatives

METHODOLOGY:

1. Imaging in optical and electron microscopy
2. Comparison with literature images and graphene oxide pattern reduced

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==			
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==	PÁGINA
		28/06/2021	
		8/24	
WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==			

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIÓN (TEM)

Microscopio electrónico JEM-2100Plus

Tensión: 200 kV

Resolución 0,14 nm

Aumento hasta x1.200.000

TRANSMISSION ELECTRONIC MICROSCOPY
(TEM)

Electron Microscope JEM-2100Plus

Voltage: 200 kV

Resolution 0.14 nm

Magnification up to x1,200,000

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==			
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==	PÁGINA
		28/06/2021	
		9/24	

WHN2x8tkKpSiSy/1L6TWQ==

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIÓN (TEM)

La microscopía electrónica (TEM) se utiliza habitualmente para obtener imágenes de nanomateriales de grafeno. Se ha convertido en un instrumento bastante estándar y fácil de usar que es capaz de obtener imágenes de láminas de grafeno en capas individuales.

TRANSMISSION ELECTRONIC MICROSCOPY (TEM)

Electron microscopy (TEM) is commonly used to obtain images of graphene nanomaterials. It has become a fairly standard instrument and easy to use.

use which is able to image graphene sheets in individual caps.

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1lL6TWQ==			
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1lL6TWQ==	Fecha
			PÁGINA
			28/06/2021
			10/24

DESCRIPCIÓN DE LA IMAGEN anterior

(de: Choucair et al, 2009. Gram-scale production of graphene based on solvothermal synthesis and sonication. Nature Nanotechnology 4(1):30-3

- **Figura 2: "Imágenes TEM de las láminas de grafeno aglomeradas. La misma región de muestra se ve con diferentes aumentos y muestra claramente el grado de formación de la lámina y la tendencia de las láminas a fusionarse en regiones superpuestas. Es evidente una estructura inherente en forma de lámina que muestra una intrincada matriz de pliegues de largo alcance. Como las imágenes se toman en modo de transmisión, la opacidad relativa de las láminas individuales es el resultado de regiones interfaciales con superposición entre láminas individuales. Las láminas se extienden en dimensiones laterales sobre escalas de longitud micrométrica, que van desde 100 nm hasta más de 1.000 nm."**

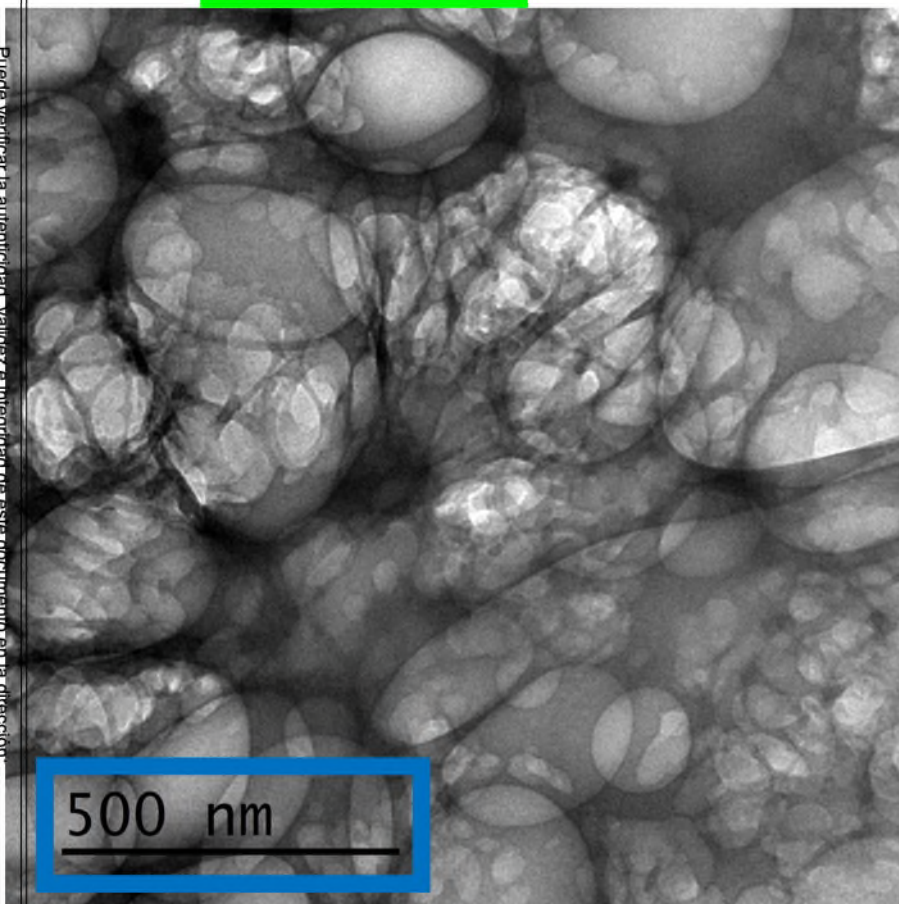
Figure 2: "TEM images of the agglomerated graphene sheets. Same sample region is viewed at different magnifications and shows clearly the degree of sheet formation and the tendency of the laminae to fuse into overlapping regions. It is evident a inherent sheet-like structure showing an intricate array of long-range folds.

Since the images are taken in transmission mode, the relative opacity of the individual sheets is the result of interfacial regions with overlap between individual sheets. The sheets extend in lateral dimensions on micrometer length scales, ranging from 100 nm to more than 1,000 nm. "

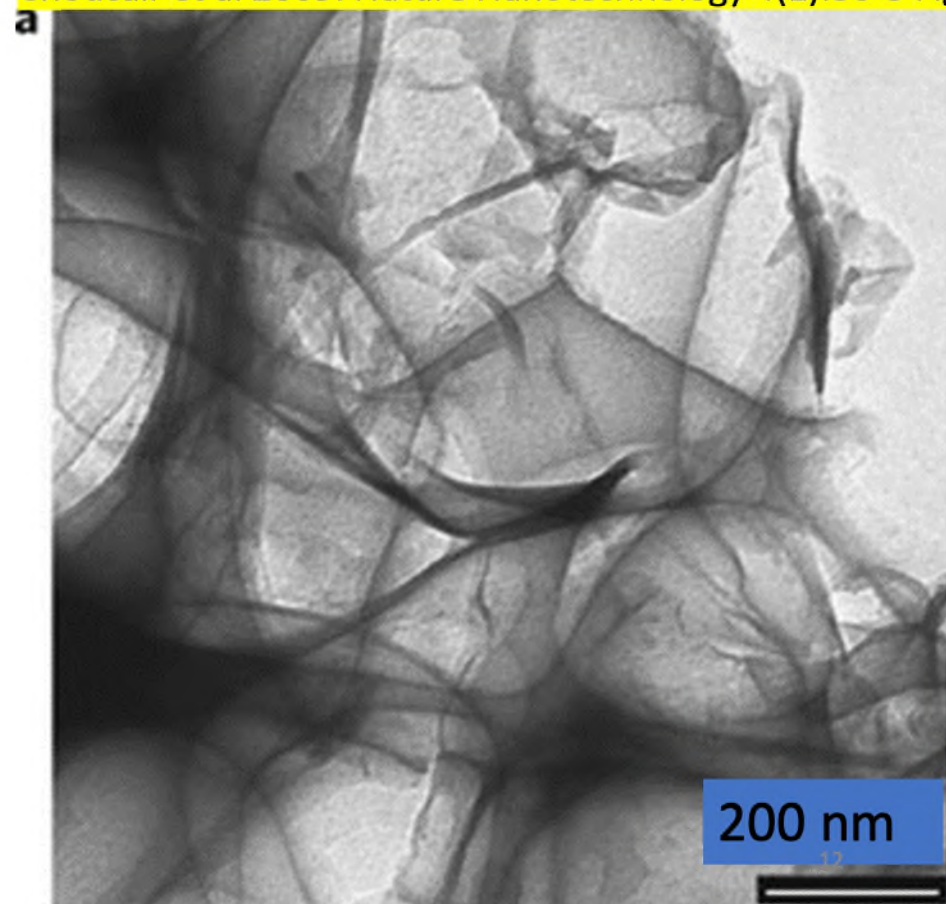
Firmado Por		Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==	
ID. FIRMA	afirma.ual.es	Pablo Campa Madrid	WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==
		WHN2x8tkKPSiSy/1l16TwQ==	
PÁGINA		Fecha	28/06/2021
11/24			

RESULTADOS: Comparativa de muestra problema (RD1) con una imagen TEM de literatura

MUESTRA RD1



Choucair et al 2009. Nature Nanotechnology 4(1):30-3 Fig 2



RESULTS: Comparison of problem sample (RD1) with a TEM image of literature
left SAMPLE RD1 right Choucair et al 2009. Nature Nanotechnology 4 (1): 30-3 Fig 2

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSY/11L6TW0==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirmaciones

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
12/24

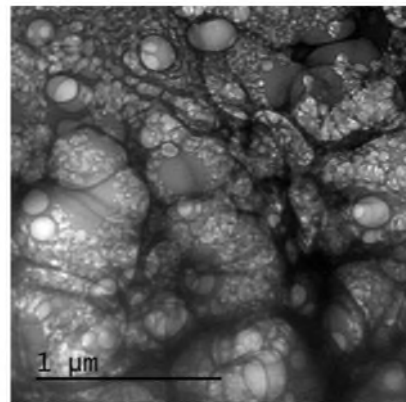


WHN2x8tkKPSiSY/11L6TW0==

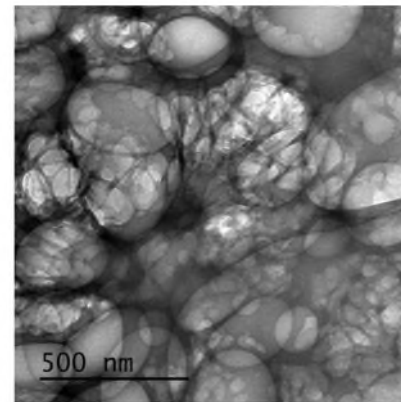
RESULTS: DESCRIPTION OF THE TEM IMAGES OF THE RD1 PROBLEM SAMPLE

RESULTADOS: DESCRIPCIÓN DE LAS IMAGENES TEM DE LA MUESTRA PROBLEMA RD1

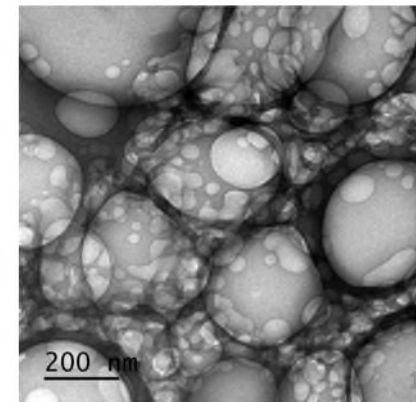
Las imágenes TEM de la muestra RD1 **en general PRESENTAN UNA ELEVADA SEMEJANZA** con imágenes de **óxido de grafeno** de literatura obtenidas por la misma técnica TEM, con aumentos parecidos. Se puede observar una intrincada **matriz o malla de láminas flexibles translúcidas plegadas sobre sí mismas**, con mezcla de aglomeraciones multicapa más oscuras y de monocapas no plegadas de color mas claro. Aparecen zonas lineares más oscuras debidas a la superposición local de láminas y a la disposición local de láminas individuales en paralelo al haz de electrones. Tras la malla aparece una elevada densidad de **formas claras redondeadas y elípticas sin identificar**, posiblemente correspondientes a orificios generados por forzamiento mecánico de la malla durante el tratamiento. Mostramos aquí 3 imágenes con aumento progresivo:



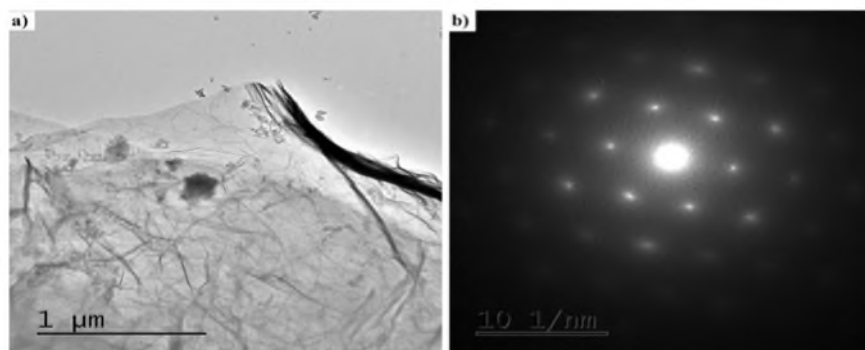
The TEM images of the RD1 sample in general SHOW A HIGH SIMILARITY with graphene oxide images from literature obtained by the same TEM technique, with magnifications Similar. An intricate matrix or mesh of translucent flexible sheets can be seen folded on themselves, with mixture of darker multilayer agglomerations of unfolded monolayers of lighter color.



Darker linear areas appear due to overlap local sheet arrangement and the local arrangement of individual sheets parallel to the electron beam. After the mesh, a high density of elliptical rounded clear shapes appears without identify, possibly corresponding to holes generated by mechanical forcing of the mesh during treatment. We show here 3 images with progressive magnification:



- **NOTA importante:** Para una IDENTIFICACIÓN definitiva del GRAFENO por TEM, es necesario complementar la observación con la caracterización estructural mediante obtención por EDS de un PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE ELECTRONES característico (como la figura b mostrada abajo). El patrón correspondiente al grafito o el grafeno presenta una simetría hexagonal, y generalmente cuenta con varios hexágonos concéntricos. **No ha sido posible por el momento obtener este patrón por la escasez de muestra disponible para su procesamiento, y la disposición caótica y la densidad de los pliegues.**



Matéria (Rio J.) 23 (1) • 2018 • Characterization of graphene nanosheets obtained by a modified Hummer's method. Renata Hack et al.

Important NOTE: For a definitive IDENTIFICATION of GRAPHENE by TEM, it is necessary to complement the observation with structural characterization by obtaining by EDS of a Characteristic ELECTRON DIFFRACTION PATTERN (like figure b shown below)

The pattern corresponding to graphite OR graphene has a hexagonal symmetry, and generally has several concentric hexagons. It has not been possible at the moment to obtain this pattern due to the shortage of sample available for processing, and the chaotic arrangement and density of the folds.

