

El rol de las plantas silvestres o cultivables de México en la síntesis de nanopartículas[◊]

The role of wild and crop plants from Mexico in the nanoparticles' synthesis

Maleni N. Hernández-Díaz,* Nina Torres-Valencia,* Mariana Miranda-Arámbula,* Ada M. Ríos-Cortés,* Fabián Fernández-Luqueño,** Valentín López-Gayou,*** Fernando López-Valdez*,*

ABSTRACT: The successful use of nanoparticles (NPs) in various sectors has increased interest and demand to synthesize, explore and study them. The synthesis of NP (as well as its derivatives, reductions, functionalizations, or conjugations), its properties and applications have been analyzed from modern approaches, through various advanced techniques, for multiple applications. The objective of this paper is to highlight the importance of plants as a source of metabolites and extracts, used as origin and means of NP synthesis. Likewise, green synthesis is highlighted as an environmentally friendly method to take advantage of the wide range of possibilities represented by the natural reservoir of Mexican plants and its various applications and properties to be explored in the field of nanobiotechnology.

KEYWORDS: bionanotechnology, environmental health, nanomaterial, green chemistry, toxic waste.

RESUMEN: El uso exitoso de las nanopartículas (NP) en diversos sectores ha incrementado el interés y la demanda para sintetizarlas, explorarlas y estudiarlas. La síntesis de NP (tanto como sus derivados, reducciones, funcionalizaciones, o conjugaciones), sus propiedades y aplicaciones se han analizado desde enfoques modernos, a través de diversas técnicas de avanzada, para aplicaciones múltiples. El objetivo de este trabajo es destacar la importancia de las plantas silvestres o cultivables de México como fuente de metabolitos y extractos, empleadas como origen y medio de síntesis de NP. Asimismo, se destaca la síntesis verde como un método amigable con el medioambiente para aprovechar la amplia gama de posibilidades que representa el reservorio natural de plantas mexicanas y sus diversas aplicaciones y propiedades a explorar en el campo de la nanobiotecnología.

PALABRAS CLAVE: bionanotecnología, nanomaterial, química verde, residuo tóxico, salud ambiental.

Recibido: 28 de febrero, 2022.

Aceptado: 13 de enero, 2023.

Publicado: 9 de marzo, 2023.

[◊] Agradecemos al Instituto Politécnico Nacional, por el financiamiento de los proyectos de investigación: 20211576, 20211596, 20221914 y 20222069. Al Conacyt por las becas otorgadas para Maleni N. Hernández-Díaz. y Nina Torres-Valencia, y, como investigadores del sistema nacional de investigadores, a Fabián Fernández-Luqueño y Fernando López-Valdez.

* Instituto Politécnico Nacional. Laboratorio de Biotecnología Agrícola, Vegetal y Agronanobiología. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala.

** Cinvestav, Unidad Saltillo, Programa en Sustentabilidad de los Recursos Naturales y Energía. Ramos Arizpe, Coahuila de Zaragoza.

*** Instituto Politécnico Nacional. Laboratorio de Instrumentación Analítica y Biosensores. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala.

[†] Autor de correspondencia: flopezva@ipn.mx

Introducción

Al día de hoy, hay un marcado y amplio uso de la nanotecnología debido a la alta demanda de diversos nanomateriales (NM) por lo cual, se ha generado una amplia variedad de nanopartículas (NP) con aplicaciones en diferentes sectores como la biomedicina, la agricultura, el saneamiento ambiental y la cosmética, entre otros (Bhargava *et al.*, 2016; Kumar Rai y Singh, 2020). En ocasiones, la producción convencional de NM no se considera rentable por su bajo rendimiento y los subproductos tóxicos que genera para el ambiente y la salud humana y animal (Bhargava *et al.*, 2016). Además, el método de síntesis química de NM puede requerir del uso de catalizadores (que suelen ser costosos), un control estricto de las condiciones de las reacciones (síntesis) y cantidades importantes de energía que pueden generar subproductos tóxicos (Bhargava *et al.*, 2016). Por ello, en los últimos años, se ha incrementado el estudio con organismos (bacterias, levaduras, algas, hongos, plantas, etc.) y sus productos para el desarrollo de nuevos métodos de síntesis que generen NM con propiedades estables, superando las desventajas que se han observado en la producción convencional (Bhargava *et al.*, 2016). El desarrollo de NP con plantas y sus productos se denomina fitosíntesis y se cuidan estrictamente las condiciones de reacción como son la concentración de metabolitos reductores, la sal precursora y el pH de la reacción (Bhargava *et al.*, 2016). La fitosíntesis de NP recientemente ha revolucionado diversos sectores como la biomedicina, cosmetología, agricultura, entre muchas otras áreas, resaltando las implicaciones positivas de esta estrategia para el desarrollo sustentable (Kumar Rai y Singh, 2020). Las plantas producen metabolitos con funciones diversas como protección, comunicación, ataque o defensa, para los diferentes factores ambientales (abióticos y bióticos), y estas propiedades son aprovechadas por el hombre para obtener fitofármacos, plaguicidas, además de otros productos naturales, con las ventajas de ser biodegradables en su mayoría y de relativamente bajo costo para su obtención (De Oliveira *et al.*, 2014). De las especies vegetales probadas por su potencial biológico se encuentra el neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), el crisantemo (*Chrysanthemum cinerariifolium* Vis.), el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), algunos cítricos (*Citrus* sp.), la menta (*Mentha piperita* L.) y la citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), entre otros. De estos se ha aprovechado la nanotecnología para utilizar algunos NM como acarreadores de los metabolitos bioactivos (De Oliveira *et al.*, 2014), resaltando la importancia de buscar la síntesis de NP bioactivas partiendo de las estructuras vegetales (hojas, semillas, raíz, etc.) y sus productos (extractos, metabolitos, etc.) e, incluso, el uso de las plantas completas.

