



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE
POSGRADO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



Maestría en Ingeniería Química

“BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO A
PARTIR DE EXTRACTOS DE LA PLANTA
HIPPOCRATEA EXCELSA KUNTH, EVALUACIÓN
DE SU PROPIEDAD FOTOCATALÍTICA Y
ANTIOXIDANTE”

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

CRISTIAN NUÑEZ DELGADO

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. NANCY TEPALE OCHOA

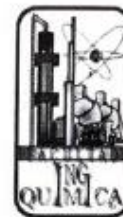
ASESOR DE TESIS:

DR. ADÁN LUNA FLORES

H. Puebla de Z., enero de 2023



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA



ACTA DE REVISIÓN, LIBERACIÓN E IMPRESIÓN DE TESIS

Nombre del estudiante: Cristian Nuñez Delgado

Matrícula: 220470301

Nombre del director: Dra. Nancy Tepale Ochoa

Nombre del codirector: Dr. Adán Luna Flores

Título de la Tesis:

"BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO A PARTIR DE EXTRACTOS DE LA PLANTA
HIPPOCRATEA EXCELSA KUNTH, EVALUACIÓN DE SU PROPIEDAD FOTOCATALÍTICA Y
ANTIOXIDANTE"

Comisión Revisora:

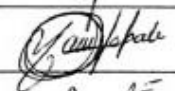
Presidente: Dr. Daniel Cruz González

Firma: 

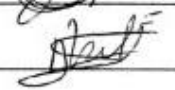
Secretario(a): Dra. Alejandra L. Conde Hernández

Firma: 

Vocal (1): Dra. Nancy Tepale Ochoa

Firma: 

Vocal (2): Dr. Adán Luna Flores

Firma: 

Los integrantes de la Comisión Revisora expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de maestría que presenta el estudiante arriba indicado, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda con la impresión definitiva de la tesis y que el (la) estudiante presente su defensa y examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha de examen: 30 de enero de 2023

Hora: 11 → 13 hrs

Día de la semana: Lunes

Lugar: FIQ7-105

Revisa y Autoriza: Sello de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado. - FIQ. - BUAP

Agradecimientos

Doy gracias a Dios por haberme dado una familia que ha creído en mí y me han dado un ejemplo de humildad, de superación y sacrificio, enseñándome a valorar todo lo que tengo. A ellos dedico el presente trabajo porque han fomentado en mí el deseo de superación y de triunfo en la vida, lo que ha contribuido a la consecución de este logro. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

Doy gracias a mis asesores, jurados y colaboradores, gracias por su amabilidad para facilitarme su tesis, su tiempo y sus ideas. Por su orientación, y atención a mis consultas sobre metodología, mi agradecimiento a la Dra. Nancy Tepale Ochoa, al Dr. Adán Luna Flores, a la Dra. Alejandra Lilia Conde Hernández, al Dr. Daniel Cruz González, a la Dra. Anabel Romero López, a la Dra. Esmeralda Vidal Robles, a la Mtra. Ma. Gpe. Tita Vázquez Espinosa de los Monteros, al Dr. Álvaro Sampieri Croda, al Dr. Alejandro Escobedo Morales, a las Dras. Claudia y Verónica Santacruz Vázquez, al Dr. Irving Israel Ruiz López, a la Dra. María Eunice De Anda Reyes, a la Dra. Aneth Gisela Botello Ojeda y a los doctores que me han formado desde la licenciatura a la maestría ¡gracias! También agradezco a mis amigos de generación, de trabajo y de platica por su apoyo, motivación y compañía, a la BUAP, a la VIEP, al IFUAP, a la dirección general de bibliotecas (DGB) y al CONACYT.

"Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Eje IV. Modelo de Investigación abierta y compartida. Objetivo 1. Formar recursos humanos que impacten positivamente el contexto social y científico como consecuencia de su accionar en una comunidad para lograr una educación desarrolladora de la transformación. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2021-2025".

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	4
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	13
JUSTIFICACIÓN	13
HIPÓTESIS	14

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Nanotecnología	15
1.2 Nanopartículas NP	16
1.3 Bio-nanotecnología	17
1.4 Síntesis de NP	19
1.4.1 Métodos convencionales	20
1.4.2 Métodos verdes	20
1.5 Fotocatálisis	23
1.6 Actividad antioxidante	24
1.7 La planta Cancerina < <i>Hippocratea excelsa</i> H.B.K. >	25
1.8 Estado del arte	27
1.8.1. Biosíntesis de AuNP	27
1.8.2 Degradación fotocatalítica	36
1.8.3 Actividad antioxidante	38

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Obtención del extracto de <i>H. excelsa</i>	44
2.2 Síntesis de AuNP	44