Microscopio Óptico

Microscopio Biológico CX43

Objetivos PLAN Fluor de 10x, 20x (DIC) y 40x (DIC)
Ocular: 10x

- Condensador ajustado en posición intermedia con efecto 3D (entre campo Claro (BF) y campo oscuro (DF))

Condenser set to
intermediate position with effect
3D (between light field (BF) and
dark field (DF))

PLAN Fluor 10x, 20x (DIC) and 40x objectives
(DEC)
Eyepiece: 10x

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

Fecha
PÁGINA

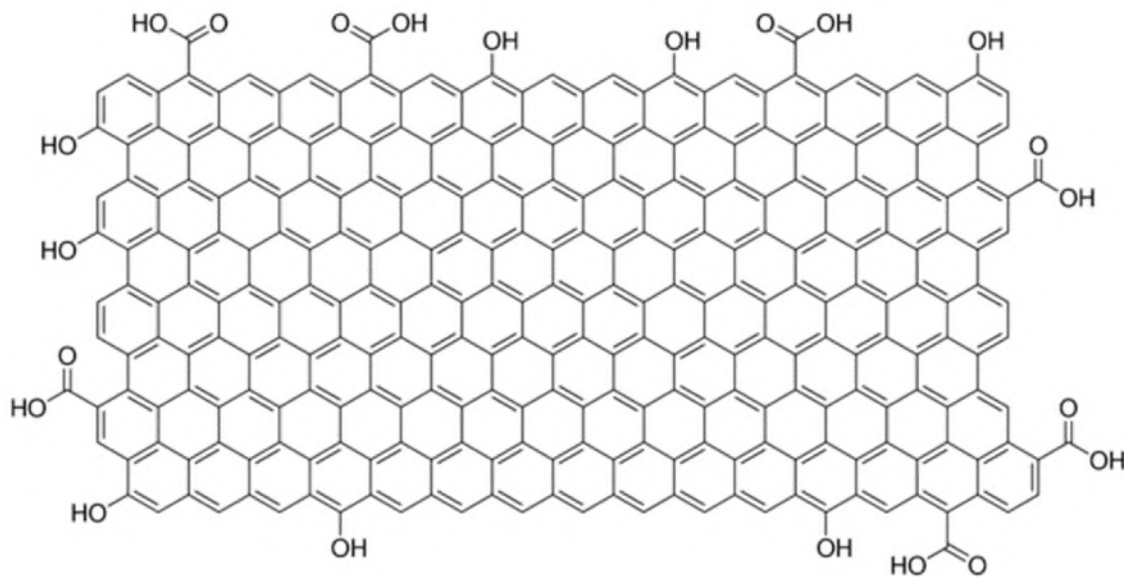
28/06/2021
15/24



WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

REDUCED GRAPHENE OXIDE STANDARD

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



<p>Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1lL6TWO==</p>				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1lL6TWO==	PÁGINA	16/24
 <p>WHN2x8tkKPSiSy/1lL6TWO==</p>				

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKPSiSY/i1L6TwQ==

Fecha
PÁGINA

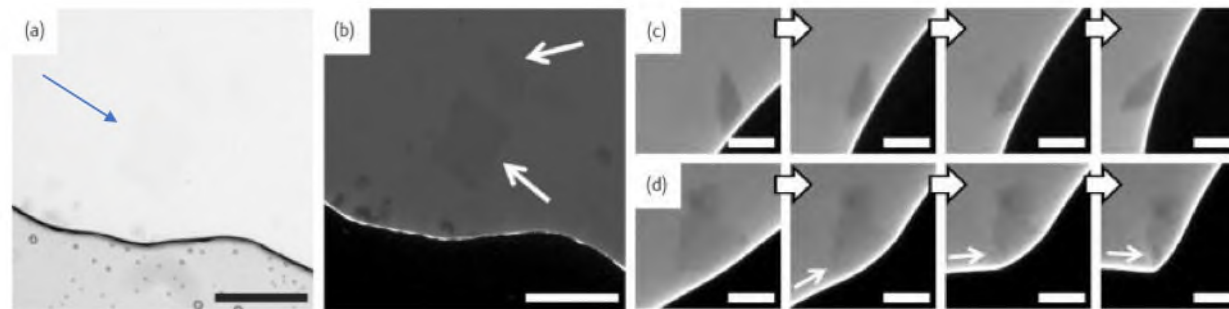
28/06/2021
16/24

IDENTIFICATION OF GRAPHENE OXIDE AND ITS STRUCTURAL
CHARACTERISTICS
BY OPTICAL MICROSCOPY

IDENTIFICACIÓN DE OXIDO DE GRAFENO Y SUS CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES POR MICROSCOPIA OPTICA

Los materiales de grafeno esencialmente constan de una sola capa atómica. Esto hace que la observación del microscopio óptico basado en absorbanza sea difícil, aunque es posible adquirir imágenes ópticas de láminas de grafeno suspendidas bajo luz transmitida de campo claro (Fig. a). El grafeno oxidado (GO) tiene un color mucho más pálido que el reducido (rGO).

Sin embargo, bajo **iluminación reflectante**, la obtención de **imágenes ópticas de alto contraste de grafeno** e incluso láminas de GO se ha reportado en literatura. Modificando el ángulo de incidencia de la iluminación, mediante ajuste apropiado del condensador (campo claro y campo oscuro), esta ha sido la técnica empleada para aumentar el contraste en muestra RD1 del presente informe y obtener imágenes de la rugosidad en la superficie de las láminas con efecto 3D.



a) Campo claro. b-d) Microscopía de extinción de fluorescencia (FQM)

Kim et al, 2010. Seeing graphene-based sheets, Materials Today, Volume 13, 2010, Pages 28-38,

Graphene materials essentially consist of a single atomic layer. This makes absorbance-based optical microscope observation difficult, although it is possible to acquire optical images of graphene sheets suspended under brightfield transmitted light (Fig. A). Oxidized graphene (GO) has a much paler color than reduced graphene (rGO).

However, under reflective illumination, obtaining high-contrast optical images of graphene and even foil

GO has been reported in the literature. By modifying the angle of incidence of the illumination, by appropriate adjustment of the condenser (bright field and dark field), this has been the technique used to increase the contrast in RD1 sample of the present report and obtain images of the roughness on the surface of the sheets with 3D effect.

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/11L6TWQ==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
17/24



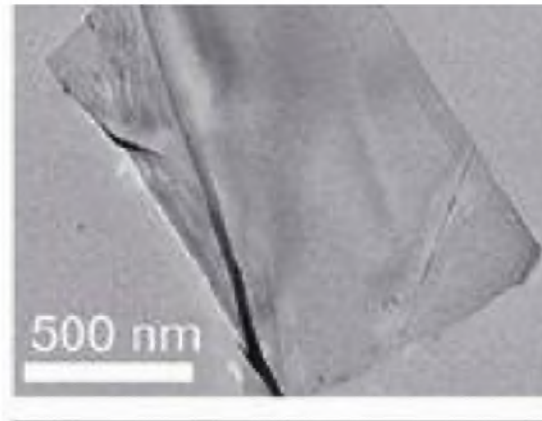
WHN2x8tkKPSiSy/11L6TWQ==

Literature Image
Low magnification TEM

Imagen de literatura TEM de bajo aumento

“La figura muestra una imagen TEM de grafeno bicapa con bordes que tienden a enrollarse y doblarse ligeramente”

Qian, W., Hao, R., Hou, Y. et al. Solvothermal-assisted exfoliation process to produce graphene with high yield and high quality. Nano Res. 2, 706–712 (2009).



"The figure shows a TEM image of bilayer graphene with edges that tend to roll up and bend slightly "

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
18/24

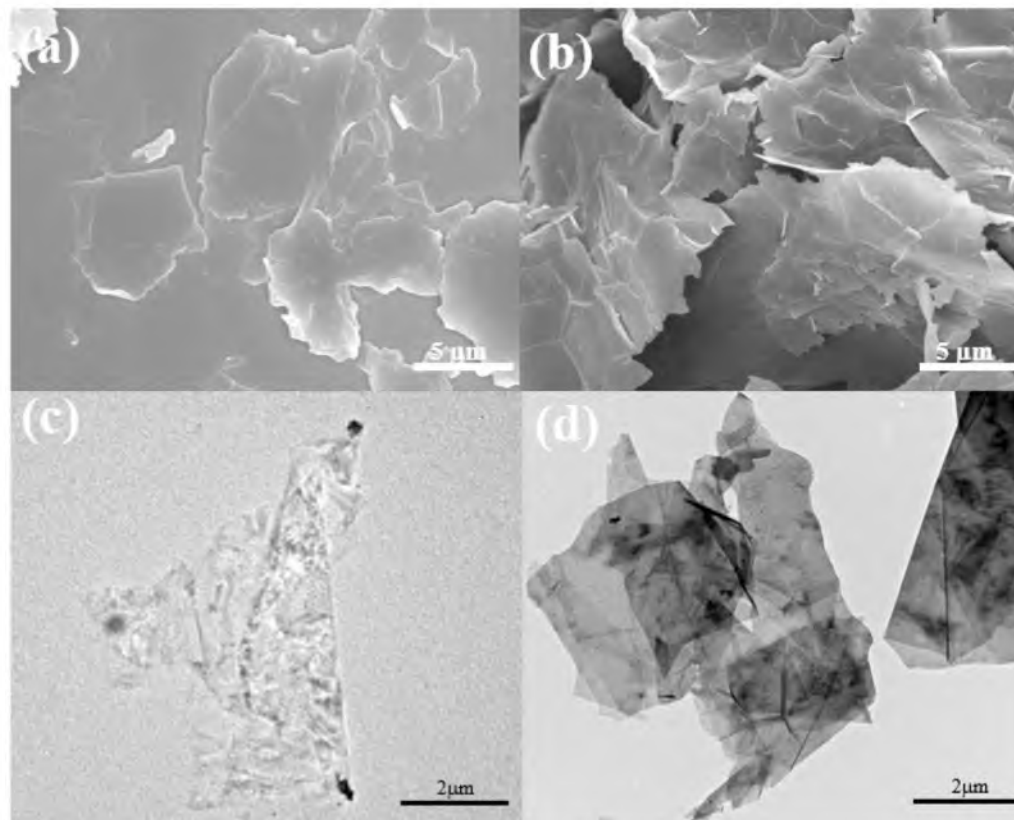


WHN2x8tkKPSiSy/1L6TWQ==

IMAGENES DE LITERATURA. MICROSCOPIA ELECTRONICA A BAJO AUMENTO MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM) (a) y (b) y TRANSMISION (TEM) (c) y (d)

Effects of Graphene Nanosheets with Different Lateral Sizes as Conductive Additives on the Electrochemical Performance of $\text{LiNi}_{0.5}\text{Co}_{0.2}\text{Mn}_{0.3}\text{O}_2$ Cathode Materials for Li Ion Batteries. Figure 2. SEM images of different graphene sheet sizes: (a) GN-13 and (b) GN-28, and transmission electron microscopy (TEM) images of different graphene sheet sizes: (c) GN-13 and (d) GN-28.

Husu et al. Polymers 2020, 12(5), 1162



Robust Magnetized Graphene Oxide Platform for In Situ Peptide Synthesis and FRET-Based Protease Detection

Kim et al, *Sensors* 2020, 20(18), 5275

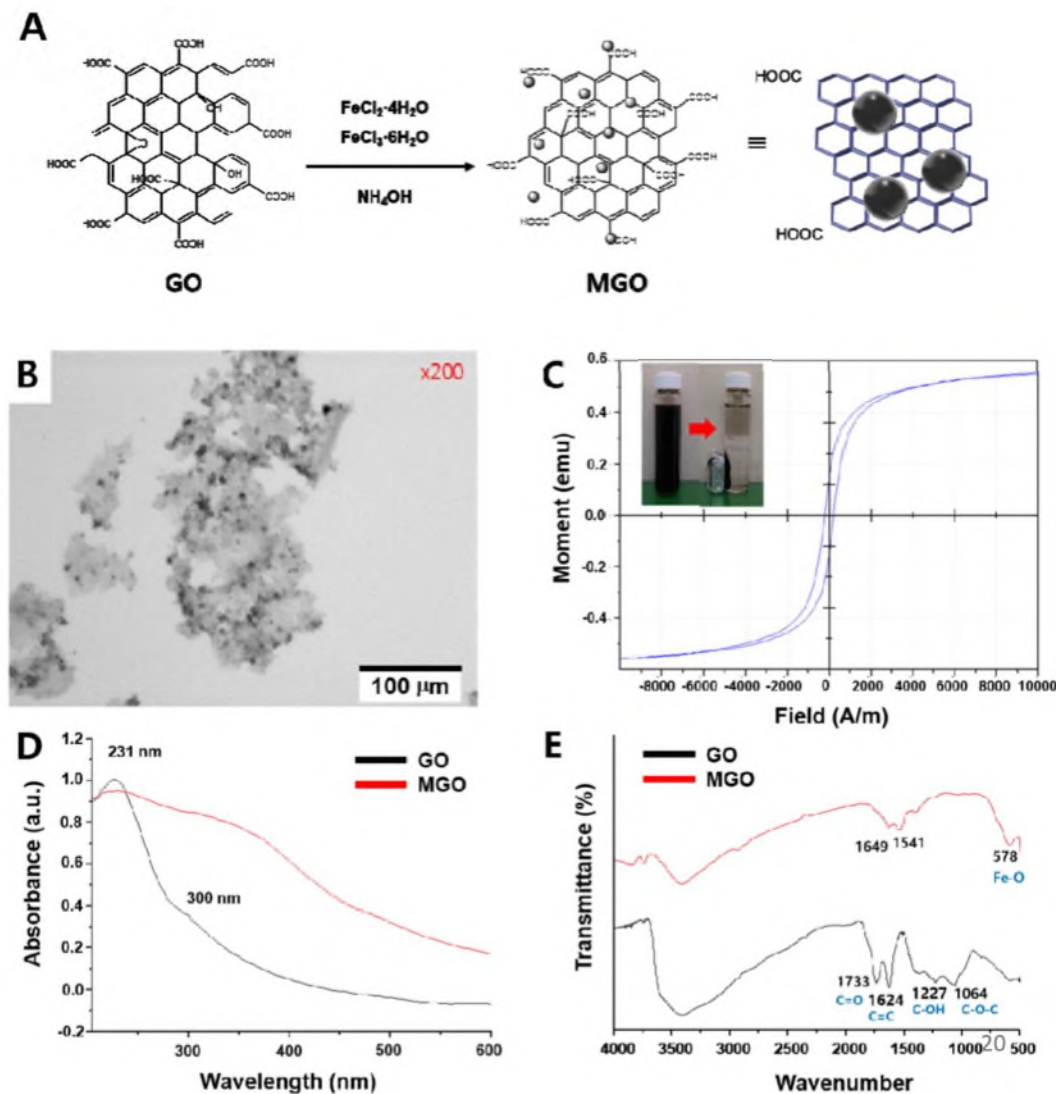


Figure 1. Preparation and characterization of graphene oxide (GO) and magnetic graphene oxide (MGO). (A) Schematic of MGO synthesis procedure. (B) Optical microscopy image of MGO. (C) Magnetic hysteresis loop of MGO. (D) UV/Vis absorption spectra of GO and MGO. (E) FT-IR spectra of GO and MGO.