Como se mencionó anteriormente, los procesos convencionales para obtener NP pueden presentar desventajas, es por ello que la nanotecnología, a través de la química verde, puede generar NP más estables, siendo sus procesos menos tóxicos para el medioambiente y la salud de los organismos. Con esto se busca la generación de NP partiendo de microrganismos o plantas y sus extractos. Estos últimos han generado interés, considerando que este método tiene

un enfoque ecológico hacia la sustentabilidad ambiental aprovechando la gran diversidad de especies y como fuentes importantes de metabolitos biológicamente activos (Jadoun *et al.*, 2021). De acuerdo con Jadoun, el término de sustentabilidad se puede entender como el aprovechamiento de los recursos naturales sin comprometer su disponibilidad para las generaciones futuras, por ello, la síntesis de NP con métodos sustentables como la “química verde” son una alternativa para disminuir o evitar los riesgos asociados con los métodos convencionales.

Como parte del rol de las plantas en la síntesis de NP, se abordan conceptos importantes para comprender mejor los tipos de síntesis, incluyendo la síntesis verde. Este método relacionado con la fitosíntesis involucra el manejo y control de estructuras (tallo, semillas, raíz, etc.) y extractos de plantas (productos) teniendo en cuenta el control estricto de la estabilidad y concentración del extracto, el agente reductor para la síntesis de NP, la temperatura y el pH, así como la concentración de sales metálicas y el tiempo de reacción (también conocido como “incubación”) (Jadoun *et al.*, 2021). Los métodos de síntesis de NP, tanto fisicoquímicos como biológicos, se clasifican en dos principales grupos denominados *bottom-up* y *top-down*, mismos que se describen brevemente en la siguiente sección.

El objetivo de esta investigación es destacar la importancia de las plantas silvestres o cultivables de México como fuente de metabolitos y extractos, empleadas como origen y medio de síntesis de NP.

Síntesis

Se denomina síntesis de NP a la capacidad de construir estructuras pequeñas con rendimientos, propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas y catalíticas únicas. Mediante la operación de las condiciones de síntesis es posible controlar del tamaño, forma, cristalinidad y funcionalización de la superficie de la NP, e incluso la estabilidad de la misma, evitando cambios en la composición de la materia y permitiendo ampliar su aplicación en catálisis, electrónica, fotónica, magnetismo y sensores químicos y biológicos. Actualmente, los métodos de síntesis de NP se dividen para su comprensión en *top down* (de arriba hacia abajo) que radica en la división de los sólidos en proporciones más pequeñas (de 1 a 100 nm) y en *bottom up* (de abajo hacia arriba) que consiste en la fabricación de nanopartículas a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en solución. Sin embargo, en la mayoría de los casos se utilizan métodos químicos para la síntesis de NP en donde se emplean reactivos que resultan tóxicos para el ambiente, por lo cual, existe una búsqueda constante para la sustitución de estos por métodos biológicos a partir de plantas y microrganismos que resultan más amigables para el ambiente, rentables y no tóxicos (Zanella, 2012; Abdul Razak *et al.*, 2022).

El enfoque *bottom up* (de abajo hacia arriba) se basa en la reducción de iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos y la estabilización con la finalidad de evitar la precipitación permitiendo el

control preciso del tamaño de las partículas, además de ser rentables, sostenibles, fiables, y energéticamente eficientes, gracias a la diversidad fitoquímica que permite la creación de NM con una variedad de características. Este enfoque engloba técnicas como: a) *coloidales*: partículas coloidales que exhiben un movimiento browniano (movimiento aparentemente aleatorio de partículas en un medio fluido), consistente en disolver una sal del precursor metálico, reductor y un estabilizante, o ambos; b) *reducción fotoquímica y radioquímica*: son técnicas caracterizadas por la modificación del sistema químico por medio de altas energías, asociado con la generación de reductores activos como electrones, radicales y especies excitadas teniendo como ventaja sobre el método de reducción química la ausencia de impurezas formadas por los reductores químicos y por ende la formación de nanopartículas de alta pureza, en el caso de la fotólisis se hace uso de energía por debajo de 60 eV y la radiólisis utiliza energías de 103-104 eV; c) *método sol-gel*: es un proceso en fase húmeda, la solución química actúa como precursor de una red integrada ya sea de partículas discretas o de una red de polímeros, este precursor sufre reacciones de hidrólisis y policondensación para formar una dispersión coloidal, que posteriormente forma un gel; d) *irradiación con microndas*: es una técnica que emplea campos eléctricos de alta frecuencia, incidiendo energía al material a través de interacciones de tipo molecular con la capacidad de reducir el tamaño de la misma (Zanella, 2012; González y González, 2008).

Química verde

A partir del siglo XXI, gracias a la conciencia ambiental por parte de la población buscando conservar la energía y la reducción de emisiones, surge un campo industrial denominado química verde, el cual promueve productos y procesos químicos que disminuyen o eliminan el uso y la generación de sustancias peligrosas, y satisfacen la demanda tanto del mercado como del ambiente mediante sus 12 principios (tabla 1) (Pájaro Castro y Olivero Verbel, 2011; Torres-Valencia *et al.*, 2021).

Síntesis verde

La síntesis verde es una subdisciplina de la química verde, la cual tiene como objetivo eliminar las prácticas y los procesos que presentan un alto impacto ambiental, debido a la producción de desechos, subproductos o contaminantes, y para evitar el uso indiscriminado de materias primas renovables y no renovables (Torres-Valencia *et al.*, 2021). Como método, la síntesis verde permite involucrar materiales de origen vegetal (frutos, raíces, hojas, semillas, o tallos), moléculas (alcaloides, flavonoides, ácidos orgánicos, proteínas, terpenoides, y vitaminas), animales, microrganismos (bacterias, hongos y levaduras), enzimas (colesterol oxidasa, colesterol esterasa, glicerol quinasa, lipasa, etcétera), polímeros (polímeros no iónicos, aniónicos, catiónicos y anfóteros), y DNA (Yang *et al.*, 2022; Zanella, 2012).

TABLA 1. Los doce principios de la química verde.

