

**EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS  
DE ORO MEDIANTE PROCESOS FITOEXTRACTIVOS**

**ANABEL CUESTA MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA**

**2014**

**EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS  
DE ORO MEDIANTE PROCESOS FITOEXTRACTIVOS**

**ANABEL CUESTA MUÑOZ**

**Licenciada en Biología y Química**

**Trabajo de Grado para optar al título de Especialista en Química Ambiental**

**Director**

**Sandra Natalia Correa Torres**

**Química**

**Msc Química**

**PhD Química Aplicada**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE QUÍMICA**

**ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA AMBIENTAL**

**BUCARAMANGA**

**2014**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi esposo por su amor y apoyo incondicional

A mis padres por el apoyo que me brindaron cuando más lo necesitaba

A mis pequeños por su amor, alegría e inocencia

A la Doctora Sandra Natalia Correa por su excelente asesoría

A mis compañeros de clase y a la siempre atenta Elizabeth

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>14</b>
<b>1. BIBLIOMETRÍA</b> .....	<b>17</b>
<b>2. FITORREMEDIACIÓN Y FITOEXTRACCIÓN</b> .....	<b>19</b>
2.1 PLANTAS HIPERACUMULADORAS .....	21
2.2 HIPERACUMULACIÓN INDUCIDA.....	23
2.3 PLANTAS HIPERACUMULADORAS EN AMÉRICA LATINA .....	25
2.4 FITOEXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO .....	28
<b>3. NANOPARTÍCULAS DE ORO</b> .....	<b>31</b>
<b>4. APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO</b> .....	<b>35</b>
4.1 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO EN LA MEDICINA Y LA BIOLOGÍA .....	36
4.2 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO Y EL MEDIO AMBIENTE.....	39
4.3 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO EN LA TECNOLOGÍA .....	41
<b>5. BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	<b>43</b>
<b>6. VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS Y NUTRICIONALES EN LA PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO</b> .....	<b>56</b>
6.1 VARIABLES PH Y TEMPERATURA.....	56
6.2 CONCENTRACIÓN .....	60
6.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS .....	62
6.4 CONCENTRACIÓN DE LA BIOMASA.....	62
<b>7. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO</b> .....	<b>69</b>
7.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.....	70
7.2 DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS).....	72
7.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) .....	73
7.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM) .....	74
7.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) ..	76
<b>8. EXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS OBTENIDAS POR FITOEXTRACCIÓN</b> .....	<b>78</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>80</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>82</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>92</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Mecanismos de la Fitorremediación.....	19
Tabla 2. Químicos usados para solubilizar el suelo .....	25
Tabla 3. Metalofitas descritas en la literatura para América Latina .....	27
Tabla 4. Entidades biológicas para la producción de nanopartículas .....	44
Tabla 5. Síntesis extracelular de nanopartículas de oro por extractos de plantas .	47
Tabla 6. Nanopartículas de oro producidas por diferentes plantas y extractos.....	64

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de los últimos diez años sobre las nanopartículas de oro y los extractos de plantas _____	17
Figura 2. Evolución de los últimos diez años sobre las nanopartículas de oro y fitoextracción _____	18
Figura 3. Representación de la Fitoextracción _____	21
Figura 4. Ejemplo de profundidad de raíces _____	29
Figura 5. Diversas nanoestructuras conteniendo oro _____	33
Figura 6. Tipos de Nanopartículas metálicas y sus aplicaciones en Biotecnología _____	35
Figura 7. Reducción del 4-Nitrofenol a 4-aminofenol _____	40
Figura 8. Síntesis biológica de nanopartículas de oro a) por extracto de planta b) Biomasa vegetal _____	49
Figura 9. Mecanismo de síntesis de nanopartículas _____	50
Figura 10. Químicos responsables por la biorreducción de los iones metálicos. _	51
Figura 11. Mecanismo de crecimiento propuesto para la formación de nanopartículas con diferentes formas _____	53
Figura 12. Fitosíntesis de nanopartículas de oro a través del extracto de <i>P. dactylifera</i> _____	55
Figura 13. Distribución del tamaño de nanopartículas de oro producidas por la biomasa de avena _____	58
Figura 14. Efecto de la temperatura en la acumulación de Au(III) por la biomasa de Alfalfa _____	59
Figura 15. Curso de tiempo en la formación de nanopartículas de oro _____	61
Figura 16. Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de oro _____	71
Figura 17. Evolución del crecimiento de la solución de nanopartículas de oro a 100 $\mu\text{L}$ y 400 $\mu\text{L}$ por espectro UV-vis _____	72
Figura 18. Mediciones en DLS para determinar el tamaño de la distribución en partículas coloidales de oro en <i>Citrus sinensi</i> _____	73
Figura 19. Imagen SEM de un corte transversal de la raíz de <i>B. juncea</i> _____	74
Figura 20. Imágenes TEM de nanopartículas de oro formadas _____	75
Figura 21. Espectro FTIR de <i>R. damascena</i> _____	77
Figura 22. Espectro FTIR de <i>P. dactylifera</i> y <i>P. dactylifera</i> - estabilizada _____	77
Figura 23. Remoción de biomasa de <i>Brassica juncea</i> _____	79

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ag: plata

Au: oro

AuNPs: nanopartículas de oro

B. coddii: *Berkheya coddii*

*B. juncea*: *Brassica juncea*

DLS: Dispersión de luz dinámica

DRX: Polvo de difracción de rayos X

EDX: Espectroscopía de energía dispersa

EPA: Environmental Protection Agency

*E. coli*: *Escherichia coli*

EXAFS: Estructura de absorción de borde fino de rayos X extendida

FTIR: Espectroscopia de infrarrojos transformada de Fourier

HRTEM: Microscopía Electrónica de Transmisión de *Alta Resolución*

*M. sativa: Medicago sativa*

pH: potencial de hidrogeniones

ppm: partes por millón

SEM: Microscopía electrónica de barrido

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

UV-vis: Espectrofotometría UV-visible

XANES: Absorción de rayos X cerca de estructura de borde

XAS: Estudios de Absorción de Rayos X

## LISTA DE ANEXOS

Pág.

ANEXO A. Plantas usadas en la síntesis biológica de nanopartículas de oro y plata Por (Gan y Yau Li, 2014).....	92
--	----

## RESUMEN

### TITULO: EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO MEDIANTE PROCESOS FITOEXTRACTIVOS \*

**AUTOR:** Anabel Cuesta Muñoz \*\*

**Palabras Claves:** fitoextracción, nanopartículas de oro, caracterización, biosíntesis

En este trabajo de monografía se realizó una revisión bibliográfica sobre las nanopartículas de oro, sus características, aplicaciones y formas de sintetizarlas utilizando plantas y extractos de plantas. Además de los posibles mecanismos de formación de nanopartículas de oro dentro de las plantas y los posibles grupos bioreductores que transforman el Au(III) en oro metálico. Se muestran también las técnicas más usadas para la caracterización de la morfología e identificación de las nanopartículas de oro. Tales como UV-vis, TEM, SEM, DLS, FT-IR.

La mayoría de los estudios indican que las nanopartículas de oro pueden ser sintetizadas exitosamente a temperatura ambiente. Variaciones realizadas en pH indican, que a pH 3 y 4 los grupos funcionales pueden estar disponibles para vincular el oro, por lo tanto un mayor número de complejos Au(III) pueden unirse a la biomasa al mismo tiempo, lo que permite la formación subsecuente de nanopartículas con pequeños diámetros.

La digestión enzimática con la enzima 1- $\beta$ -endoglucanosa se utilizó para digerir la biomasa de la planta, con el fin de concentrar las partículas de oro dentro de las células. Sin embargo, no se encontró mejoría en la digestión después de las primeras 24 horas.

---

\* Monografía

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Especialización en Química Ambiental.  
Directora Sandra Natalia Correa Torres PhD Química Aplicada

## ABSTRACT

**TITLE: EVALUATION OF EXTRACTION METHODS OF GOLD NANOPARTICLES USING PHYTOEXTRACTION PROCESSES \***

**AUTHOR: Anabel Cuesta Muñoz \*\***

**Key words:** Phytoextraction, gold nanoparticles, characterization, biosynthesis

In this Monograph was performed a literature review about gold nanoparticles, their characteristics, applications and ways to synthesize them using plants and extracts of plants. In addition to the possible mechanisms of formation of gold nanoparticles within plants and possible bioreduction groups that transform the Au (III) in metallic gold. The techniques used to characterize the morphology and identification of the gold nanoparticles are also shown. Such as UV-vis, TEM, SEM, DLS, FT-IR.

Most studies indicate that gold nanoparticles can be successfully synthesized at room temperature. Changes made in pH indicate that at pH 3 and 4 the functional groups may be available for linking gold, therefore more complex Au (III) may be attached to the biomass at the same time allowing the subsequent formation of nanoparticles with small diameters.

Enzymatic digestion with the enzyme 1- $\beta$ -endoglucanase was used to digest plant biomass, in order to concentrate the gold particles within the cells. However, no improvement was found in digestion after the first 24 hours.

---

\* Monograph

\*\* Faculty of Sciences. School of Chemistry. Specialization in Environmental Chemistry.  
Director Sandra Natalia Correa Torres PhD Applied Chemistry

## INTRODUCCIÓN

La nanotecnología abarca todos los procesos que implican medición, manipulación y fabricación a escala de entre 1 y 100 nanómetros (Ortega-Ortiz et al., 2009). Según Husen y Siddiqi, 2014 para el año 2015 se espera que más del 15% de todos los productos en el mercado mundial tengan algún tipo de nanotecnología incorporada en su proceso de fabricación. Para Estados Unidos este mercado alcanzaría \$ 1 billón de dólares. Por lo tanto la investigación y desarrollo en este campo está creciendo rápidamente en todo el mundo. Un resultado importante de esta actividad es el desarrollo de nuevos materiales en la escala nanométrica, incluyendo nanopartículas (Dubey et al., 2010)

Las nanopartículas, especialmente las de oro exhiben propiedades electrónicas, magnéticas, ópticas, mecánicas, físicas y químicas que no son ni las de los metales a granel ni la de los compuestos moleculares, pero dependen en gran medida de la forma de la partícula y el tamaño (Granmayeh et al., 2011). Las aplicaciones de estas nanopartículas son tan diversas que es posible encontrarlas en aspectos como la medicina, la tecnología, el medio ambiente, cosméticos, catálisis, prendas de vestir, electrónica, etc.

Tales aplicaciones requieren métodos de preparación a gran escala, que puedan obtener las nanopartículas deseadas en cuanto a forma y tamaño y que no representen gastos exagerados para su producción. Convencionalmente la preparación de nanopartículas de oro implica la reducción química de las sales de oro en sistemas de disolventes acuosos, orgánicos o mixtos. Sin embargo, la superficie de oro es extremadamente reactiva, y en estas condiciones se produce

la agregación. Para eludir este problema, las nanopartículas de oro se reducen regularmente en presencia de un estabilizador, que se une a la superficie e impide la agregación a través de la reticulación y de propiedades favorables de carga (Dreaden et al., 2012)

Durante la última década y ante la creciente demanda de técnicas de síntesis benignas para el medio ambiente se dio lugar a la utilización de entidades biológicas para la síntesis de nanopartículas. Organismos uni y multicelulares se han manipulado para sintetizar materiales inorgánicos, tanto intra y extracelularmente.

El uso de plantas y sus extractos para la síntesis de nanopartículas es una técnica relativamente nueva y poco investigada (Bali y Harris, 2010). Que a diferencia de los métodos convencionales es ambientalmente amigable, además de ser menos costosa su producción. La fitoextracción que además de servir para limpiar suelos contaminados con metales pesados mediante plantas hiperacumuladoras, ha sido últimamente utilizada para acumular nanopartículas de oro tanto de suelos enriquecidos como de soluciones con sales de oro.

La tasa de formación de partículas intracelular y por lo tanto el tamaño de las nanopartículas podrían, hasta cierto punto, ser manipulados mediante el control de parámetros tales como pH, temperatura, concentración de sustrato y el tiempo de exposición al sustrato. También se han hecho esfuerzos para manipular la forma y el tamaño de las nanopartículas de oro producido. Así como la síntesis de nanopartículas de diferente composición química, tamaños y monodispersidad controlada (Mohanpuria et al., 2008)

Dependiendo de la aplicabilidad que se le quiera dar a las nanopartículas se debe escoger la técnica más adecuada para caracterizarlas. Si el propósito de obtener nanopartículas implica el estudio académico de los mecanismos de formación (Reducción, crecimiento y estabilización) y de los compuestos bioquímicos implicados en la biorreducción de los iones de oro. Técnicas más complejas como el FT-IR y XAS entre otras son más convenientes. En cambio si el propósito es comercial, sería necesario identificar positivamente el plasmon de superficie y la forma, cantidad, distribución y tamaño de las partículas formadas. En este sentido, técnicas como el UV-vis, TEM, SEM y DLS serían las más apropiadas.

Los objetivos que se proponen en este trabajo de monografía son:

- Describir las características, aplicaciones y métodos de la extracción de nanopartículas de oro biosintetizadas por plantas.
- Analizar los efectos de las variables fisicoquímicas y nutricionales sobre la morfología, distribución, tamaño y rendimiento en la producción de nanopartículas de oro en procesos fitoextractivos
- Identificar las técnicas para la caracterización de nanopartículas de oro biosinterizadas por plantas y extractos de plantas.

## 1. BIBLIOMETRÍA

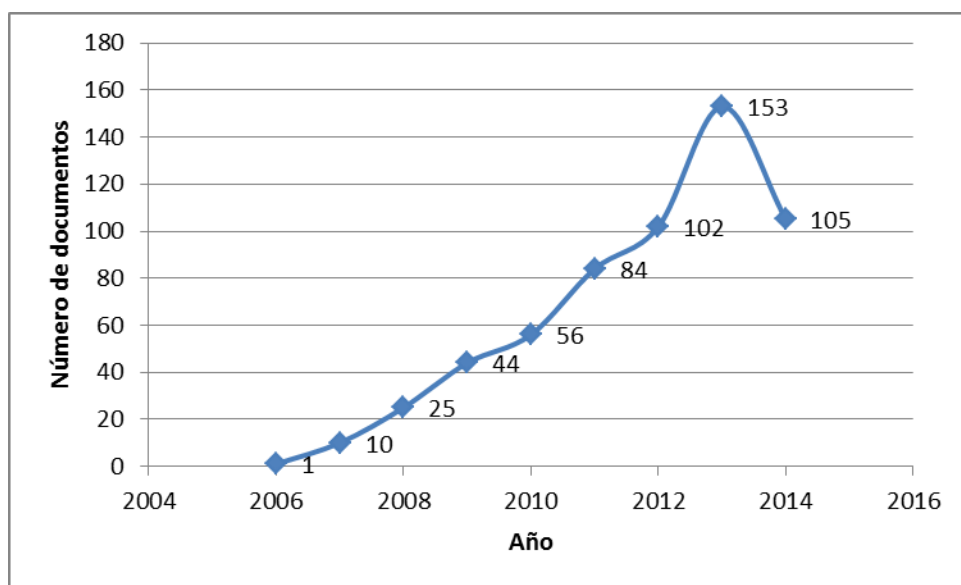
Para la siguiente monografía titulada “Evaluación de los Métodos de Extracción de Nanopartículas de Oro mediante Procesos Fitoextractivos” se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos proporcionadas por la Universidad Industrial de Santander como lo son Scopus, Elsevier, Science Direct, entre otras.

Las palabras claves utilizadas fueron: Gold nanoparticles, phytoextraction, plant extract. Además las referencias de búsqueda para los artículos científicos fueron desde el 2002 hasta el 2014.

Se encontró que los artículos realizados sobre nanopartículas de oro relacionados con procesos fitoextractivos, son estudiados en menor cantidad con respecto a la producción de nanopartículas de oro en extractos de plantas.

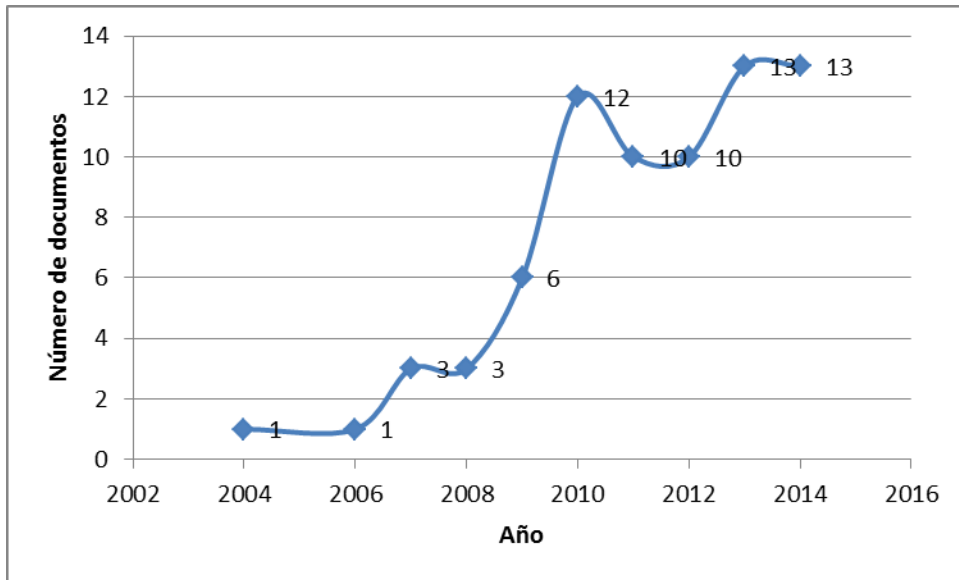
En la siguiente figura es posible observar que los artículos de nanopartículas de oro a partir de extractos de plantas superan los 100 desde el 2012

**Figura 1. Evolución de los últimos diez años sobre las nanopartículas de oro y los extractos de plantas**



Fuente: SCOPUS. <http://www.scopus.com/> (Consultado: Agosto, 22 de 2014).

**Figura 2. Evolución de los últimos diez años sobre las nanopartículas de oro y fitoextracción**



Fuente: SCOPUS. <http://www.scopus.com/> (Consultado: Agosto, 22 de 2014).

## 2. FITORREMEDIACIÓN y FITOEXTRACCIÓN

La fitorremediación, el uso de plantas para limpiar suelos y aguas contaminadas, se ha convertido en una alternativa promisorio para recuperar metales de manera ambientalmente amigable (Gardea-Torresdey, J.L., Gomez, E., Peralta-Peralta, J.R., 2003b). La fitorremediación de suelos contaminados se basa en el uso conjunto de metalofitas, y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo (Chaney, *et al.* 1997 citado por Ortega-Ortiz, H., 2009). Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes (Cunningham *et al.*, 1995 citado por Ortega-Ortiz, H., 2009).

**Tabla 1. Mecanismos de la Fitorremediación**

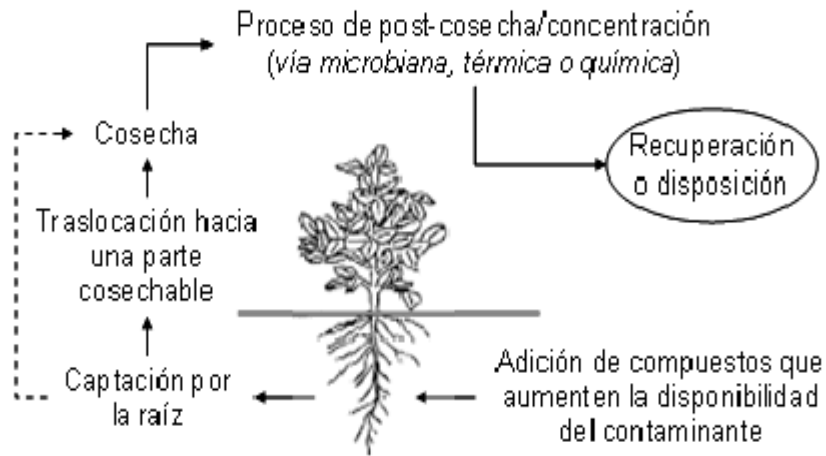
Proceso	Mecanismo	Contaminantes
Fitoestabilización	Complejación	Orgánicos e inorgánicos
Fitoextracción	Hiperacumulación	Inorgánicos
Fitovolatilización	Volatilización a través de las hojas	Orgánicos e inorgánicos
Fitoinmovilización	Acumulación en la rizosfera	Orgánicos e inorgánicos
Fitodegradación	Uso de plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes	Orgánicos
Rizofiltración	Uso de raíces para absorber y adsorber contaminantes del agua	Orgánicos e inorgánicos

Fuente (Ghosh y Singh, 2005 Citado por Delgadillo-López et al., 2011)

Básicamente, hay dos tipos de fitorremediación aplicables a los suelos contaminados por metales pesados: la fitoestabilización que se basa en el uso de plantas tolerantes a los metales para inmovilizarlos y la fitoextracción, que es la captación de iones metálicos por las raíces de la planta y su acumulación en tallos y hojas. (Delgadillo-Lopez et al., 2011 y Ortega-Ortiz et al., 2009)

El primer paso para la aplicación de esta técnica es la selección de las especies de plantas más adecuadas para los metales presentes y las características del emplazamiento. Una vez completado el desarrollo vegetativo de la planta el siguiente paso es cortarlas y proceder a su incineración y traslado de las cenizas a un vertedero de seguridad. La fitoacumulación o fitoextracción se puede repetir ilimitadamente hasta que la concentración remanente de metales en el suelo esté dentro de los límites considerados como aceptables (Kumar et al., 1995 citado por delgadillo-Lopez et al., 2011). Algunas plantas empleadas para esta técnica fitocorrectiva son: *Thlaspi caerulescens* (Cd); *Sedum alfredii*, *Viola baoshanensis* y *Vertiveria zizanioides* (Zn, Cd, Pb); *Alyssum murale*, *Trifolium nigriscens*, *Psychotria douarrei*, *Geissois pruinosa*, *Homalium guillainii*, *Hybanthus floribundus*, *Sebertia acuminata*, *Stackhousia tryonii*, *Pimelea leptospermoides*, *Aeollanthus biformifolius* y *Haumaniastrum robertii* (Ni); *Brassica juncea*, *Helianthus annuus*, *Sesbania drummondii* (Pb); *Brassica napus* (Cu, Pb, Zn); y *Pistia stratiotes* (Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) (Begonia et al., 1998; Reeves, 2003; Schwartz et al., 2003; Wenzel et al., 2003; Odjegba y Fasidi, 2004; Sharma et al., 2004; Boonyapookana et al., 2005; Chandra et al., 2005; Zhuang et al., 2005; Bani et al., 2007; Wu et al., 2007; Zhuang et al., 2007 citados por Delgadillo-Lopez et al., 2011).