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKpSiSy/1l16TW0==>

Firmado Por
ID. FIRMA

alfirmas.ual.es

Pablo Campa Madrid

WHN2x8tkKpSiSy/1l16TW0==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
20/24

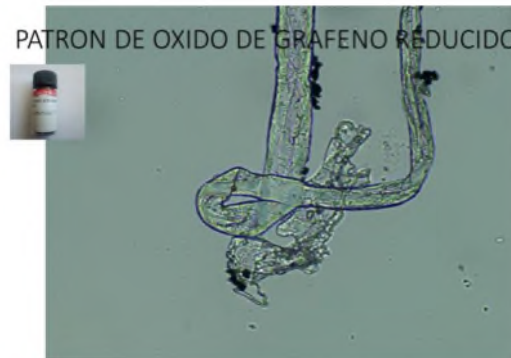
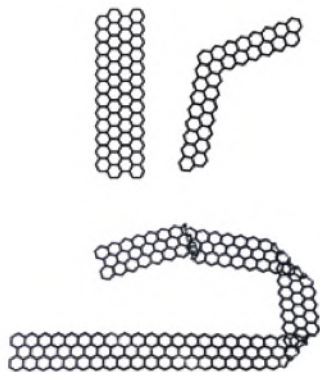
WHN2x8tkKpSiSy/1l16TW0==

Comparison of RD1 sample under the light microscope with images of the
REDUCED GRAPHENE OXIDE (rGO)

Comparativa de muestra RD1 al microscopio óptico con imágenes del patrón de OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO (rGO)

Las imágenes ópticas de las láminas presentes en la muestra RD1 revelan gran similitud con las láminas exfoliadas a partir de sonicación del patrón rGO. Ambas muestras presentan láminas translúcidas interiormente rugosas, con perfiles irregulares, plegadas sobre sí mismas y con tendencia a enrollarse en los bordes. Las formas y dimensiones de las láminas son muy variables, presentando en ambas muestras láminas en cintas o bandas plegadas sobre sí mismas (*ribbons*).

En el ANEXO adjunto se muestran imágenes alternas de MUESTRA PATRON DE rGO y MUESTRA PROBLEMA RD1



MUESTRA RD1



<https://cen.acs.org/articles/86/i4/Graphene-Ribbons.html>

The attached ANNEX shows alternate images of
GO PATTERN SAMPLE and
SAMPLE PROBLEM RD1

The optical images of the sheets present in the RD1 sample reveal great similarity to the sheets exfoliated from sonication of the GO pattern. Both samples present internally rough translucent sheets, with irregular profiles, folded on themselves and with a tendency to roll up at the edges. The shapes and dimensions of the sheets are very variable, presenting in both samples sheets in ribbons or bands folded on themselves (ribbons).

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. El estudio microscópico de la muestra aporta **sólidas evidencias de presencia probable de derivados de grafeno, si bien la microscopía no proporciona una prueba concluyente**. La identificación definitiva de grafeno, grafeno oxidado (GO) o grafeno oxidado reducido (rGO) en la muestra RD1 precisa de la **CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL** mediante el análisis de patrones espectrales específicos comparables a los publicados en literatura y a los obtenidos a partir de muestra patrón, obtenidos con técnicas espectroscópicas como XPS, EDS, RMN, FTIR o Raman, entre otras.
2. Los análisis de este informe corresponden a **UNA SOLA MUESTRA, limitada en volumen total disponible para procesar**. Es por tanto necesario realizar un muestreo significativo de viales similares para extraer conclusiones generalizables a muestras comparables, registrando origen, trazabilidad y control de calidad durante la conservación y transporte previas a los análisis.

1. The microscopic study of the sample provides solid evidence of the presence of graphene derivatives, although microscopy does not provide a conclusive proof. The definitive identification of graphene, oxidized graphene (GO) or graphene, reduced oxidized (rGO) in the sample RD1 requires the STRUCTURAL CHARACTERIZATION by means of spectral pattern analysis comparable to those published in the literature and to those obtained from of standard sample, obtained with spectroscopic techniques such as XPS, EDS, NMR, FTIR or Raman, among others.

2. The analyzes in this report correspond to ONE SINGLE SAMPLE, limited in total volume available for processing. It is therefore necessary to carry out a significant sampling of similar vials to draw conclusions generalizable to comparable samples, recording origin, traceability and quality control during storage and transport prior to analysis.

Disclaimer

The results and conclusions of this report do not imply position.
institutional one of the University of Almería

Exención de responsabilidad



- Los resultados y conclusiones de este informe no implican posición institucional alguna de la Universidad de Almería
- Ni el Investigador Principal ni La Universidad de Almería asumen responsabilidad alguna de los contenidos y opiniones de terceros sobre el presente informe a partir de su posible difusión en redes sociales o medios de comunicación, ni de las conclusiones que puedan extraerse del mismo que no hayan sido explicitadas en el texto.

Neither the Principal Investigator nor the University of Almería assume any responsibility for the content and opinions of third parties on the present report from its possible dissemination on social networks or media communication, or the conclusions that may be drawn from it that are not have been made explicit in the text.

Firmado Por		Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1l6Tw0==	
ID. FIRMA	afirma.ual.es	Pablo Campa Madrid	WHN2x8tkKPSiSy/1l6Tw0==
		PÁGINA	28/06/2021 23/24

VER ANEXO FOTOGRAFIAS DE LA MUESTRA

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/WHN2x8tkKPSiSy/1L6TwQ==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	WHN2x8tkKPSiSy/1L6TwQ==	PÁGINA	24/24
		WHN2x8tkKPSiSy/1L6TwQ==		

DETECCIÓN DE OXIDO DE GRAFENO EN SUSPENSIÓN ACUOSA (**COMIRNATY™** (RD1))

ESTUDIO OBSERVACIONAL EN MICROSCOPIA ÓPTICA Y ELECTRÓNICA Informe provisional (I) **ANEXO FOTOGRAFIAS**

28 de Junio de 2021




Prof. Dr. Pablo Campra Madrid

Doctor en Ciencias Químicas y Licenciado en Ciencias Biológicas

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERIA

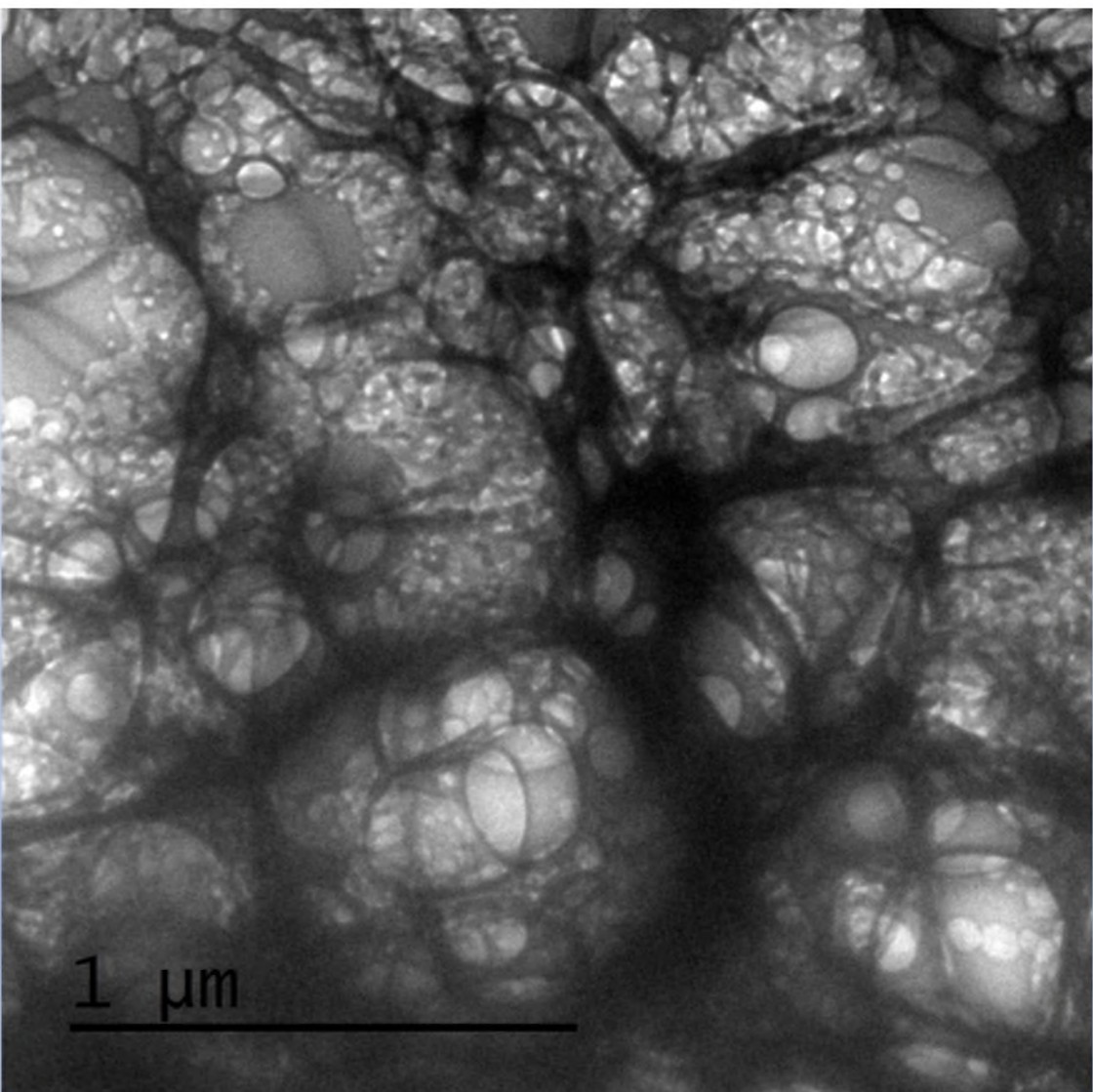
UNIVERSIDAD DE ALMERÍA, ESPAÑA

Firmado Por		Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.uja.es/verificarfirma/code/?nCXAqeqfqbwofrC3oSXA==	
ID. FIRMA	afirma.uja.es	Pablo Campra Madrid	Fecha
			PÁGINA
			28/06/2021
			1/30

jPnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==

MICROSCOPÍA ELECTRONICA

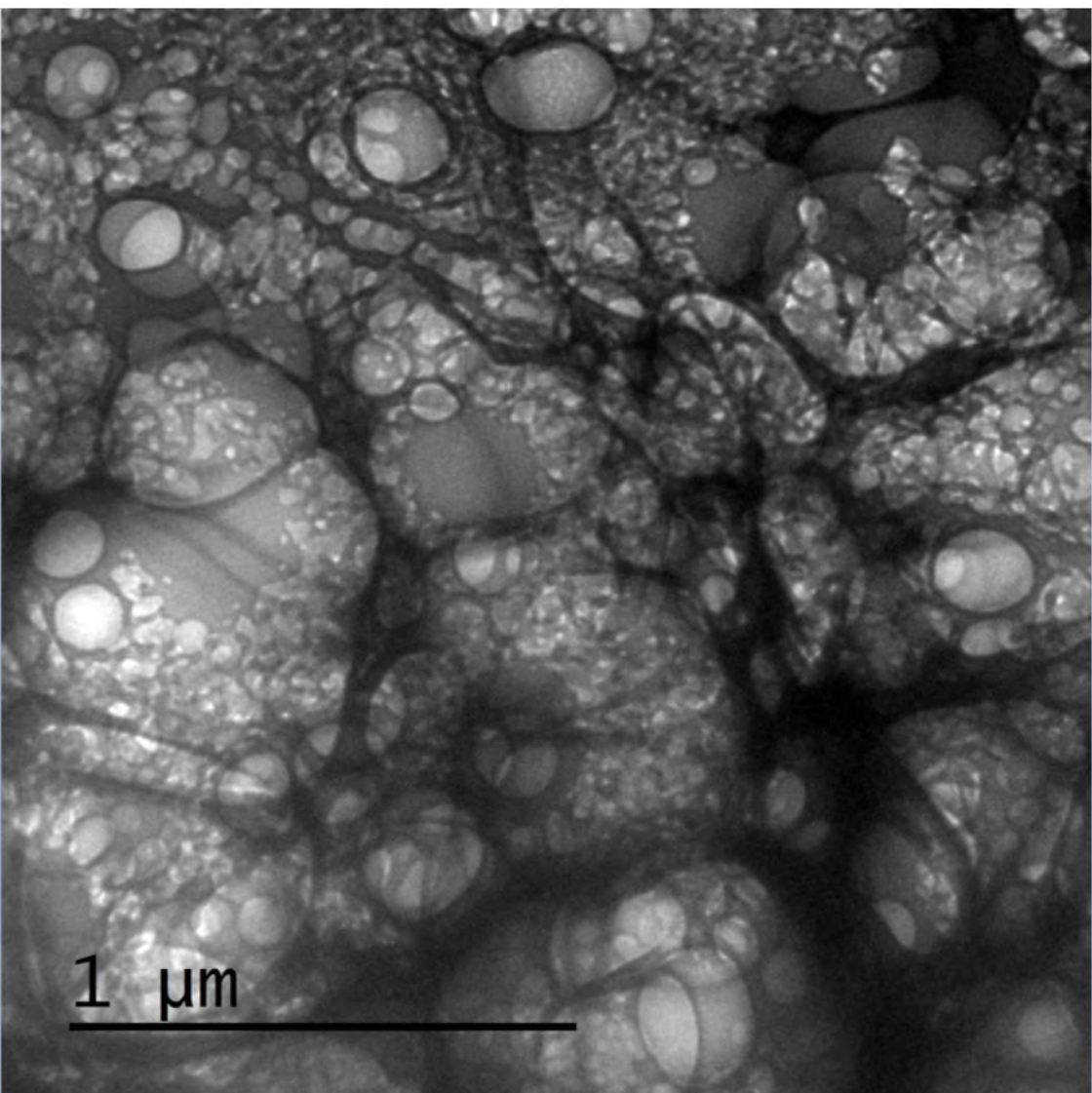
Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==	PÁGINA	2/30
		jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==		