1. Prevenir la creación de residuos porque evitar o reducir la producción de desechos es más útil, fácil y económico que tratarlos o limpiarlos.
2. Maximizar la economía atómica mediante el uso de métodos que maximicen la incorporación de cada material utilizado en el proceso.
3. Diseñar productos y compuestos menos peligrosos para el medioambiente y la salud de los organismos.
4. Utilizar disolventes y condiciones seguras de reacción. Es decir, las sustancias utilizadas como disolventes, tampones químicos, aditivos de separación, entre otros, deben ser inocuos y reducir su uso al mínimo.
5. Minimizar los requerimientos energéticos para los procesos químicos, intentando llevar a cabo los métodos químicos a temperatura y presión ambiente.
6. Evitar derivados químicos para reducir o anular pasos extra y evitar o disminuir la producción de desechos.
7. Emplear los catalizadores más selectivos y reutilizables posible.
8. Diseñar productos que al culminar su función puedan degradarse/mineralizarse con facilidad.
9. Elaborar procesos que generen mínima/nula toxicidad e impacto ambiental.
10. Emplear sistemas de control y monitorización continua para prevenir la producción de sustancias peligrosas durante los procesos.
11. Diseñar procesos químicos que disminuyan o lleven a cero las emisiones, explosiones, incendios, entre otros.
12. Emplear materias primas renovables y amigables con el medioambiente.

Fuente: Elaboración de los autores.

Síntesis verde en sistemas biológicos

El uso de extractos vegetales en la síntesis de NP de plata ha cobrado interés día a día, debido a su cinética lenta que ofrece una mejor manipulación del control sobre las agregaciones de las NP. Además, la síntesis de NP con extractos vegetales es ecológica, económica, no patógena y estable debido a la combinación de biomoléculas (como proteínas, aminoácidos, enzimas, polisacáridos, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, terpenoides, y vitaminas que se encuentran en esos extractos vegetales). Adicionalmente, la mayoría de estos extractos poseen propiedades medicinales y benignas tanto para el ambiente como para el ser humano e incluyen componentes enzimáticos como reductasas, que ayudan en la reducción biológica de las sales como el nitrato de plata y otros agentes, como el grupo funcional hidroxilo (-OH) en moléculas vegetales. La síntesis verde de NP consiste en la recolección de las partes de interés de la planta, las cuales pueden ser semillas, frutos, hojas, rizomas, raíces, corteza, pulpas, tallos o vaina. Estas serán lavadas a temperatura ambiente con la finalidad de no eliminar biomoléculas volátiles; posteriormente, se recurre a una pulverización para la extracción rápida mediante un disolvente; a continuación, se prepara una sal del metal en cuestión a una concentración de 1 a 5 mM en combinación con el extracto de planta a una concentración de 1:5 (Ahmed *et al.*, 2016). Aunado a esto, la síntesis verde de NP depende de pará-

metros como volumen de extracto vegetal, concentración de la plata, temperatura, tiempo de reacción, pH de la reacción, y los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal (Akintelu, Bo y Folorunso, 2020).

La síntesis biológica mediante el uso de extractos vegetales se basa en la reducción mediante biomoléculas como proteínas, aminoácidos, enzimas, polisacáridos, alcaloides, taninos, fenólicos, saponinas, terpenoides, y vitaminas con capacidad antioxidante, en donde mediante la reducción inicial a través de reacciones de óxido-reducción se obtienen los iones metálicos que inducen a la formación de centros de nucleación que conduce a la formación de NP y en algunas ocasiones las partículas se asocian a restos orgánicos de los extractos de planta que proporcionan estabilidad a las NP, impidiendo que se junten más iones metálicos (ecuación 1, figura 1) (Esquivel-Figueredo *et al.*, 2021; Kuppusamy *et al.*, 2016).

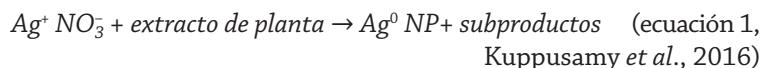
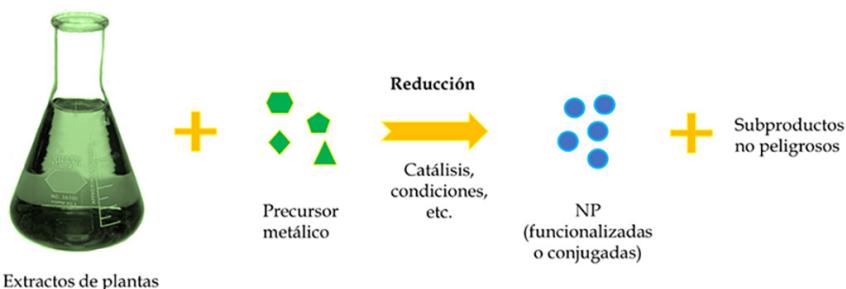


FIGURA 1. Reacción típica ilustrativa de la reducción vía extractos de plantas.



Fuente: Elaboración de los autores.

Con base en la literatura, varios géneros de microrganismos pueden sintetizar NP a través de vías intracelulares y extracelulares. La síntesis de NP vía intracelular consiste en transportar los iones al interior de las células microbianas, generalmente al citoplasma donde las enzimas intracelulares permiten la formación de NP para posteriormente ser transportadas hacia la superficie celular o al espacio periplasmático (Santos *et al.*, 2017). Por su parte, la síntesis extracelular de NP por microrganismos se da mediante la excreción de enzimas extracelulares y metabolitos secundarios que participan en la reducción y formación de NP o mediante la interacción de la carga negativa de la pared celular y los iones metálicos, permitiendo que enzimas como hidrogenasas periplasmáticas presentes en la pared celular interactúen con los iones metálicos y den lugar a NP metálicas acumuladas en el espacio extracelular o periplasmático (Santos *et al.*, 2017).

Reducción, agregación y aglomeración

En NP obtenidas por reductores con potencial redox siempre tendrán carga eléctrica residual en la superficie, ya que en el caso de los iones $-OH$ estos pueden cambiar la carga superficial de las NP, permitiendo su crecimiento o provocando una repulsión entre las mismas (Tripathy *et al.*, 2010). Los extractos vegetales pueden contener grupos aldehídos, carboxilos, aminas y compuestos fenólicos, los cuales están involucrados en la reducción de iones metálicos y en la estabilización de los mismos. En el caso de la reducción, un átomo o ión gana uno o varios electrones provocando que el ión metálico alcance su estado basal; una vez que ocurre esta reducción comienza el proceso de *agregación* de NP, el cual se conoce como la asociación de partículas primarias por enlace fuerte.

Por otro lado, está la *aglomeración* que se define como la asociación por enlace débil causada por las fuerzas de Van der Waals, la cual es provocada por algunos movimientos (como el movimiento browniano) donde las partículas chocan constantemente y se da la aglomeración, esto sucede cuando la energía del movimiento o la atracción excede la energía de repulsión (Tourinho *et al.*, 2012).