**Figura 3. Representación de la Fitoextracción**



Fuente (INE, 2007 Citado por ortega et al., 2009)

## 2.1 PLANTAS HIPERACUMULADORAS

La aplicación de esta tecnología para eliminar los metales pesados del suelo ha demostrado ser una tecnología costo-efectiva para la recuperación del suelo si se utilizan plantas hiperacumuladoras (Chaney et al., 2007 citado por Wilson-Corral et al., 2012)

El término hiperacumulación fue acuñado por un científico de Nueva Zelanda en la década de 1970 y se define como la acumulación de una concentración de metal mayor que 1000 mg / Kg de biomasa (peso seco) en las partes aéreas de la planta (Anderson et al., 2005a; Wilson-Corral et al., 2012; PHYTO-3., 2009)

Las plantas hiperacumuladoras adecuadas para llevar a cabo acciones de fitoextracción deben cumplir algunas características como la tolerancia al metal que se desea eliminar y que presenten un rápido crecimiento, así como una gran producción de biomasa en la parte aérea. Una de las líneas de investigación

actuales es la transferencia y mejora de los genes de estas plantas hiperacumuladoras (Brooks, 1998 citado por Ortega-Ortiz et al., 2009) (Delgadillo-López et al., 2011)

Reeves, (2006) citado por Wilson-Corral (2011, 2012) afirma que actualmente son conocidas 440 especies de plantas hiperacumuladoras, de las cuales el 75% son hiperacumuladoras de níquel. Las especies de plantas restantes hiperacumulan metales como arsénico, cadmio, manganeso, sodio, talio y zinc.

Además de remediar suelos con presencia de metales pesados, la fitoextracción se vislumbró en el año 2001 durante la conferencia IPPM (Intelligent Processing and Manufacturing of Materials) en Vancouver, como un sistema ambiental inteligente. “El uso potencial de esta técnica para la minería de metales preciosos basada en plantas y en particular, el oro, ha sido el tema de varios años de investigación en fitominería” (Anderson et al., 2005b)

Wilson Corral et al., 2012 en su artículo Gold Phytomining cita algunas referencias sobre las plantas hiperacumuladoras y el oro.

A pesar de los estudios reportados en la acumulación de metales por las plantas, no hay especies de plantas hiperacumuladoras que hayan sido identificados para el oro.

La hiperacumulación de oro no es un rasgo natural de las especies de plantas (Anderson et al., 1999b). Esto es porque el oro, en condiciones naturales, es muy insoluble, y por lo tanto tiene una baja biodisponibilidad. Esto dificulta posteriormente el potencial para la fitoextracción del elemento (Gardea-Torresdey et al., 2005). Aunque el oro es conocido por ser relativamente inmóvil y que puede ser solubilizado de los minerales y de los

suelos por la actividad microbiana (Korobushkina et al., 1983) y por las plantas cianogénicas (Girling y Peterson, 1980).

La hiperacumulación de oro ha sido definida como la acumulación mayor de 1mg/Kg, este límite se basa en la concentración de oro normal en plantas que es de sólo 0,01 mg/Kg (Anderson et al, 2005; Wilson-Corral et al., 2012; De la Rosa et al., 2009; Sheoran et al., 2013; Lamb et al, 2001; Rodriguez et al., 2007)

La técnica utilizada para promover el aumento de la captación de metales normalmente no acumulados por las plantas se conoce como hiperacumulación inducida, donde se promueve la biodisponibilidad (solubilidad) de los metales en el suelo utilizando productos químicos. En 1996, los científicos reportaron los primeros ensayos de campo de hiperacumulación inducida por plomo utilizando *Zea mays* L. (maíz) y otras especies (Huang y Cunningham, 1996). Más tarde, el descubrimiento inicial (octubre de 1997) de que las plantas podrían ser inducidas a acumular oro del "suelo" se publicó en (Anderson et al., 1998 citado por Wilson Corral et al., 2012).

## 2.2 HIPERACUMULACIÓN INDUCIDA

El primer informe de hiperacumulación inducida de oro en las plantas fue hecho para un estudio de invernadero (Anderson et al., 1998 citado por Wilson-Corral et al 2012; De la Rosa et al., 2009). En este trabajo, *Brassica juncea* (L.) Czern. (Mostaza de la India) se indujo a acumular oro en los tejidos de la hoja a una concentración de 57 mg / kg de materia seca de arena de sílice que contenía oro finamente diseminado a una concentración de 5 mg / kg de substrato. Con posterioridad a los resultados 1998, las pruebas de laboratorio utilizaron las plantas de cultivo *Raphanus sativus* L. (rábano), *Allium cepa* L. (cebolla), *Beta*

*vulgaris* L. (remolacha) y *Daucus carota* L. (zanahoria). Éstas fueron cultivadas en una arena de sílice que contenía 3,8 mg / kg de oro a un pH de 6,4, mostrando concentraciones de oro en los tejidos de la planta de *R. sativus* de más de 200 mg/kg (Msuya et al., 2000 citado por Wilson-Corral et al., 2012; De la Rosa 2009).

Una de las obras más representativas que investigan la hiperacumulación inducida de oro se desarrolló durante el año 2001, cuando se elaboró un suelo aurífero artificial para contener una concentración de oro de 5 mg / kg. Los productos químicos utilizados como para inducir la captación de oro en este trabajo fueron de NaCN (cianuro de sodio), KCN (cianuro de potasio), KI (yoduro de potasio), de KBr (bromuro de potasio), y  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$  (tiosulfato de amonio). Las especies de plantas (L.) Czern. (Mostaza de la India) *Brassica juncea*, *Berkheya coddii*, y *Cichorium intybus* (achicoria) se cultivaron en el mineral artificial y se trataron con cada uno de los productos químicos indicados (Lamb et al., 2001; Wilson-Corral et al., 2012).

A partir de estas observaciones iniciales se han intensificado los esfuerzos con el objetivo de aumentar el nivel de acumulación de oro en las plantas. Convirtiéndose ésta en una práctica productiva que está en capacidad de recuperar el oro de los lixiviados y vertimientos en los sitios de exploración aurífera a nivel artesanal e industrial (fitominería).

En este sentido, ciertos productos químicos además de los nombrados anteriormente son utilizados como agentes de solubilización para promover la solubilidad de los metales pesados durante hiperacumulación inducida

**Tabla 2. Químicos usados para solubilizar el suelo**

Chemical name	Formula	Reference
Ammonium thiocyanate	NH <sub>4</sub> SCN	Anderson et al., 1998; Gardea-Torresdey et al., 2005; Msuya et al., 2000; Rodriguez-Lopez et al., 2009; Rodriguez et al., 2006
Ammonium thiosulphate	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Anderson et al., 1998; Lamb et al., 2001; Msuya et al., 2000; Rodriguez-Lopez et al., 2009
Thiourea	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> S	de la Rosa et al., 2009; Gardea-Torresdey et al., 1999; Rodriguez-Lopez et al., 2009; Rodriguez et al., 2006
Sodium thiocyanate	NaSCN	Lamb et al., 2001
Potassium iodide	KI	Lamb et al., 2001
Potassium cyanide	KCN	Lamb et al., 2001
Potassium bromide	KBr	Lamb et al., 2001
Sodium cyanide	NaCN	Anderson et al., 1998; Anderson et al., 2005; Piccinin et al., 2007; Rodriguez-Lopez et al., 2009; Wilson-Corral et al., 2011

Fuente (Wilson-Corral et al., 2012)

Hiskey, 1984 citado por De la Rosa et al., 2009 asevera que la tiourea es otro compuesto que ha sido usado para la solubilización del oro como alternativa al cianuro. Algunas de las ventajas de usar tiourea en lugar de cianuro es que la tiourea es menos toxica (DL<sub>50</sub> 125 mg kg<sup>-1</sup>) contra un DL<sub>50</sub> de 6,4 mg kg<sup>-1</sup> del cianuro. Además, la tiourea actúa como un promotor de crecimiento en algunas especies de plantas (Khanbelwal et al 2002 citado por De la Rosa et al., 2009). Dentro de su investigación, De la Rosa comprobó mediante pruebas de laboratorio que la tiourea mejoraba la absorción de oro por parte de la planta mucho mejor que el cianuro.

### 2.3 PLANTAS HIPERACUMULADORAS EN AMÉRICA LATINA

América latina es un área en la que se deben encontrar plantas hiperacumuladoras (metalofitas) de metal y tolerantes, no sólo por la riqueza de

los yacimientos y zonas contaminadas de metales asociados, sino también debido a su alta diversidad ecológica.

América latina posee una gran abundancia y diversidad de yacimientos minerales metálicos. Sin embargo, se han descrito pocas especies tolerantes e hiperacumuladoras de metales en comparación con otras regiones del mundo. Esto podría deberse a la escasez de estudios científicos sobre la vegetación nativa que se ha desarrollado sobre mineralizaciones superficiales o en suelos enriquecidos antrópicamente (Ginnochio y Baker, 2004)

Tabla 3. Metalofitas descritas en la literatura para América Latina

Country	Metal	Plant type	Species	References
Brazil	Ni	H	<i>Adiantum</i> sp.	Brooks et al. (1990, 1992b)
		H	<i>Chromolaena</i> sp.	
		H	<i>Cnidolobus</i> sp.	
		H	<i>Esterhazyia</i> sp.	
		H	<i>Heliotropium</i> sp.	
		H	<i>Justicia lunstyiakii</i> sp.	
		H	<i>Laphostachys villosa</i> sp.	
		H	<i>Mitracarpus</i> sp.	
		H	<i>Ruellia geminiflora</i> sp.	
Chile	Cu	MT	<i>Mimulus luteus</i> var. <i>variegatus</i>	Ginocchio et al. (2002)
		MT	<i>Cenchrus echinatus</i>	
		MT	<i>Erygeron berterianum</i>	Bech et al. (2001a)*
		MT	<i>Mullinum spinosum</i>	
		MT?	<i>Nolana divaricata</i>	
MT	<i>Dactylium</i> sp.	Ruelle (1995)		
Cuba	Ni	H	<i>Ariadna</i> (2 spp)	Reeves et al. (1996, 1999)
		H	<i>Bonania</i> (3 spp)	
		H	<i>Buxus</i> (17 spp)	
		H	<i>Chionantus domingensis</i>	
		H	<i>Euphorbia</i> (3 spp)	
		H	<i>Garcinia</i> (4 spp)	
		H	<i>Gochnatia recurva</i>	
		H	<i>Gochnatia crassifolia</i>	
		H	<i>Gymnanthes recurva</i>	
		H	<i>Koanophylon grandiceps</i>	
		H	<i>Koanophylon prinoides</i>	
		H	<i>Leucocroton</i> (28 spp)	
		H	<i>Mossiera</i> (4 spp)	
		H	<i>Ouretea</i> (2 spp)	
		H	<i>Pentacalia</i> (10 spp)	
		H	<i>Phidiasia lindavii</i>	
		H	<i>Phyllomeila coronata</i>	
		H	<i>Psidium</i> (2 spp)	
		H	<i>Psychotria</i> (5 spp)	
		H	<i>Rondeletia</i> (2 spp)	
		H	<i>Sapium erythrosperum</i>	
		H	<i>Savia</i> (3 spp)	
		H	<i>Senecio</i> (6 spp)	
		H	<i>Shafera platyphilla</i>	
		H	<i>Tetralix</i> (5 spp)	
		H	<i>Phyllanthus williamsioides</i>	
		Ecuador	Zn	
MT	<i>Rumex crispus</i>			
MT	<i>Pennisetum clandestinum</i>			
Pb	MT?		<i>Chenopodium ambrosioides</i>	
	MT?		<i>Pennisetum clandestinum</i>	
	MT?		<i>Holcus lanatus</i>	
As	MT?	<i>Pennisetum clandestinum</i>		
	MT?	<i>Pennisetum clandestinum</i>		
Peru	As	H	<i>Bidens ciliarifolia</i>	Bech et al. (1997)
		H	<i>Paspalum racemosum</i>	
		H	<i>Paspalum taberosum</i>	
Dominican Republic	Ni	MT?	<i>Bidens ciliarifolia</i>	Bech et al. (2001a)*
		MT?	<i>Bidens ciliarifolia</i>	
Venezuela	Se	H?	<i>Senecio plumbeus</i>	Peguero & Clase (2002)
		MT?	10 serpentinic endemic species	
Venezuela	Ni	H	<i>Lecythis ollaria</i>	Aronow & Kerdel-Vegas (1965)
		H	<i>Waltheria americana</i>	
		H	<i>Oyedeia</i> sp.	
		H	<i>Croton</i> sp.	
		MT?	<i>Lepidaploa remotiflora</i>	

(MT) tolerante al metal, (H) hiperacumuladora

Fuente: Ginocchio y Baker, 2004

## 2.4 FITOEXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Además de la hiperacumulación de metales pesados y preciosos, surge la posibilidad de promover como un área de estudio la formación de nanopartículas metálicas en células de plantas. Considerando bajo qué condiciones de crecimiento de las plantas se logra una óptima absorción, acumulación, estabilidad y tamaño de los nanocristales en los sitios de acumulación, la tasa de recuperación, así como los procesos involucrados con el aislamiento y purificación de las nanopartículas metálicas (Ortega-Ortiz et al., 2009)

Gardea Torresdey y su equipo de trabajo en la Universidad de El Paso Texas (2002 y 2003a) demostró por primera vez en una investigación de laboratorio e invernadero “que las plantas de Alfalfa tienen alta capacidad para absorber metales pesados y para formar nanopartículas de oro”. En dichas investigaciones se demuestra el almacenamiento de 264 mg de oro por Kg de biomasa seca y la formación de nanopartículas de oro.

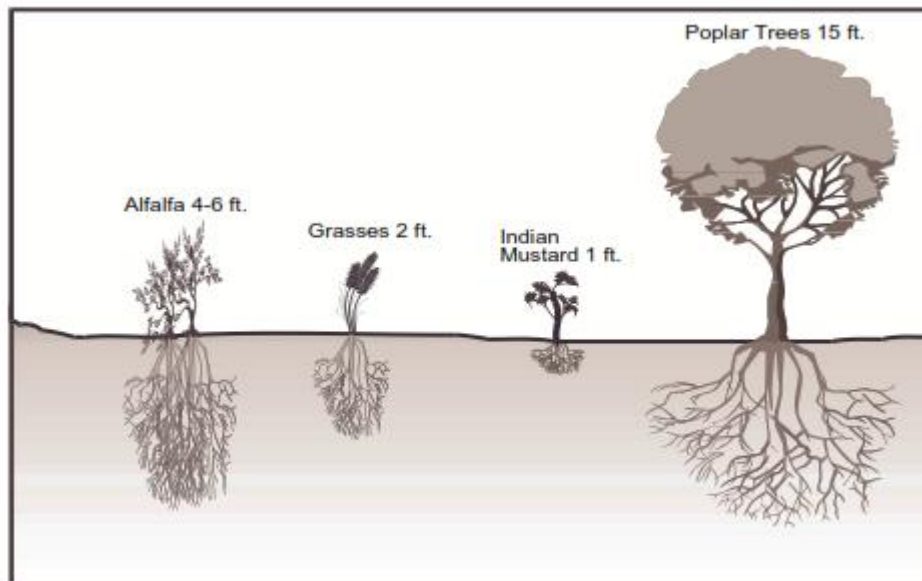
Sin embargo, el uso de plantas y sus extractos para la síntesis de nanopartículas es una técnica relativamente nueva y poco investigada. La mayoría de las investigaciones sobre el uso de las plantas para sintetizar nanopartículas ha investigado la síntesis ex vivo, es decir, poner en contacto un caldo de hojas de la planta con sales de metales (Bali & Harris, 2010).

Solo Gardea-Torresdey et al.; Sharma et al.; Marshall et al.; Haverkamp y Marshall, Harris y Bali han investigado la síntesis de nanopartículas metálicas dentro de plantas vivas.

Una de las dificultades tanto para los procesos de fitorremediación como para los procesos de fitoextracción de metales preciosos, radica en la capacidad de la planta para absorber estos elementos. Al respecto, la Environmental Protection Agency indica que el contacto de la raíz es una limitación primaria en la

aplicabilidad de la fitorremediación. La remediación con plantas requiere que los contaminantes estén en contacto con la zona de las raíces de las plantas. Éstas deben ser capaces de extender las raíces a los contaminantes, o los medios contaminados deben ser movidos dentro del rango de las plantas. Este movimiento se puede lograr con equipo y las prácticas agrícolas estándar (2000)

**Figura 4. Ejemplo de profundidad de raíces**



Fuente (EPA, 2000)

Las plantas hiperacumuladoras de metal son generalmente de crecimiento lento con una pequeña biomasa y sistemas de raíces poco profundas. (EPA, 2000).

Contrario a esto, la literatura encontrada Bali et al, 2010b; Beattie y HaverKamp, 2011; Gardea-Torresdey et al, 2000, 2002, 2003a; HaverKamp et al., 2007; Lamb et al, 2000; Marshall et al., 2007; nos muestra como las especies incluidas en esta foto Indian Mustard (*Brassica juncea*) y planta de Alfalfa (*Medicago sativa*) entre otras, han sido estudiadas por su habilidad para recuperar oro y nanopartículas de

oro mediante técnicas fitoextractivas tanto por síntesis in vivo como por el uso de extractos de diferentes partes de la planta raíces, hojas, tallo y que es posible superar estas dificultades inicialmente planteadas con los químicos adecuados en la anteriormente mencionada hiperacumulación inducida.

### 3. NANOPARTÍCULAS DE ORO

La nanobiotecnología es una de las áreas más prometedoras de la nanociencia y la tecnología moderna. Esta área de investigación emergente entrelaza diferentes disciplinas de la ciencia, como la física, la química, la biología y la ciencia de los materiales (Narayanan et al., 2011a).

La nanotecnología manipula materiales naturales y sintéticos a escala atómica y molecular. Abarca todos los procesos que implican medición, manipulación y fabricación a escala de entre 1 y 100 nanómetros. Las herramientas y procesos nanotecnológicos virtualmente se pueden aplicar a todos los artículos manufacturados en todos los sectores de la industria. Las aplicaciones comerciales son, por lo tanto, potencialmente ilimitadas (UITA, 2007 citado por Ortega-Ortiz et al., 2009).

Se espera que la nanotecnología sea la base de muchas de las principales innovaciones tecnológicas del siglo 21. La investigación y desarrollo en este campo está creciendo rápidamente en todo el mundo. Un resultado importante de esta actividad es el desarrollo de nuevos materiales en la escala nanométrica, incluyendo nanopartículas. Incluso las partículas podrían ser dimensión cero como en el caso de los puntos cuánticos. Las nanopartículas metálicas han sido de gran interés debido a sus características distintivas, tales como propiedades catalíticas, ópticas, magnéticas y eléctricas (Dubey et al., 2010)

Las propiedades optoelectrónicas y catalíticas de las estructuras con dimensiones nanométricas dependen fuertemente del tamaño y forma, así como de la naturaleza del material (Moctezuma et al., 2010). A escala nanométrica las propiedades físicas y químicas, como la conductividad eléctrica, la reactividad, etc., de los materiales cambian con respecto a los materiales a nivel

macroscópico. Es importante poder manipular y controlar las características de las nanopartículas, ya que de ellas dependen las novedosas propiedades de estas.

En este sentido, es muy importante disponer de información fiable acerca del perfil de toxicidad *in vivo* de las nanopartículas de oro, aisladas y formando parte de nanoconjugados y otros nano-transportadores, de cara a su posible aplicación en clínica (Al-Qadi et al., 2009). En un estudio que tuvo por objeto determinar la citotoxicidad e inmunogenicidad de las nanopartículas de oro frente a células macrofágicas RAW264.7, se observó que las éstas no son tóxicas y no dan lugar a la secreción de citoquinas proinflamatorias siendo, además, internalizadas por los cuerpos lisosomales dispuestos en forma perinuclear.

De acuerdo con *Connor y col*, citado por Al-Qadi et al., 2009 los núcleos de oro de las nanopartículas son inertes y no-tóxicos.