2.3 Caracterización de las AuNP	45
2.3.1 Espectroscopia UV-VIS	45
2.3.2 Dispersión de luz dinámica (DLS)	46
2.3.3 Potencial Z	46
2.3.4 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)	47
2.4 Pruebas fotocatalíticas	47
2.5 Pruebas Antioxidantes: ABTS y DPPH	49

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

3.1 Espectroscopia UV-Vis	51
3.1.1 Síntesis de AuNP variando la cantidad de extracto de <i>H. excelsa</i> ..	51
3.1.2 Síntesis de AuNP variando la concentración del precursor metálico	59
3.2 Dispersión de luz dinámica (DLS)	62
3.3 Microscopia electrónica de transmisión (TEM)	65
3.4 Lavado de AuNP	67
3.4.1 UV-Vis y DLS	67
3.4.2 Potencial Z (PZ)	69
3.5 Pruebas de fotocatálisis	70
3.6 Pruebas de actividad antioxidante	78
CONCLUSIONES.....	81
ANEXO	83
REFERENCIAS	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Beneficios de la síntesis verde.	17
Figura 1.2. Esquema general de la formación de NP de diferentes fuentes.	20
Figura 1.3. a) Tallo y hojas y (b, c y d) corteza de la raíz de <i>H. excelsa</i>	25
Figura 1.4. Procedimiento de síntesis de AuNP utilizando extracto de fruta de <i>Litsea cubeba</i>	27
Figura 1.5. Espectros de absorción UV-Vis de LC-AuNP sintetizadas a (a) diferentes concentraciones de HAuCl ₄ , (b) diferentes tiempos de reacción y (c) diferentes temperaturas de reacción.	30
Figura 1.6. Espectros FTIR de extracto de fruta LC y AuNP con capuchón de extracto de fruta LC.	31
Figura 1.7. Distribuciones de diámetro de dispersión de luz dinámica de AuNP biosintetizadas.	32
Figura 1.8. Imagen TEM de las AuNP biosintetizadas.	32
Figura 1.9. Imágenes TEM obtenidas de la muestra 1MAu-5 (AuNP biosintetizadas con planta de 1 mes de crecimiento y mayor concentración de oro). Escala de barras 100 nm.	33
Figura 1.10. Análisis de imágenes TEM que exhibe la (a) forma de AuNP sintetizadas observadas predominantemente esféricas, (b) distribución de tamaño de AuNP, (c) un examen detallado de una sola AuNP que muestra un recubrimiento que encapsula las AuNP y (d) un análisis DLS que muestra la distribución de tamaño de las AuNP.	35
Figura 1.11. a) Espectro de absorción que compara la degradación fotocatalítica de AM por AuNP con b) fotografías de la degradación del AM en diferentes intervalos de tiempo.	36
Figura 1.12. Mecanismo de reducción del AM catalizado por AuNP.	37
Figura 1.13. a) Contenido fenólico total y b) contenido total de flavonoides del extracto de <i>N. arvensis</i> y las NA-AuNP a distintas concentraciones (µg/ml).	38
Figura 1.14. Actividad de eliminación de DPPH del extracto de <i>N. arvensis</i> y AuNP en varias concentraciones.	39
Figura 2.1. Diagrama de bloques del método de obtención del extracto de <i>H. excelsa</i>	43