Conjugación

La nanoconjugación es una estrategia química para formar un enlace covalente estable entre dos moléculas, donde al menos una es orgánica. La química del medio influirá en la carga superficial electrostática de las partículas y a su vez afectará las tasas de *aglomeración, agregación y la estabilidad de las partículas*. Cuando las NP no tienen un recubrimiento superficial, estas tienden a poseer superficies cargadas por grupos hidroxilo ($-OH$), que pueden captar o liberar protones, lo cual estará determinado por la composición química de la solución, específicamente del pH, las concentraciones del precursor metálico y el extracto de la planta (Tourinho *et al.*, 2012). Cabe recalcar que la modificación de la superficie de las NP se puede lograr mediante la *conjugación covalente* y la *no covalente*. La *covalente* emplea ligandos en la superficie de la NP mediante moléculas enlazadoras que se emplean para unir ligandos útiles para lograr el direccionamiento o reducir la toxicidad de las NP. La modificación de la superficie *no covalente* se basa en interacciones débiles como *interacciones electrostáticas, iónicas, fuerzas de Van der Walls e hidrofóbicas, absorción y puentes de hidrógeno*, y tienen como ventajas ser simples y no afectar la estructura de las moléculas utilizadas y su interacción con las dianas biológicas. Sin embargo, pueden ser afectadas por el pH o la fuerza iónica que generalmente se emplea para darle carga a las NP y liberarse en la célula diana (Sanità, Carrese y Lamberti, 2020).

La primera fase de la modificación de la superficie de las NP se basa en añadir un grupo funcional que en ocasiones pueden ser grupos amino ($R-NH_2$) o ácidos ($R-COOH$) que sirven para unir moléculas de interés, por ejemplo, en el caso de las NP de oro se pueden adherir grupos sulfhídricos ($-SH$) o aminas primarias ($-NH_2$) los cuales son capaces de reaccionar con el metal y producir un enlace covalente.

Funcionalización

Los agentes de recubrimiento, como moléculas orgánicas o inorgánicas, e incluso partículas más pequeñas, se adsorben sobre el material para modificar sus propiedades fisicoquímicas superficiales, a este proceso se le denomina comúnmente *funcionalización*. Sin una funcionalización adecuada, los NM a menudo tienden a aglomerarse una vez suspendidos en un líquido (Mercado *et al.*, 2022).

Cuando las NP se forman en solución estas deben estabilizarse contra las fuerzas de Van der Waals de diversas maneras. El surfactante y los polímeros pueden crear barreras estéricas o electro-estéricas, puramente electrostáticas alrededor de la superficie de la partícula o mediante un recubrimiento del núcleo con una capa protectora hidrofílica estática, evitando que las macromoléculas interactúen con la NP y de esta manera impedir la coagulación. Cuando las NP comprenden un núcleo polimérico y/o una envoltura polimérica con la finalidad de mejorar o modificar una propiedad, tienen la capacidad de servir como biomarcadores contra tumores o células cancerosas, además de mejorar la estabilidad, solubilidad y citocompatibilidad de las moléculas (Tourinho *et al.*, 2012; Urrejola *et al.*, 2018).

La modificación de NP mediante proteínas pequeñas, péptidos, anticuerpos y oligosacáridos se lleva a cabo con la finalidad de dirigir fármacos o agentes de contraste. La funcionalización es necesaria en algunas ocasiones para reducir la toxicidad y aumentar su estabilidad en fluidos biológicos.

Mecanismos de asimilación de NP en plantas

Los mecanismos tradicionalmente reportados en plantas para la toma de nutrientes y muy probablemente también de NP han sido por la parte aérea (hojas, principalmente vía estomas, por ejemplo) y las raíces, vía difusión simple, difusión facilitada, o transporte activo, mecanismos disponibles para el transporte de NP (López-Valdez *et al.*, 2018).

Actualmente, no se conocen adecuadamente las rutas para el transporte de NP metálicas a través de las plantas, sin embargo, algunos autores proponen que los canales tienen un papel en la entrada de las NP, ingresando mediante transporte activo con gasto energético, es decir, a partir de las raíces de las plantas y moviéndose vía xilema hasta el pericílio a través de la corteza (Khan *et al.*, 2021). Estos NM pueden entrar por aberturas naturales de las plantas, con mecanismos evolucionados para evadir las barreras de la superficie de la planta, como la cutícula, la cual se caracteriza por ser la cubierta protectora y oleosa más importante en la superficie de la planta, que bloquea y evita la entrada de todo tipo de NP. Sin embargo, las NP por ser de dimensiones nanométricas (< 15 nm) tienen la capacidad de penetrar fácilmente en la cutícula aprovechando los espacios en ellas. Mientras que las NP más grandes (≥ 15 nm, < 100 nm) se deslizan a través de espacios donde no hay cutícula, como los hidatodos (que tienen funciones secretoras o de captación), los tricomas (en los es-

pacios para el intercambio de gases entre las células de las hojas), el pelo y los ápices de las raíces, y estomas. La pared celular y la membrana celular, actúan como tamiz estructural permitiendo la entrada de NP compatibles con el tamaño de poro de la célula. Las matrices de fibras de polisacáridos generan una red porosa en la célula a través de la cual las moléculas de agua y los solutos logran pasar de un lado a otro, provocando que las NP puedan romper fácilmente la pared y la membrana celular de la epidermis de la raíz para entrar; una vez que las NP metálicas ingresan, se convierten en iones reactivos alterando la actividad bioquímica de las proteínas ya que estas reaccionan con los grupos reactivos asociados con las proteínas (Khan *et al.*, 2021).

Casos del aprovechamiento de las plantas mexicanas

En esta sección se darán a conocer algunas de las plantas empleadas para la síntesis verde de diversas NP (tabla 2). Algunos ejemplos de estas plantas incluyen a *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh (chaya maya), *Argemone mexicana* L. (chicalote o cardosanto), *Dysphania ambrosioides* L. (epazote, apazote o paico), *Opuntia* sp. (nopal común) y *Carthamus tinctorius* L. (cártamo).

TABLA 2. Síntesis de NP a partir de extractos vegetales de diversas plantas que crecen en México.