MUESTRA RD1

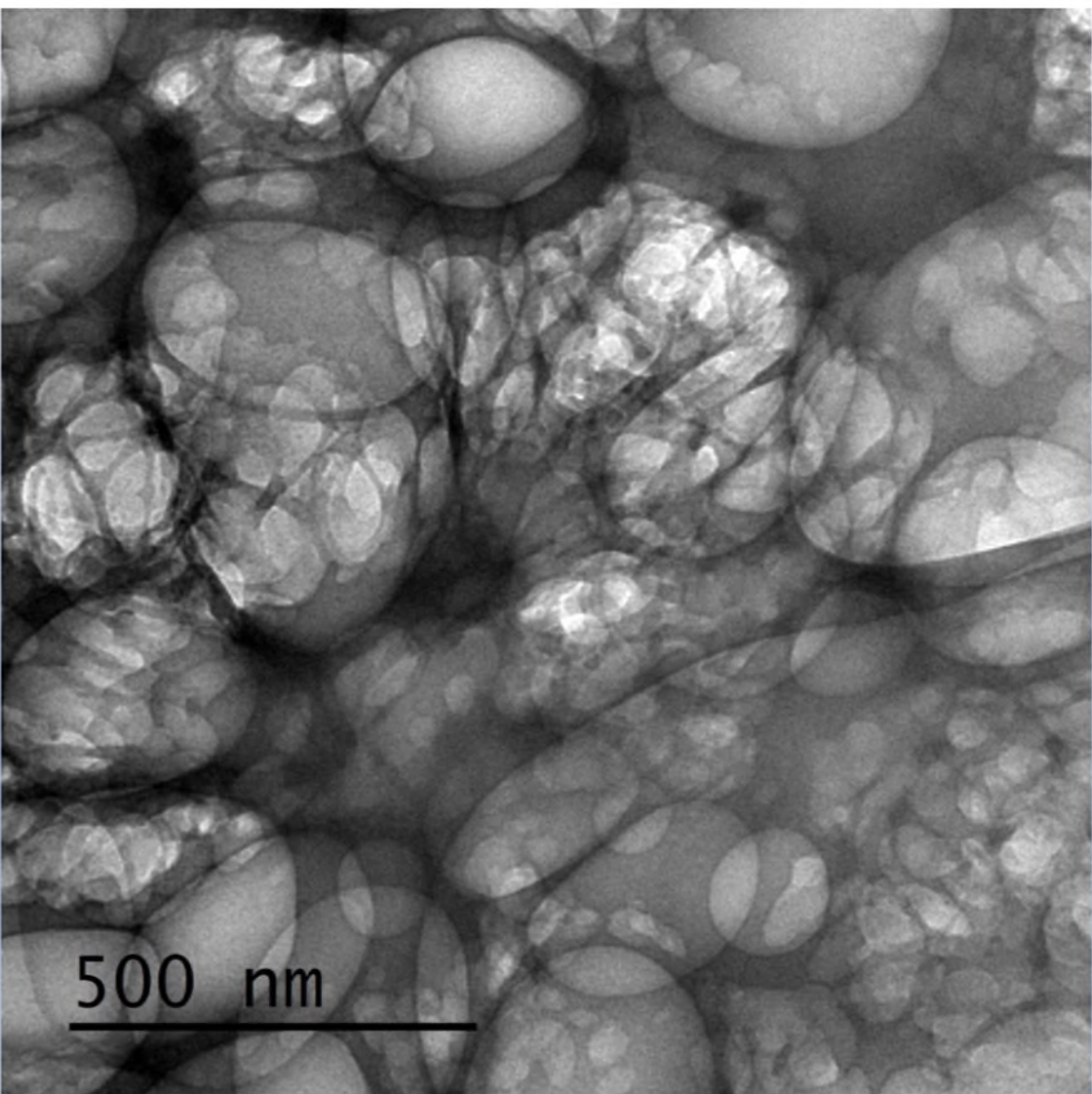
Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid			Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	3/30	
					
jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==					



MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	4/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		




MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	5/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		



MUESTRA

	Pablo Campa Madrid		Fecha
afirma.ual.es	jPnCXgeqfqpwofrC3oSXA==		PÁGINA
			
	jPnCXgeqfqpwofrC3oSXA==		

11

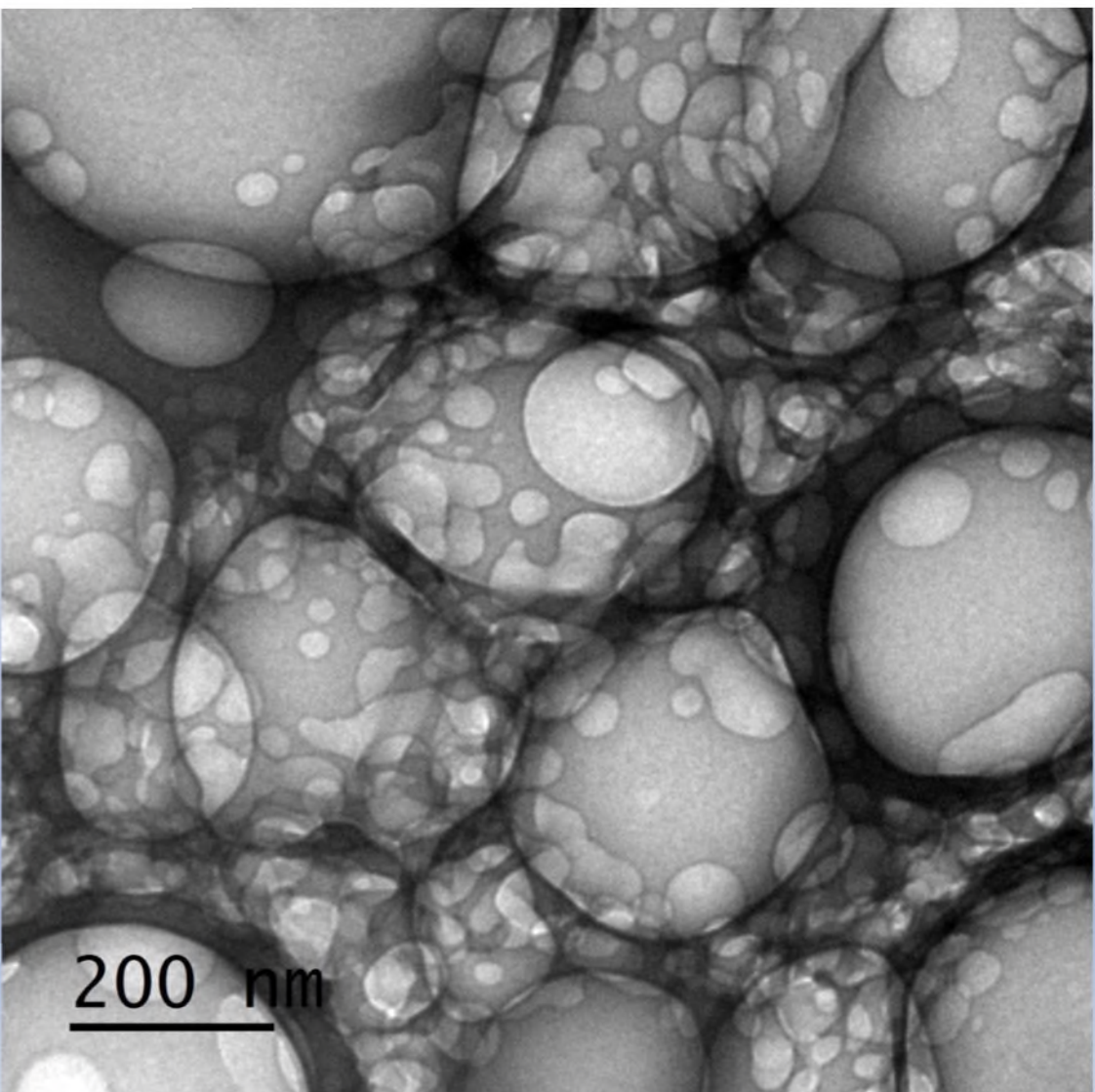
114

qPh

114

11

11



MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/?nCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==>

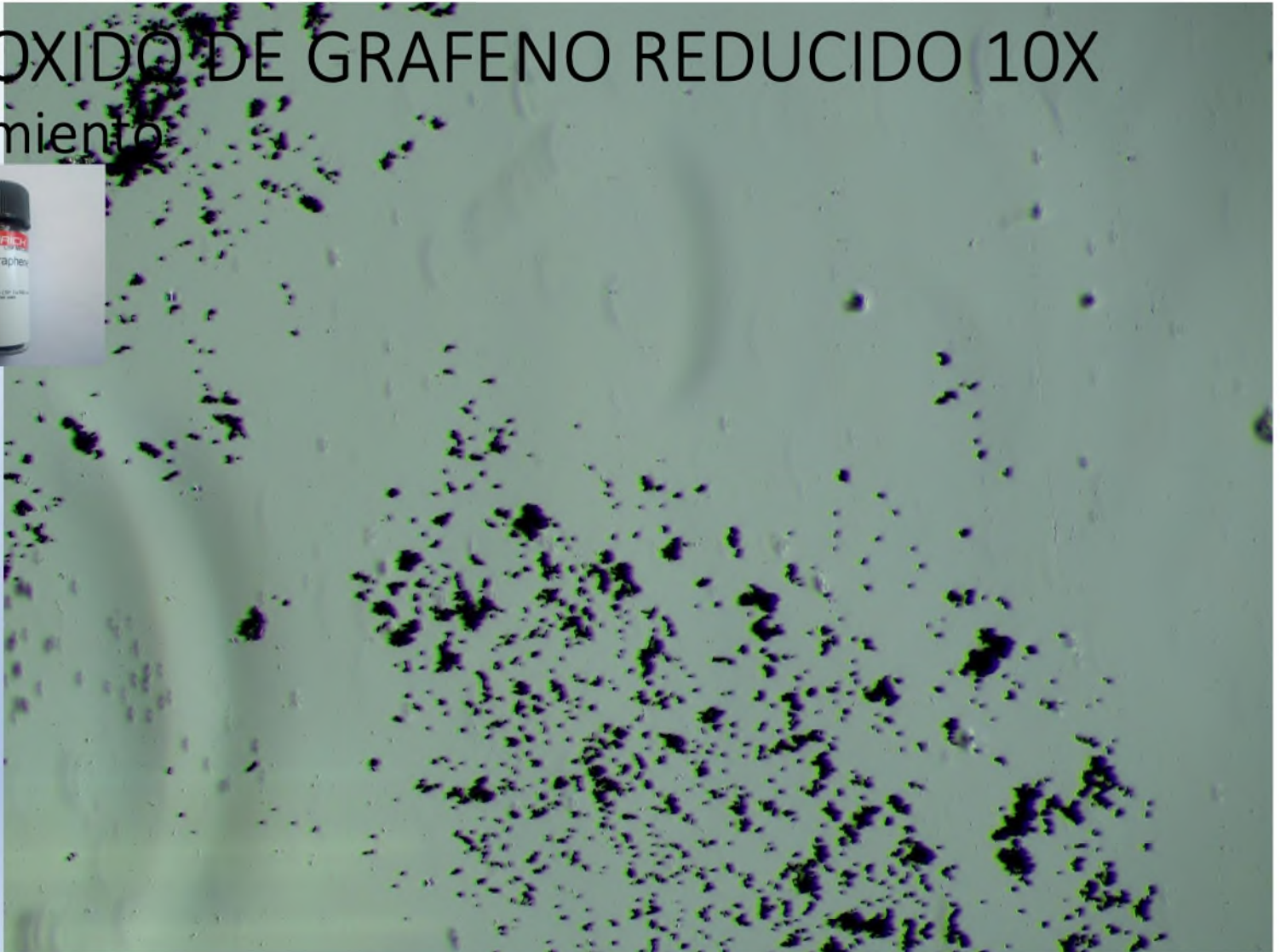
Firmado Por	Pablo Campa Madrid			Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	7/30	
					
jPnCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==					

MICROSCOPÍA OPTICA

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/?PnCXAqeqqPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	 jPnCXAqeqqPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	8/30
		 jPnCXAqeqqPbwofrC3oSXA==		

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO 10X

Antes del tratamiento



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por

ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

Fecha

28/06/2021
9/30



jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO 10X

Tratamiento: Exfoliación de escamas de rGO mediante 30s sonicación suave con pulsos de 5s mediante sonda



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.uai.es/verificarfirma/code/PnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.uai.es



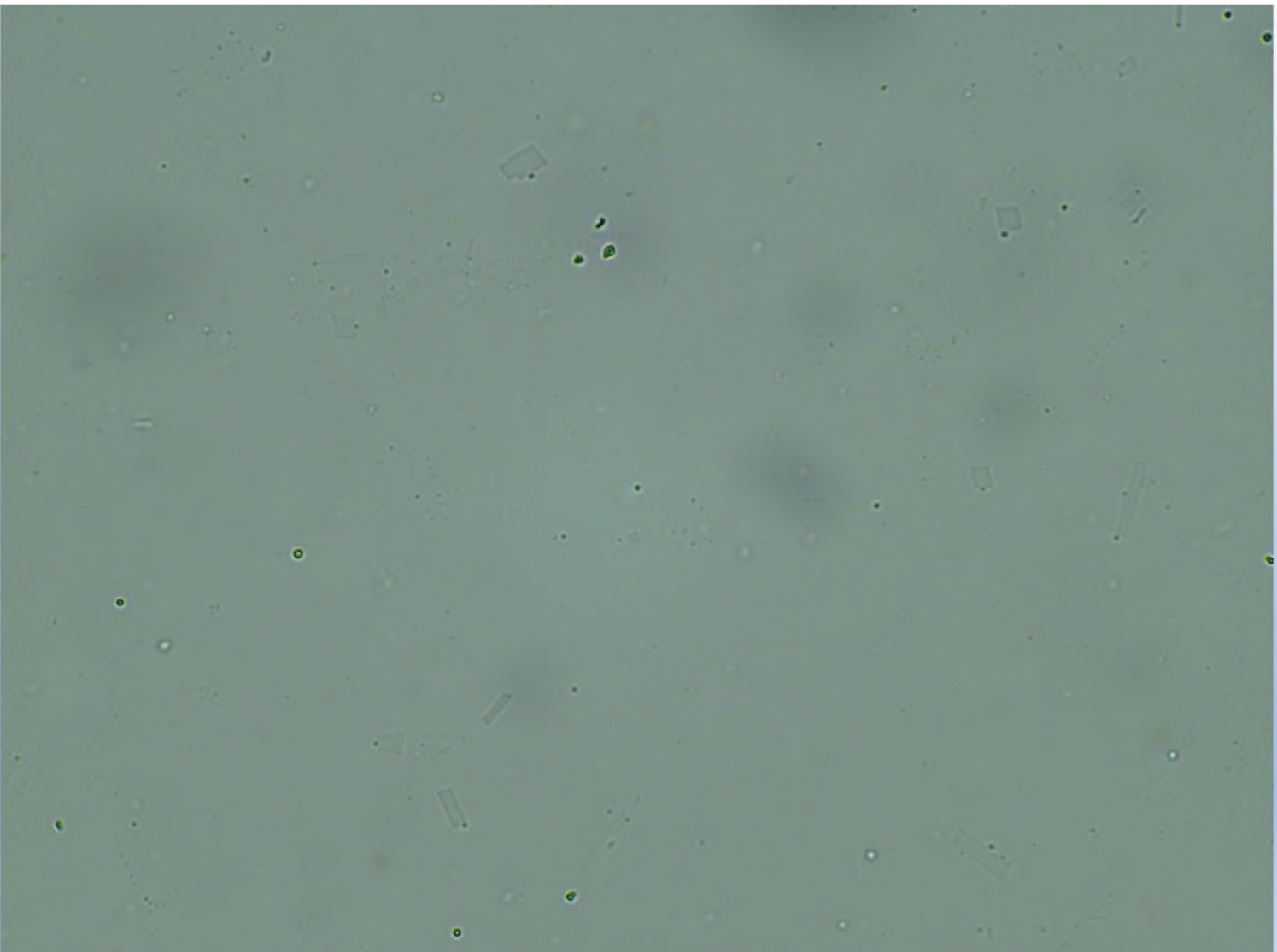
PnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
10/30