Figura 2.2. Diagrama de bloques del método simple para la producción de AuNP.	44
Figura 2.3. Celda para medir potencial Z llena de AuNP.	46
Figura 3.1. Espectro UV-vis de los blancos.	50
Figura 3.2. a) Extracto de <i>H. excelsa</i> HBK puro, b) extracto de cancerina diluido 1:1, c) solución de HAuCl ₄ a [1 mM]. AuNP sintetizadas con diferentes cantidades de extracto de cancerina diluido: d) 0.6, e) 0.8 y f) 1.0 ml en combinación con la solución de HAuCl ₄ [1 mM] a 23 °C. La fotografía fue tomada a los 125 min.	51
Figura 3.3. Espectros UV-vis de las AuNP obtenidas con diferentes cantidades de extracto de cancerina.	52
Figura 3.4. Espectros UV-vis de las AuNP obtenidas con diferentes cantidades de extracto de cancerina diluido 1:1.	53
Figura 3.5. Espectros UV-vis obtenidos durante la formación de las AuNP con extracto de cancerina diluido 1:1 a diferentes intervalos de tiempo: a) 5, b) 15, c) 35, d) 65 y e) 125 minutos. Temperatura de síntesis 23 °C.	55
Figura 3.6. Espectros UV-vis de las AuNP con a) 0.6, b) 0.8 y c) 1 ml de extracto de <i>H. excelsa</i> K diluido 1:1.	57
Figura 3.7. Cinética de formación de las AuNP en a) absorbancia y b) longitud de onda vs. tiempo para 0.6, 0.8 y 1 ml de extracto de <i>H. excelsa</i> diluido 1:1. La desviación estándar se representa con barras de error en cada tiempo.	58
Figura 3.8. AuNP coloidales a diferente concentración de HAuCl ₄ : a) 0.25, b) 0.5 y c) 1 mM con un tiempo de reacción de 52 min a 23 °C.	59
Figura 3.9. Espectros UV-vis de las AuNP a partir de concentración 0.25, 0.5 y 1 mM del HAuCl ₄ con extracto diluido 1:1; e) absorbancia y f) longitud de onda vs. tiempo.	60
Figura 3.10. Espectros de absorbancia UV-vis de las AuNP con HAuCl ₄ : a) [0.25 mM] y b) [1 mM] durante 2 horas a 25 °C; cinética de formación de las AuNP con extracto de <i>H. excelsa</i> diluido 1:1 en c) absorbancia y d) longitud de onda vs. tiempo.	61
Figura 3.11. Distribución de tamaño de las AuNP obtenidas con extracto de <i>H. excelsa</i> diluido 1:1 y HAuCl ₄ [0.25 mM] con respecto a a) intensidad y b) número.	62
Figura 3.12. Distribución de tamaño de las AuNP obtenidas con extracto de <i>H. excelsa</i> K diluido 1:1 y HAuCl ₄ [1 mM] en formato de intensidad y número.	63
Figura 3.13. Imágenes TEM de las AuNP formadas con 1 ml extracto de <i>H. excelsa</i> diluido 1:1 y HAuCl ₄ [1 mM], con su respectiva distribución de tamaño.	65

Figura 3.14. Espectros UV-vis de a) AuNP sin lavar, b) AuNP lavadas y del c) sobrenadante de cada muestra. Distribuciones de tamaño de las AuNP en formato de d) intensidad y e) número.	67
Figura 3.15. Gráfico de potencial Z de las AuNP obtenidas con extracto de H. excelsa diluido 1:1 y HAuCl ₄ a) [0.25 mM] y b) [1 mM] lavadas.	69
Figura 3.16. Espectros de degradación y gráficos absorbancia – tiempo de: a) AM a [5 ppm], b) extracto de H. excelsa H.B.K. diluido 1:1 + AM a [5 ppm], c) AuNP con HAuCl ₄ [0.25 mM] sin lavar + AM a [5 ppm], d) AuNP con HAuCl ₄ [0.25 mM] lavadas + AM a [5 ppm], e) AuNP con HAuCl ₄ [1 mM] sin lavar + AM a [5 ppm] y f) AuNP con HAuCl ₄ [1 mM] lavadas + AM a [5 ppm].	71
Figura 3.17. Imágenes de las muestras de degradación del a) AM a [5 ppm] solo, del extracto diluido con el AM y de las AuNP a [0.25 y 1 mM] sin lavar y lavadas con el AM.	73
Figura 3.18. Gráficos de concentración de AM y porcentajes de degradación para las soluciones del a) AM [5 ppm], del b) extracto de H. excelsa diluido 1:1 + AM, c) AuNP con HAuCl ₄ [0.25 mM] sin lavar + AM, d) AuNP con HAuCl ₄ [0.25 mM] lavadas+ AM, e) AuNP con HAuCl ₄ [1 mM] sin lavar + AM y f) AuNP con HAuCl ₄ [1 mM] lavadas + AM.	76
Figura 3.19. Capacidad antioxidante del extracto de H. excelsa diluido 1:1 a distintas concentraciones frente a los radicales ABTS y DPPH.	77
Figura 3.20. Cambio de color del radical ABTS frente al extracto de H. excelsa a [50 µL/mL].	77
Figura 3.21. Cambio de color del radical DPPH frente al extracto de H. excelsa a [50 µL/mL].	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Plantas empleadas en síntesis verde de AuNP.	21
Tabla 1.2. Trabajos recientes en síntesis de AuNP mediante extractos de plantas.	40
Tabla 3.1. Tamaño de partícula e PDI para AuNP obtenidas con 1 ml de extracto de H. excelsa K diluido 1:1 y HAuCl ₄ [0.25 mM] a diferentes lapsos de tiempo.	63
Tabla 3.2. Tamaño de partícula e PDI de las AuNP obtenidas con 1 ml de extracto de H. excelsa K diluido 1:1 y HAuCl ₄ [1 mM] a diferentes lapsos de tiempo.	64