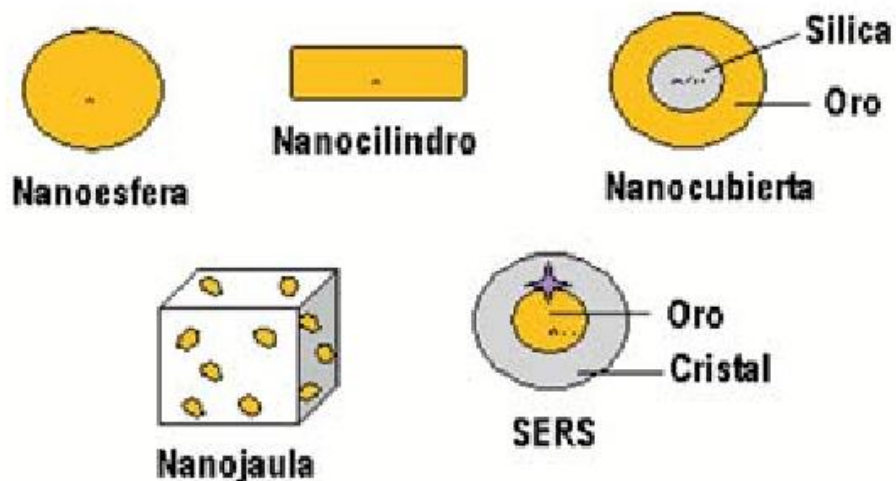
Estos resultados subrayan las propiedades no citotóxicas y no inmunogénicas de las nanopartículas de oro y su biocompatibilidad, corroborando su excelente potencial en nanoinmunología, nanobiotecnología y nanomedicina (Shukla et al, 2005 citado por Al-Qadi et al, 2009)

La peculiaridad de las propiedades ópticas y fototérmicas de las nanopartículas de oro proviene de las oscilaciones resonantes de sus electrones libres en presencia de luz (Resonancia localizada de plasmón de superficie), gracias a la cual las nanopartículas pueden irradiar luz (*Mie scattering*) o absorber luz que se transforma rápidamente en calor. En efecto, las AuNPs emiten un intenso calor cuando son estimuladas con la frecuencia correcta de luz láser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia, ultrasonidos...); así una colección de pequeñas AuNPs puede calentar localmente un área de mil veces su tamaño, actuando como auténticos «calefactores nanoscópicos activados por la luz» (Al-Qadi et al., 2009; Dykman y Khlebtsov, 2011).

En la Figura 3 se representan algunos ejemplos de estas nanopartículas de oro y sus denominaciones: nanoesferas, nanocilindros, nanocubiertas, nanojaulas, nanopartículas y «SERS».

Las nanoesferas de oro de 2-100 nm de diámetro pueden ser obtenidas por reducción controlada de cloruro de oro usando distintos agentes reductores y condiciones.

**Figura 5. Diversas nanoestructuras conteniendo oro**



Fuente Al-Qadi et al., 2009

Para la obtención de AuNPs con formas distintas a la esférica se han utilizado diferentes procedimientos; por ejemplo técnicas de síntesis electroquímica o deposición electroquímica de oro en el interior de los poros de plantillas de policarbonato o alúmina, síntesis mediada por semillas o procedimientos de bio-reducción, han permitido obtener AuNPs con forma de *nanocilindro*.

Las AuNPs tipo *nanocubierta* pueden ser obtenidas por técnicas de recubrimiento de sílica o *beads* de polímero con cubiertas de oro de espesor variable (Cai, et al., 2008 citado por Al-Qadi et al., 2009).

Un campo potencial de estudio y aplicación potencialmente valiosa es la adecuación de procesos biológicos como la acumulación de metales por las plantas para la síntesis de nanopartículas, el cual se está convirtiendo en una rama importante de la nanotecnología (Ortega-Ortiz et al., 2009).

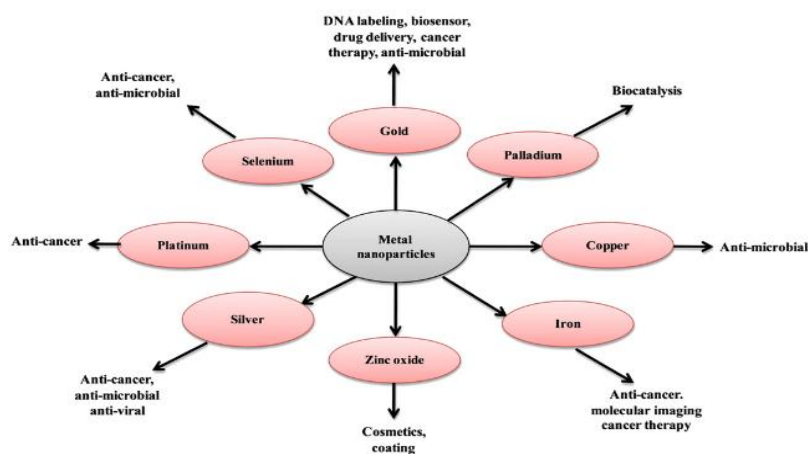
#### 4. APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) de las Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su reunión de expertos sobre la “aplicación de las nanotecnologías en los sectores de la alimentación y la agricultura” realizado en Roma en el año de 2010. Instaba al desarrollo de formas innovadoras de aumentar la producción de alimentos, tratamiento de aguas, conservación y envasado, además de la toxicología y de riesgo para la salud humana asociados con el uso de la nanotecnología (Husen y Siddiqi, 2014).

Para el próximo año, se espera que más del 15% de todos los productos en el mercado mundial tenga algún tipo de nanotecnología incorporada en su proceso de fabricación. De hecho se espera que para Estados Unidos este mercado llegue a \$ 1 billón en 2015 (Husen y Siddiqi, 2014).

Por tanto, las aplicaciones que puedan tener las nanopartículas metálicas y en especial las de oro están en creciente aumento. En la figura se mencionan las nanopartículas metálicas de mayor interés y algunas de sus aplicaciones.

**Figura 6. Tipos de Nanopartículas metálicas y sus aplicaciones en Biotecnología**



Fuente (Mittal et al., 2013)

Las nanopartículas de metales nobles y, más específicamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su «tamaño nanométrico». Destacan especialmente sus peculiares e inesperadas propiedades fototérmicas, por las que al ser activadas en presencia de luz láser, desprenden calor, actuando como auténticos «nano-calefactores». Las AuNPs pueden ser producidas con distintos tamaños y formas y ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético...). Por todo ello, las AuNPs despiertan un gran interés en el campo de la biomedicina (Al-qadi et al., 2009)

El rango de uso de las nanopartículas de oro en la medicina y biología moderna es extremadamente amplio. En particular, comprende la genómica , biosensores, inmunoanálisis, química clínica , detección y fototermólisis de microorganismos y células cancerosas; el suministro dirigido de fármacos, ADN y antígenos; bioimagen óptica y el control de células y tejidos utilizando los sistemas de registro modernos. Se ha argumentado que las nanopartículas de oro podrían utilizarse en casi todas las aplicaciones médicas: diagnóstico, terapia, prevención e higiene (Dikman y Khlebtsov, 2011; Dreaden et al., 2012; Mittal et al., 2013; Zayed y Eisa, 2014)

#### **4.1 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO EN LA MEDICINA Y LA BIOLOGÍA**

Uno de los requisitos básicos para el uso de nanopartículas de oro en aplicación biomédica es que son no tóxicos y biocompatibles para tanto in vivo como en entornos in vitro. Para aplicaciones biomédicas que requieren menores concentraciones de nanopartículas de oro, es crucial que la dilución de las nanopartículas de oro no cambia las propiedades.

Por otra parte, diferentes nanopartículas de oro sintetizadas por diferentes métodos deben ser estables en un entorno in vitro que imita las condiciones in vivo. Las nanopartículas en el rango de 1 a 500 nm son extremadamente más pequeñas que las células humanas que son alrededor de 10-20 micras. Las nanopartículas tienen tamaños similares a los de las biomoléculas encontradas en el nivel celular. Este tamaño específico de las nanopartículas promueve el desarrollo de nanodispositivos y nanosensores que pueden entrar en las células para investigar las proteínas o el ADN dentro y fuera de la célula. Oro y ADN también se sugieren con frecuencia para los dispositivos nanotecnológicos. Las propiedades específicas de materiales nanoestructurados proporcionan buenas perspectivas para la coordinación de eventos de identificación biológicos con la transducción de señal electrónica y para la fabricación de una nueva generación de dispositivos de Bioelectrónica con funciones novedosas (Granmayed et al., 2011)

- Las nanopartículas de oro y biosensores: El principio primario involucrado en el diseño de un biosensor basado en nanopartículas de oro es que las nanopartículas de oro están funcionalizados con una biomolécula tiolada que al reconocer la perfecta biomolécula provoca el cambio en la absorción óptica de las nanopartículas de oro (Granmayed et al., 2011).

Schröfel y Kratosova, 2011 describen el uso de las nanopartículas de oro en la generación de sensores para la detección de glucosa.

- Antimicrobianos: Aunque la plata tiene una larga historia de ser utilizada como un agente antimicrobiano, en los últimos años, el oro se ha convertido también en un buen rival para la plata. Por ejemplo las nanopartículas de oro pueden luchar contra las bacterias “E. coli”

- Las nanopartículas de oro en el diagnóstico del cáncer y terapia: El principal problema de muchos tratamientos de cáncer disponibles en la actualidad es que no pueden ser dirigidos con precisión. Como es muy difícil conseguir un fármaco eficaz, tales como paclitaxel, directamente al tumor, se necesitan dosis más grandes, con la esperanza de que bastante de la droga llegará a las células enfermas donde se necesita. Recientemente las nanopartículas de oro han encontrado un papel para entregar la droga fácilmente. La terapia del cáncer tiene varias rutas, como la quimioterapia, la terapia fototérmica y la radioterapia. Las nanopartículas de oro se han investigado como los posibles candidatos para ayudar en la terapia fototérmica y la radioterapia (Granmayed et al., 2011).

Las propiedades ópticas y electrónicas de las nanopartículas de oro se pueden utilizar para mejorar el contraste en imágenes moleculares para la detección de cáncer en los primeros niveles.

- Administración de fármacos sin aguja: las tecnologías basadas en oro también proporcionan un sistema único de entrega libre de agujas, una técnica que utiliza nanopartículas de oro y permite vacunas que sean entregadas a través de la piel haciendo uso del hecho de que las pequeñas partículas pueden pasar a través de las brechas entre las células mientras que las más grandes no pueden.
- Las nanopartículas de oro contra el VIH / SIDA: Uno de los usos más eficientes de las nanopartículas de oro en los últimos años se está detectando y es la lucha contra el VIH (Granmayed et al., 2011).

## 4.2 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO Y EL MEDIO AMBIENTE

Las tecnologías basadas en nanopartículas de oro ofrecen soluciones a algunos de los grandes temas del medio ambiente, tales como los métodos de producción más ecológicos, control de la contaminación y la purificación del agua.

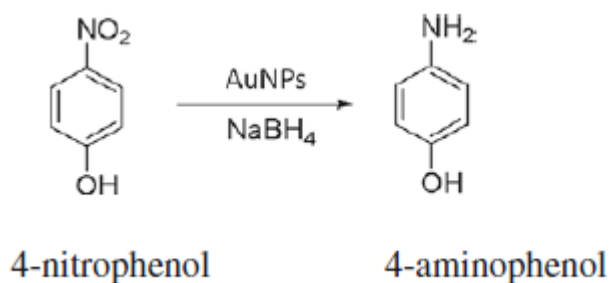
El oro es de hecho uno de los metales estables, y es resistente a la oxidación. Esta capacidad de las nanopartículas de oro proporciona las condiciones para hacer muchos catalizadores que contienen: Catálisis de oxidación de CO, catálisis de hidrogenación de sustratos no saturados, Catálisis redox electroquímica de CO y CH<sub>3</sub>OH Oxidación y reducción de O<sub>2</sub> (Granmayed et al., 2011)

- Control y detección de Mercurio: La nanotecnología puede controlar y detectar mercurio usando nanopartículas de oro. El mercurio es uno de los elementos más tóxicos que existe en todo el mundo. El mercurio puede causar algunas enfermedades como el Alzheimer y el autismo. Casi más de 100 toneladas de mercurio encuentran su camino a la atmósfera cada año. Los catalizadores basados en oro pueden ofrecer una solución. Las nanopartículas de oro tienen un considerable potencial como catalizadores de oxidación del mercurio (Granmayed et al., 2011)
- Mejora de la calidad del agua y del aire: Una de las aplicaciones más útiles de las nanopartículas de oro es cada vez una mejor calidad de agua y del aire, el monóxido de carbono es un gas incoloro e inodoro que es muy tóxico para los seres humanos. Las nanopartículas de oro proporcionan una solución sencilla. Las nanopartículas de oro permiten la oxidación de CO a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) que transforma un gas sumamente peligroso a una sustancia menos tóxica. En los últimos años se ha visto un fuerte aumento en el uso de nanopartículas de metales nobles para la purificación del agua y la detección de contaminantes. Las nanopartículas de oro

también han demostrado ser eficaces adsorbentes para la eliminación de niveles significativos de mercurio del agua potable (Granmayed et al., 2011).

- Degradación del 4-Nitrofenol a 4-aminofenol: Los nitrofenoles son algunos de los contaminantes del agua más comunes utilizados en la industria química. 4-nitrofenol (4NP) es un importante producto químico que se utiliza como un precursor o producto intermedio para la preparación de pesticidas, insecticidas, herbicidas, explosivos, colorantes sintéticos y productos farmacéuticos. Es altamente soluble y estable en agua para que se mantenga un tiempo muy largo en el suelo y el agua subterránea sin degradación. Esta acumulación eleva el riesgo ambiental debido a las actividades cancerígenas del 4-Nitrofenol. Muchos procesos se han empleado para la eliminación de los nitrofenoles, pero estos métodos consumen energía y utilizan disolventes orgánicos. Sin embargo, las nanopartículas de oro se utilizan como un catalizador para degradar el 4-NP a 4-aminofenol en una forma fácil, rápida y con una operación de ahorro de energía de. Por otro lado, el 4-aminofenol se considera como un producto final ambientalmente seguro porque es un intermedio importante para la fabricación de fármacos analgésicos y antipiréticos (Zayed y Eisa, 2014)

**Figura 7. Reducción del 4-Nitrofenol a 4-aminofenol**



Fuente: (Husen y Siddiqi, 2014)

Husen y Siddiqi, 2014; Gan y Yau Li, 2012; Narayanan y Sakthivel 2011b; Sharma et al., 2007; Schröfel y Kratosova, 2011 se refieren también en sus artículos científicos a estos compuestos nitro-aromáticos persistentes en el suelo y el agua y que son resultado de la combustión incompleta de los combustibles fósiles. Encontraron que las nanopartículas de oro sintetizadas a partir de los extractos de flor de *Gnidia glauca*, *Sesbania drummondii*, *Cacumen platycladi*, *Sepia esculenta* (Schröfel y Kratosova, 2011) se han utilizado como agente catalítico en la reducción de 4-nitrofenol a 4-aminofenol en presencia de borohidruro de sodio. El uso de nanopartículas biosintetizadas generaría una alternativa verde para la degradación de diferentes productos químicos, entre estos los nitro-aromáticos (y luego junto con la remediación microbiana), sería una gran contribución a este tema de gran actualidad (Schröfel y Kratosova, 2011)

#### **4.3 LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO EN LA TECNOLOGÍA**

En los últimos años se han encontrado nuevas habilidades para las nanopartículas de oro en diversos campos de la ciencia, tales como gafas de recubrimiento para cambiar sus propiedades y codificación óptica multicolor para ensayos biológicos. Las nanopartículas de oro se están utilizando para mejorar la electroluminiscencia y la eficiencia cuántica de diodos emisores de luz orgánicos. La aplicación de nanopartículas para la amplificación de la señal es otra aplicación desarrollada. El uso de materiales de nanopartículas, con escala de unos pocos nanómetros, ha permitido a los nuevos tipos de nuevos de sensores que son capaces de detectar cantidades muy pequeñas de analitos tales como vapores químicos en el intervalo de pocos ppm. Además, las nanopartículas de oro se utilizan en la fabricación de colorantes y pigmentos avanzados.

Las nanopartículas de oro pueden ser útiles en el aumento de la producción de pequeñas plantas comestibles, tales como la espinaca, rábano, centeno o granos como el maíz, el arroz y el trigo (Husen y Siddiqi, 2014).

Las nanopartículas de oro también han sido ocasionalmente utilizadas para teñir textiles y para proporcionar energía limpia (por la célula solar) y hacer que el almacenamiento de datos de alta densidad (memorias flash y discos) sea otra aplicación interesante de estas nanopartículas (Granmayed et al., 2011)

Las nanopartículas de oro en forma de renacuajo tienen propiedades ópticas y eléctricas inusuales que se pueden utilizar para el montaje de nanodispositivos o articulaciones para los biochips (Castro et al. 2010 citado por Gan y Yau li, 2012).

Las nanopartículas de oro se pueden usar para diseñar un sensor colorimétrico para detección de metales pesados ( $Pb^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ) en medios acuosos (Herrera, s.f.)

Los usos que se le pueden dar a las nanopartículas metálicas especialmente a las nanopartículas de oro son ilimitados pero varían dependiendo de su tamaño y forma. La creciente demanda por estas nanopartículas de oro, debe de ir acompañado también por métodos limpios, sencillos y económicos que permitan su producción a gran escala sin que esto represente un peligro para el medio ambiente.

## 5. BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Las propiedades excepcionales del oro a nanoescala son de fundamental interés para los investigadores. Dado su amplio rango de aplicaciones. Estos nuevos usos requieren técnicas para sintetizar las nanopartículas que sean tanto efectivas en costos y ambientalmente benignas (Bali y Harris, 2010).

La síntesis de nanopartículas estables con diversas formas es un aspecto importante de la nanotecnología porque la forma de las nanopartículas desempeña un papel crucial en la modulación de sus propiedades ópticas (Narayanan y Sakthivel, 2010)

Anastas y Zimmerman, 2007; Dahl et al, 2007; Shankar et al, 2004 citados por Mittal et al., 2014 expresan que la síntesis biogénica es útil no sólo debido a su impacto ambiental reducido en comparación con algunos de los métodos de producción fisicoquímicas, sino también porque se puede utilizar para producir grandes cantidades de nanopartículas que están libres de contaminación y que tienen un tamaño y morfología bien definido. Las rutas biosintéticas pueden proporcionar en realidad nanopartículas de un tamaño y morfología mejor definida que algunos de los métodos físico-químicos de producción.

Mohanpuria et al., 2008 en la tabla 4 describe las diferentes entidades biológicas que pueden ser utilizadas para la producción de nanopartículas de oro, con características deseables de diferentes tamaños y formas. El uso de bacterias, hongos, levaduras, protozoos y plantas evidencian el creciente interés por la producción limpia de nanomateriales.

**Tabla 4. Entidades biológicas para la producción de nanopartículas**

Biological entity	Nanoparticles produced	Size	Extracellular/ intracellular	Reference
<i>Avena sativa</i> (Plant)	Au	5–20 nm (at pH 3 and 4), 25–85 nm (at pH 2)	Intracellular	Armendariz et al. (2004)
<i>Azadirachta indica</i> (Plant)	Ag, Au and Ag/Au bimetallic	50–100 nm	Extracellular	Shankar et al. (2004)
<i>Aloe vera</i> (Plant)	Ag	15.2 ± 4.2 nm		Chandran et al. (2006)
<i>Alfalfa</i> (Plant)	Ti/Ni bimetallic	1–4 nm		Schabes-Retchkiman et al. (2006)
<i>Aspergillus fumigatus</i> (Fungus)	Ag	5–25 nm	Extracellular	Bhainsa and D' Souza (2006)
<i>Colletotrichum</i> sp. (Fungus)	Au	20–40 nm	Extracellular	Shankar et al. (2003a)
<i>Candida glabrata</i> (Yeast)	CdS	20 Å	Intracellular	Dameron et al. (1989)
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> (Bacterium)	Palladium	–	–	Yong et al. (2002)
<i>Emblica Officinalis</i> (Plant)	Ag and Au	(10–20 nm) and (15– 25 nm )	Extracellular	Ankamwar et al. (2005a)
<i>Fusarium oxysporum</i> and <i>Verticillium</i> sp. (Fungi)	Magnetite	20–50 nm	Extracellular	Bharde et al. (2006)
<i>Fusarium oxysporium</i> (Fungus)	Ag	5–15 nm	Extracellular	Ahmad et al. (2003)
<i>Fusarium oxysporium</i> (Fungus)	Au	20–40 nm	Extracellular	Mukherjee et al. (2002)
<i>Fusarium oxysporium</i> (Fungus)	Zirconia	3–11 nm	Extracellular	Bansal et al. (2004)
<i>Fusarium oxysporium</i> (Fungus)	CdS	5–20 nm	Extracellular	Ahmad et al. (2002)
<i>Fusarium oxysporium</i> (Fungus)	Barium titanate	4–5 nm	Extracellular	Bansal et al., 2006
MKY3 (Yeast)	Ag	2–5 nm	Extracellular	Kowshik et al. (2003)
Magnetotactic bacteria	Magnetic (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ), greigite (Fe <sub>3</sub> S <sub>4</sub> )	–	–	Roh et al. (2001)
<i>Rhodococcus</i> sp.(Actinomycete)	Au	5–15 nm	Intracellular	Ahmad et al. (2003a)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Bacterium)	Au	15–30 nm	Extracellular	Husseiny et al. (2007)
<i>Pelargonium graveolens</i> (Plant)	Ag	16–40 nm	Extracellular	Shankar et al. (2003)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (Yeast)	CdS	1–1.5 nm	Intracellular	Kowshik et al. (2002)
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (Bacterium)	Ag	Up to 200 nm		Joerger et al. (2000); Klaus et al. (1999)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (Yeast)	CdS	20 Å	Intracellular	Dameron et al. (1989)
<i>Trichothecium</i> sp. (Fungus)	Au	–	Extracellular and Intracellular	Ahmad et al. (2005)
<i>Thermomonospora</i> sp. (Actinomycetes)	Au	8 nm	Extracellular	Ahmad et al. (2003b)
<i>Verticillium</i> (Fungi)	Au	20 nm	Intracellular	Mukherjee et al. (2001a)
<i>Verticillium</i> (Fungi)	Ag	25 ± 12 nm	Intracellular	Mukherjee et al. (2001); Senapati et al. (2004)

<i>P. jadinii</i> (Yeast)	Au	Few to 100 nm	Intracellular	Gericke and Pinches (2006b)
<i>V. luteoalbum</i> (Fungus)	Au	Few to 100 nm	Intracellular	Gericke and Pinches (2006b)
Biological entity	Nanoparticles produced	Size	Extracellular/ intracellular	Reference
<i>Thermomonospora</i> sp. (Actinomycete)	Au	–	Extracellular	Sastry et al. (2003)
<i>Plectonema boryanum</i> UTEX 485 (Cyanobacterium)	Octahedral Au platlets	6 µM to 10 nm	At the cell wall	Lengke et al. (2006a, b)
<i>Cinnamomum camphora</i> (Plant)	Au and Ag	55–80 nm	Extracellular	Huang et al. (2007)
Nitrate reductases ( from <i>Fusarium oxysporum</i> , a Fungus)	Ag	10–25 nm	Extracellular	Kumar et al. (2007a)
<i>Fusarium oxysporum</i> , ( Fungus)	CdSe quantum dots	–	Extracellular	Kumar et al. (2007b)
<i>Fusarium oxysporum</i> , ( Fungus)	Silica and Titanium particles (SiF <sub>6</sub> <sup>2-</sup> and	5–15 nm	Extracellular	Bansal et al. (2005)
Tamarind Leaf Extract (Plant)	Au nanotriangles	20–40 nm	Extracellular	Ankamwar et al. (2005b)

Fuente: Mohanpuria et al., 2008

Aunque se utilizan actualmente diferentes organismos para la producción de nanopartículas de oro. La biosíntesis a partir de plantas cobra fuerza entre los investigadores debido a los bajos costos de fabricación y a la posibilidad de obtener diferentes formas y tamaños variando algunas propiedades fisicoquímicas y nutricionales.