Planta	Nombre común	Tipo	Nanomaterial usado	Referencia
<i>Cnidoscolus chayamansa</i> Mc Vaugh	Chaya maya	Extracto de hojas.	NPAg	Dzul-Erosa <i>et al.</i> (2018)
<i>Argemone mexicana</i> L.	Amapola espinosa, chicalote o cardosanto	Extracto de la planta.	NPAg y NPAu	Téllez-de-Jesús <i>et al.</i> (2021)
<i>Dysphania ambrosioides</i> L.	Epazote	Extracto de hojas secas.	NPZnO	Álvarez-Chimal <i>et al.</i> (2021)
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	Cártamo	Extracto acuoso de desecho de cártamo.	NPAg	Rodríguez-Félix <i>et al.</i> (2021)
<i>Opuntia</i> sp.	Nopal	Extracto acuoso del cladiodo.	NPAg	Ledezma <i>et al.</i> (2014)

Fuente: Elaboración de los autores.

Cnidoscolus chayamansa Mc Vaugh (chaya maya), extracto acuoso de las hojas para la biosíntesis de NP de plata

Dzul-Erosa *et al.* (2018) reportaron el uso del extracto acuoso de una planta conocida comúnmente como “chaya maya” para la síntesis de NP de plata. Planta abundante en la Península de Yucatán, cuyas propiedades nutricionales y medicinales se han empleado a lo largo de la historia de la región, principalmente por la civilización maya para el tratamiento de algunos padecimientos (Dzul-Erosa *et al.*, 2018). De acuerdo con Dzul-Erosa, esta planta es rica en

proteínas, vitaminas y aminoácidos esenciales como lisina, fenilalanina y metionina, entre otros. Mencionan que posee importantes cantidades de vitaminas, como A y C, lo cual permite que su poder antioxidante se incremente, lo cual la hace una adecuada candidata para realizar procesos de óxido-reducción necesarios para la biosíntesis de NP de Ag. Estos autores recolectaron las hojas más verdes de los arbustos de esta planta, en la región de Acanceh, Yucatán, descartando el material vegetal visiblemente maltratado. Las hojas fueron separadas en lotes de 100 g (base húmeda) y fueron lavadas; posteriormente, las deshidrataron y molieron. El extracto acuoso fue evaluado en diez tratamientos en relación con la masa/volumen a las concentraciones de: 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6.5, 7.5 y 10% (m/v%) a 90 °C durante 5 minutos, para su ulterior filtración y almacenamiento y así realizar la biosíntesis. Dzul-Erosa *et al.* (2018) prepararon las nanopartículas de plata (NPAg) con una solución de nitrato de plata (AgNO_3) a una concentración de 0.0282 M como precursor metálico en 10 mL de cada uno de los extractos, agitados manualmente, y en reposo a temperatura ambiente sin exposición a la luz. Evaluaron la formación de NP en función del tiempo mediante UV-Vis, a 0.5, 1, 2, 3, 4, 20, 24 y 92 h. Observaron el cambio en la coloración de la solución debido a las vibraciones de excitación del plasmón superficial de las NP. Mencionan que es posible sintetizar NPAg a partir del extracto acuoso de chaya y que la concentración del extracto influye en la forma y tamaño de las NP. Concluyen que los metabolitos implicados en la capacidad antioxidante y reductora fueron los flavonoídes presentes en el extracto crudo de la chaya (Dzul-Erosa *et al.*, 2018).

Extractos de *Argemone mexicana* L. para la biosíntesis de nanopartículas de oro (NPAu) y plata (NPAg) contra bacterias resistentes a antibióticos y *Candida albicans*

La amapola espinosa (*Argemone mexicana* L.), comúnmente conocida como chicalote o cardosanto, es una planta mexicana empleada por la medicina tradicional mexicana en el tratamiento de enfermedades relacionadas con infecciones gastrointestinales y de la piel. Esta especie se extiende en las regiones tropicales de México, florece todo el año, y su peculiar característica es que sus tallos y hojas se rodean de espinas protegiéndolas de especies depredadoras, además de que prevalece en ambientes pobres en nutrientes (Téllez-de-Jesús *et al.*, 2021). También, reportaron que *Argemone mexicana* L. contiene compuestos que han demostrado propiedades antinflamatorias y antimicrobianas como la protopina, baberina y sanguinarina. Además, esta planta contiene una alta presencia de metabolitos secundarios entre los que se encuentran compuestos fenólicos, particularmente flavonoídes y taninos con actividad antibacteriana contra cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, que ya presentan resistencia a los antibióticos. También reportan que es eficaz contra el protozoario *Trichomonas vaginalis*, responsable de la tricomoniasis en humanos. La combinación de las propiedades medicinales que ofrecen algunas plantas y los NM, principalmente las NP, se

ha vuelto una buena alternativa y tendencia en investigación en el combate a la resistencia antimicrobiana. Téllez-de-Jesús *et al.* (2021) reportan la utilización de un extracto vegetal de *A. mexicana* L. (colectada en Querétaro, México), donde el material vegetal fue deshidratado, pulverizado y aislado de la exposición a la luz. Los extractos fueron preparados con 10 g de material vegetal pulverizado en 150 mL de 2-propanol (alcohol isopropílico) vía extractor Soxhlet. La fracción líquida que obtuvieron fue evaporada a 40 °C, lo obtenido fue almacenado a 4 °C en oscuridad. Para la biosíntesis de NPAg reportan una mezcla de 3 mL de AgNO₃ a una concentración 1 mM con 3 mL de extracto que se ajustó a 100 ppm con agua destilada, esta mezcla fue agitada a dos temperaturas: a 25 °C como punto de ajuste inferior y a 80 °C como ajuste superior durante 30 minutos. El producto de la reacción fue evaluado mediante espectroscopía UV-Vis. Para las NPAu, reportan la misma técnica, con la diferencia de un ajuste en el precursor metálico (cloruro de oro (III) a una concentración 1 mM) (Téllez-de-Jesús *et al.*, 2021). El principal indicador de la síntesis de NP fue el cambio de color, observaron un cambio de coloración de verde a café revelando la presencia de NPAg y de rosa a morado para las NPAu, después de 30 minutos de reacción, a través de un cambio en la longitud de onda, de 420 nm para NPAg y 520 nm para NPAu. Concluyeron que el extracto de *A. mexicana* L. permite la síntesis de NP de oro y plata, que las moléculas orgánicas de los extractos aumentan el efecto de inhibición en el crecimiento de bacterias, tanto en las cepas silvestres como en las resistentes, también mostraron una alta actividad contra *Candida albicans*, por lo que Téllez-de-Jesús *et al.* (2021) indican que el producto derivado de esta planta puede ser una importante alternativa para producir antibióticos más eficientes.