RESUMEN

En el siguiente trabajo se reporta la síntesis verde de nanopartículas de oro (AuNP) mediante el extracto de la planta endémica de México *Hippocratea excelsa* H.B.K. Se empleó un método simple utilizando el extracto acuoso de la planta y el precursor metálico ácido cloroáurico HAuCl_4 . La síntesis se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación constante y con protección de la luz solar directa. La cantidad de extracto se varió desde 0.2 hasta 1 mL. Posteriormente se modificó la concentración del precursor en 0.25, 0.5 y 1 mM. Las AuNP obtenidas se caracterizaron mediante la técnica de espectroscopia UV-vis. Los espectros obtenidos indicaron la formación de las AuNP debido a la presencia de la banda asociada al plasmón de resonancia superficial (SPR) del oro, alrededor de 535 nm. La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) permitió conocer que se formaron AuNP con tamaños promedio < 100 nm. La microscopia electrónica de transmisión (TEM) permitió observar la forma esférica de las AuNP con HAuCl_4 [1 mM] que en su mayoría presentaron tamaños ≈ 10 nm.

La actividad fotocatalítica de las AuNP se midió a través de la degradación del colorante azul de metileno (AM) mediante la técnica de espectroscopia UV-vis y reveló que las AuNP obtenidas con HAuCl_4 [0.25 mM] que se sometieron a un lavado, presentaron un mayor porcentaje de degradación, alrededor del 80 %. Los ensayos de capacidad antioxidante ABTS y DPPH se realizaron primero al extracto de *H. excelsa* H.B.K a diferentes concentraciones (10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y se observó un aumento directamente proporcional del porcentaje de inhibición con la concentración, alcanzando un porcentaje > 80 % a una concentración de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Enseguida, los ensayos aplicados a las AuNP, permitieron notar que las AuNP obtenidas con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavarse y empleadas de manera directa, tuvieron un mayor % de inhibición de 82 y 37.1 % frente a los radicales DPPH y ABTS respectivamente.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo en nanotecnología ha mejorado la productividad y la operación a nanoescala. En esto, las nanopartículas metálicas (Au, Ag y Se, etc.) llaman la atención debido a que su tamaño y forma se puede adaptar para influir en su funcionalidad, es decir, sus propiedades físicas y químicas se ajustan. Las nanopartículas están siendo aplicadas en la industria biomédica, de suministro de fármacos, óptica, química, ciencia e ingeniería de materiales, medicina, cosméticos y alimentos (1–3). Las nanopartículas de oro (AuNP) son las que se han investigado más intensamente de todos los metales debido a sus numerosas aplicaciones como transporte de fármacos, la obtención de imágenes químicas y biológicas, la catálisis, la terapia y el diagnóstico (4,5).

La obtención de nanopartículas (NP) mediante métodos químicos como reducción fotoquímica, reducción electroquímica y evaporación, amenazan al ambiente y a la vida al producir subproductos peligrosos, en este sentido, es vital migrar a métodos amigables con el medio ambiente, de bajo costo y eficientes (6,7). La química verde se está implementando en la producción de muchas NP debido a su simplicidad, sustentabilidad y eficacia en comparación con los métodos de síntesis tradicionales (8–10). En especial, la síntesis verde o biosíntesis a partir de extractos de plantas resulta ser algunas veces mejor que los métodos químicos, al proveer más propiedades a las NP y ampliar su campo de aplicación, como en biomedicina (11,12). Las AuNP obtenidas por biosíntesis muchas veces muestran mejor actividad catalítica que las generadas por rutas químicas que emplean borohidruro de sodio, citrato de sodio, bromuro de cetiltrimetilamonio, hidrazina, hidroxilamina o urea, además pueden ser usadas como imitadores de enzimas (13–15).

Los contaminantes orgánicos e inorgánicos presentan un problema para el medio ambiente y la salud humana, debido a que su presencia y persistencia genera daños a los ecosistemas naturales. Las aguas residuales provenientes de la industria farmacéutica, química, petroquímica, de tintura etc., llevan

contaminantes orgánicos e inorgánicos como el naranja de metilo, el violeta de metilo y el azul de metileno, que regularmente contienen compuestos aromáticos, en particular series de nitro, sulfo, cloro y amidocianógeno, perjudiciales para el medioambiente (16–18). En consecuencia, es importante tratar a los contaminantes de aguas en busca un medio ambiente limpio para la vida acuática y terrestre (19,20). El proceso catalítico basado en NP metálicas ha demostrado un gran potencial para la degradación de tintes orgánicos, debido a que las NP tienen una alta relación superficie/volumen, gran cantidad de sitios activos, fuerte capacidad de transferencia de electrones, alta eficiencia y rápida degradación del colorante (18,21,22). Las propiedades químicas y el efecto catalítico de las AuNP dependen de su tamaño, forma y la operatividad de la superficie que hace posible la unión de los fitoconstituyentes de las plantas a través de fuerzas electrostáticas (23,24).