Para Narayanan y Sakthivel, 2010 la fitosíntesis de los nanomateriales es más ventajosa que la síntesis microbiana donde el crecimiento y mantenimiento de los cultivos microbianos son tediosos y consumen mucho tiempo.

Bankar et al. 2010 citado por Gan y Yau Li, 2012 se refiere también al uso de biomasa de plantas o extractos de plantas en comparación con la síntesis mediada por microorganismos ya que es mucho más simple y rentable.

Las investigaciones recientes demuestran en condiciones de laboratorio que al adicionar una sal de oro de concentración conocida a una solución que contiene un extracto de planta en particular se forman nanopartículas de oro en poco tiempo y a temperatura ambiente. Al-Qadi et al., 2009 sostiene que en comparación con el uso de plantas enteras y tejidos de la planta, el uso de extractos de plantas para la fabricación de nanopartículas es más simple.

La síntesis mediada por extractos de la planta es un enfoque que cada vez atrae mayor atención. Ya que éstos procesos son fácilmente escalables y puede ser menos costoso en comparación con los métodos relativamente costosos basados en procesos microbianos.

Narayanan y Sakthivel, 2011a describen los procesos para la síntesis intra y extracelular de nanopartículas de oro. En la tabla 5 se muestran las diferentes partes de plantas que han sido utilizadas para la producción de nanopartículas de oro.

**Tabla 5. Síntesis extracelular de nanopartículas de oro por extractos de plantas**

Trivial name	Botanical name	Part	Particle	Morphology	Size
Geranium	<i>Pelargonium graveolens</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Decahedral, icosahedral	20–40 nm
Geranium	<i>P. graveolens</i>	Stem	Au <sup>0</sup>	Spherical	8.3–23.8 nm
Geranium	<i>P. graveolens</i>	Root	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangle	11.4–34 nm
Lemongrass	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Triangle, spherical	0.05–1.8 µm
Neem	<i>Azadirachta indica</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangle, hexagonal	50–35 nm
Indian gooseberry	<i>Emblica officinalis</i>	Fruit	Au <sup>0</sup>	–	15–25 nm
Tamarind	<i>Tamarindus indica</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Flat-triangle, hexagonal	20–40 nm
Aloe vera	<i>Aloe barbadensis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangle	50–350 nm
Camphor tree	<i>Cinnamomum camphora</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Flat, plate-like triangle	55–80 nm
Coriander	<i>Coriandrum sativum</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangle, truncated triangle	20.6 ± 7.09 nm
Indian Borage	<i>Coleus amboinicus</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, truncated triangle, hexagonal	4.6–55.1 nm
Red river gum	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	–	1.25–17.5 nm
Rose geranium	<i>P. roseum</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	–	2.5–27.5 nm
Tea plant	<i>Camellia sinensis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Nanotriangles	~40 nm
Henna	<i>Lawsonia inermis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular	7.5–65 nm
Phyllanthus	<i>Phyllanthus amarus</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Hexagonal, triangular, rod-shaped, spherical	18–38 nm
Cape aloe	<i>Aloe ferox</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular	6–35 nm, 4–45 & 50 nm
Hibiscus	<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular, hexagonal, dodecahedral	14 nm
Guava	<i>Psidium guajava</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular, hexagonal	27 ± 3 nm
Magnolia	<i>Magnolia kobus</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Triangles, pentagons, hexagons, spherical	5–300 nm
Persimmon	<i>Diopyros kaki</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Triangles, pentagons, hexagons, spherical	~300 nm
Barbated Skullcup	<i>Scutellaria barbata</i>	Plant	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangles	5–30 nm
Common Tansy	<i>Tanacetum vulgare</i>	Fruit	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular	11 nm
Clove	<i>Szygygium aromaticum</i>	Flower Bud	Au <sup>0</sup>	Triangular, polygonal	100–300 nm
Almond	<i>Terminalia catappa</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical	21.9 nm
Velvet bean	<i>Mucuna pruriens</i>	Seed	Au <sup>0</sup>	Spherical	6–17.7 nm
Banana	<i>Musa paradisiaca</i>	Peel	Au <sup>0</sup>	Microcubes, microwire	300 nm
Sugar beet	<i>Beta vulgaris</i>	Pulp	Au <sup>0</sup>	Nanorods, triangular, Spherical	25 nm, 160 nm 20 nm
Sugar beet	<i>Beta vulgaris</i>	Pulp	Au <sup>0</sup>	Nanowires	30 nm
Indian pennywort	<i>Centella asiatica</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Triangular, hexagonal	9.3–10.9 nm
European mountain ash	<i>Sorbus aucuparia</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular, hexagonal	18 nm
Japanese Rosa	<i>Rosa rugosa</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	triangular, hexagonal	11 nm
Pig weed	<i>Chenopodium album</i>	Plant	Au <sup>0</sup>	Quasi-spherical	10 nm
Green tea	<i>Camellia sinensis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical	~20 nm
Olive	<i>Olea europaea</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Triangle, hexagonal, spherical	50–100 nm
Weeping bottlebrush	<i>Callistemon viminalis</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Nanotriangles, Spherical	~90 nm
Korean red ginseng	<i>Panax ginseng</i>	Root	Au <sup>0</sup>	Spherical	16.2 ± 3 nm
Sweet leaf	<i>Stevia rebaudiana</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Octahedral	8–20 nm
Mango tree	<i>Mangifera indica</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical	17 nm
Krishna tulsi	<i>Ocimum sanctum</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Hexagonal	30 nm
Curry tree	<i>Murraya koenigii</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical	20 nm
Cinnamon	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Nanoprism, spherical	25 nm
Mahogany	<i>Swietenia mahogany</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spheroidal, triangles, hexagonals	
Cashew	<i>Anacardium occidentale</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	Spherical	6.5, 17 nm
Chickpea	<i>Cicer arietinum</i>	Beans	Au <sup>0</sup>	triangular prism	~ 25 nm thick
Markingnut Tree	<i>Semecarpus anacardium</i>	Leaf	Au <sup>0</sup>	–	13–55 nm
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Biomass	Au <sup>0</sup>	Decahedral, icosahedral Nanoplates	30–60 nm 500 nm–4 µm
Pear	<i>Pyrus sp.</i>	Fruit	Au <sup>0</sup>	Triangular, hexagonal plates	200–500, 12–20 nm
Rose	<i>Rosa hybrida</i>	Petals	Au <sup>0</sup>	Spherical, triangular, hexagonal	10 nm

Fuente: Narayanan y Sakthivel, 2011a

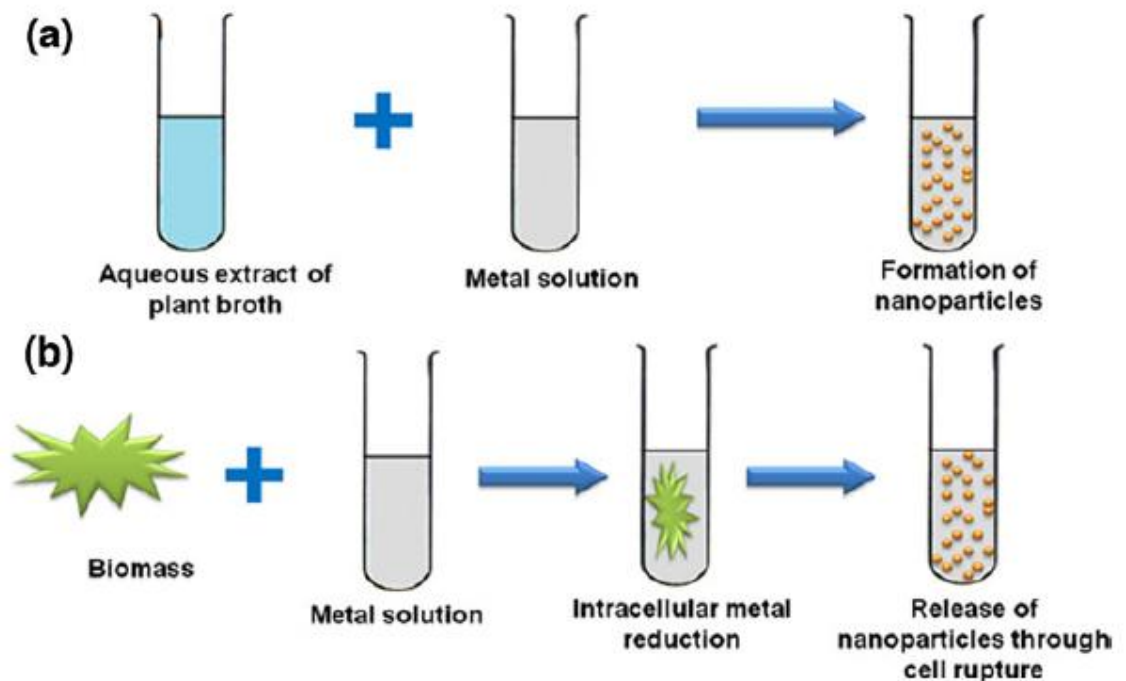
En comparación con la síntesis intracelular que requiere etapas de procesamiento adicionales para liberar las nanopartículas a partir de la biomasa, parece que la síntesis extracelular de nanopartículas utilizando extracto de la planta se estudia

más comúnmente debido a su mayor potencial en aplicaciones comerciales (Song et al 2009;. Narayanan y Sakthivel 2010b; Gan y Yau Li, 2012).

A diferencia de estos autores, Gardea-Torresdey; De la Rosa; Haverkamp y Bali; Armendariz; Kumar; Lamb; Marchiol; Marshall y Pardha-Saradhi entre otros. Inducen la formación de nanopartículas de oro utilizando plantas vivas y agregando al suelo sustancias químicas para favorecer su formación y acumulación. En particular, Pardha-Saradhi et al., 2014 realiza una experiencia en donde compara 10 especies de plantas vivas contra 6 extractos y evalúa la capacidad de las raíces para la formación de nanopartículas de oro.

Como ya se había mencionado anteriormente, actualmente se han descrito más de 400 plantas con capacidad para la formación de nanopartículas de oro. Ayaz Ahmed et al., 2014 y Ghoreishi et al., 2011 incluyen en sus artículos estudios recientes donde mencionan estas plantas como potenciales formadoras de nanopartículas de oro: *Aloe vera*, *papaya*, *lemongrass*, *cinnamomun camphora*, *neem*, *tamarind*, *Emblica officinalis*, *clove*, *Syzygium aromaticum*, *Hibiscus rosa sinensis*, *Murraya koenigii*, *Mangifera indica*, *Krishna tulsi*, *Rosa rugosa*, *Sesbania drummondii*, *Tanacetum vulgare*, *Mentha piperita*, *Achillea wilhelmsii*, *Bayberry tannin*, *Gnidia glauca*, *Terminalia arjuna*.

**Figura 8. Síntesis biológica de nanopartículas de oro a) por extracto de planta b) Biomasa vegetal**

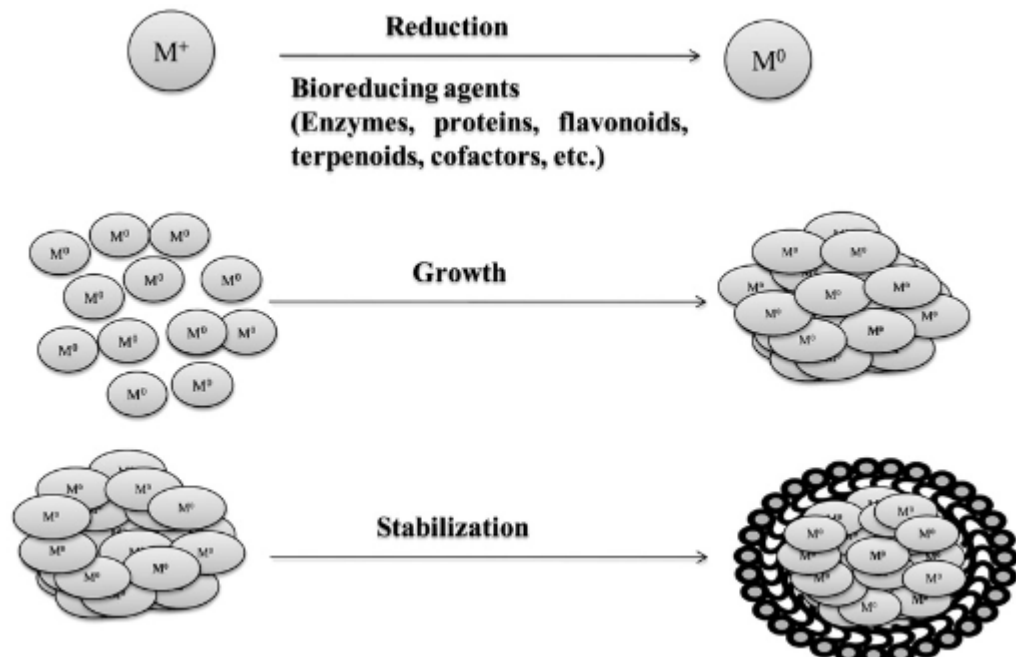


Fuente Gan y Yau Li, 2012

Además de escoger las especies de plantas más adecuadas y de considerar los factores que pueden influir en la formación de nanopartículas de oro de diferentes formas y tamaños. Los científicos buscan comprender como la planta o el extracto puede tomar los iones de oro  $\text{Au}^{+3}$  y reducirlos a Au metálico.

Aunque este es un proceso que aún no se logra explicar completamente, gran parte se puede identificar con las técnicas que muestran los resultados de los espectros de absorción. La ruta de reacción implica una reducción, nucleación del oro metálico y crecimiento del núcleo individual.

**Figura 9. Mecanismo de síntesis de nanopartículas**

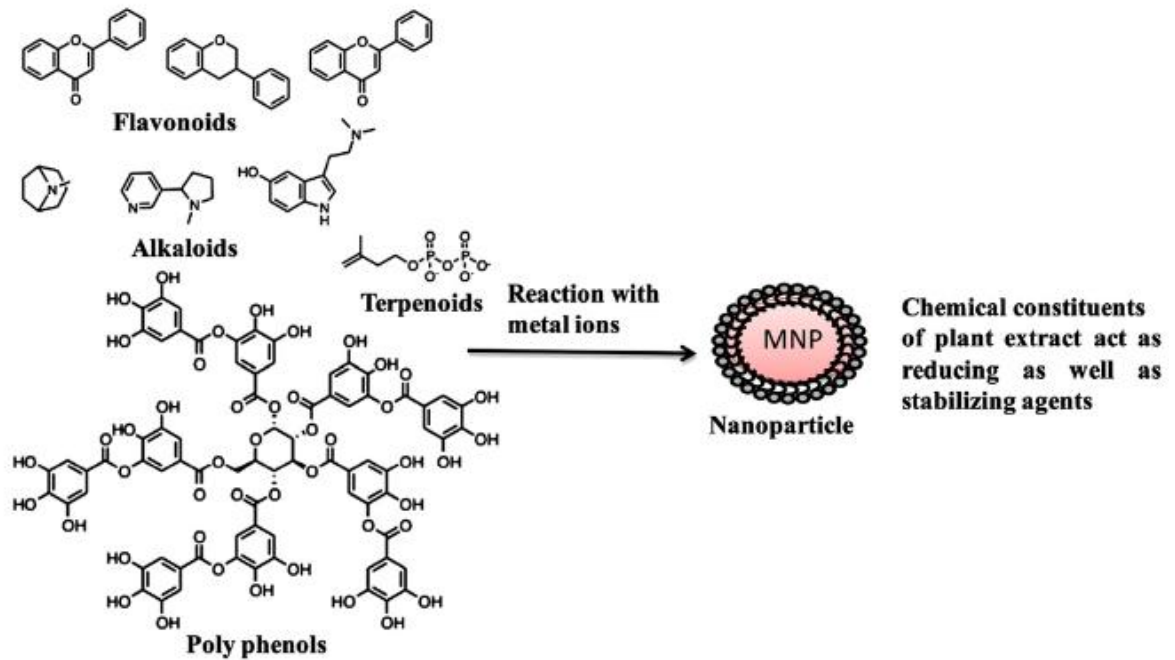


Fuente: Mittal et al., 2013

Fue propuesto por Lukman et al., 2011 que existen tres regímenes de reacción distinguibles que se producen durante el proceso de biosíntesis: un corto periodo de inducción, una fase de crecimiento y un período de terminación. La tasa de crecimiento de las partículas es por lo general más lento que la rápida reducción de la nucleación y de formación de semillas metálicas que conduce a una mayor concentración de partículas. (Citado por Gan y Yau Li, 2012).

Se sugirió que flavanonas pueden adsorberse en la superficie de las nanopartículas metálicas a través de la interacción con sus grupos carbonilo o electrones  $\pi$ . El mecanismo interno de la conversión de grupo cetona a ácido carboxílico en flavonoides fue sugerido que desempeñar un papel importante en la biorreducción de iones metálicos (citado por Gan y Yau Li, 2012).

**Figura 10. Químicos responsables por la biorreducción de los iones metálicos.**



Fuente: Dubey et al., 2009; Huang et al., 2007 citados por Mittal et al., 2013

Los posibles químicos que constituyen los extractos de la planta son los responsables por la bio-reducción de los iones metálicos (Dubey et al., 2009; Huang et al., 2007 citados por Mittal et al., 2013).

Goreishi et al., 2011 indica que posiblemente son los flavonoides, polifenoles y aceites esenciales que son abundantes en *R. damascena* los responsables por la acelerada reducción y estabilización de las nanopartículas de oro.