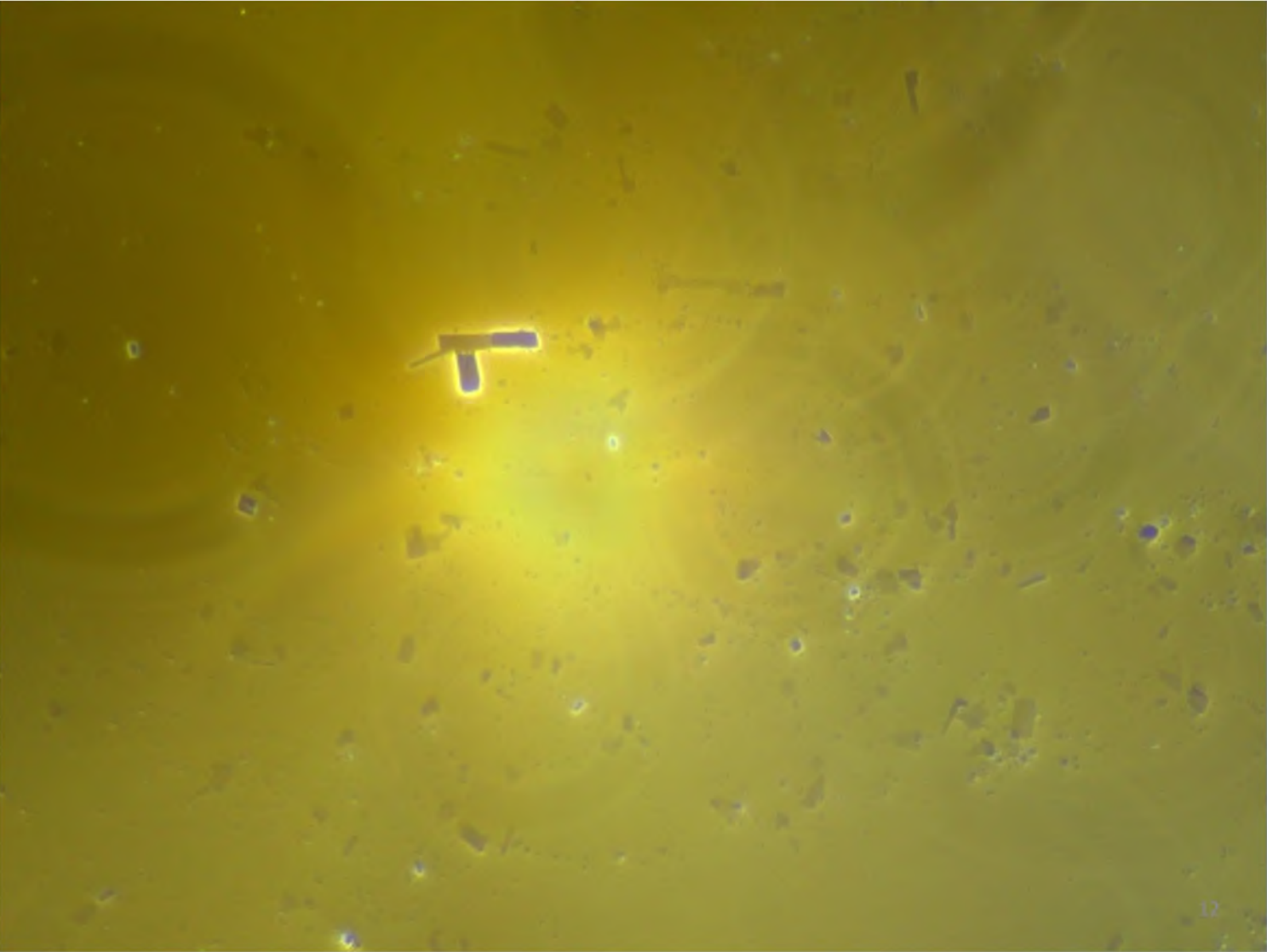
PnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==

MUESTRA
RD1



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==	PÁGINA	11/30
		jPnCXdqeqfqpBwofrC3oSXA==		

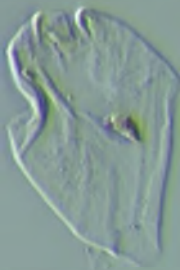



MUESTRA
RD1
(campo
oscuro)

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirmacode/?pnCXaqeqfqPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid			Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	}pnCXaqeqfqPbwofrC3oSXA==		PÁGINA	12/30
		}pnCXaqeqfqPbwofrC3oSXA==			

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO 60x



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	13/30
				
jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==				

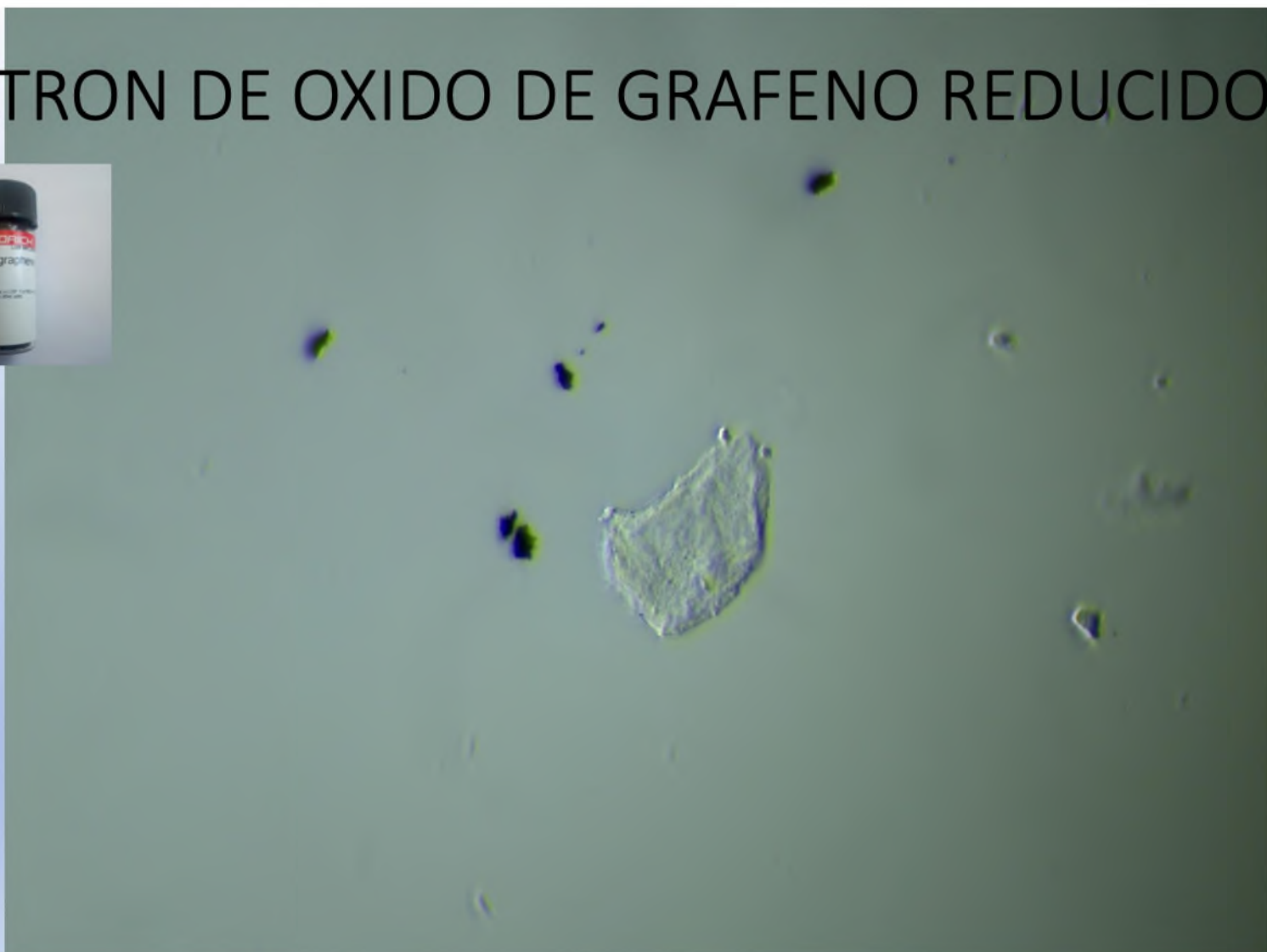
MUESTRA
RD1 60x



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	14/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.uja.es/verificarfirma/code/?nCXAqeqqPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.uja.es

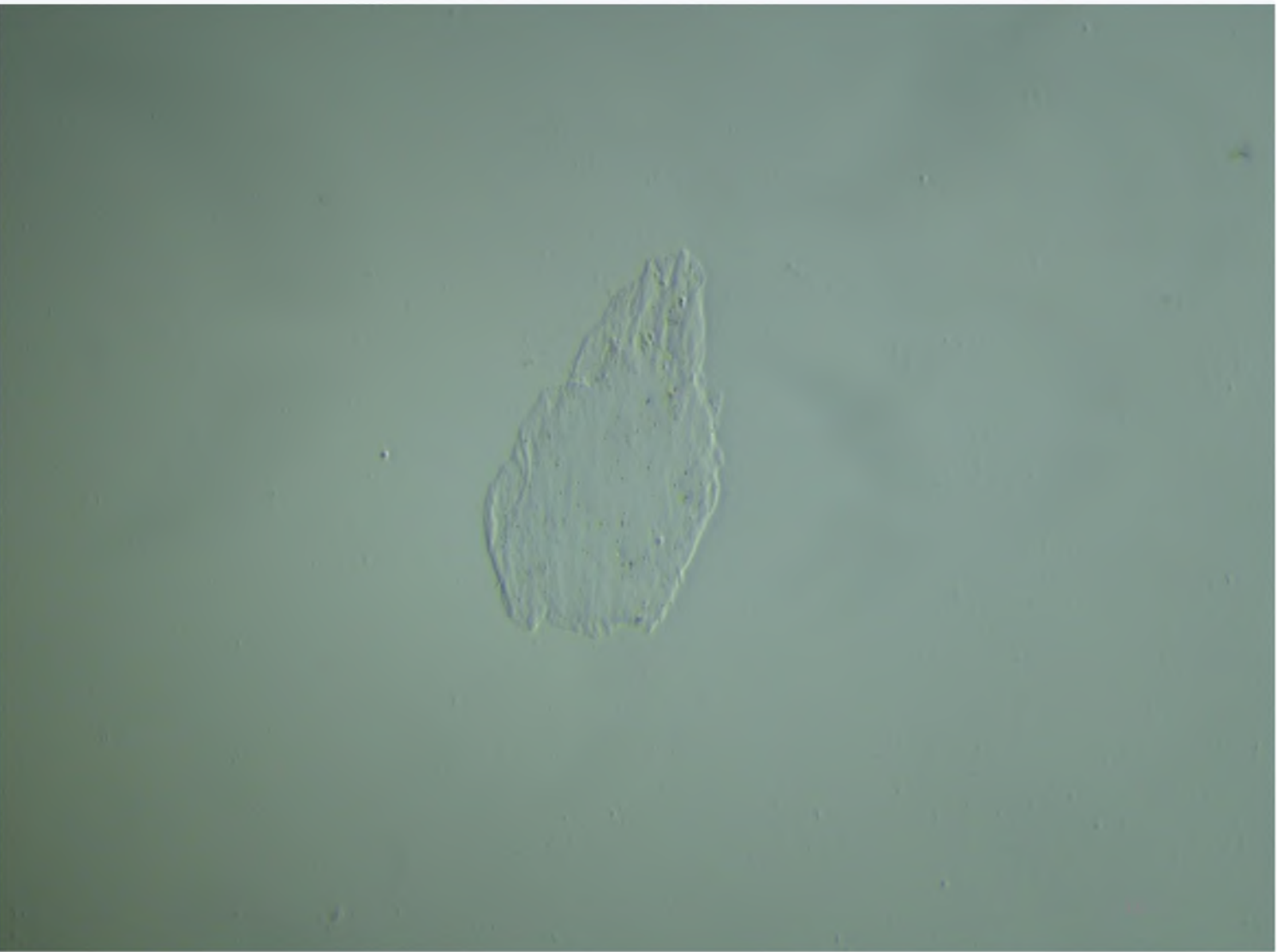


?nCXAqeqqPbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

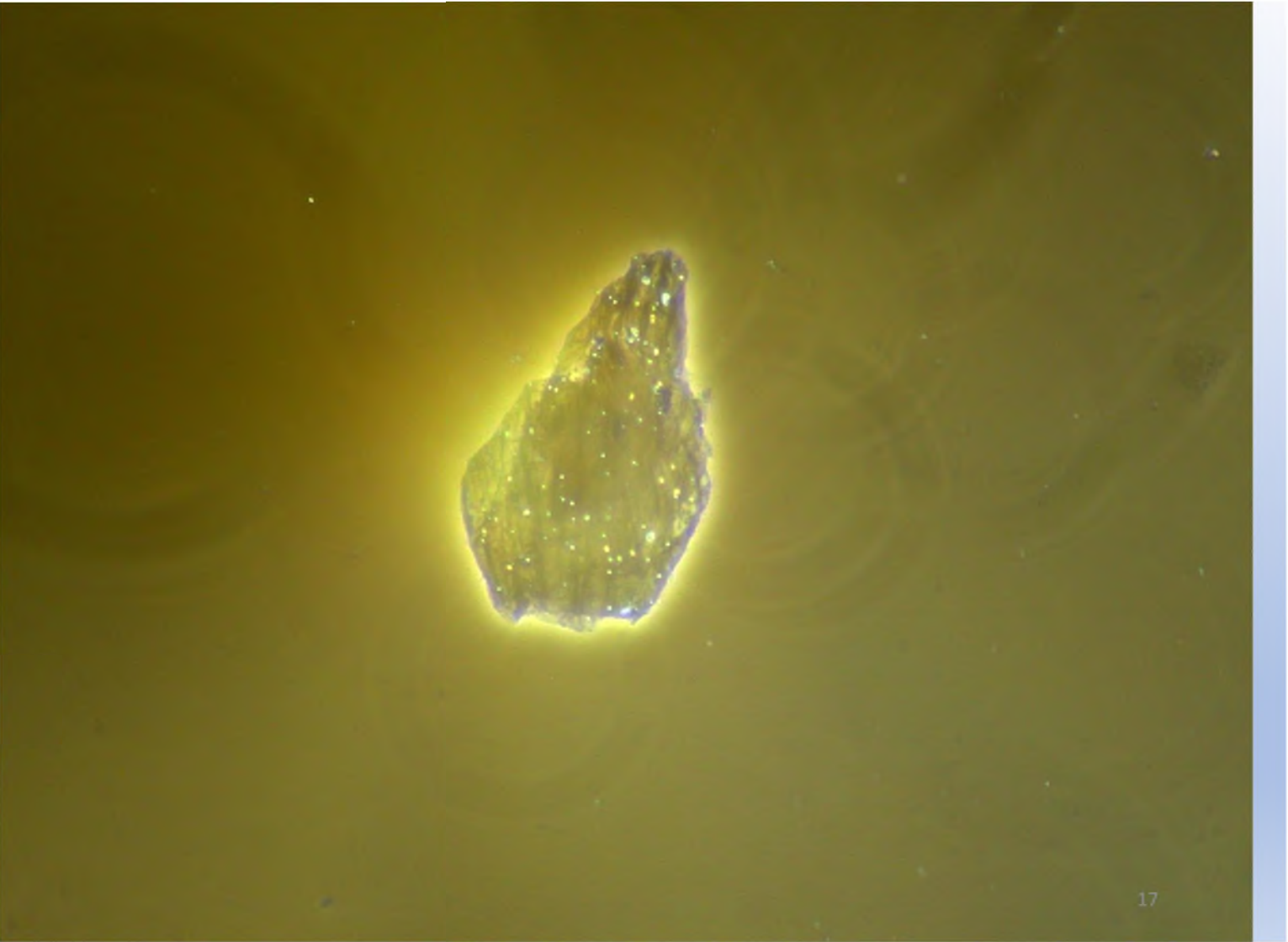
28/06/2021
15/30

?nCXAqeqqPbwofrC3oSXA==



MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	16/30
		jPnCXAqeqfqPbwofrC3oSXA==		