Las AuNP han sido exploradas en aplicaciones médicas y biológicas, como el suministro de fármacos y genes, el etiquetado fluorescente, imagenología, inmunoensayos, biosensores y terapia contra el cáncer (25–27). Cuando las AuNP se generan biológicamente presentan ventajas sobre las que se obtienen químicamente, como el bajo costo, amigable con el medio ambiente, no tóxicas y con una mejor actividad antibacterial (28–30).

En este trabajo se reporta la síntesis biológica (química verde) de AuNP a partir del extracto acuoso de *Hippocratea excelsa* H.B.K. y se caracterizan por espectroscopia UV-vis, dispersión de luz dinámica y microscopia electrónica de transmisión. Se mide la actividad fotocatalítica de las AuNP en la degradación del azul de metileno (AM), es decir, la NP se comporta como un nano-fotocatalizador y después se prueba su efecto antioxidante mediante los ensayos ABTS y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).

OBJETIVOS

General

Sintetizar nanopartículas de oro mediante el extracto acuoso de la planta *Hippocratea excelsa* HBK, estudiar su actividad fotocatalítica mediante la degradación de un colorante y medir su capacidad antioxidante mediante la prueba DPPH y ABTS.

Particulares

1. Obtener AuNP a partir del extracto de *H. excelsa* siguiendo una ruta de síntesis verde.
2. Caracterizar las AuNP mediante espectroscopia UV-vis, dispersión de luz dinámica (DLS) y microscopia electrónica de transmisión (TEM).
3. Estudiar la actividad fotocatalítica de las AuNP mediante la degradación del colorante orgánico azul de metileno bajo luz solar.
4. Evaluar la actividad antioxidante de las AuNP por los métodos de eliminación de radicales libres DPPH y ABTS.

JUSTIFICACIÓN

La síntesis verde favorece el cuidado al medio ambiente a través de minimizar o anular la generación de residuos tóxicos y permite la obtención de AuNP a un bajo costo, a mínima posibilidad de contaminación, sencilla, segura de manejar, de un solo paso, rápida, de estabilidad mejorada y se adecua a la producción a gran escala. La integración de la nanotecnología y la química verde proveen alternativas sobresalientes para la síntesis de NP, debido a que son seguras, ambientalmente buenas y proveen más cualidades a las NP como actividad biológica.

HIPÓTESIS

Las nanopartículas de oro sintetizadas a partir del extracto de *Hippocratea excelsa* HBK logran una degradación del colorante azul de metileno bajo luz solar superior al 50 % y muestran porcentajes de inhibición de al menos 30 % frente a los radicales libres ABTS y DPPH.

CAPITULO 1 - ANTECEDENTES

1.1. Nanotecnología

La nanotecnología es la combinación de la ciencia, ingeniería y tecnología en la nanoescala, típicamente del intervalo de 1 a 100 nm. Esta tecnología ha sido aplicada a muchos campos como la química, la biología, la física, la ciencia de materiales, la ingeniería y la medicina (31,32). Los materiales manipulados a escala nanométrica, llamados nanomateriales, pueden estar formados por carbono, metal, óxidos metálicos o materia orgánica y presentan un comportamiento diferente en sus propiedades físicas, químicas y biológicas en comparación con el material a granel (33). Las nanopartículas (NP) se puede presentar en diversas formas, como esferas, tubos, pirámides triangulares, barras, rodillos o fibras, y según la forma, defectos e impurezas que presente, las propiedades físicas y químicas pueden variar. En este sentido, es esencial conocer el tamaño, la morfología y la composición química de las NP, dado que están íntimamente relacionadas con las condiciones de síntesis (34,35)

La generación de nanomateriales artificiales representa un avance fundamental en la nanotecnología y la ciencia de los materiales. El mundo real debe crearse trasladando estos productos más allá del laboratorio. Miles de estos productos están disponibles en el mercado, de los cuales la gran mayoría están integrados en productos de cuidado personal, cosméticos y ropa de uso diario. Se espera que el desarrollo de los productos modernos que necesitan los consumidores afecte positivamente a casi todos los sectores industriales y de producción, relacionados con la administración de medicamentos y fármacos. El crecimiento continuo de la comercialización de nanomateriales y los dispositivos nano-asistidos es muy evidente. La comercialización de tecnologías disruptivas exitosas es fundamental para numerosas implementaciones para los seres humanos y el desarrollo global, pero es necesario un interés crítico para el potencial, la evaluación de la salud y los efectos ambientales de estos materiales (36).