En ausencia de otros ligandos fuertes, iones metálicos podrían interactuar con la biomasa a través de la unión iónica con los agentes reductores orgánicos tales como los flavonoides o terpenoides. (Gan y Yau Li, 2012)

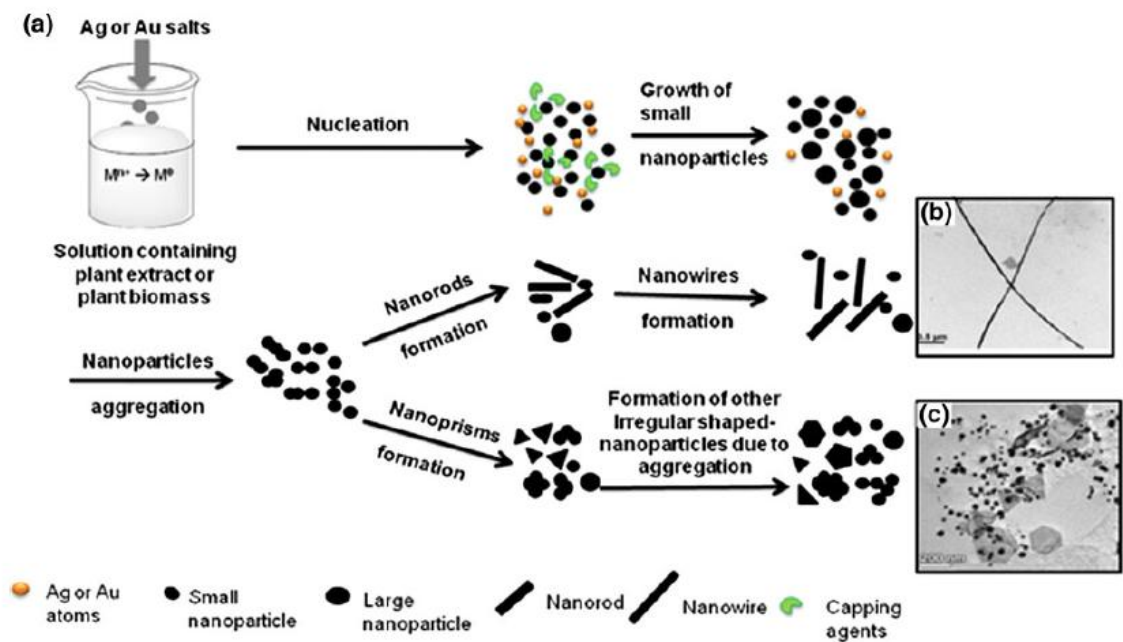
La teoría ácido base dura y blanda (HSAB) es aplicable a esta situación. Un metal blando como Au (III) que existe en la forma de  $[AuCl_4]^-$  prefiere unirse a la biomasa principalmente a través de ligandos blandos como grupos amino y sulfhidrilo, sobre todo cuando los ligandos blandos están cargados positivamente a

pH bajo (Gardea-Torresdey et al . 2002b;. Shankar et al 2004a). De hecho, la formación de nanopartículas podría ser un resultado de la nucleación heterogénea y el crecimiento seguido por la maduración de Ostwald. Durante el proceso de biosíntesis, los materiales catalíticos extraños que se liberan desde la biomasa de las plantas o que son extraídos por el extracto de planta podrían actuar como un andamio para el crecimiento de cristales.

Junto con el crecimiento de los cristales, la maduración de Ostwald podría llevarse a cabo y el resultado sería la ampliación de la distribución de tamaños. Varios estudios sugirieron que el mecanismo de maduración de Ostwald puede estar involucrado durante el proceso de biosíntesis, en el que las partículas más pequeñas o nacientes casi sólidas podrían migrar y alimentar en sus partículas más cercanas vecinos de tamaño más grande, haciendo que posible el crecimiento de partículas más grandes y el agotamiento de las partículas más pequeñas (Castro et . al 2010; Lin et al 2010;.. Lukman et al 2011). El exceso de la energía libre de Gibbs asociado con las nanopartículas podría entonces ser minimizado por transformación de formas más favorables energéticamente y que están dirigidas por las moléculas orgánicas protectoras (Fiehn et al. 2000 citado por Gan y Yau Li, 2012).

## Figura 11. Mecanismo de crecimiento propuesto para la formación de nanopartículas con diferentes formas

Ilustración esquemática del mecanismo de crecimiento de nanopartículas de Ag y Au mediadas por agentes bio-reductores; b) imagen de TEM de nanocables de Ag sintetizados con extracto acuoso de *Cassia fistula*; c) imagen TEM de nanopartículas esféricas, triangulares y con forma hexagonal sintetizadas con extracto acuoso de hoja *Ocimum sanctum*



Fuente (Reproducido con permiso de Lin et al 2010; Felipe y Unni 2011 citado por Gan y Yau Li, 2012)

Cuando se absorben las nanopartículas, que son posteriormente trasladadas y acumuladas en diferentes partes de las plantas forman complejos con proteínas portadoras. Sin embargo, todavía no está claro cómo algunas especies de plantas seleccionan ciertas nanopartículas y rechazan otras. Si son más grandes que el poro de la raíz, cómo son acumuladas en la superficie y cuando son más pequeños como son absorbidos y transportados a otras partes de las plantas (Husen y Siddiqi, 2014).

Zayed y Eisa, 2014 sintetizan el proceso de formación de nanopartículas de oro a partir de la adición del extracto de *P. dactylifera* a la solución acuosa de  $\text{HauCl}_4$ . Las especies de  $\text{Au}^{+3}$  son reducidas a oro metálico. La concentración de oro metálico aumenta alcanzando las condiciones supersaturadas y finalmente la concentración crítica para la nucleación. Después de esto la nucleación espontánea toma lugar y muchos núcleos se forman con el tiempo. Estos núcleos en la solución de crecimiento son casi esféricos en forma, con distribución polidispersa. A medida que la reacción continua, el núcleo crece por la deposición de oro metálico para dar nacimiento a nanopartículas esféricas de tamaño uniforme.

A fin de obtener nanopartículas metálicas monodispersas, con rápida nucleación en un corto periodo, el tiempo es importante. Esto es debido a que casi todas las especies iónicas tienen que ser reducidas rápidamente a especies metálicas simultáneamente, seguido por la conversión a núcleos estables con el fin de ser cultivadas.

Figura 12. Fitosíntesis de nanoparticulas de oro a través del extracto de *P. dactylifera*



Fuente: Zayed y Eisa, 2014

## **6. VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS Y NUTRICIONALES EN LA PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO**

La biosíntesis de nanopartículas de oro depende de: La naturaleza del extracto de la planta, la concentración de extracto de la planta o de la biomasa, la concentración de sal de metal, la temperatura, el pH y el tiempo de contacto de la solución, estos factores son conocidos por afectar la tasa de producción de las nanopartículas, su cantidad y otras características (Dwivedy y Gopal, 2010; Husen y Saddiqi, 2014)

Así como se evidencia el progreso de la nanotecnología, la biosíntesis también se realiza fácilmente. En lugar de utilizar el extracto acuoso de hoja de la planta por ebullición, ahora se utiliza el polvo de la hoja secada al sol sólo en agua a temperatura ambiente. En este procedimiento, no se necesita un moderador y un acelerador como el amoníaco, pero la concentración de extracto de hoja es el paso determinante de la velocidad. Es un paso significativo en biorreducción de iones cloroaurato  $[AuCl_4^-]$  - que las biomoléculas de peso molecular inferior a 3 kDa pueden causar su reducción (Husen y Saddiqi, 2014).

La síntesis de diversas nanopartículas metálicas utilizando extractos de plantas es fácil en el procesamiento de abajo hacia arriba y en la ampliación de las nanopartículas (Narayanan y Sakthivel, 2011a).

### **6.1 VARIABLES PH Y TEMPERATURA**

Para Armendariz et al., 2004 el pH fue una variable dependiente

La máxima adsorción de Au(III) fue del 81% a un pH de 3

La reacción de la biomasa de avena a un pH de 3 y 4 con el Au(III) arroja una distribución más estrecha en diámetros.

- pH 4: fueron encontradas 2500 nanopartículas con diámetros entre 5-20 nm.

- pH 3: se encontraron 200 nanopartículas con diámetro similar

A pH 3 y 4 más grupos funcionales pueden estar disponibles para vincular el oro, por lo tanto un mayor número de complejos Au(III) pueden unirse a la biomasa al mismo tiempo, lo que permite la formación subsecuente de nanopartículas con pequeños diámetros.

- pH 2: nanopartículas más grandes con un diámetro de 25-85 nm se encontraron en pocas cantidades.

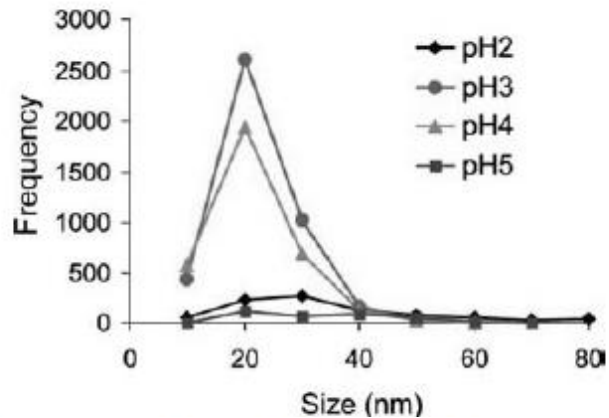
Goia y Matijevic 1999 citados por Armendariz, encontraron variaciones similares. Este comportamiento indica que a pH 2, el proceso de agregación de nanopartículas de oro para formar partículas más grandes es favorecida sobre la nucleación para formar nuevas nanopartículas

- pH 5: se encontraron 300 nanopartículas de poco diámetro

A pH 5 la biomasa lleva una carga negativa total debido a los grupos funcionales presentes en la biomasa como los grupos carbonilo.

Diferentes formas se produjeron por la exposición de Au (III) con la biomasa de avena, tetraedrales, decaedrales, hexagonales, icosaedrales, formas irregulares y en forma de barra. Éstas últimas se encontraron en cada pH propuesto.

**Figura 13. Distribución del tamaño de nanopartículas de oro producidas por la biomasa de avena**



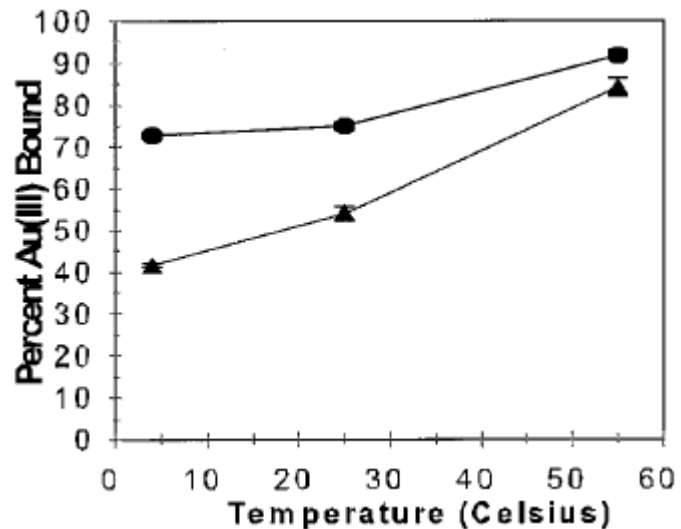
Fuente Armendariz et al., 2004

En Gardea-Torresdey et al., 2000 plantas de Alfalfa (*Medicago sativa*) fueron estudiadas para observar la reducción de Au (III) variando el pH, la temperatura y la concentración. A diferencia de lo observado por Armendariz 2004 el pH fue casi independiente.

- Se evidencio un incremento en la eliminación de Au al incrementar la temperatura y disminuir el pH

A bajas concentraciones de Au(III) la biomasa resulta eficaz en la biorreducción y recuperación de los iones de oro, mientras que a concentraciones mayores otros factores deben estar presentes.

**Figura 14. Efecto de la temperatura en la acumulación de Au(III) por la biomasa de Alfalfa**



Fuente Gardea-Torresdey et al., 2000

El tamaño y la forma de las nanopartículas biosintetizadas podrían manipularse variando el pH de las mezclas de reacción. Una importante influencia del pH de la reacción es su capacidad para cambiar las cargas eléctricas de biomoléculas que pueden afectar la capacidad de unir y estabilizar y, posteriormente, afectar el crecimiento de las nanopartículas. Esto podría resultar en la formación favorable de nanopartículas de ciertas formas en un rango particular de pH para que se podría lograr una mayor estabilidad (Gan y Yau Li, 2012)

El efecto diferente del pH sobre el tamaño de nanopartículas de Au y Ag podría atribuirse a la diferente forma de especies metálicas que existir en la solución, en la que carga negativa  $[\text{AuCl}_4^-]$  - y cargado positivamente  $\text{Ag}^+$  podría interactuar en una medida diferente con las biomoléculas en un pH particular. (Gan y Yau Li, 2012)

Por otra parte, se encontró que a ciertos pH se puede promover la unión de iones metálicos a la biomasa y dar lugar a un mayor rendimiento de las nanopartículas. Sin embargo, no hay ninguna explicación concluyente para el efecto del pH sobre la formación de nanopartículas. (Gan y Yau Li, 2012)

Se encontró en varios estudios que el control de temperatura era crítico en la dirección de la forma y el tamaño de las nanopartículas durante el proceso de síntesis mediada por plantas. La mayoría de los estudios indican que nanoestructuras bien definidas de Au podrían ser sintetizados con éxito a temperatura ambiente.

La capacidad de estas especies de plantas para producir nanopartículas metálicas a temperatura ambiente es muy favorable, ya que no sólo podrían aumentar la facilidad de procesamiento, pero también proporcionan la ventaja de ahorro de energía. Sin embargo, aún si es posible controlar la forma y tamaño de nanopartículas de oro a través del ajuste de la temperatura sintética, se requiere una mayor investigación en la que la presencia de fitoquímicos sensibles a la temperatura en la planta sea de relevancia (Gan y Yau Li, 2012).

Mohanpuria et al., 2008 argumenta que la variabilidad en el tamaño y la forma en la producción de nanopartículas de oro puede ser inducido variando el pH en las condiciones de reacción de las plantas.

## **6.2 CONCENTRACIÓN**

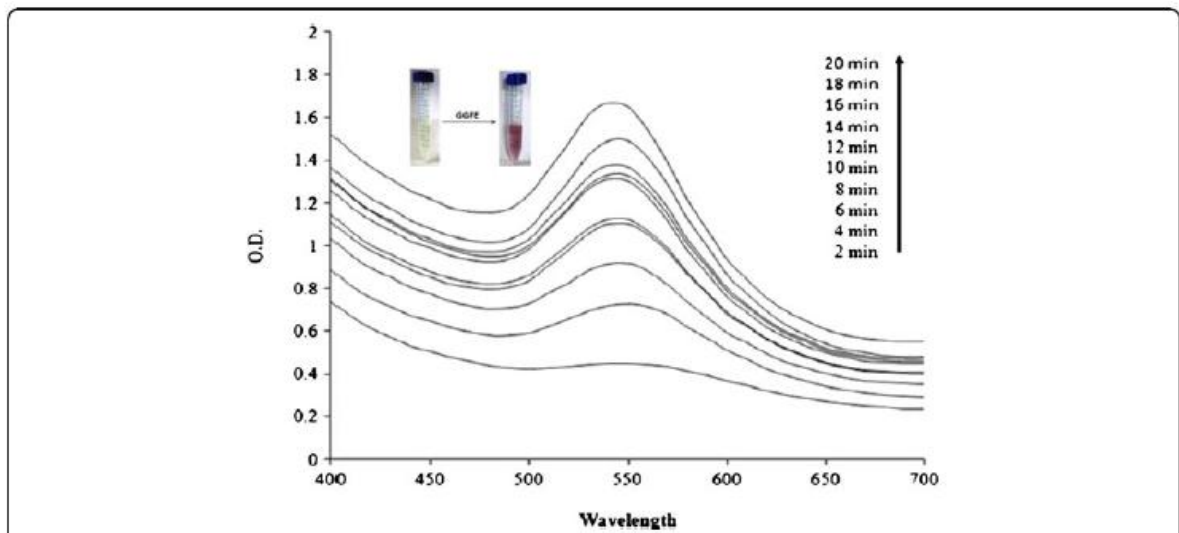
Zayed y Eisa, 2014; Ghoreishi et al., 2011; Narayanan et al., 2010; Sujitha y Kannan, 2013 concluyeron de acuerdo con sus experiencias de laboratorio que el tamaño de las nanopartículas de oro depende fuertemente de la cantidad de extracto de la planta

Como se predijo por el modelo LaMer, la formación de nanopartículas sólo puede ocurrir cuando la concentración del precursor está dentro de un intervalo adecuado para la nucleación.

Sin embargo, es la disponibilidad de la reducción y la limitación agentes que determina si estos precursores de metal se podrían reducir y, finalmente, conduce a la formación de nanopartículas. Por lo tanto, la concentración de la biomasa de la planta utilizada durante la biosíntesis no debe pasarse por alto ya que determina la extensión de la reducción y la estabilización ejercida por las biomoléculas que podrían afectar a las formas y tamaños de las nanopartículas resultantes (Gan y Yau Li, 2012).

En la figura 17 se encuentra el espectro UV-vis de las nanopartículas de oro en función del tiempo mostrando que la reacción se completa en 20 minutos. La formación de las nanopartículas de oro empieza después de dos minutos de la interacción del extracto de la planta con el  $\text{HAuCl}_4$

**Figura 15. Curso de tiempo en la formación de nanopartículas de oro**



Fuente Husen y Sidiqi, 2014

### 6.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS

Bali y Harris, 2010 evidenciaron mediante pruebas SEM la presencia de nanopartículas en la epidermis y en capas de células corticales cerca de la epidermis. Con un tamaño promedio de 20 nm a 2  $\mu$ m confirmado por EDS.

Es revelador que las altas concentraciones de nanopartículas se forman en o alrededor de los cloroplastos. Los cloroplastos son tanto el centro de producción y un repositorio de azúcares. En *Brassica juncea* los azúcares reductores son principalmente la glucosa y la fructosa. Se sugiere que son estos azúcares los que contribuyen a la reducción de sales de plata y de oro a metal (Beattie y Haverkamp, 2011).

### 6.4 CONCENTRACIÓN DE LA BIOMASA

El solubilizante, cianuro induce mayor acumulación de oro en hojas y tallos de *B. juncea* y *B. coddii*, mientras que con la adición de tiocianato, la acumulación se encontró que era mayor en las raíces. Estas diferencias en las capacidades de translocación entre el cianuro y tiocianato se debieron a los efectos del pH interno de la planta en los complejos formados (Narayanan y Sakthivel, 2011a)

Marshall et al., 2007 reportó la acumulación de oro metálico como nanopartículas en la planta de *B. juncea* en un rango de tamaño de 5-50 nm. La adición de agentes solubilizantes tales como yoduro, bromuro, cianuro y tiosulfato jugó un papel vital en la acumulación eficiente de oro dentro de las plantas. En *B. juncea*, el tiocianato de amonio se utiliza como agente de solubilización, que induce la acumulación de oro de hasta 57  $\mu$ g / g. La espectroscopia de Absorción de rayos X cerca de borde (XANES) reveló que la planta contenía cantidades aproximadamente iguales de Au<sup>0</sup> (metálico) y Au (1) estados oxidados.

Rodríguez et al., 2007 reportaron que las plántulas de *Chilopsis linearis* (sauce del desierto) en solución hidropónica con oro y tiourea, transformaron el 64% del

complejo oro-tiourea en oro metálico y se acumularon en el tallo y las hojas con un tamaño medio de 1,1 nm

Haverkamp et al., 2007 en un experimento de invernadero irrigó soluciones de cianuro de potasio a unas plántulas de 9 semanas de crecimiento de *B. juncea* obteniendo nanopartículas de oro entre 5-50 nm.