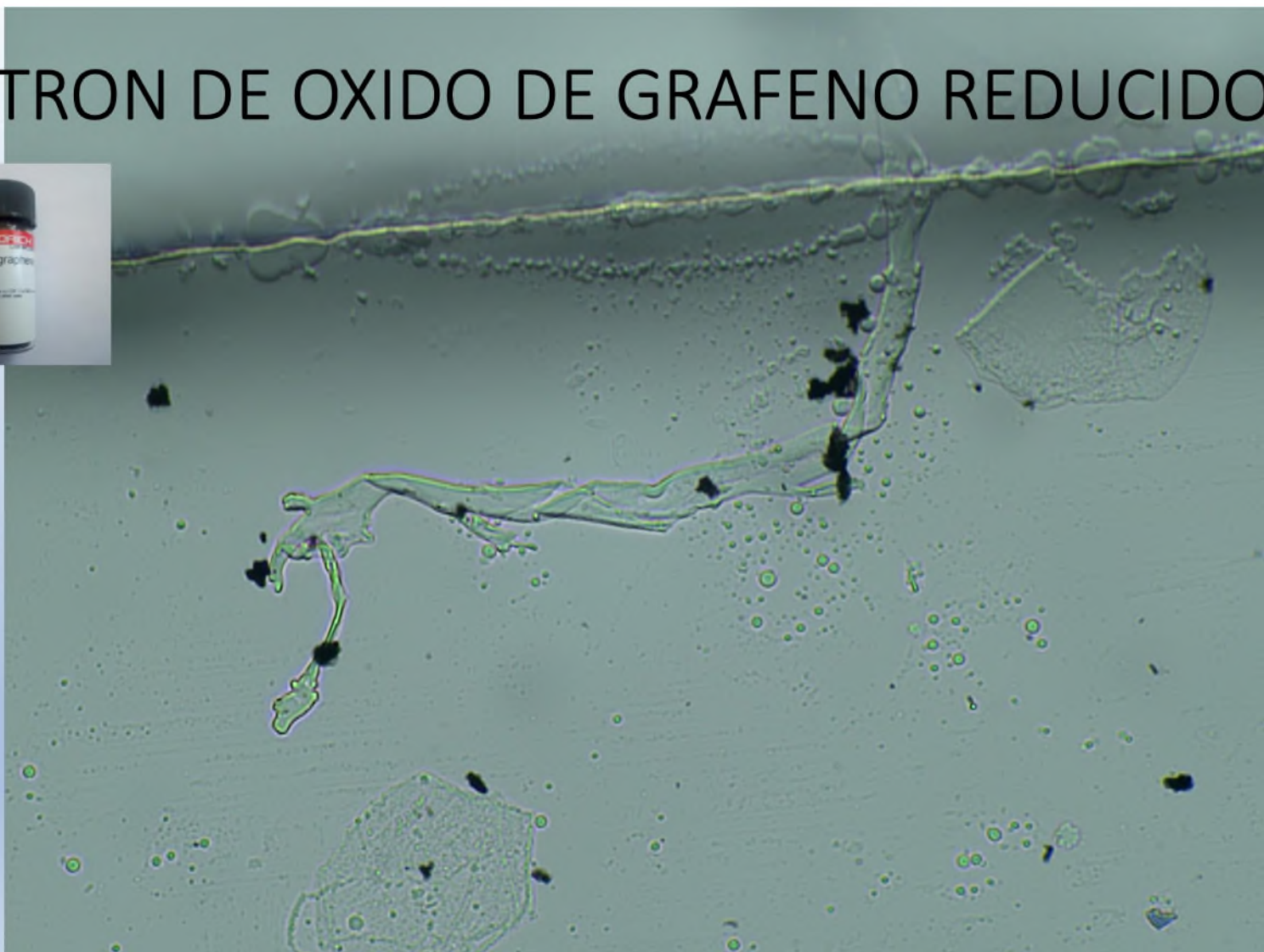
MUESTRA
RD1
(campo
oscuro)

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificafirma.ual.es/verificafirma/code/?pncXaqeqfqPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid			Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es			PÁGINA	17/30

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAeqqPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

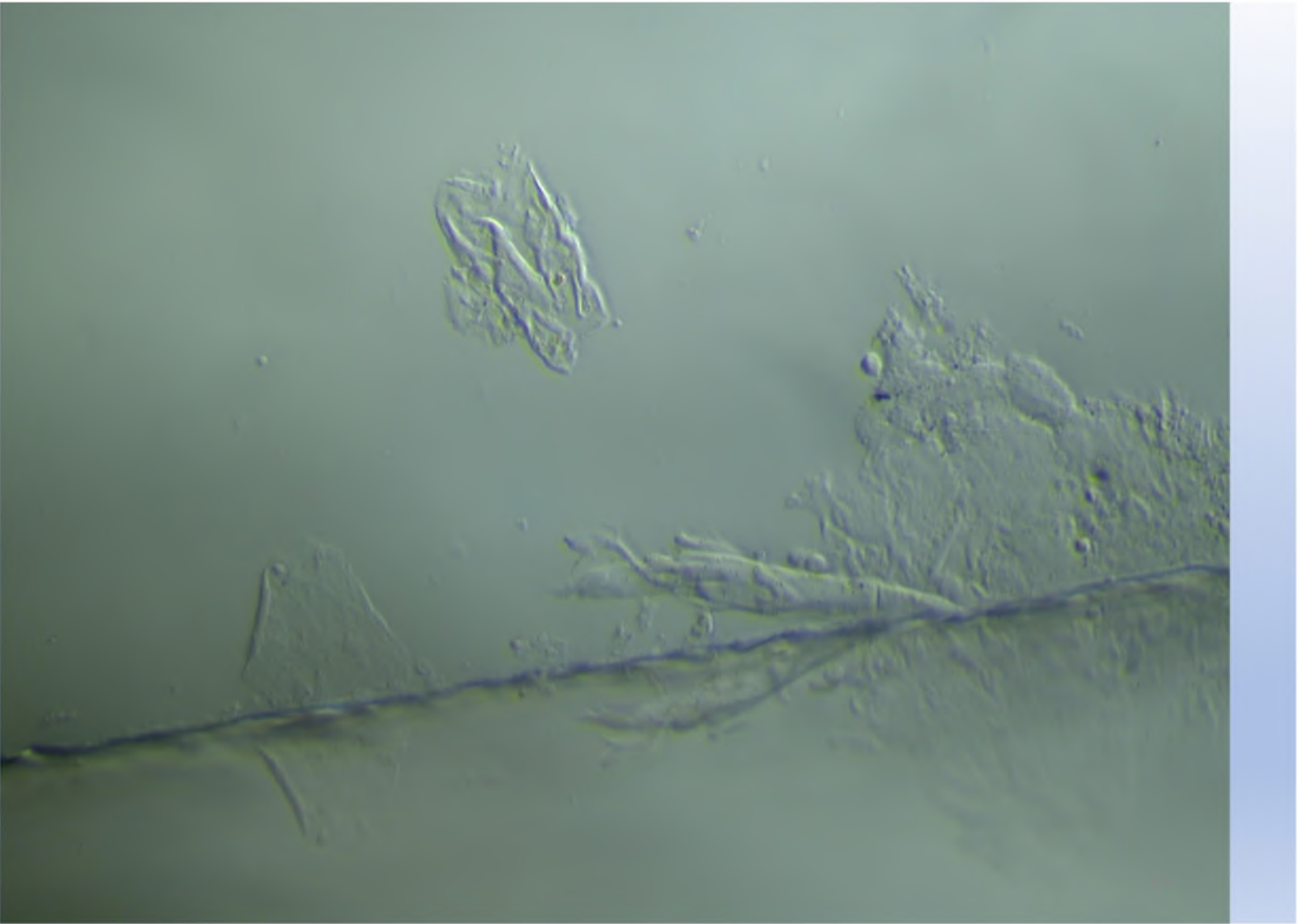
jPnCXAeqqPbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
18/30



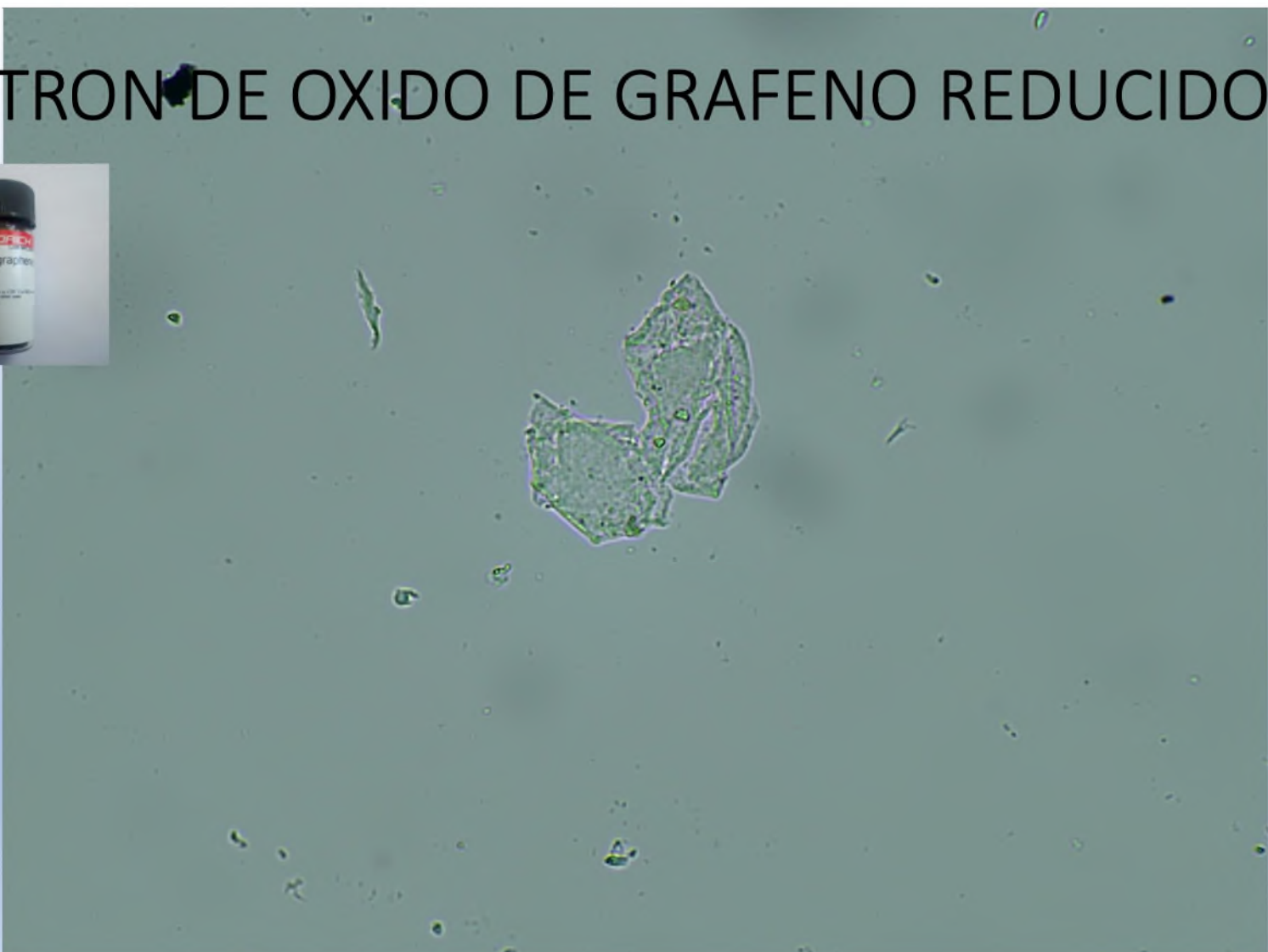
jPnCXAeqqPbwofrC3oSXA==



MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	19/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