Los nanomateriales pueden ser clasificados fundamentalmente en dos categorías: nanomateriales naturalmente y sintéticamente fabricados. Los nanomateriales naturales incluyen virus, sustancias en matrices óseas (como cristales de fosfato de calcio) y corales, mientras que los materiales sintéticos pueden ser divididos en cuatro familias: basados en metales, basados en carbón, dendrímeros y nanocompuestos. Los nanomateriales sintéticos basados en metales, pueden ser de cobre (Cu), hierro (Fe), paladio (Pd), oro (Au), aluminio (Al), zinc (Zn) y plata (Ag). Las propiedades de las NP metálicas sostienen varias aplicaciones que incluyen, actuar como catalizadores, componentes de detección, dispositivos ópticos y aplicaciones biomédicas (37). Por tal combinación, diversas propiedades pueden ser incorporadas hacia una sola aplicación, tal como sensores electroquímicos y biosensores, ingeniería de tejidos, ingeniería de cultivo celular y medicina regenerativa (38).

1.2. Nanopartículas NP

Generalidades

Las NP son coloides sólidos, cuyo tamaño es de 100 a 10,000 veces más pequeño que moléculas biológicas como los enzimas, los receptores y los anticuerpos. De modo que el trabajo de los científicos, procura manipular átomos para construir nanomateriales más fuertes y eficientes (39). Entre las propiedades de las NP destacan las ópticas, químicas, y electrónicas. Las propiedades fisicoquímicas se atribuyen a su pequeñísimo tamaño, al área superficial, a la distribución de tamaño, a la composición elemental, a la pureza, a la cristalinidad y a las propiedades electrónicas. Y no menos importantes, el arreglo superficial, la reactividad superficial, los grupos funcionales superficiales o la existencia de capas o recubrimientos orgánicos e inorgánicos tienen un efecto considerable (40).

La síntesis de NP inorgánicas puede ser lograda a través de métodos convencionales, que son los métodos físicos y químicos. Los métodos químicos

involucran el uso de reactivos, como el borohidruro de sodio, que actúan como agentes reductores o estabilizadores de las NP. Mientras que los métodos físicos, involucran el uso de agentes externos como temperatura y presión, para descomponer los materiales hacia NP. En resultado, estos métodos convencionales producen subproductos tóxicos que afectan y amenazan al medio ambiente y a los organismos vivos. Asimismo, el uso de solventes químicos durante el proceso de síntesis, provoca dificultad en la extracción posterior de las NP y presenta significantes obstáculos para aplicaciones médicas (41,42).

Los campos principales de aplicación de las NP son la medicina, la genética, la electrónica y la biología. Actualmente, ya se incorporan al mercado en productos de cuidado personal, cosméticos, fármacos, incluso ropa, situación que impacta a los sectores industrial y manufacturero (36).

1.3. Bio-nanotecnología

El desarrollo científico global tiene un gran interés en la nanotecnología verde o bio-nanotecnología, algunas veces nombrada fito-nanotecnología por el prefijo fito de origen griego (*python*) que significa “planta o vegetal”. Este campo resultante de la nanotecnología, tiene una gran perspectiva en la fabricación de diferentes nanomateriales mediante el uso de extractos de distintas partes de plantas, como hojas, semillas, flores y raíces (36). La investigación encaminada en esta área permite obtener soluciones para disminuir los efectos negativos de la producción y aplicación de nanomateriales, disminuyendo el riesgo de la nanotecnología. La Fig. 1.1 muestra los beneficios clave de la síntesis verde.



Figura 1.1. Beneficios de la síntesis verde.

La síntesis verde o ecológica basada en plantas para obtener NP, tiene más beneficios en comparación con los métodos clásicos que utilizan materiales tóxicos y peligrosos. En primer lugar, los extractos de plantas son de naturaleza renovable, segundo, las condiciones de reacción utilizadas en los procesos de obtención son sencillas y, por último, los extractos de plantas y los bio-nanoprodutos son baratos, sin riesgos y energéticamente eficientes (43,44). Algunos principios básicos de la síntesis verde son:

- Prevención o minimización de residuos
- Síntesis química menos peligrosa

- Disolventes y auxiliares más seguros
- Reducción de derivados o contaminación
- Diseño para la eficiencia energética

1.4. Síntesis de NP

La producción de nanomateriales puede ser generalmente dividido en dos categorías: “de arriba hacia abajo” y “de abajo hacia arriba”, la síntesis de arriba hacia abajo se define como el desglose de materiales a granel hacia estructuras más pequeñas. Este proceso hace la producción a granel de nanomateriales más fácil, pero un mayor inconveniente es la imperfección de las estructuras de superficie resultantes y el significativo daño cristalográfico que podría resultar. Estas limitaciones afectan notablemente las propiedades físicas y la química superficial de los nanomateriales, por último, influenciando sus aplicaciones si no es bien controlada. Por otro lado, el enfoque de abajo hacia arriba es el ensamble de una combinación de bloques constructores a través de métodos químicos o biológicos. La síntesis de abajo hacia arriba juega un papel importante en la fabricación de nanoestructuras que resultan en productos con una composición química más uniforme. Sin embargo, este método tiende a introducir tensión interna, por tanto, se incrementa la posibilidad de defectos superficiales y contaminaciones (45).