***Dysphania ambrosioides* L. para la biosíntesis de NP de zinc con propiedades antibacterianas**

Dysphania ambrosioides L. es conocida comúnmente como epazote, es una planta muy importante para la cocina mexicana, aunque también ha sido considerada como una planta arvense. Para la medicina tradicional, el uso de la infusión de epazote ayuda al tratamiento de enfermedades gastrointestinales, para reducir los procesos inflamatorios y como desparasitante. Álvarez-Chimal *et al.* (2021) reportaron que los metabolitos presentes en *Dysphania ambrosioides* como los terpenos, polifenoles, alcaloides, ácidos fenólicos y proteínas tienen un papel muy importante en la biosíntesis de NP productoras de iones metálicos. Ellos consiguen la biosíntesis de NP de óxido de zinc (NPZnO), buscando combinar las propiedades del ZnO para el transporte y estabilización de fármacos, debido a propiedades efectivas en el tratamiento de irritaciones y heridas superficiales en la piel por sus agentes astringentes y antibacterianos; además, con el extracto de *D. ambrosioides* se acelera de reparación de heridas en la piel por su regeneración celular. Estos autores reportan que el material vegetal fue preparado colocando 20 g de hojas secas de epazote en 200 mL de agua desionizada durante 2.5 h a temperatura ambien-

te sin agitación; posteriormente, la mezcla fue agitada a las 2 h a 40 °C y 50 rpm. Para la biosíntesis fueron colocados 100 mL del extracto obtenido en 3.5 g de Zn(NO₃)₂•6H₂O y se agitó a 60 °C por 2 h a 1,500 rpm. Observaron un cambio de color en la solución, que después fue centrifugada a 8,000 rpm por 10 minutos. La pastilla fue enjuagada con agua desionizada y se dejó secar en una estufa a 50 °C por 6 h dejando un polvo de tonalidad blanco pálido. Los autores reportaron que los compuestos involucrados en la biosíntesis fueron los flavonoides y terpenos. Las NPZnO que se sintetizaron fueron de un tamaño de 5 a 30 nm. Evaluaron las propiedades antibacterianas, mediante el método de Kirby-Bauer (prueba de difusión por discos), las cuales indicaron que la mayoría de las cepas bacterianas utilizadas en el estudio fueron susceptibles a estas NP, siendo la cepa *Prevotella intermedia* la que mayor inhibición mostró en el ensayo y se asume que fue la más susceptibles a NPZnO (Álvarez-Chimal *et al.*, 2021).

Extracto de desecho de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) para la biosíntesis de NP de plata

El cártamo es una planta de gran importancia industrial debido a la extracción de aceite a nivel comercial, igualmente, los pétalos son empleados como pigmentos naturales en el área alimenticia. Sin embargo, más del 80% del cultivo es considerado un desecho agroalimentario después de la obtención de la semilla. El cártamo es una especie importante en México, entre los compuestos que se han aislado del cártamo son los flavonoides, quinocalconas, poliacetilenos, alcaloides, ácidos grasos, esteroides, lignanos, proteínas, y polisacáridos, siendo los dos primeros los que han mostrado una actividad antioxidante importante. Rodríguez-Félix *et al.* (2021) dieron a conocer el uso del extracto acuoso a partir de los deshechos de cártamo, compuesto de una mezcla de tallos y hojas obtenidas después del proceso de recolección de semillas a los 150 días después de la siembra, en el Ejido de San Miguel Horcasitas, Sonora, México. Limpieron los desechos de restos de semillas, flores y de partes dañadas, realizaron una reducción de tamaño; posteriormente, fueron tamizadas (425 µm) de manera uniforme y los almacenaron en bolsas herméticas a -5 °C. El extracto fue preparado con 3 g de material vegetal y 20 mL de agua destilada durante 1 minuto a 25 °C, sometido a tratamiento sónico y centrifugado a 4,400 rpm a 4 °C por 14 minutos; el sobrenadante fue recuperado y filtrado para su almacenamiento a 4 °C. La biosíntesis de NP la realizaron con 30 mL de solución de AgNO₃ en una concentración 0.1 M con 10 mL de extracto acuoso de desecho de cártamo, la reacción la realizaron en condiciones de oscuridad y observaron el cambio de coloración después de 12 h de reacción. La solución fue centrifugada a 4,400 rpm por 15 min a 25 °C, el precipitado fue recuperado y secado a temperatura ambiente. Los autores reportan que obtuvieron NP de forma esférica. Estas NP mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* como patógeno y de *Pseudomonas fluorescens* (Rodríguez-Félix *et al.*, 2021).

Extracto acuoso de nopal (*Opuntia* sp.) para la biosíntesis de NP de plata

El nopal es una especie dominante de la flora mexicana natural y es el organismo con mayor número de especies en el género *Opuntia*. Estas especies contribuyen en los diversos procesos que ocurren en el suelo como regeneración y estabilidad, además de que sirve de refugio a pequeñas especies de aves y algunos insectos, forma parte de la alimentación de algunos animales y humanos por sus propiedades nutrimentales (Ledezma *et al.*, 2014). Ledezma *et al.* (2014), reportaron el uso del extracto acuoso del nopal para la biosíntesis de NP de plata, el extracto fue preparado a partir de cladodios frescos y recién cortados, fueron cortados en fragmentos uniformes que después fueron mezclados con agua destilada y puestos a calentar a 95 °C durante un periodo de tiempo de 20 a 30 minutos; posteriormente, el extracto fue enfriado, filtrado y liofilizado. El precursor metálico que reportan fue AgNO₃, evaluaron la temperatura y la concentración de este precursor para monitorear la formación de NP de plata, para estabilización usaron poli(vinil alcohol). Concluyen que es posible obtener NP de Ag en tamaños de 4 a 28 nm, donde el tamaño promedio fue 10 nm, mismas que mostraron actividad antibacteriana y fungicida frente a cepas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*.