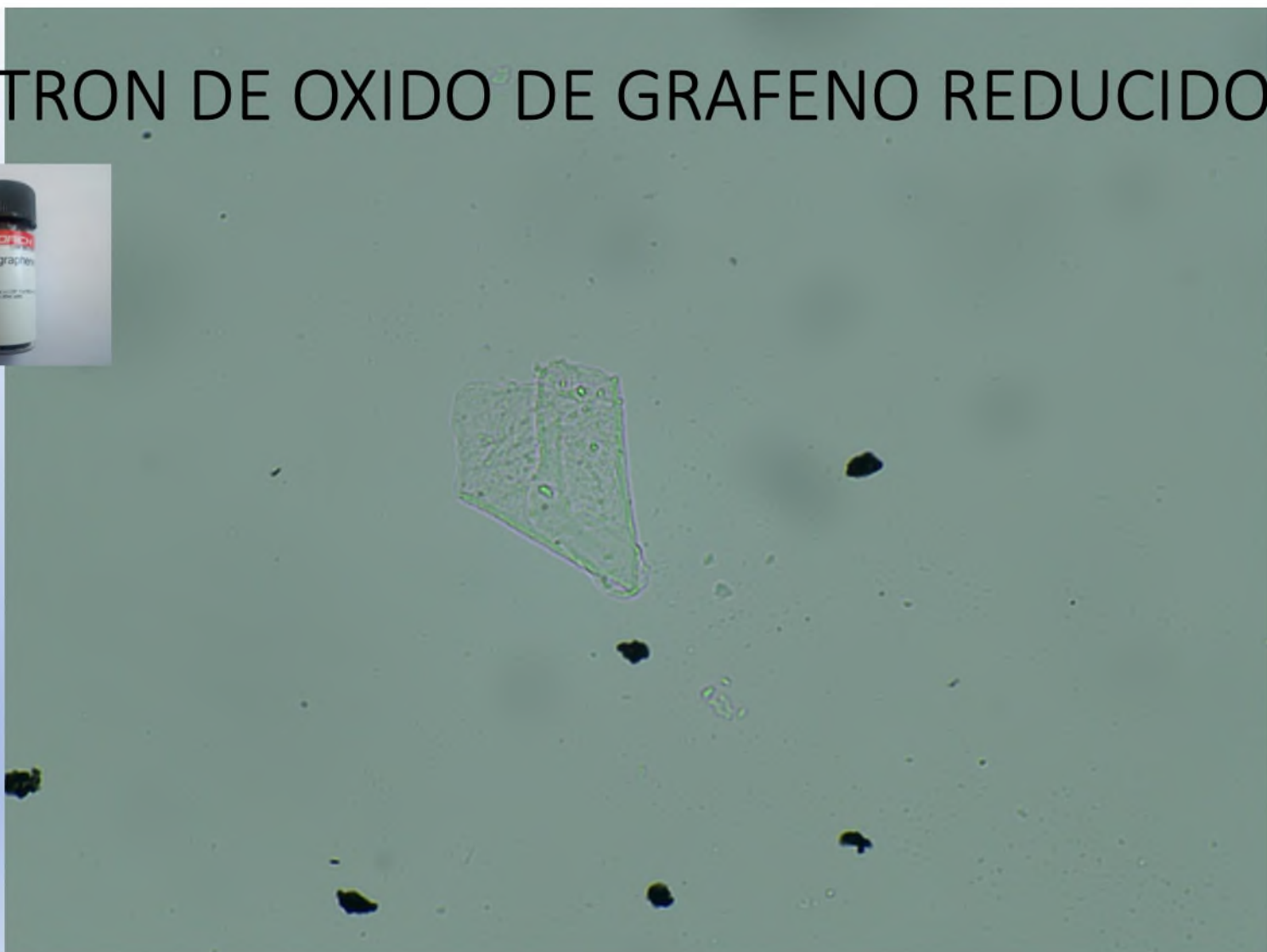
Fecha
PÁGINA

28/06/2021
20/30



jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/?nCXAeqqfPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por

ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

?nCXAeqqfPbwofrC3oSXA==

Fecha

PÁGINA

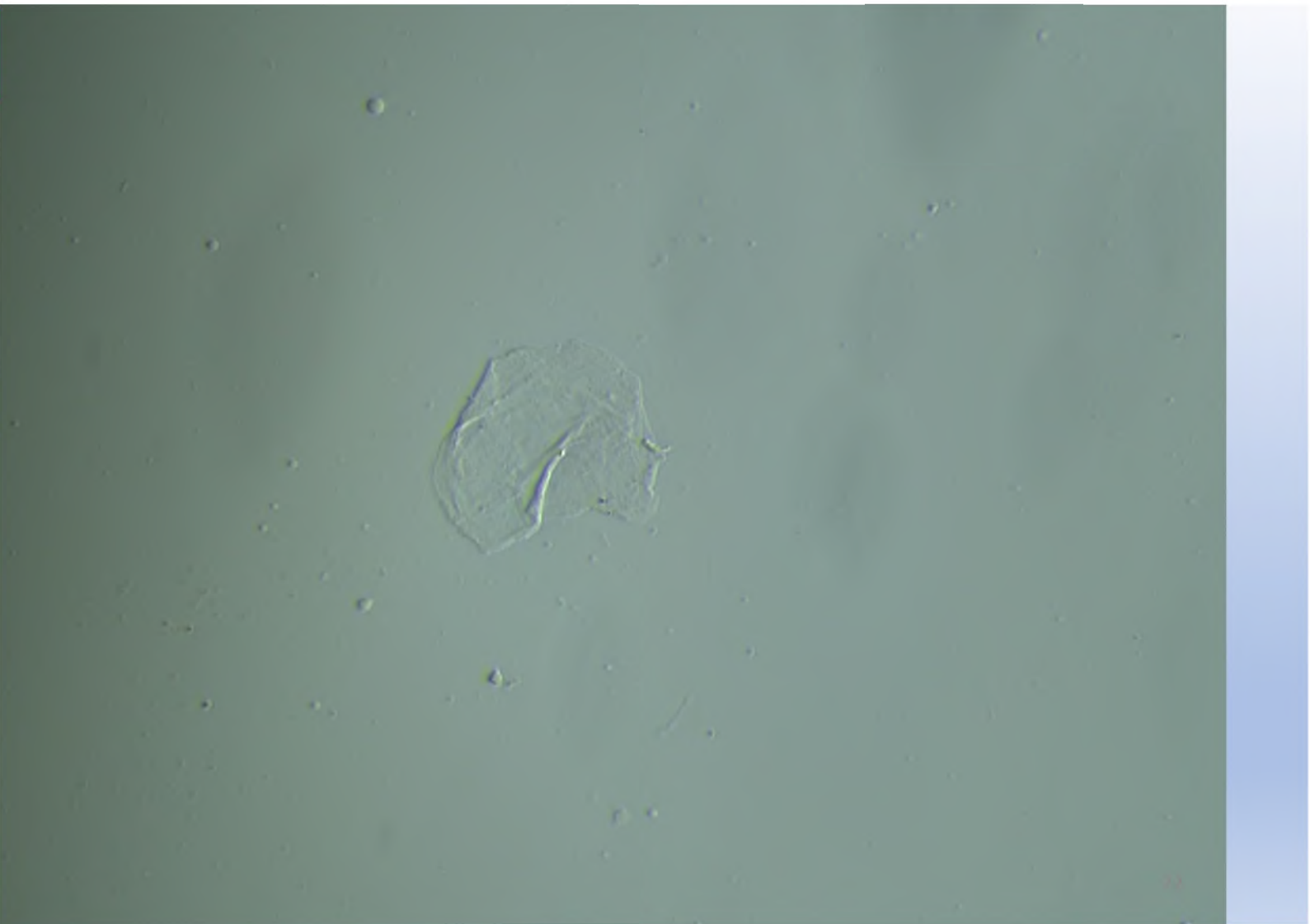
28/06/2021

21/30



?nCXAeqqfPbwofrC3oSXA==

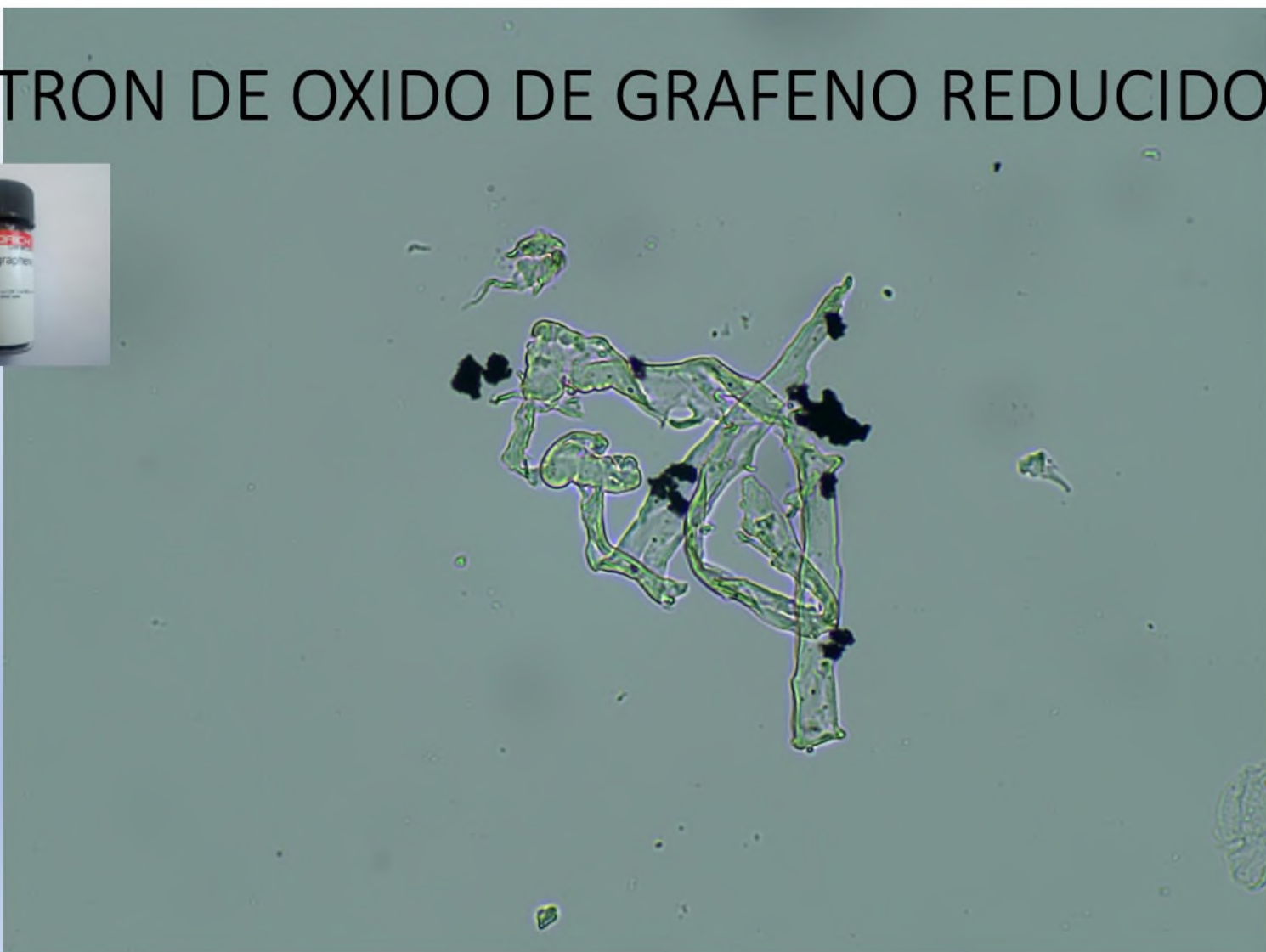
MUESTRA
RD1



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	22/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es



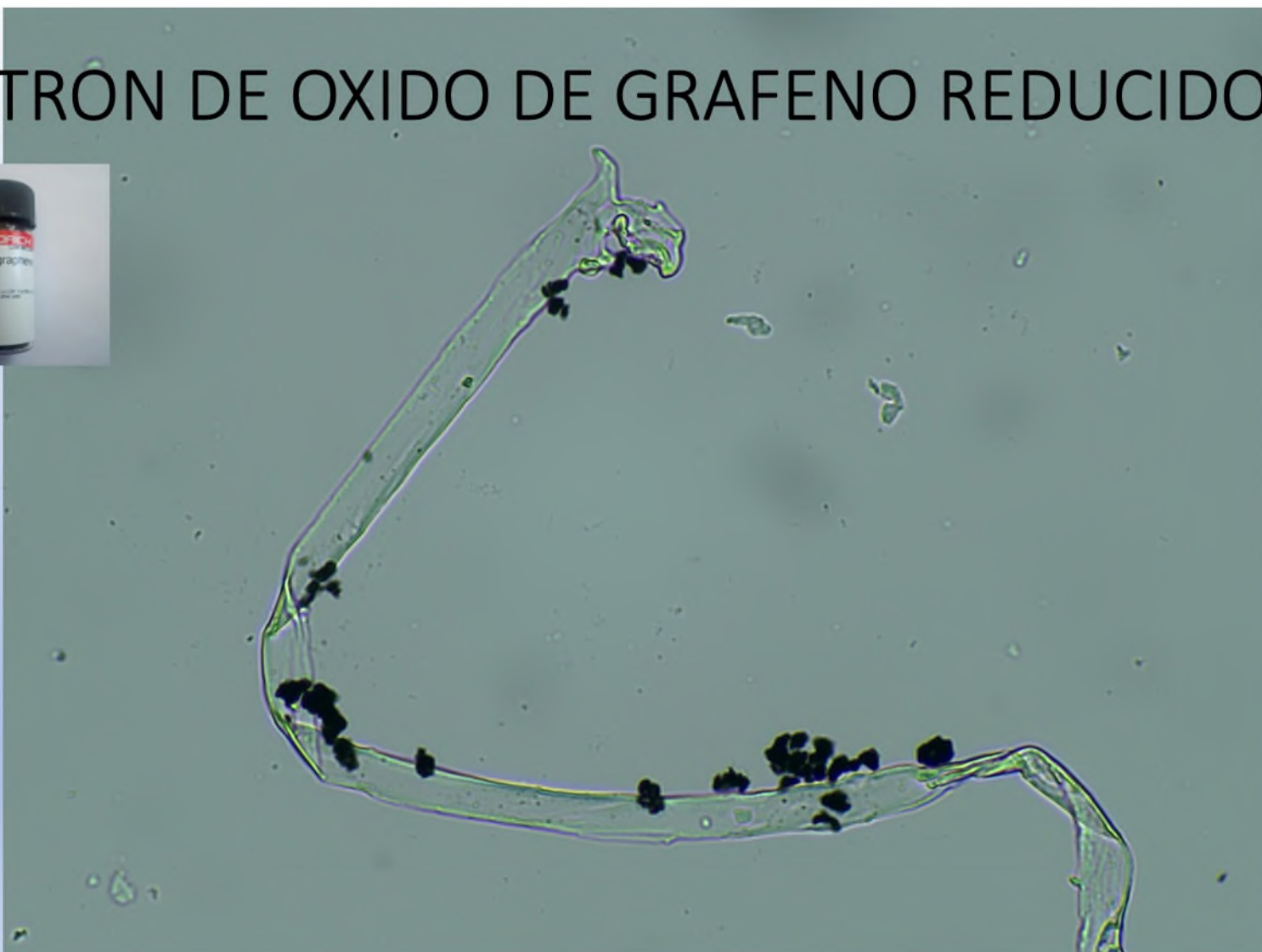
jPnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
23/30

jPnCXAqeqfqbwofrC3oSXA==

PATRÓN DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.uja.es/verificarfirma/code/?nC3XqeqqPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.uja.es