En términos de síntesis de “abajo hacia arriba”, la generación de nanopartículas a través del desarrollo de la ciencia ha empleado métodos químicos. Estas técnicas son complejas, de alto costo y tienen el gran inconveniente de que liberan productos tóxicos en la naturaleza durante el proceso. Por si fuera poco, tales métodos convencionales, han estado utilizando agentes reductores y estabilizantes de alta radiación y en alta concentración que dañan el medio ambiente y la salud humana (43). Debido a estas limitaciones, los científicos han forjado una alternativa para la síntesis de NP. Esta alternativa es la síntesis “verde” de NP metálicas mediante tecnologías ecológicas en la ciencia de los materiales (46). La síntesis verde ha avanzado con respecto a los métodos

convencionales, porque entre otras cosas, se puede escalar fácilmente para la síntesis a gran escala (47).

1.4.1. Métodos convencionales

Enfoque químico. En el enfoque químico, los componentes principales son los precursores metálicos, los agentes estabilizantes y los agentes reductores (tanto inorgánicos como orgánicos). Se utilizan agentes reductores tales como citrato de sodio, ascorbato, borohidruro de sodio (NaBH_4), hidrógeno elemental, proceso de poliol, reactivo de tollens, N,N-dimetilformamida (DMF) y copolímeros en bloque (43).

1.4.2. Métodos verdes

En la última década, los científicos migraron a métodos de obtención de nanomateriales más fáciles y amigables con el medio ambiente. Y al seguir técnicas propias de la química verde, dieron el nombre de síntesis verde o biosíntesis cuando creaban NP. De modo que, otros compuestos de origen biológico, además de las plantas, de origen procariota o eucariota, como las algas, las bacterias, las levaduras y los hongos también han sido bases para la obtención de NP. La Fig. 1.2 muestra el método simple de un solo paso para la síntesis verde de NP (31,45).

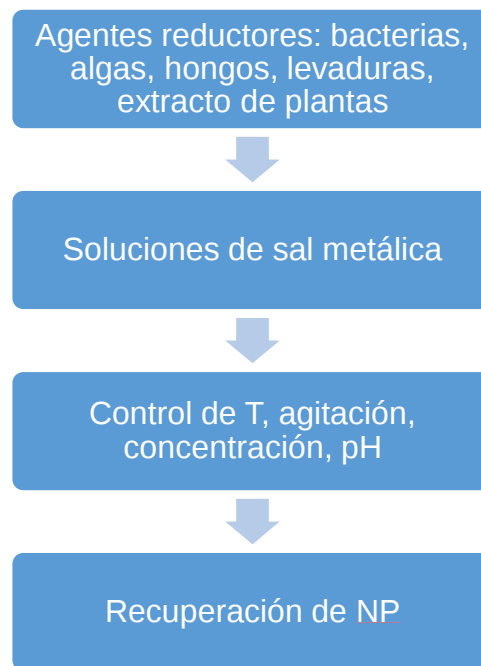


Figura 1.2. Esquema general de la formación de NP de diferentes fuentes.

Las plantas tienen la habilidad de aprovechar casi el 75 % de la energía solar y transformarla en energía química. Cuentan con un alto contenido de antioxidantes y azúcares, y la literatura las considera una fábrica principal en la biosíntesis de NP. Es conveniente utilizar extractos de plantas para la síntesis de NP debido a sus bondades sobre otros biosistemas, incluido lo económico, lo rápido, no tóxico y la tendencia a la producción a gran escala de NP que sólo poseen los extractos de plantas. Y en el escenario actual de contaminación ambiental, es necesario adoptar y utilizar métodos seguros y ecológicos para la producción y aplicación de materiales (48).

En especial, la presencia de varios fitoquímicos funcionales en diferentes extractos de plantas como hojas, tallos, raíces, flores y semillas ha sido la razón de su capacidad para funcionar como agente reductor y agente estabilizador. Varios fitoquímicos como cetonas, terpenoides, aldehídos, fenoles, ácidos carboxílicos, flavonoides, etc., ayudan a reducir los iones metálicos en nanopartículas metálicas. Experimentalmente sucede que, por la adición de extracto recién preparado, el color del ácido cloroáurico cambia de amarillo claro a violeta y los iones de Au se reducen completamente a nanopartículas de oro

(AuNP). El cambio de color se debe a las vibraciones de los plasmones de la superficie (SPR, por sus siglas en inglés) de las AuNP, que son ausentes en los materiales a granel, es decir, solo se puede observar dicha resonancia del plasmón superficial del oro en su forma de nanopartículas. El SPR se puede observar en un espectro UV-Vis como un máximo de la banda de absorción en un intervalo de longitud de onda de 520 a 560 nm (49).