Perspectivas

La utilización de NP resulta de gran impacto en disciplinas como la medicina, agricultura, alimentos, electrónica, entre muchas otras, debido a las diversas aplicaciones; sin embargo, el uso de productos químicos y sus impactos ambientales han causado una búsqueda constante de nuevas técnicas de síntesis. Así, la síntesis verde permite la sustitución de productos químicos por materiales vegetales para llevar a cabo la síntesis de NP mediante extractos vegetales. Dentro de las ventajas de las NP sintetizadas por química verde, se encuentra que la cantidad de NP que requiere aplicarse suele ser menor (en el orden de mg, con efectos importantes), debido a su tamaño, comparado con la cantidad requerida cuando se aplican las sales a granel de esos mismos elementos. Un ejemplo de ello, es que se puede estimular el crecimiento de las plantas como el girasol con pequeñas cantidades (mg) de diferentes NP aplicadas directamente a la planta, en comparación con plantas a las cuales no se les adicionó ningún tipo de fertilizante o sal mineral bajo condiciones de temporal (investigación en proceso).

La síntesis verde de NP, así como su conjugación y funcionalización, partiendo de plantas o parte de ellas, o sus derivados (extractos), aún enfrenta desafíos para el desarrollo y estandarización de la síntesis. La elucidación de las estructuras químicas de NP y la evaluación en modelos biológicos con interés farmacológico, agrícola, cosmético, entre otros, también requieren atención. Asimismo, la estabilización de los nano-conjugados y los estudios de la trazabilidad de las NP, tanto en la síntesis, la traslocación, transportación y eliminación de las mismas sigue siendo un reto.

México cuenta con una gran diversidad de plantas silvestres e incluso cultivables, con potenciales actividades biológicas que se pueden estudiar para su mejor aprovechamiento y apreciación en la farmacopea mexicana, así como fomentar su cultivo, protección y cuidado. Aprovechar mejor estos recursos naturales a través de la síntesis verde de NP permite que estos NM sean ecológicamente amigables con el medioambiente y la salud de los seres en general, con la finalidad de encontrar nuevas aplicaciones farmacológicas o agrícolas, entre otras. De esta forma se aprovechan recursos biológicos como plantas silvestres o arvenses, sin tener que comprometer recursos agrícolas de interés alimenticio, como, por ejemplo, la *Argemone mexicana*, especie considerada una arvense, pero con propiedades farmacológicas y potencial actividad fungicida y herbicida, siendo que su colecta no compromete la producción de alimentos ni la pone en riesgo o en situación de especie amenazada.

Evaluar la capacidad de los extractos de algunas plantas consideradas como arvenses para estudiar y llevar a cabo reacciones de óxido-reducción que favorezcan la biosíntesis de NP, con la intención de combinar las propiedades medicinales de las plantas con los beneficios que ofrecen las NP, es un tópico de interés actual en diferentes ramas de la biotecnología. Nuestro grupo de trabajo explora el estudio de algunas arvenses como *Baccharis* sp. y *Bacopa* sp., como precursoras de la síntesis verde de NP. Hasta ahora, se ha encontrado que sus extractos son capaces de reducir sales de plata, con la intención de obtener NP. Esto abre la posibilidad de que en mediano plazo se puedan probar y estudiar las propiedades biológicas de estas NP, en las áreas del control biológico, de la salud, o en la agrícola, como estimuladoras del crecimiento vegetal.

Conclusiones

Diversas especies silvestres y cultivadas de plantas mexicanas se emplean en procesos de síntesis verde de NP, a través de los doce principios de la química verde. México cuenta con una amplia diversidad de plantas silvestres y cultivables, con potencial actividad biológica que se puede aprovechar de forma eficiente para realizar la síntesis verde de NP, con aplicaciones farmacológicas, agrícolas o ambientales. La síntesis, la conjugación, la funcionalización y la estabilización de los nano-conjugados de las NP sintetizadas con extractos de plantas, aún enfrentan desafíos para la elucidación de sus estructuras y su evaluación en modelos biológicos. Si se demuestra que las NP sintetizadas a través de los principios de la química verde son más baratas, amigables con los ecosistemas y seguras que sus contrapartes sintetizadas por procesos físicos o químicos, la síntesis verde se colocará en el centro de atención, con un sinnúmero de aplicaciones potenciales.

Referencias

- Abdul Razak, Nurina Adriana, Nur Hidayati Othman, Muhammad Shafiq Mat Shayuti, Aidah Jumahat, Napisah Sapiay y Woei Jye Lau. (2022). Agricultural and industrial waste-derived mesoporous silica nanoparticles: a review on chemical synthesis route. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(2): 107322. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107322>.
- Ahmed, Shakeel, Mudasir Ahmad, Babu Lal Swami y Saiqa Ikram. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1): 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>.
- Akintelu, Sunday Adewale, Yao Bo y Aderonke Similoluwa Folorunso. (2020). A review on synthesis, optimization, mechanism, characterization, and antibacterial application of silver nanoparticles synthesized from plants. *Journal of Chemistry*, (diciembre): e3189043. <https://doi.org/10.1155/2020/3189043>.
- Álvarez-Chimal, Rafael, Víctor Irahuen García-Pérez, Marco Antonio Álvarez-Pérez y Jesús Ángel Arenas-Alatorre. (2021). Green synthesis of ZnO nanoparticles using a *Dysphania ambrosioides* extract. Structural characterization and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering: C*, 118(enero): 111540. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111540>.
- Bhargava, Arpit, Navin Jain, Mohd Azeem Khan, Vikram Pareek, R. Venkataramana Dilip, y Jitendra Panwar. (2016). Utilizing metal tolerance potential of soil fungus for efficient synthesis of gold nanoparticles with superior catalytic activity for degradation of rhodamine B. *Journal of Environmental Management*, 183(diciembre): 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.021>.
- Dzul-Erosa, Mercy Sugey, Mayra Maricruz Cauich-Díaz, Teresa Alejandra Razo-Lazcano, Mario Avila-Rodríguez, José Antonio Reyes-Aguilera y M.Pilar González-Muñoz. (2018). Aqueous leaf extracts of *Cnidoscolus chayamansa* (Mayan chaya) cultivated in Yucatán México. Part II: Uses for the phytomediated synthesis of silver nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 91/octubre): 838-52. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.06.007>.
- Esquivel-Figueredo, Rosalia de la Caridad, Siannah, María Mas-Diego. (2021). Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*. *Revista Cubana de Química*, 33(2): 23-45.
- González, Edgar, y Francisco González. (2008). Síntesis por radiación con microondas de nanotubos de carbono. *Universitas Scientiarum*, 13(3): 258-66.
- Jadoun, Sapana, Rizwan Arif, Nirmala Kumari Jangid y Rajesh Kumar Meena. 2021. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1): 355-74. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01074-x>.
- Khan, Maryam, Muhammad Saeed Ahmed Khan, Kabari Krishna Borah, Yashodhara Goswami, Khalid Rehman Hakeem y Ishani Chakrabarty. (2021). The potential exposure and hazards of metal-based nanoparticles on plants and environment, with special emphasis on ZnO NPs, TiO2 NPs, and AgNPs: a review.