**Tabla 6. Nanopartículas de oro producidas por diferentes plantas y extractos**

<i>Planta o extracto</i>	Descripción nanopartícula obtenida	Químicos usados	Caracterizadas por	Observaciones	Referencia
<i>Amaranthus gracilis</i> <i>Lycopersum esculentum</i>	40-50 nm 20-100 nm	(HAuCl <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O)	UV-vis, TEM, EDX, SAED, PXRD	16 especies de plantas analizadas Variable: concentración	Pardha-Saradhi et al., 2014
<i>Avena sativa</i>	pH 4: 5-20nm pH 2: 25-85 nm  diferentes formas: tetraedral, decaedral, hexagonal, icosaedral, multiwinned, irregulares y en forma de barra.	KAuCl <sub>4</sub> , NaOH HCl	HRTEM FAAS (Flame Atomic Absorption Spectroscopy)	Variable: pH de 2 a 6	Armendariz et al., 2004
<i>Brassica juncea</i> (extracto)	2-100 nm en hojas y tallos 2-40 en raíces En su gran mayoría esféricas	HAuCl <sub>4</sub>	TEM, XAS, AAS, XANES	Investigación para comprender el mecanismo del proceso de reducción	Beattie y HaverKamp, 2011
<i>Brassica juncea</i> <i>Medicago sativa</i>	BS de 2nm a 2 µm MS de 2nm a 1 µm	KAuCl <sub>4</sub>	SEM, TEM, STEM, SAED, XPS, XRD	Formación de nanopartículas in vivo	Bali y Harris, 2010a

<b>Planta o extracto</b>	<b>Descripción nanopartícula obtenida</b>	<b>Químicos usados</b>	<b>Caracterizadas por</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Referencia</b>
				y ex vivo	
<i>Brassica juncea</i> <i>Medicago sativa</i>	48 mg Au g <sup>-1</sup> peso seco en raíces de <i>Medicago sativa</i>	KAuCl <sub>4</sub>	X-ray espectroscopía de emisión μ-PIXE	Variables: concentración, tiempo de exposición y pH	Bali et al., 2010b
5 kg tamizados y secados suelo agrícola y semillas de <i>Brassica juncea</i>	Tamaño promedio de 5 a 50 nm	Cloruro de oro y solución de cianuro potasio	EDX, STEM, STEM-HAADF, TEM		Haverkamp et al., 2007
<i>Brassica juncea</i>	Tamaño promedio 5-50nm	Cloruro de oro y solución de cianuro potasio	TEM, XANES	Digestión enzimática con 1-β-endoglucanasa para concentrar las nanopartículas de oro en las plantas	Marshall et al., 2007
<i>Citrus limón</i> , <i>Citrus reticulata</i> y <i>Citrus senensis</i> (extractos)	Tamaño promedio de 15 a 80 nm	Solución de ácido cloroáurico (HAuCl <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O)	DLS, TEM, XRD, Uv-vis, SAED	El tamaño de la nanopartícula depende de la concentración	Sujitha y Kannan, 2013
<i>Chenopodium álbum</i> (extracto)	Quasi- esféricas con un promedio de 30 nm	Acido aúrico	TEM, XRD, EDX, FTIR	Variables: concentración, tiempo de contacto, temperatura y pH.	Dwivedy y Gopal, 2010

<b>Planta o extracto</b>	<b>Descripción nanopartícula obtenida</b>	<b>Químicos usados</b>	<b>Caracterizadas por</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Referencia</b>
				- no se adiciono ningún estabilizante	
<i>Coleus amboinicus Lour (Extracto)</i>	Esféricas, triángulo truncada, triangulares, hexagonales, decaedrales Promedio de 4.6 a 55 nm	HAuCl <sub>4</sub>	XRD, TEM, SAED análisis, EDAX, FT-IR espectroscopía		Narayanan y Sakhivel, 2010
<i>Furcraea spp.</i>	Principalmente esféricas y facetas	NaAuCl <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O, NaBH <sub>4</sub> y NaOH, 3-cloro-2-hidroxipropil trimetil amonio cloruro	UV-Vis, FESEM, SEM, EDX	Amplia distribución de tamaños debido a la naturaleza heterogénea de la superficie de la fibra	Castellanos et al., 2012
<i>Helianthus annuus L.</i> <i>Kalanchoe serrata L.</i>	9 mg /Kg en materia seca de tejidos aéreos	sodium cyanide (NaCN), ammonium thiocyanate (NH <sub>4</sub> SCN), ammonium thiosulphate and (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Espectroscopia de absorción atómica	Fitoextracción de oro	Wilson-Corral et al., 2011
<i>Medicago sativa</i>		Tetracloroaurato de potasio	XAS, TEM	Variables: pH y temperatura	Gardea-Torresdey et al., 2000
Semillas de Alfalfa	No especificadas	Tetracloroaurato de potasio	TEM, XAS; XANES	Variable:	Gardea-Torresdey

<b>Planta o extracto</b>	<b>Descripción nanopartícula obtenida</b>	<b>Químicos usados</b>	<b>Caracterizadas por</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Referencia</b>
<i>(Medicago sativa)</i>				concentración	et al., 2003
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Nanopartículas esféricas de $40 \pm 17$ nm	Solución de ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )	Uv-Vis, TEM, SAED		Moctezuma et al., 2010
<i>Phoenix dactylifera L. 8 (Extracto)</i>	Tamaño de 32 a 45 nm y de forma esférica	( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 4-nitrofenol $\text{NaBH}_4$	TEM, FTIR, Uv-vis,	- los carbohidratos, flavonoides, taninos y ácido fenólico actúan como agentes reductores y capping - la $\text{NP}_{\text{Au}}$ exhibe buenas propiedades catalíticas para degradar el 4-nitrofenol	Zayed y Eisa, 2014
<i>Rosa damascena (extracto)</i>	Promedio de 10 a 30 nm	Solución de ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )	UV-vis, TEM, XRD, FT-IR		Ghoreishi et al., 2011
<i>Rosa rugosa (extracto)</i>	Principalmente esféricas, algunas triangulares y hexagonales Promedio de 11 nm	Sólo ácido áurico	Uv-vis, TEM, XRD, FTIR, Zetasizer y EDX	$\text{NPAu}$ Estables a pH de 2-10	Dubey et al., 2010
<i>Salicornia</i>	Promedio de 22 a 30	Tetracloroaurato de potasio	UV-vis, SEM, TEM,	No se utilizaron	Ayas-Ahmed et al.,

<b>Planta o extracto</b>	<b>Descripción nanopartícula obtenida</b>	<b>Químicos usados</b>	<b>Caracterizadas por</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Referencia</b>
<i>brachiata (extracto)</i>	nm		FESEM, EDX, HR-TEM, thin layer X- ray diffraction	agentes estabilizantes	2014
<i>Sesbania drummondii</i>	No especifica	KAuCl <sub>4</sub>	TEM, XANES, EXAFS	Enorme concentración de oro en las raíces	Sharma et al., 2007
<i>Zea mays (var. Golden)</i>	Promedio de 10,36 nm	KAuCl <sub>4</sub>	XAS	Efecto de la tiourea y tioacianato de amonio	De la rosa et al., 2009

## 7. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

La observación y el estudio de plasmones en nanopartículas metálicas requiere seguir un protocolo de síntesis extremadamente riguroso con los reactivos usados, su pureza, la forma y el orden en que se mezclan y todo tipo de factores físicos y químicos, en especial la temperatura (que puede cambiarse o no de forma programada durante el proceso de síntesis), la forma e intensidad de la agitación, el pH, la fuerza iónica, etc.

Paradójicamente, la síntesis de nanopartículas metálicas es tan fácil que el problema no es en absoluto iniciar su crecimiento, sino detenerlo bajo demanda en el momento deseado para que dejen de crecer. En definitiva controlar su tamaño, pero de tal forma que, además, se controle su forma, naturaleza química y cristalinidad. El principal problema de la síntesis de NPs metálicas es que hay que provocar dos procesos opuestos al mismo tiempo: las partículas tienen que crecer incorporando masa a su superficie, pero si no se bloquea de alguna manera su superficie, las NPs interactúan unas con otras rápidamente (sinterización) formando micropartículas y finalmente mesopartículas que precipitan rápidamente. Por último y no menos importante, deben ser todas iguales en tamaño, forma y naturaleza, lo que se conoce como monodispersión.

A pesar de ser un fenómeno estudiado desde hace tiempo, el plasmón de superficie de las nanopartículas metálicas constituye un fenómeno espectroscópico de una complejidad tal que su estudio completo continua abierto y que contrasta con la relativamente fácil metodología experimental necesaria para producir nanopartículas metálicas bajo control en medios líquidos muy diversos. Intervienen en el plasmón todos los aspectos posibles: naturaleza del metal, forma, tamaño y método de síntesis, permitividad del metal y del medio en su entorno inmediato, frecuencia de relajación o amortiguamiento, estructura cristalina, proporción de las distintas caras cristalinas en la superficie, estructura

de la doble capa eléctrica alrededor de las nanopartículas, composición del medio y grado de dispersión de tamaños (Cruz et al., 2012)

Las nanopartículas se caracterizan generalmente por su tamaño, forma, área de superficie, y dispersidad (Jiang et al., 2009 citado por Mittal et al., 2013). Una homogeneidad de estas propiedades es importante en muchas aplicaciones. Las técnicas más comunes de la caracterización de nanopartículas son los siguientes:

### **7.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE**

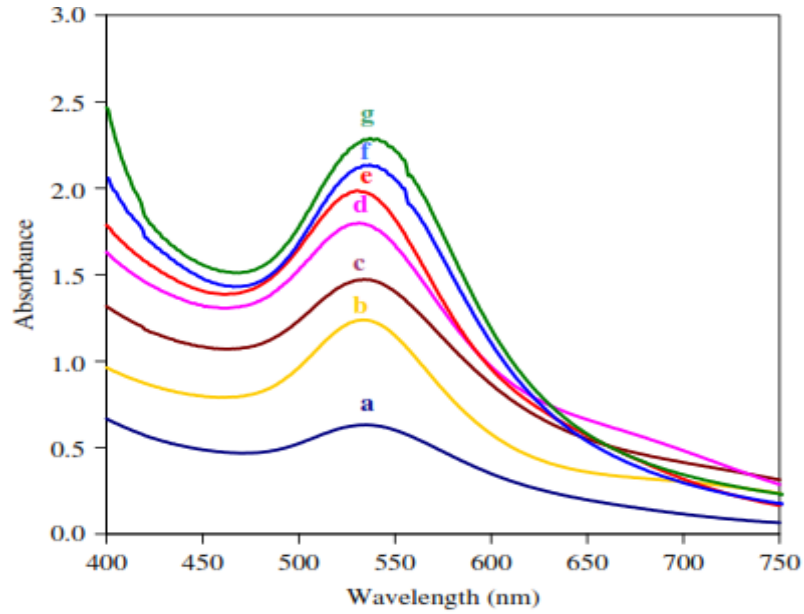
Cuando la luz incide en las nanopartículas de oro, éstas se excitan y muestran una fuerte banda de absorción en la región visible del espectro. Esto tiene lugar cuando la frecuencia del campo electromagnético es resonante con el movimiento coherente de electrones lo que se conoce como "resonancia de plasmón superficial (SPR) de absorción". Esta característica hace que la espectroscopia UV-vis sea la técnica más utilizada para juzgar el éxito de la producción de nanopartículas de oro (Zayed y eisa, 2014)

Las longitudes de onda de luz de 300-800 nm se utilizan generalmente para la caracterización de diferentes nanopartículas metálicas en el rango de tamaño de 2 a 100 nm (Feldheim y Foss, 2002 citado por Mittal et al., 2013). Las mediciones de absorción espectrofotométricos en los rangos de longitud de onda de 400-450 nm (Huang y Yang, 2004) y 500-550 nm (Shankar et al., 2004) se utilizan en la caracterización de las nanopartículas de plata y oro, respectivamente (Mittal et al., 2013).

Ghoreishi et al., 2011 en sus investigaciones con *Rosa damascena* describen la espectroscopía de UV-vis como una técnica importante para determinar la formación y la estabilidad de las nanopartículas en solución acuosa.

En este estudio, se observó el análisis espectral para el desarrollo de las nanopartículas de oro bajo diferentes condiciones de reacción.

**Figura 16. Espectro de absorción UV-vis de Nanopartículas de oro**

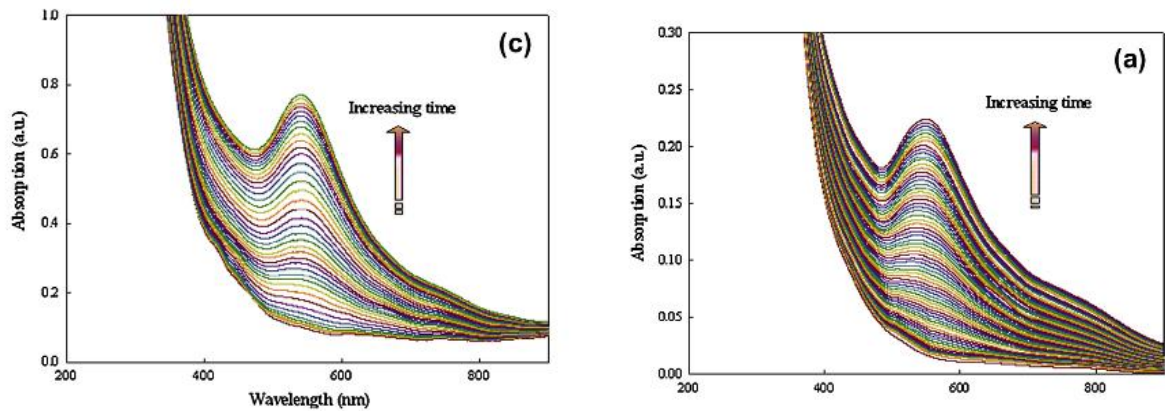


Fuente: Ghoreishi et al., 2011

Es posible observar la banda de plasmon de superficie de las nanopartículas de oro en el intervalo de 510-550 nm a diferentes concentraciones

El tamaño de partícula se puede determinar teóricamente usando técnicas como la espectroscopía de UV-vis y la difracción de rayos X (XRD). Sin embargo experimentalmente el tamaño y la morfología deben ser identificados por técnicas de microscopía TEM (Ghoreishi et al 2011)

**Figura 17. Evolución del crecimiento de la solución de nanopartículas de oro a 100  $\mu\text{L}$  y 400  $\mu\text{L}$  por espectro UV-vis**



Fuente: Zayed y Eisa, 2014.

En la figura 19, es posible observar por medio de la espectroscopía UV-vis el efecto del extracto más pequeño (100  $\mu\text{L}$ ), en donde se generaron partículas más grandes, probablemente debido a una tasa de nucleación más lenta, mientras que en un volumen de extracto de más alta (400  $\mu\text{L}$ ) y con una nucleación más rápida se producen partículas monodispersas y de menor tamaño

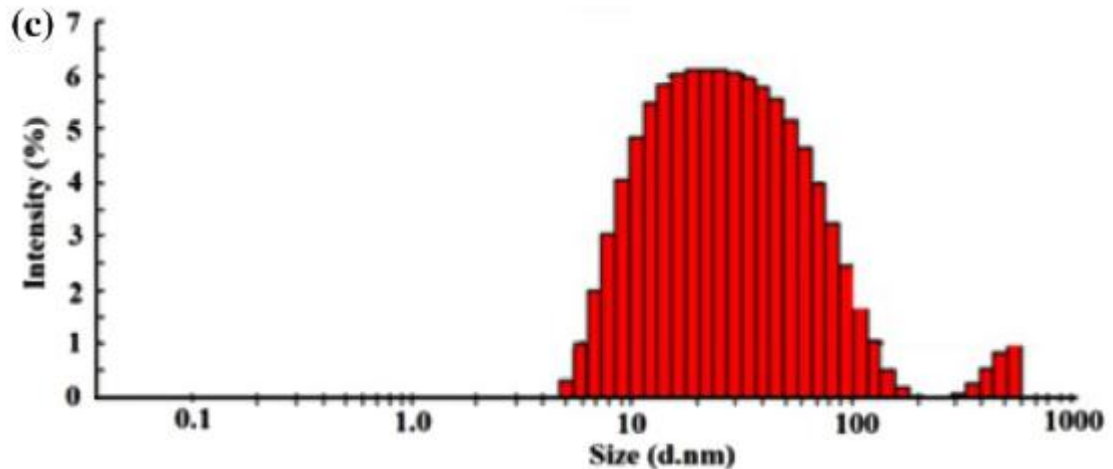
## 7.2 DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

El tamaño de las partículas y de la distribución de las nanopartículas de oro es medido mediante la dispersión de luz dinámica (DLS) (Amici et al., 2011).

Se utiliza además para caracterizar la carga superficial y la distribución del tamaño de las partículas suspendidas en un líquido (Jiang et al., 2009).

También es usado para medir el grosor de la cáscara (Shell thickness) de un agente de nivelación o de estabilización que envuelve las partículas metálicas junto con el tamaño real del núcleo metálico. (Sujitha y Kannan, 2013)

**Figura 18. Mediciones en DLS para determinar el tamaño de la distribución en partículas coloidales de oro en *Citrus sinensi***



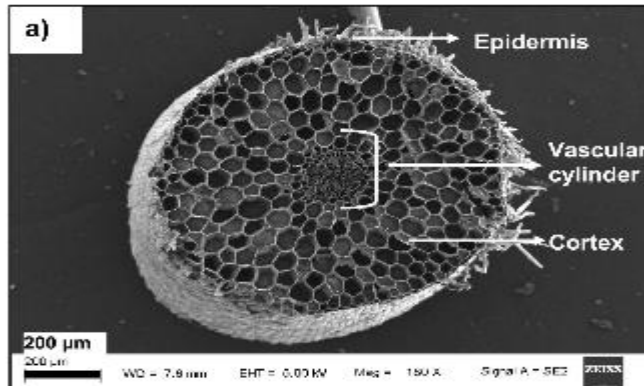
Fuente Sujitha y Kannan, 2013

### 7.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se usa para examinar el efecto de la concentración, alteraciones estructurales y la morfología de las nanopartículas formadas.

Técnicas microscópicas, tales como la microscopía electrónica de barrido, microscopía electrónica de transmisión y microscopía de fuerza atómica se utilizan principalmente para estudios morfológicos de las nanopartículas. El uso de estas técnicas microscópicas en los estudios morfológicos de las nanopartículas ha sido descrito en varios estudios descritos anteriormente. Antes de los estudios morfológicos se llevan a cabo, existe la necesidad de estandarizar la síntesis de nanopartículas utilizando plantas o de sus extractos (Kumar y Yadav, 2009).

**Figura 19. Imagen SEM de un corte transversal de la raíz de *B. juncea***



Fuente: (Bali y Harris, 2010)

#### **7.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)**

El microscopio electrónico de transmisión MET o TEM por sus siglas en inglés, contiene lentes electromagnéticos para controlar la intensidad del haz de electrones, el enfoque y los aumentos. En lugar de colocar la muestra en un portaobjetos de vidrio, suele utilizarse una rejilla de cobre. El haz de electrones atraviesa primero la muestra y después los lentes electromagnéticos del objetivo, con lo cual aumenta el tamaño de la imagen. Por último los electrones son enfocados por las lentes electromagnéticas proyectoras (en lugar de las del ocular del microscopio óptico) sobre una pantalla fluorescente o una placa fotográfica. La imagen final, denominada microfotografía electrónica de transmisión, aparece en forma de zonas claras y oscuras de acuerdo con el número de electrones absorbidos por las diversas áreas de la muestra.

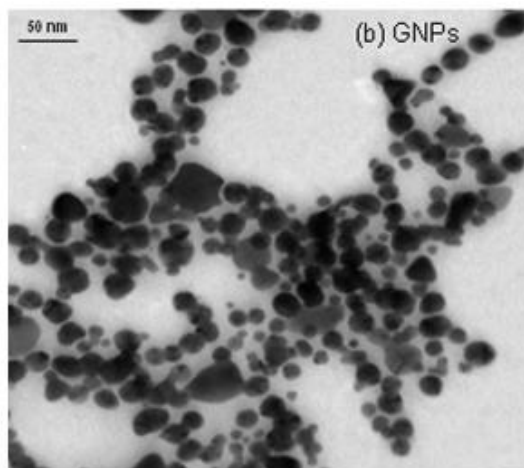
En la práctica el microscopio electrónico de transmisión puede resolver objetos separados por una distancia tan corta como 2,5 nm y suele ampliarlos de 10.000 a 100.000 x (Tortora et al., 2007).

En la tabla 6 es posible observar como para la mayoría de investigaciones llevadas a cabo en plantas o extractos de plantas se utiliza la Microscopía Electrónica de Transmisión.

Schaffer et al., 2009 y Eppler et al., 2000 citados por Mittal et al 2013 afirman que la Microscopía Electrónica de Transmisión se utiliza para la caracterización morfológica en la escala de nanómetros a micrómetros y que ésta tiene una resolución 1000 veces mayor en comparación con la microscopía electrónica de barrido.

Granmayeh et al., 2011 indica que la Microscopía electrónica de transmisión (TEM) es un método potente y sencillo para la determinación del tamaño y la forma.

**Figura 20. Imágenes TEM de nanopartículas de oro formadas**



Fuente Dwivedi y Gopal, 2010

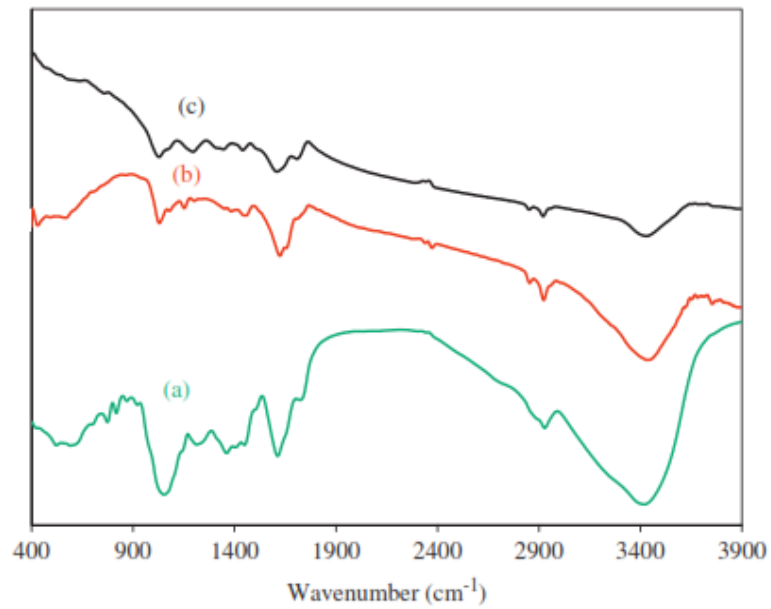
## 7.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Es útil para la caracterización química de la superficie (Chithrani et al., 2006 citado por Mittal et al., 2013). Los grupos orgánicos funcionales (por ejemplo, carbonilos, hidroxilos) unidos a la superficie de las nanopartículas y otros residuos químicos de superficie se detectan usando FTIR.

En las figuras 23 y 24 es posible observar a través del espectro FT-IR las biomoléculas responsables de la reducción y estabilización de las nanopartículas de oro bio-reducidas. Para el caso de la figura 23 fueron identificados grupos carbonilos, cetonas y ácidos carboxílicos que conforman los flavonoides y polifenoles y que tienen una fuerte habilidad para enlazar iones  $\text{Au}^{+3}$  formando entonces una capa sobre la nanopartícula metálica para prevenir la recolección de partículas y darle estabilidad a la misma. (Ghoreishi et al., 2011).