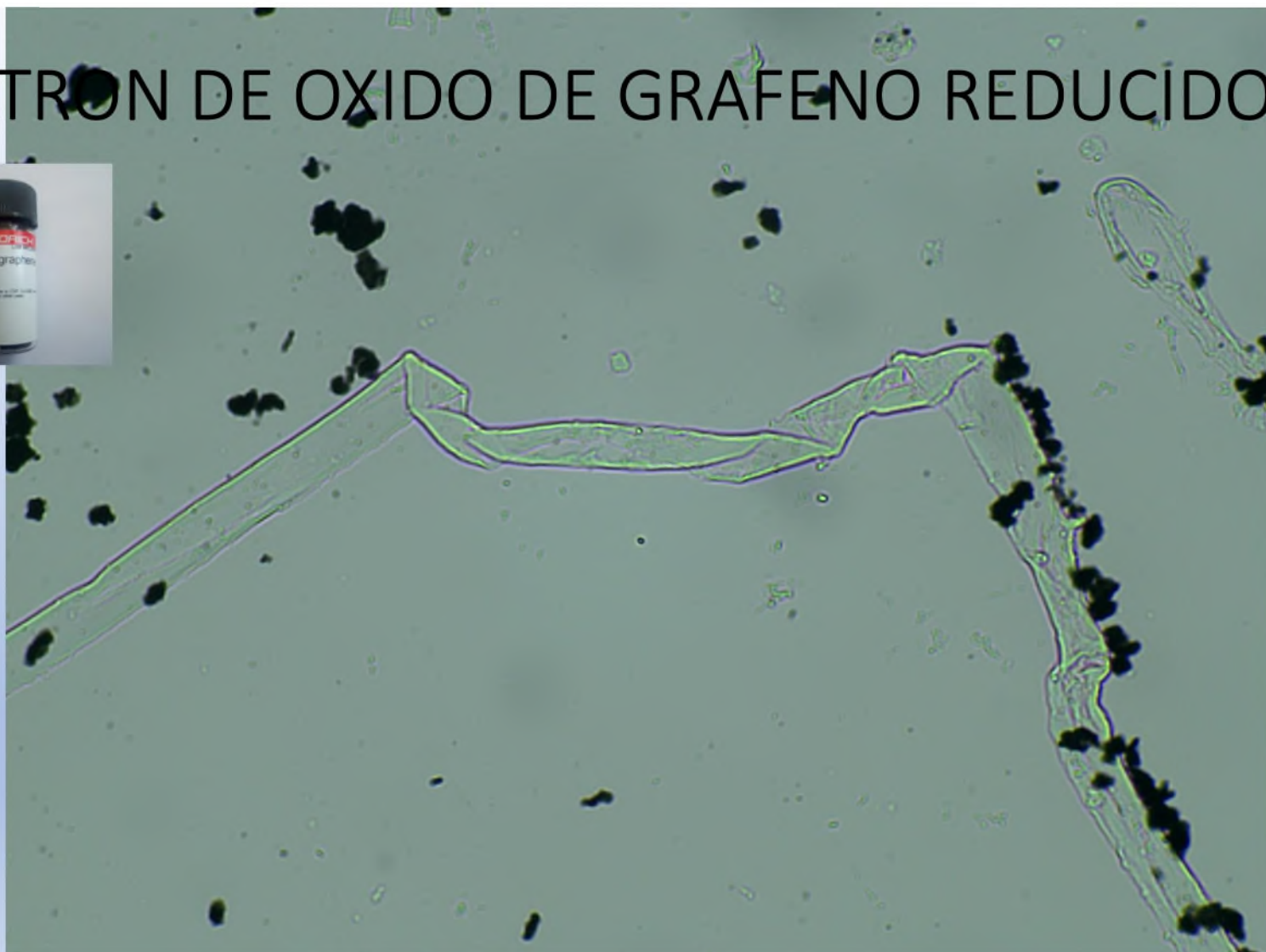
?nC3XqeqqPbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
24/30

?nC3XqeqqPbwofrC3oSXA==

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

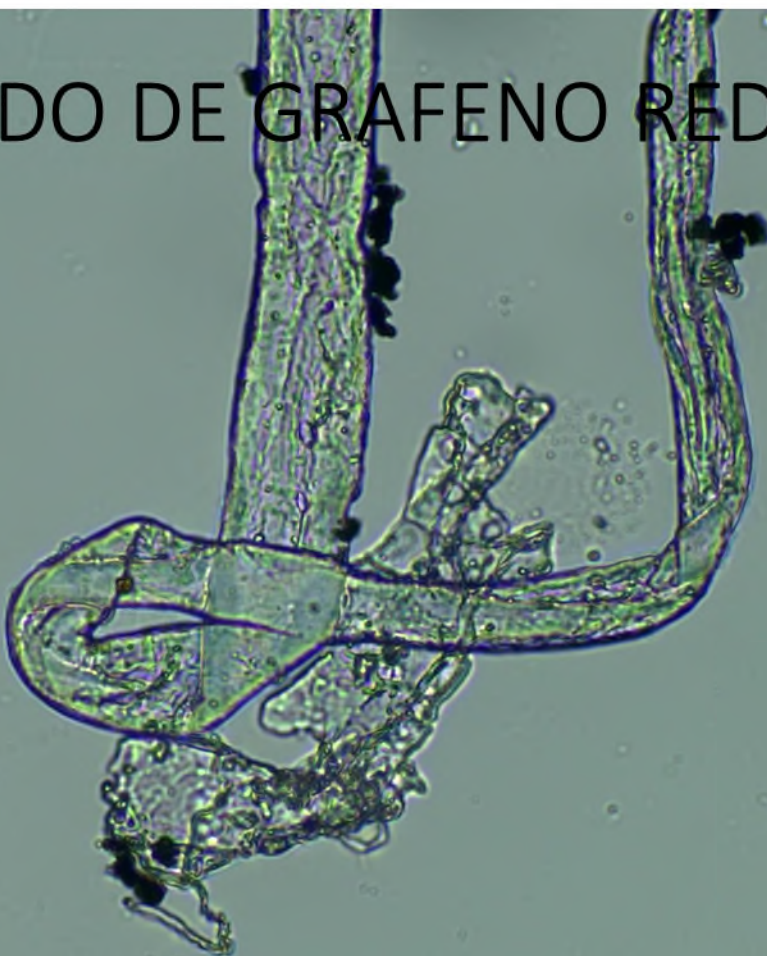
Fecha
PÁGINA

28/06/2021
25/30



jPnCXAqeqfQPbwofrC3oSXA==

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAeqqfPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

Pablo Campa Madrid

¡PnCXAeqqfPbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
26/30



¡PnCXAeqqfPbwofrC3oSXA==



MUESTRA
RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección: https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==				
Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	27/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		

PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:

<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/PnCXAeqqPbwofrC3oSXA==>

Pablo Campa Madrid

Firmado Por
ID. FIRMA

afirma.ual.es

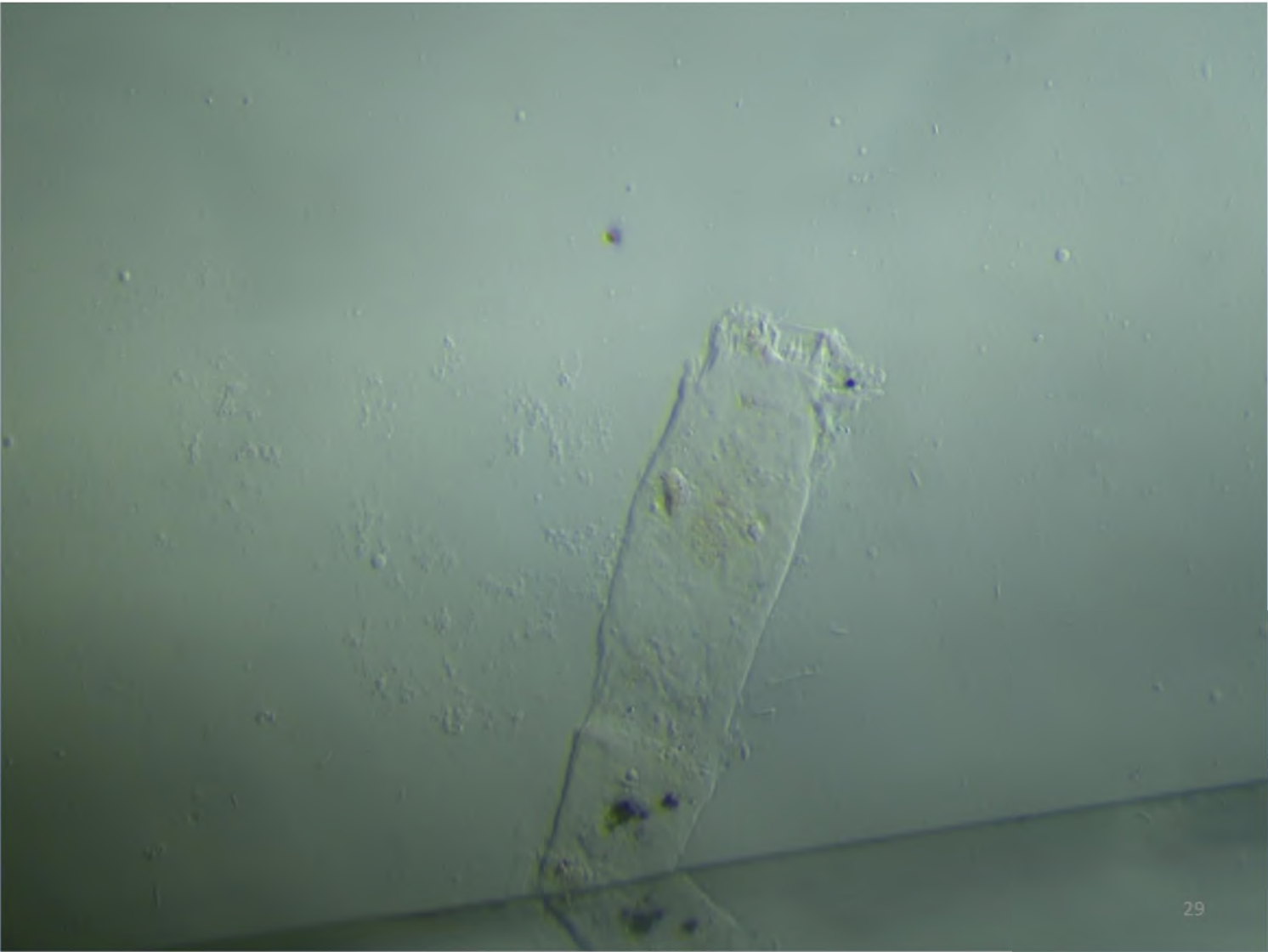


jPnCXAeqqPbwofrC3oSXA==

Fecha
PÁGINA

28/06/2021
28/30

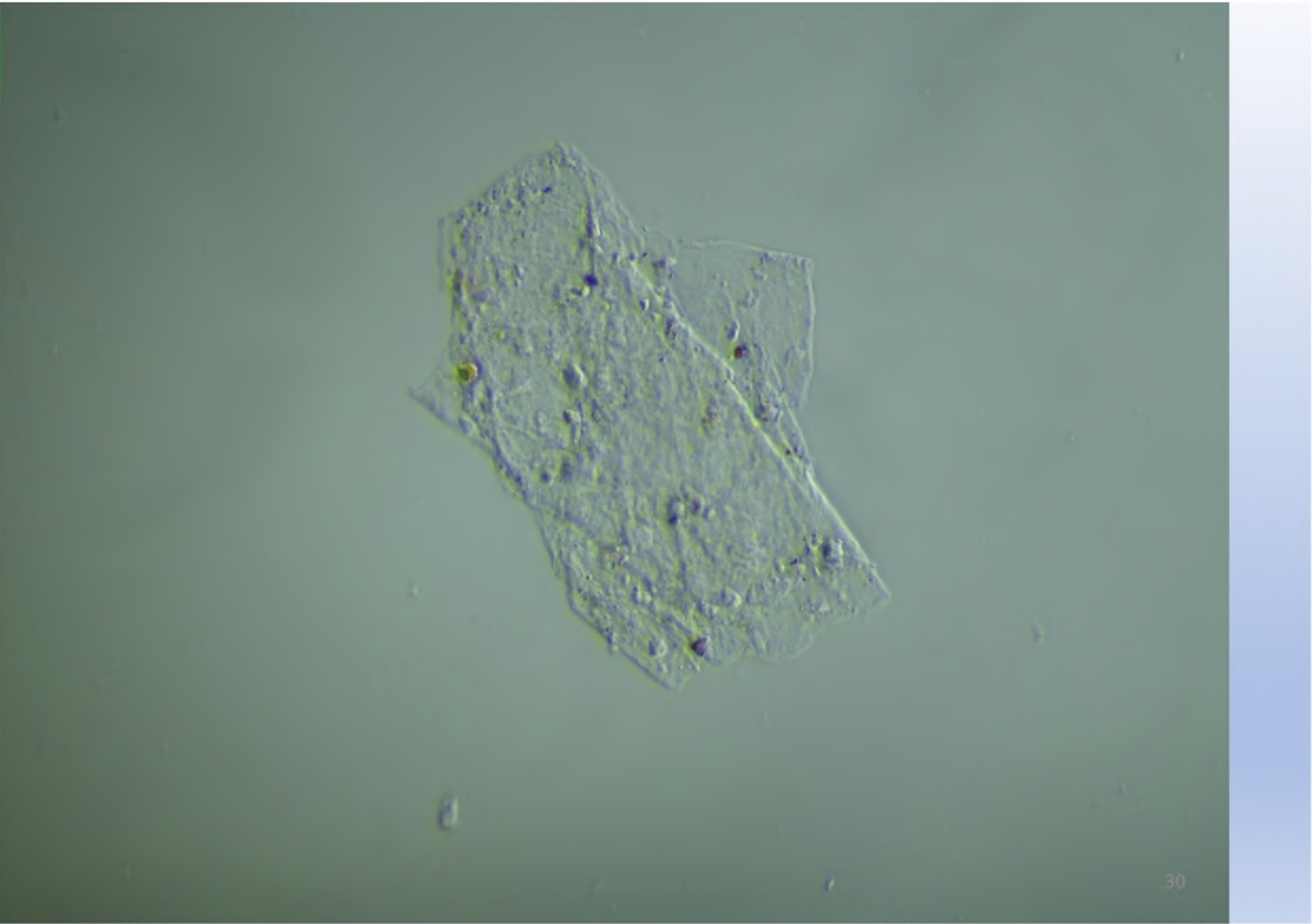
jPnCXAeqqPbwofrC3oSXA==



MUESTRA RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	29/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		



MUESTRA RD1

Puede verificar la autenticidad, validez e integridad de este documento en la dirección:
<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==>

Firmado Por	Pablo Campa Madrid		Fecha	28/06/2021
ID. FIRMA	afirma.ual.es	jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==	PÁGINA	30/30
		jPnCXdqeqfQPbwofrC3oSXA==		