Environmental Advances, 6(diciembre): 100128. <https://doi.org/10.1016/j.enadv.2021.100128>.

Kumar Rai, Prabhat y J. S. Singh. (2020). Invasive alien plant species: their impact on environment, ecosystem services and human health. *Ecological Indicators*, 111(abril): 106020. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.106020>.

Kuppusamy, Palaniselvam, Mashitah M. Yusoff, Gaanty Pragas Maniam y Natanamurugaraj Govindan. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4): 473-84. <https://doi.org/10.1016/j.jsp.2014.11.013>.

Ledezma, A., Romero, J., Hernández, M., Moggio, I., Arias, E., Padrón, G., Orozco, V., Martínez, A. y Torres, S. (2014). Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia* sp.) y su electrohilado polimérico. *Superficies y Vacío*, 27(4): 133. <https://superficiesyvacio.smctsm.org.mx/index.php/SyV/article/view/30>.

López-Valdez, Fernando, Mariana Miranda-Arámbula, Ada María Ríos-Cortés, Fabián Fernández-Luqueño y Verónica de-la-Luz. (2018). Nanofertilizers and their controlled delivery of nutrients. En Fernando López-Valdez y Fabián Fernández-Luqueño (eds.), *Agricultural nanobiotechnology: modern agriculture for a sustainable future*. Cham: Springer International Publishing, 35-48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96719-6_3.

Mercado, D. Fabio, Luz M. Ballesteros-Rueda, Cindy C. Lizarazo-Gómez, Brucxen E. Núñez-Rodríguez, Edward Arenas-Calderón y Víctor G. Baldovino-Medrano. (2022). Synthesis and use of functionalized SiO₂ nanoparticles for formulating heavy oil macroemulsions. *Chemical Engineering Science*, 252(abril): 117531. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2022.117531>.

Oliveira, Jhones Luiz de, Estefânia Vangelie Ramos Campos, Mansi Bakshi, P. C. Abhilash y Leonardo Fernandes Fraceto. (2014). Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. *Biotechnology Advances*, 32(8): 1550-61. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.010>.

Pájaro Castro, Nerlis Paola y Jesús Tadeo Olivero Verbel. (2011). Química verde: un nuevo reto. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 21(2): 169-82.

Rodríguez-Félix, Francisco, Astrid Guadalupe López-Cota, María Jesús Moreno-Vásquez, Abril Zoraida Graciano-Verdugo, Idania Emedith Quintero-Reyes, Carmen Lizette Del-Toro-Sánchez y José Agustín Tapia-Hernández. (2021). Sustainable-green synthesis of silver nanoparticles using safflower (*Carthamus tinctorius* L.) waste extract and its antibacterial activity. *Heliyon*, 7(4): e06923. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06923>.

Sanità, Gennaro, Barbara Carrese y Annalisa Lamberti. (2020). Nanoparticle surface functionalization: how to improve biocompatibility and cellular internalization. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmbo.2020.587012>.

Santos, Andrés, Claudia Troncoso, Claudio Lamilla, Vicente Llanquino, Mónica Pavez

- y Leticia Barrientos. (2017). Nanopartículas sintetizadas por bacterias antárticas y sus posibles mecanismos de síntesis. *International Journal of Morphology*, 35(1): 26-33. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100005>.
- Téllez-de-Jesús, Diana Guadalupe, N. S. Flores-Lopez, J. A. Cervantes-Chávez y A. R. Hernández-Martínez. (2021). Antibacterial and antifungal activities of encapsulated Au and Ag nanoparticles synthesized using *Argemone mexicana* L extract, against antibiotic-resistant bacteria and *Candida albicans*. *Surfaces and Interfaces*, 27(diciembre): 101456. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2021.101456>.
- Torres-Valencia, Nina, Mariana Miranda-Arámbula, Ada María Ríos-Cortés, Valentín López-Gayou y Fernando López-Valdez. (2021). Las malezas como un campo de oportunidades en el estudio de la síntesis verde. *Frontera Biotecnológica*, 9(18): 4-8. <https://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/volumen/vol18/index.html>.
- Tourinho, Paula S., Cornelis A. M. van Gestel, Stephen Loft, Claus Svendsen, Ama-deu M. V. M. Soares y Susana Loureiro. (2012). Metal-based nanoparticles in soil: fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8): 1679-92. <https://doi.org/10.1002/etc.1880>.
- Tripathy, A., Ashok M. Raichur, N. Chandrasekaran, T. C. Prathna y Amitava Mukherjee. (2010). Process variables in biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(1): 237-46. <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9602-5>.
- Urrejola, Madelein C., Liliam V. Soto, Consuelo C. Zumarán, Juan Pablo Peñaloza, Beatriz Álvarez, Ignacio Fuentevilla, Ziyad S. Haidar *et al.* (2018). Sistemas de nanopartículas poliméricas II: estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, biofuncionalización y tecnologías de auto-ensamblaje capa por capa (*layer-by-layer self-assembly*). *International Journal of Morphology*, 36(4): 1463-71. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022018000401463>.
- Yang, Yue, Geoffrey I. N. Waterhouse, Yilun Chen, Dongxiao Sun-Waterhouse y Da-peng Li. (2022). Microbial-enabled green biosynthesis of nanomaterials: current status and future prospects. *Biotechnology Advances*, 55(marzo): 107914. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107914>.
- Zanella, Rodolfo. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 5(1): 69-81. UNAM, México.