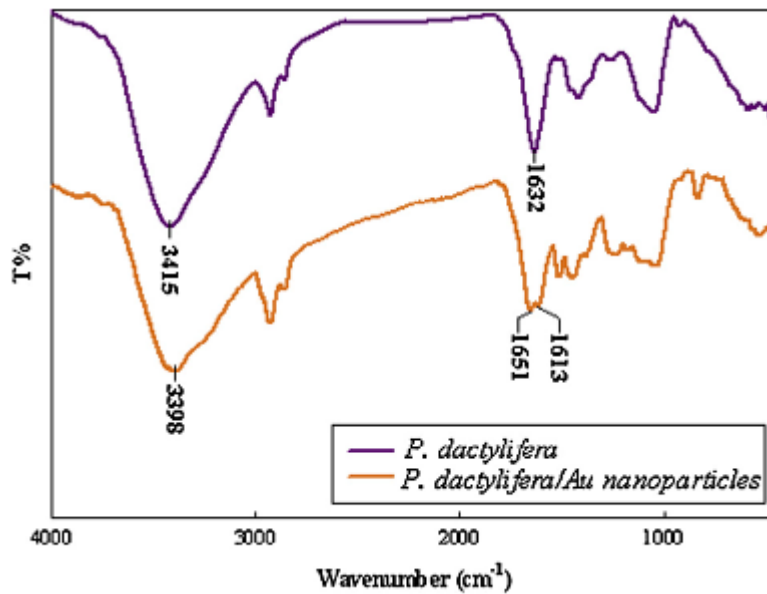
En Zayed y Eisa, 2014 extractos de *Phoenix dactylifera* fueron sometidos a diferentes concentraciones para la formación de nanopartículas metálicas. En la figura 24 el espectro FTIR sirve de herramienta para entender el mecanismo de acción entre el extracto y la sal de oro. De acuerdo con los diferentes picos se evidencia la presencia de carbohidratos, alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas, ácidos fenólicos y taninos. Lo que indicaría que durante la formación de las nanopartículas de oro existe una coordinación entre iones  $\text{Au}^{+3}$  y átomos de  $-\text{OH}$  y/o grupos carbonilo. Observaciones similares han registrado Moctezuma et al., 2010; Narayanan et al., 2010; Sujitha y Kannan, 2013; Dubey et al., 2010; Dwivedi y Gopal, 2010; Ghoreishi et al., 2011 quienes aseguran que el extracto de la planta utilizada sirve como agente reductor sin que sea necesario adicionar otra sustancia para que se formen las nanopartículas de oro.

Figura 21. Espectro FTIR de *R. damascena*



Fuente: Ghoreishi et al., 2011

Figura 22. Espectro FTIR de *P. dactylifera* y *P. dactylifera*- estabilizada



Fuente: zayed y Eisa, 2014.

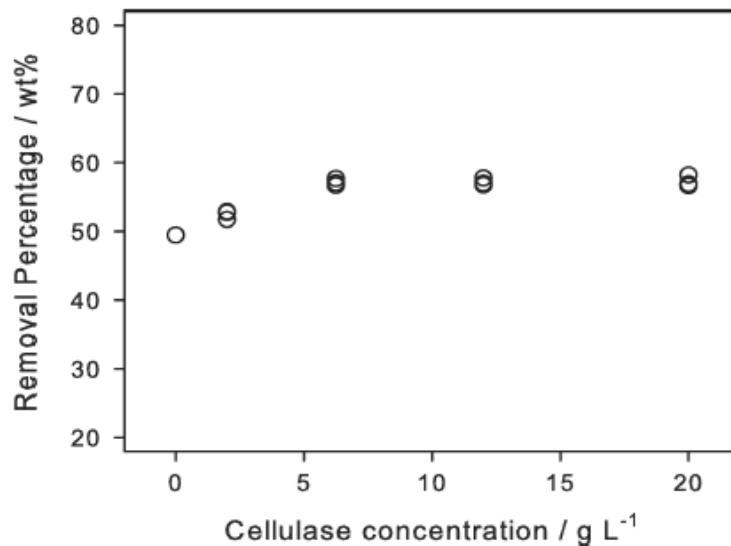
## 8. EXTRACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS OBTENIDAS POR FITOEXTRACCIÓN

En la bioacumulación, la localización de las nanopartículas se basa en la presencia de enzimas o proteínas particulares implicadas. La recuperación de estas nanopartículas a partir de tejidos de plantas es tedioso y caro y necesita enzimas para degradar los materiales celulósicos, que lo rodea. (Narayanan y Sakthivel, 2011a).

Marshall et al., 2007 describió aunque no con mucho éxito como la enzima 1- $\beta$ -endoglucanasa de *Trichoderma viridae* (Cellulysin, Calbiochem) se utilizó para digerir la biomasa de la planta, con el fin de concentrar las partículas de oro dentro de las células

La digestión enzimática solubiliza 55-60% en peso de la materia vegetal seca dentro de las 24 horas (media de 57% en peso de más de 5 a 48 h). Por comparación, las muestras de control sin enzima mostraron una menor degradación, a pesar de la eliminación observada de alrededor de 40-50% en peso es mayor de lo esperado. Sin embargo, a partir de una comparación visual de la biomasa degradada de las digestiones con enzimas y de control, estaba claro que la enzima causaba mayor desglose de la biomasa comparada con las muestras de control todavía contenía grandes porciones de las estructuras vegetales identificables. Se han llevado a cabo experimentos a gran escala para un máximo de 7 días y no se ha encontrado mejoría en la digestión después de las primeras 24 h.

**Figura 23. Remoción de biomasa de Brassica juncea**



Fuente Marshall et al., 2007

No se ha tenido éxito en la eliminación de la mayoría de la masa vegetal usando una sola etapa de la digestión 1- $\beta$ -endoglucanasa. Se cree que parte de la razón de esto es que el material vegetal inicial también contiene una gama de otros materiales no solubles, tales como la lignina. Lignina adicional se puede producir como una respuesta al estrés

Marshall et al., 2007 encontró que el oro fácilmente se puede sinterizar debido a su bajo punto de fusión en la calcinación. Por lo tanto, se utilizó la digestión enzimática de las plantas por 1- $\beta$  endoglucanasa de *Trichoderma viridae* para la concentración de oro de la biomasa de la planta. Por lo tanto, las nanopartículas de oro acumulados se pueden usar como bio-catalizador para diversas reacciones químicas. Además que el aumento de la actividad catalítica fue evidente con la disminución de tamaño de partícula.

## 9. CONCLUSIONES

- América Latina constituye un reservorio potencial de especies hiperacumuladoras de metales tanto por la variedad ecológica como por la explotación artesanal de metales preciosos desde la época de la conquista. Esfuerzos mancomunados de los gobiernos deberían hacerse en Ciencia y Tecnología para explotar este recurso y ser competitivos en el mercado de nuevas tecnologías limpias.
- Los métodos de producción de <arriba hacia abajo> implican un riesgo para el medio ambiente por el uso de sustancias peligrosas además de ser bastante costosos. Dada la creciente demanda por el uso de nuevos nanomateriales y por la necesidad de incorporar sistemas limpios de producción, la síntesis biológica debería incentivarse para su uso a gran escala.
- La biosíntesis de nanopartículas de oro es posible realizarla a través de diferentes entidades biológicas. No obstante el uso de plantas y sus extractos se han convertido en una alternativa promisorio debido a los bajos costos de fabricación y a la posibilidad de obtener diferentes formas y tamaños variando algunas propiedades físicoquímicas y nutricionales.
- Para obtener nanopartículas metálicas monodispersas, el tiempo de contacto de la sal de oro con el extracto es importante, debido a que las especies iónicas deben ser reducidas rápidamente a especies metálicas seguidas por la conversión a núcleos estables.
- Según Gan y Yau Li no hay ninguna explicación concluyente sobre el efecto del pH en la formación de nanopartículas. Debido a que en diferentes

estudios no ha habido concordancia entre si el pH actúa como una variable dependiente o independiente.

- Los flavonoides, esteroides, alcaloides, terpenoides, ácidos fenólicos parecen ser los responsables de la bio-reducción del Au<sup>+3</sup> a Au metálico. Posiblemente por una coordinación existente entre los iones Au<sup>+3</sup> y los átomos de –OH y/o grupos carbonilo.
- Los métodos de caracterización más utilizados para identificar y analizar las propiedades de las nanopartículas son el UV-vis, el TEM y el FT-IR. Sin embargo, si la finalidad del estudio es identificar el plasmón de superficie de las nanopartículas y su morfología. El UV-vis, el SEM y DLS serían los métodos más adecuados además de ser los más económicos.
- La digestión enzimática usada para eliminar la biomasa de la planta y acumular las nanopartículas de oro, tiene el potencial de ser una forma eficaz, económica y ambientalmente amigable. Sin embargo deben realizarse más estudios con el fin de mejorar la tasa de degradación del material vegetal

## REFERENCIAS

- Al-Qadi, S., Remuñán, López., C. 2009. Nanopartículas metálicas: oro. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*. P 223-248.
- Amici, J., Sangermano, M., Celasco, E., & Yagci, Y. (2011). Photochemical synthesis of gold–polyethyleneglycol core–shell nanoparticles. *European Polymer Journal*, 47(6), 1250-1255.
- Anderson, C., Moreno, F., & Meech, J. (2005a). A field demonstration of gold phytoextraction technology. *Minerals Engineering*, 18(4), 385-392.
- Anderson, C., Stewart, B., Wreesmann, C., Smith, G., & Meeh, J. (2005b). Bio-nanotechnology and phytomining: the living synthesis of gold nanoparticles by plants. *Intelligence in a Small Materials World*. P. 336-341
- Armendariz, V., Herrera, I., Jose-yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P., & Gardea-Torresdey, J. L. (2004). Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. *Journal of nanoparticle research*, 6(4), 377-382.
- Arvizo, R., Bhattacharya, R., Mukherjee, P. (2010). Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. *Expert opin drug deliv*. 7(6), 753-63
- A. V. Simakin, V. V. Voronov, and G. A. Shafeev, Nanoparticle Formation During Laser Ablation of Solids in Liquids. *Physics of Wave Phenomena*; 2007, Vol. 15. No. 4, p. 218–240.
- Ayaz Ahmed, K. B., Subramanian, S., Sivasubramanian, A., Veerappan, G., & Veerappan, A. (2014). Preparation of gold nanoparticles using *Salicornia brachiata*

plant extract and evaluation of catalytic and antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 54-58.

Bali, R., & Harris, A. T. (2010). Biogenic synthesis of Au nanoparticles using vascular plants. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(24), 12762-12772.

Bali, R., Siegele, R., & Harris, A. T. (2010). Phytoextraction of Au: Uptake, accumulation and cellular distribution in *Medicago sativa* and *Brassica juncea*. *Chemical Engineering Journal*, 156(2), 286-297.

Beattie, I. R., & Haverkamp, R. G. (2011). Silver and gold nanoparticles in plants: sites for the reduction to metal. *Metallomics*, 3(6), 628-632.

Castellanos, L.J., Blanco-Tirado, C., Hinestroza, J.P., Combariza, M.Y. (2012). In situ synthesis of gold nanoparticles using fique natural as template. *Cellulose*. 19(6), 1933-1943.

Corzo-Lucioni, Alberto. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción  $\text{HAuCl}_4$ . *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 78(2), 79-90.

Cruz, D. A., Rodríguez, M. C., López, J. M., Herrera, V. M., Orive, A. G., & Creus, A. H. (2012). Nanopartículas Metálicas y Plasmones de Superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 67-78.

De la Rosa, G., Torres, J., Parsons, J. G., Peralta-Videa, J. R., Castillo-Michel, H., López, M. L., & Gardea-Torresdey, J. L. (2009). X-ray absorption spectroscopy unveils the formation of gold nanoparticles in corn. *Acta Universitaria*, 19, 76-81.

Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.

Dreaden, E., Austin, Lauren., Mackey, Megan., El-sayed, Mostafa. (2012). Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery. *ther deliv.* 3(4), 457-478.

Dubey, S. P., Lahtinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 364(1), 34-41.

Dwivedi, A. D., & Gopal, K. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 369(1), 27-33.

Dykman, L.A., Khlebtsov, N. G. (2011). Gold nanoparticles in biology and medicine: recent advances and prospects. *Acta Naturae*. 3(2), 34-55.

Environmental Protection Agency (EPA). (2000). Introduction to Phytoremediation. Ohio: EE.UU.

Gallegos-Loya, E., González-Valenzuela, C., Orrantia-Borunda, E., & Duarte-Moller, A. (2011). Detection of As, Cr and Cd in Walnut Trees by Extended X-Ray Absorption Fine Structure Spectroscopy, EXAFS. *Physical Review & Research International*, 1(3), 116-123.

Gan, P. P., & Li, S. F. Y. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(2), 169-206.

Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Gamez, G., Dokken, K., Cano-Aguilera, I., Furenlid, L. R., & Renner, M. W. (2000). Reduction and accumulation of gold (III) by *Medicago sativa* alfalfa biomass: X-ray absorption spectroscopy, pH, and temperature dependence. *Environmental science & technology*, 34(20), 4392-4396.

Gardea-Torresdey, J. L., Parsons, J. G., Gomez, E., Peralta-Videa, J., Troiani, H. E., Santiago, P., & Yacaman, M. J. (2002). Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants. *Nano Letters*, 2(4), 397-401.

Gardea-Torresdey, J. L., Gómez, E., Peralta-Peralta-Videa, J. R., Tiemann, K. J., Parsons, J. G., Troiani, H., & Yacaman, M. J. (2003a). Fitorremediación de metales pesados y formación de nanopartículas usando plantas de alfalfa. *Ciencia en la frontera*, 356(317), 357.

Gardea-Torresdey, J. L. (2003b). Phytoremediation: Where does it stand and where will it go? *Environmental Progress*, 22(1), A2-A7.

Ghoreishi, S. M., Behpour, M., & Khayatkashani, M. (2011). Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Rosa damascene* and its primary application in electrochemistry. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 44(1), 97-104.

Ghormade, V., Deshpande, M. V., & Paknikar, K. M. (2011). Perspectives for nanobiotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology advances*, 29(6), 792-803.

Ginocchio, R., & Baker, A. J. (2004). Metalófitas en América Latina: un recurso biológico y genético único poco conocido y estudiado en la región. *Revista chilena de historia natural*, 77(1), 185-194.

Granmayeh Rad, A., Abbasi, H., & Afzali, M. H. (2011). Gold nanoparticles: synthesising, characterizing and reviewing novel application in recent years. *Physics Procedia*, 22, 203-208.

Haverkamp, R. G., Marshall, A. T., & van Agterveld, D. (2007). Pick your carats: nanoparticles of gold–silver–copper alloy produced in vivo. *Journal of Nanoparticle Research*. 9(4), 697-700.

Haverkamp, R. G., & Marshall, A. T. (2009). The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(6), 1453-1463.

Herrera, Adriana P. (s.f.). Aplicaciones e implicaciones de la nanotecnología en el medio ambiente. Universidad de Cartagena [diapositivas de PowerPoint]

Husen, A., & Siddiqi, K. S. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 229.

ITRC (Interstate Technology & Regulatory Council). (2009). *Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised*. PHYTO-3. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update.

Jiang, J., Oberdörster, G., & Biswas, P. (2009). Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(1), 77-89.

Kharissova, O. V., Dias, H. V., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 31(4), 240-248.

Kumar, V., & Yadav, S. K. (2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of chemical Technology and Biotechnology*, 84(2), 151-157.

Kumar, V., Guleria, P., Kumar, V., & Yadav, S. K. (2013). Gold nanoparticle exposure induces growth and yield enhancement in *Arabidopsis thaliana*. *Science of the Total Environment*, 461, 462-468.

Lamb, A. E., Anderson, C. W. N., & Haverkamp, R. G. (2001). The induced accumulation of gold in the plants *Brassica juncea*, *Berkheya coddii* and chicory. *Chemistry in New Zealand*. 33-36.

Luangpipat, T., Beattie, I. R., Chisti, Y., & Haverkamp, R. G. (2011). Gold nanoparticles produced in a microalga. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(12), 6439-6445.

Madu, A. N, Njoku, P. C, Iwuoha, G. N. and Agbasi, U. M. Synthesis and characterization of gold nanoparticles using 1-alkyl, 3-methyl imidazolium based ionic liquids. *International Journal of Physical Sciences*; 2011, Vol. 6(4), p. 635-640

Marchiol, L., Mattiello, A., Pošćić, F., Giordano, C., & Musetti, R. (2014). In vivo synthesis of nanomaterials in plants: location of silver nanoparticles and plant metabolism. *Nanoscale research letters*, 9(1), 1-11.

Marshall, A. T., Haverkamp, R. G., Davies, C. E., Parsons, J. G., Gardea-Torresdey, J. L., & van Agterveld, D. (2007). Accumulation of gold nanoparticles in *Brassic juncea*. *International journal of phytoremediation*, 9(3), 197-206.

Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.

Moctezuma, A. Rico., A. R. Vilchis, Nestor. V. Sánchez, Mendieta, M. Avalos, Borja., M. A., Camacho-López. (2010). Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de *Opuntia ficus-indica*. *Superficies y Vacío* 23(S) 94-97

Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Phytosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. *Materials characterization*, 61(11), 1232-1238.

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2011a). Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Advances in colloid and interface science*, 169(2), 59-79.

Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2011b). Synthesis and characterization of nano-gold composite using *Cylindrocladium floridanum* and its heterogeneous catalysis

in the degradation of 4-nitrophenol. *Journal of hazardous materials*, 189(1), 519-525.

Navarro, D. A., Bisson, M. A., & Aga, D. S. (2012). Investigating uptake of water-dispersible CdSe/ZnS quantum dot nanoparticles by *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of hazardous materials*, 211, 427-435.

Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Alonso, R. A., & Zermeño-González, A. (2009). Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. En Benavides-Mendoza, Adalberto (Comp). Temas modernos de nutrición vegetal (pp.124-147). Recuperado de [http://www.abenmen.com/a/Nutricion\\_Vegetal\\_2009.pdf](http://www.abenmen.com/a/Nutricion_Vegetal_2009.pdf)

Pardha-Saradhi, P., Yamal, G., Peddisetty, T., Sharmila, P., Singh, J., Nagarajan, R., & Rao, K. S. (2014). Root system of live plants is a powerful resource for the green synthesis of Au-nanoparticles. *RSC Advances*, 4(14), 7361-7367.

Parsons, J. G., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2007). Use of plants in biotechnology: synthesis of metal nanoparticles by inactivated plant tissues, plant extracts, and living plants. *Developments in Environmental Science*, 5, 463-485.

Rodriguez, E., Parsons, J. G., Peralta-Videa, J. R., Cruz-Jimenez, G., Romero-Gonzalez, J., Sanchez-Salcido, B. E., ... & Gardea-Torresdey, J. L. (2007). Potential of *Chilopsis linearis* for gold phytomining: using XAS to determine gold reduction and nanoparticle formation within plant tissues. *International journal of phytoremediation*, 9(2), 133-147.

Rosano-Ortega, G., Munive-Olarte, A., Vega-Lebrún, C. A., Schabes-Retchkiman, P., & Gallegos, S. M. síntesis de puntos cuánticos a través de un método sustentable.

Schröfel, A., & Kratošová, G. (2011). Biosynthesis of Metallic Nanoparticles and Their Applications. In *Intracellular Delivery* (pp. 373-409). Springer Netherlands.

Sharma, N. C., Sahi, S. V., Nath, S., Parsons, J. G., Gardea-Torresde, J. L., & Pal, T. (2007). Synthesis of plant-mediated gold nanoparticles and catalytic role of biomatrix-embedded nanomaterials. *Environmental science & technology*. 41(14), 5137-5142.

Sheoran, V., S Sheoran, A., & Poonia, P. (2013). Phytomining of gold: A review. *Journal of Geochemical Exploration*, 128, 42-50.

Silva, M. D. S., Cocenza, D. S., Grillo, R., Melo, N. F. S. D., Tonello, P. S., Oliveira, L. C. D., ... & Fraceto, L. F. (2011). Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. *Journal of hazardous materials*, 190(1), 366-374.

Spivak, MY., Bubnov, RV., Yemets, IM., Lazarenko, LM., Tymoshok, NO., Ulberg, ZR. (2013). Gold nanoparticles - the theranostic challenge for ppm: nanocardiology application. *epma j*. 4(1), 18.

Sujitha, M. V., & Kannan, S. (2013). Green synthesis of gold nanoparticles using Citrus fruits (*Citrus limon*, *Citrus reticulata* and *Citrus sinensis*) aqueous extract and its characterization. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 102, 15-23.

Takahashi, M., Ohno, S., Fujita, N., Sengoku, T., & Yoda, H. (2011). Spontaneous formation of dye-functionalized gold nanoparticles using reverse micellar systems. *Journal of colloid and interface science*, 356(2), 536-542.

Tortora, Gerard J., Funke, Berdell R. y Case, Cristina L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Wilson-Corral, V., Anderson, C., Rodriguez-Lopez, M., Arenas-Vargas, M., & Lopez-Perez, J. (2011). Phytoextraction of gold and copper from mine tailings with *Helianthus annuus* L. and *Kalanchoe serrata* L. *Minerals Engineering*, 24(13), 1488-1494.

Wilson-Corral, V., Anderson, C. W., & Rodriguez-Lopez, M. (2012). Gold phytomining. A review of the relevance of this technology to mineral extraction in the 21st century. *Journal of environmental management*, 111, 249-257.

Wing, C. E. G. (2006). Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial. *El Inin Hoy, Contacto Nuclear*, 24-29.

Zanella, Rodolfo. (2012). Metodologías para la Síntesis de Nanopartículas: Controlando Forma y Tamaño. *Mundo Nano*, 5(1), recuperado de [www.mundonano.unam.mx](http://www.mundonano.unam.mx).

Zayed, M. F., & Eisa, W. H. (2014). Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; controlled synthesis and catalytic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 121, 238-244.

Zhang, L., & Fang, M. (2010). Nanomaterials in pollution trace detection and environmental improvement. *Nano Today*, 5(2), 128-142.

## ANEXOS

### ANEXO A. Plantas usadas en la síntesis biológica de nanopartículas de oro y plata Por (Gan y Yau Li, 2014)

**Table 1** Plants used in biological synthesis of gold and silver nanoparticles

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Mangifera indica</i> leaf	Au	20-17 nm	Spherical	Extracellular	Flavonoids, terpenoids, thiamine	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 5 × 10 <sup>-4</sup> M Reaction time: 2 min Room temperature Factors affecting the color of nanoparticles studied: (1) pH pH 2.0: brown pH 3.0: purplish-pink pH 4.0: ruby red pH 5.0: dark reddish (2) Varying gold chloride concentration 1.0 mM: purplish-pink 0.5, 0.25, 0.125 mM: varying shade of purples (3) Varying biomass concentration 10 mg ml <sup>-1</sup> : purplish pink 1.0 mg ml <sup>-1</sup> : dark ruby 2.0 mg ml <sup>-1</sup> : light ruby 4.0 mg ml <sup>-1</sup> : dark reddish brown 5.0 mg ml <sup>-1</sup> : pink (4) Temperature 40 °C: orangish-brown 60 °C: yellowish-brown 80 °C: purplish-pink 100 °C: pinkish-brown	Philip (2010c)
Banana peels ( <i>Musa paradisiaca</i> ) extract	Au	10-20 μm	Nanoplates, microcubes, triangles and hexagon in patterned nanowire	Extracellular	Proteinaceous matter in peels		Bankar et al. (2010)
<i>Acanthella elongata</i> extract	Au	7-20 nm	Spherical	Extracellular	Secondary metabolites from the extract of sponge <i>A. elongata</i>	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Temperature: 45 °C Reaction time: 4 h	Inbakandan et al. (2010)
Sugar beet pulp	Au	20-160 nm	Irregular shapes	Extracellular	Proteins in sugar beet pulp	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 0.5 × 10 <sup>-3</sup> M Room temperature Reaction time: 48 h Factors affecting the color of nanoparticles studied: (1) pH pH 2.0, 4.0: blue to colorless pH 7.0, 10.0: blue to reddish	Castro et al. (2010)

Table 1 continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
Pear fruit extract	Au	200–500 nm	Plate-like gold nanostructures with shapes including triangular and hexagonal	Extracellular	Alkaline-responsive phytochemicals (such as amino acids, organic acids, peptides, and/or proteins)	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : $2 \times 10^{-3}$ M Reaction time: 30 min Temperature: 30 °C Factors affecting the shapes of nanoparticles studied: (1) pH pH 4: triangular (7 %), partially hexagonal/spherical (32 %), others (61 %) pH 9: triangular (22 %), hexagonal (37 %), others (41 %)	Ghodake et al. (2010)
Rosa hybrid petal extract	Au	10 nm	Polydisperse nanoparticles with spherical, triangular and hexagonal shapes	Extracellular	Sugars and proteins	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : $2 \times 10^{-3}$ M Reaction time: <5 min Room temperature	Noruzi et al. (2011)
Live alfalfa plants	Au	6–10 nm	Icosahedrons with FCC twined structure	Intracellular	Nucleation of Au nanoparticles occurred inside living plants. Individual compounds responsible for the biosynthesis was not identified	Synthetic conditions: KAuCl <sub>4</sub> : 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 ppm Reaction time: 2 weeks Temperature: 25/18 °C day/night	Gardea-Torresdey et al. (2002a)
<i>Nyctanthes arborescens</i> ethanolic flower extract	Au	19.8 ± 5.0 nm	Spherical	Extracellular	Phytochemicals such as alkaloids and flavanoids	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : $10^{-3}$ M Reaction time: 30 min Temperature: 80 °C Factors affecting the shapes of nanoparticles studied: (1) Temperature 25 °C: Mixture of triangular, pentagonal, rod shaped and spherical nanoparticles 80 °C: predominantly spherical particles	Das et al. (2011a)
<i>Coleus amboinicus</i> Lour leaf extract	Au	4.6–55.1 nm	Spherical, triangle, truncated triangle, hexagonal and decahedral	Extracellular	Aromatic amine, amide (II) groups and secondary alcohols	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : $10^{-3}$ M Reaction time: 1 h Temperature: 30 °C	Narayanan and Sakthivel (2010b)

**Table 1** continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
Oat ( <i>Avena sativa</i> )	Au	5–20 nm	Fcc tetrahedral, hexagonal platellets, irregular shaped, rod shaped, decahedral multiple twined, icosahedral multiple twined nanostructures	Extracellular	Functional groups present in the cell walls of the inactivated tissues of the plant such as carboxyl, amino and sulphydryl	Synthetic conditions: KAuCl <sub>4</sub> : $0.1 \times 10^{-3}$ M Reaction time: 1 h Factors affecting the sizes of nanoparticles studied: pH pH 3, 4; 5–20 nm pH 2: 25–85 nm (small quantities) pH 5: slightly larger than those obtained at pH 3 and 4	Armendariz et al. (2004)
Sesbania seedlings	Au	6–20 nm	Spherical	Intracellular	Alkaloids or other secondary metabolites	Synthetic conditions: KAuCl <sub>4</sub> : 0–200 mg L <sup>-1</sup> Reaction time: 0–6 days pH 4.8	Sharma et al. (2007)
Korean red ginseng root ( <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer)	Au	16.2 ± 3.0 nm	Spherical	Extracellular	Ginsenosides, flavonones, and starch	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 0.1 M Reaction time: 1–2 h (sonication) 1 g of Korean red ginseng to 1 mL of 0.1 M H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub>	Leonard et al. (2011)
<i>Madhuca longifolia</i> extract	Au	7 nm–3 µm	Triangular nanoplates (pH 2.0) Spherical (pH 10.0)	Extracellular	Proteins (Tyrosine)	Factors affecting the sizes of nanoparticles studied: (1) Addition of NaBH <sub>4</sub> during synthesis process With NaBH <sub>4</sub> : Aggregation with increasing pH Without NaBH <sub>4</sub> (ginseng only): No noticeable change in the pH window of 2–10 Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 mM Reaction time: formation of particles <2 h Temperature: 303 K	Mohammed Fayaz et al. (2011)
<i>Medicago sativa</i> seed exudates	Ag	5–51 nm	Spherical	Extracellular	Quercetin and other phenolic compounds (apigenin, catechin, kaempferol etc.)	pH 2.0 and 10.0 Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 10 mM Room temperature Reaction time: <50 min for 90 % yield pH 5.5 Factors affecting the size of nanoparticles studied: (1) pH pH 11.0: 11.5 nm ± 4.2 nm pH 2.0: no reaction	Lukman et al. (2011)

**Table 1** continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Syzygium aromaticum</i> leaf and seed extract	Ag	30-92 nm	Spherical	Extracellular	Polyphenols in plant extracts	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> :10 <sup>-3</sup> M Room temperature Reaction time: 24 h Factors affecting the sizes and structures of nanoparticles studied: (1) Reaction time 3 h; 15 nm 24 h; 20 nm (saturation) (2) Leaf broth concentration Increases Ag nanoparticles (≈14 nm) conversion with increasing leaf broth concentration (3) Temperature 25 °C: less crystalline 95 °C: highly polycrystalline (higher rate of reduction)	Kumar et al. (2010b)
<i>Lippia citrodora</i> leaves extract ( <i>Lemon verbana</i> )	Ag	15-30 nm	Spherical	Extracellular	Verbascoside, isoverbascoside, luteolin, and chrysoeriol-7-O-diglucuronide	Factors affecting the sizes and structures of nanoparticles studied: (1) Reaction time 3 h; 15 nm 24 h; 20 nm (saturation) (2) Leaf broth concentration Increases Ag nanoparticles (≈14 nm) conversion with increasing leaf broth concentration (3) Temperature 25 °C: less crystalline 95 °C: highly polycrystalline (higher rate of reduction)	Cruz et al. (2010)
<i>Curcuma longa</i> tuber powder and extract	Ag	71-80 nm (160 h reaction period); 21-30 nm (24 h reaction period)	Decahedral, triangular, spherical and ellipsoidal	Extracellular	Complex polyols and proteins in the biomass	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Reaction time Increase Ag conversion with increasing reaction time 24 h: 21-30 nm 168 h: 71-80 nm (2) Dosage of biomass/extract Increase Ag conversion with increasing dosage (3) pH (1-11) acidic pH: large-sized nanoparticles Alkaline pH: small-sized nanoparticles (4) Temperature (20-60 °C) Particle size increases with increasing temperature Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 40, 80, 160, 320 ppm pH 5.8 Reaction time: 9 days (12 h light/12 h dark) Temperature: 25/18 °C day/night	Sathishkumar et al. (2010)
<i>Alfalfa</i> Sprouts	Ag	2-20 nm	Spherical	Intracellular	Nucleation of Au nanoparticles occurred inside living plants. Individual compounds responsible for the biosynthesis was not identified	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Reaction time Increase Ag conversion with increasing reaction time 24 h: 21-30 nm 168 h: 71-80 nm (2) Dosage of biomass/extract Increase Ag conversion with increasing dosage (3) pH (1-11) acidic pH: large-sized nanoparticles Alkaline pH: small-sized nanoparticles (4) Temperature (20-60 °C) Particle size increases with increasing temperature Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 40, 80, 160, 320 ppm pH 5.8 Reaction time: 9 days (12 h light/12 h dark) Temperature: 25/18 °C day/night	Gardea-Torresdey et al. (2003)

Table 1 continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Citrus lemon</i> extract	Ag	<50 nm	Spherical and spheroidal	Extracellular	Citric acid and some bio-organics present in the lemon juice	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 10 <sup>-2</sup> M Reaction time: 4 h Temperature: 30 °C Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Mixing ratios between lemon juice and AgNO <sub>3</sub> solutions. Increasing ratio lead to decrease in particle size	Prathna et al. (2011)
<i>Nelumbo nucifera</i> leaf extract	Ag	25–80 nm	Spherical, triangle, truncated triangles, and decahedral	Extracellular	Protein	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 10 min Room temperature	Santhoshkumar et al. (2010)
Black pepper seed extract	Ag	20–50 nm	Spherical	Extracellular	Alkaloid piperine (or few basic amino acids or both)	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 10 × 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 2 h Room temperature pH 12	Shukla et al. (2010)
<i>Cinnamon zeylanicum</i> bark extract and powder	Ag	31–40 nm	Quasi-spherical and small, rod-shaped	Extracellular	Water-soluble organics	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 1 × 10 <sup>-3</sup> M Temperature: 25 °C Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Reaction time: 2–168 h: conversion of Ag increased with increasing reaction time. (2) Dosage of biomass/extract Conversion of Ag increased with increasing dosage. (No marked difference in shapes observed) (3) pH (1–11) Low pH: large nanoparticles High pH: highly dispersed, small nanoparticles. (More of spherical)	Sathishkumar et al. (2009)
<i>Geranium</i> Leaf extract	Ag	16–40 nm	Spherical (small percentage being ellipsoidal)	Extracellular	Proteins/enzymes and secondary metabolites such as terpenoids	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 1 × 10 <sup>-3</sup> M Temperature: 25 °C Reaction time: 9 h (>90 %)	Shankar et al. (2003)

**Table 1** continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
Barbated skullcup herb extract	Au	5–30 nm	Spherical and triangular	Extracellular	Sugars or other biomolecules	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 mM Room temperature Reaction time: 3 h pH 5.4 Factors affecting the size of nanoparticles studied: (1) Temperature 25 °C; 110 nm 60 °C; 50 nm 95 °C; 40 nm (2) Leaf broth concentration 10–50 %: Particle size decrease with increasing broth concentration Factors affecting the size of nanoparticles studied: (1) pH (4.1–7.6): Effect on Au(III) was not evident. (2) Flavonoids: conversion of Au(III) increase with increasing flavanoids content (3) Reducing sugars: Conversion of Au(III) increases with increasing content of reducing sugars (4) Proteins: Poor correlation with the conversion of Au(III)	Wang et al. (2009)
Magnolia kobus and Diopyros kaki leaf extracts	Au	5–300 nm	Spherical (95 °C) and mixture of plates with triangles, pentagons and hexagons (25, 60 °C)	Extracellular	Proteins, metabolites such as terpenoids		Song et al. (2009)
Foliar broth from 24 kinds of randomly selected plant leaves	Au	Not mentioned	Spherical and triangular	Extracellular	Flavonoids and reducing sugars (reductants); Proteins (protection agent)		Zhou et al. (2010)
Anti-maglinant guava leaf ( <i>Psidium guava</i> )	Au	27–35 nm	Spherical, hexagonal, triangular	Extracellular	Flavonoids		Raghunandan et al. (2009)
Coriander leaf extract	Au	6.75–57.91 nm	Spherical, triangle, truncated triangles and decahedral	Extracellular	Proteins	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 5 min (>90 % yield) Temperature: 27 °C	Narayanan and Sakthivel (2008)

**Table 1** continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Cassia fistula</i> leaf	Ag	50–60 nm	Nanowires	Extracellular	Some water-soluble polyhydroxy components such as alkaloids, flavonoids and polysaccharose	<p>Synthetic conditions:  <math>\text{AgNO}_3</math>: <math>2 \times 10^{-3}</math> M                      Temperature: 30 °C                      Reaction time: 48 h                      pH 5.4</p> <p>Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied:                      (1) Reaction time:                      4–8 h: increasing intensity for peak at 2430 nm                      12–24 h: Formation of short nanowires (with diameter from 50 to 60 nm)                      48 h: long nanowires with average diameter of 60 nm</p> <p>(1) Temperature                      60 °C: only spherical nanoparticles and short nanorods were obtained</p> <p>Synthetic conditions:  <math>\text{AgNO}_3</math>: <math>2.5 \times 10^{-2}</math> M                      Warmed at 40 °C for 10 min and left at room temperature for 4 h</p>	Lin et al. (2010)
(a) <i>Xerophyte</i> extract ( <i>Bryophyllum</i> sp.)	Ag	2–5 nm	FCC unit cell structure	Extracellular	Metabolites (like organic acids and quinones) or metabolic fluxes and other oxido-reductively labile metabolites like ascorbates or catechol/photocatacheutic acid.	<p>Synthetic conditions:                      Warmed at 40 °C for 10 min and left at room temperature for 4 h</p>	Jha et al. (2009)
(b) <i>Mesophyte</i> extract ( <i>Cypripis</i> sp.)	Ag	5–35 nm;	Au: thin, planar structures (predominantly triangular with small percentage of hexagonal shapes)	Extracellular	Flavonones and terpenoids	<p>Synthetic conditions:  <math>\text{AgNO}_3</math>: <math>10^{-3}</math> M (Ag nanoparticles)  <math>\text{HAuCl}_4</math>: <math>10^{-3}</math> M (Au nanoparticles)                      1 : 1 <math>10^{-3}</math> M of <math>\text{AgNO}_3</math> and <math>\text{HAuCl}_4</math> (Ag–Au bimetallic nanoparticles)                      Reaction time</p>	Shankar et al. (2004a)
(c) <i>Hydrophyte</i> extract ( <i>Hydrilla</i> sp.)	Ag–Au, and bimetallic Ag–Au	50–100 nm;	Ag: Spherical Ag–Au: Spherical (large particles associated with	Extracellular	Flavonones and terpenoids	<p>Synthetic conditions:  <math>\text{AgNO}_3</math>: <math>10^{-3}</math> M (Ag nanoparticles)  <math>\text{HAuCl}_4</math>: <math>10^{-3}</math> M (Au nanoparticles)                      1 : 1 <math>10^{-3}</math> M of <math>\text{AgNO}_3</math> and <math>\text{HAuCl}_4</math> (Ag–Au bimetallic nanoparticles)                      Reaction time</p>	Shankar et al. (2004a)
Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) leaf broth	Ag–Au, and bimetallic Ag–Au	50–100 nm;	Ag: Spherical Ag–Au: Spherical (large particles associated with	Extracellular	Flavonones and terpenoids	<p>Synthetic conditions:  <math>\text{AgNO}_3</math>: <math>10^{-3}</math> M (Ag nanoparticles)  <math>\text{HAuCl}_4</math>: <math>10^{-3}</math> M (Au nanoparticles)                      1 : 1 <math>10^{-3}</math> M of <math>\text{AgNO}_3</math> and <math>\text{HAuCl}_4</math> (Ag–Au bimetallic nanoparticles)                      Reaction time</p>	Shankar et al. (2004a)

Table 1 continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/ intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Ocimum sanctum</i> leaf extract	Au and Ag	Au: ~30 nm; Ag: 10–20 nm	Au: hexagonal; Ag: nearly spherical	Extracellular	Flavonoids and terpenoids (biomolecules responsible for capping and stabilization of Au and Ag nanoparticles are different)	Synthetic conditions: <i>Au nanoparticles</i> HAuCl <sub>4</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 15 min Room temperature <i>Ag nanoparticles</i> AgNO <sub>3</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 30 min 300 and 373 K	Philip and Unni (2011)
<i>Sorbus aucuparia</i> leaf extract	Au and Ag	Au: ~18 nm; Ag: ~16 nm	Spherical, triangular and hexagonal	Extracellular	Sorbic acid and its salts	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 <sup>-3</sup> M AgNO <sub>3</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 15 min Room temperature Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Leaf extract quantity Decrease in particle size and increase in formation of nanoparticles for both Ag and Au with increasing leaf extract quantity. (2) Metal ions concentration (10 <sup>-4</sup> –10 <sup>-2</sup> M) Increase in particle size and decrease in the formation of nanoparticles with increasing metal concentration. (1) Temperature (25–150 °C) Increase in rate of formation of nanoparticles at higher temperature. (2) Contact time (15 min–24 h) Reaction started within 15 min and increased up to 4 h. (3) pH (2–10) Au and Ag nanoparticles are stable under a wide pH range	Dubey et al. (2010)

Table 1 continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
<i>Chenopodium album</i> leaf extract	Au and Ag	10–30 nm	Quasi-spherical,	Extracellular	Oxalic acids	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: (1) Leaf extract quantity Decrease in particle size for both Ag and Au with increasing leaf extract quantity. (2) Metal ions concentration (0.1–5 mM) Increase in particle size and decrease in the formation of nanoparticles with increasing metal concentration. (3) Temperature (25–150 °C) Increase in rate of formation of nanoparticles at higher temperature. (4) Contact time (15 min–2 h) Reaction started within 15 min and increased up to 2 h. (5) pH (2–10) Au and Ag nanoparticles are stable under a wide pH range	Dwivedi and Gopal (2010)
Edible mushroom ( <i>Volvariella volvacea</i> ) extract	Au and Ag and bimetallic Au–Ag	Au: 20–150 nm; Ag: ~ 15 nm	Au: triangular, nearly spherical and hexagonal; Ag: spherical	Extracellular	Polysaccharide/oligosaccharide and proteins/enzymes	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: <i>Au nanoparticles</i> (1) Leaf extract Decrease in triangular particles and increase in hexagonal and spherical shapes with increasing leaf extract quantity. (2) Temperature 313 K: Almost hexagonal 353 K: dendrite/fractal structures <i>Ag nanoparticles</i> (3) Leaf extract Increases in the formation of Ag nanoparticles with increasing leaf extract quantity. Closed chain structures were observed when high leaf extract quantity was added. Au–Ag bimetallic (4) Leaf extract Increase in the formation of Au–Ag structures with increasing leaf extract quantity	Philip (2009)

Table 1 continued

Plants	Nanoparticles produced	Size	Morphology	Extracellular/intracellular	Possible biomolecules involved	Synthetic conditions and effects of various factors	References
Natural precursor clove ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	Au and Ag	Au: triangular edge lengths of 50–70 nm Ag: ~13 nm	Au: triangular (mainly), various other shapes Polygonal, irregular	Extracellular	Eugenol	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: <i>Au nanoparticles</i> 1) Clove extract Decrease in particle size with increasing clove extract quantity. Irregular shaped, large Au nanoparticles (100–300 nm) formed when low clove extract quantity was used. <i>Ag nanoparticles</i> Decrease in particle size with decreasing clove extract	Singh et al. (2010)
<i>Hibiscus rosasinensis</i> leaf extract	Au and Ag	Au: ~14 nm (spherical); Ag: ~13 nm	Au: triangular, hexagonal, dodecahedral and spherical; Ag: spherical	Extracellular	Proteins (Au: through free amine groups; Ag: through free carboxylate groups)	Factors affecting the sizes and conversion of nanoparticles studied: <i>Au nanoparticles</i> (1) Leaf extract Decrease in triangular particles and increase in dodecahedral and spherical shapes with increasing leaf extract quantity. <i>Ag nanoparticles</i> (2) pH (6.8–8.5) pH 7.5: nearly spherical particles (~13 nm) Higher or lower pH: large anisotropic nanoparticles	Philip (2010a)
<i>M. piperita</i> leaf extract	Ag and Au	Ag: 90 nm; Au: 150 nm	Spherical	Extracellular	Phytochemicals in the extract	Synthetic conditions: HAuCl <sub>4</sub> : 10 <sup>-3</sup> M AgNO <sub>3</sub> : 10 <sup>-3</sup> M Reaction time: 24 h Temperature: 28 °C	MubarakAli et al. (2011)
Coffee and tea extract	Ag and Pd	5–100 nm	Mostly spherical	Extracellular	Polyphenols and caffeine	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 0.1 N PdCl <sub>2</sub> : 0.1 N Reaction time: 120 min Room temperature	Nadagouda and Varma (2008)
Sorghum Bran	Fe and Ag	Ag: ~10 nm; Fe: 40–50 nm	Ag: spherical crystalline; Fe: amorphous	Extracellular	Polyphenols, policosanols, and other biomolecules such as flavonoids and phenolic acids	Synthetic conditions: AgNO <sub>3</sub> : 0.1 M FeCl <sub>3</sub> : 0.1 M Reaction time: 1 h Room temperature	Njagi et al. (2011)