Cuando se utilizan plantas para sintetizar NP, uno de los principales problemas es que los tamaños y formas esperados, así como la calidad de las nanopartículas son muy difíciles de obtener. Hay que recordar que la naturaleza no homogénea del tamaño, la morfología y la pureza de las nanopartículas puede impedir su uso en aplicaciones que requieren nanopartículas de una forma, tamaño y consistencia particulares. Por lo tanto, es importante realizar la investigación necesaria que ayude a conocer las condiciones experimentales específicas para obtener de cierta planta ciertas características de las AuNP (44). En la síntesis verde de AuNP, diferentes plantas han cumplido su objetivo, algunas de ellas se muestran en la Tabla 1.1 (50).

Tabla 1.1. Plantas empleadas en síntesis verde de AuNP.

No.	Planta	AuNP Forma y tamaño	Referencia
1	Hojas de <i>Acalypha indica</i>	Rodillo; 20 nm	(51)
2	Hojas de <i>Coleus aromaticus</i>	Esférico; <100 nm	(52)
3	Hojas de <i>Pinus pinaster</i>	Esférico; 100 nm	(53)
4	Hojas de <i>Vitis vinifera</i>	Esférico; 35.3 ± 5.2 nm	(54)

El uso de plantas para generar NP es una técnica sencilla y ecológica. En contraste al uso energético requerido, la temperatura, la alta presión y el uso de

químicos contaminantes en la síntesis convencional. La síntesis mediada por plantas suma otros beneficios: es económica y los fitoconstituyentes o componentes característicos de las plantas juegan dos papeles muy importantes, el ser agentes reductores y estabilizadores al mismo tiempo de las NP (55). Además, tales fitocomponentes brindan mejores cualidades a las NP, de las que podemos mencionar una buena actividad antibacteriana, antioxidante y por si fuera poco anticancerígena (50). Por ejemplo, recientemente Shin *et al.* (2022) obtuvieron AuNP mediante sericina de seda (SS), una proteína que se ha empleado en la síntesis de materiales inorgánicos como la hidroxiapatita y la sílice. Los autores demostraron que la SS funciona como un agente reductor y protector verde en la síntesis de las AuNP, y proponen que las AuNP cubiertas de SS pueden aplicarse en biomedicina, como bioimagen y diagnóstico en un futuro (56). Por otra parte, en el área de medicina, Kumari y Meena (2020) obtuvieron AuNP mediante la planta de insulina *Chamaecostus cuspidatus*, éstas se aplicaron a la restauración de los niveles normales de glucosa, glucógeno e insulina en la sangre, mediante la evaluación de la actividad cicatrizante de heridas *in vivo* (6).

En resumen, la síntesis verde permite reducir, estabilizar y potencialmente tener un nanomaterial funcional que puede ayudar en la remediación del medio ambiente (57). Abren un campo de oportunidad en las ciencias de la salud, la ecología y la tecnología médica. En esta última, las NP tienen aplicación en la administración de fármacos y genes, también en detección de patógenos o proteínas asociado a un efecto antifúngico y larvicida en las NP. Incluso, se habla de estudios en ingeniería de tejidos (9).

1.5. Fotocatálisis

La contaminación del agua debida a las diversas actividades antropogénicas es una preocupación mundial por los problemas ambientales, sociales económicos y especialmente de salud pública que genera. En las últimas décadas, la fotocatálisis ha sido ampliamente estudiada debido a sus aplicaciones

potenciales para el tratamiento de aguas contaminadas con moléculas orgánicas. La fotocátalisis se basa en las reacciones que ocurren en la superficie del fotocatalizador, que bajo irradiación de luz UV genera agentes oxidantes y radicales reductores que por distintas rutas de reacción son capaces de descomponer cualquier tipo de materia orgánica en dióxido de carbono y agua, proceso denominado mineralización (58). Es importante mencionar que el fotocatalizador no forma parte de los reactantes ni de los productos, ni se consume en la reacción química la cual se lleva a cabo a temperatura ambiente. Entre las ventajas más importantes de la fotocátalisis se pueden mencionar: la posibilidad de reutilizar el material fotocatalizador, lo que hace que este proceso sea barato, así como la posibilidad de utilizar la energía solar como fuente luminosa (59).

Un nanocatalizador es el término empleado cuando una nanopartícula puede comportarse como catalizador bajo la presencia de luz, en consecuencia, favorecer o acelerar ciertas reacciones químicas (fotocatálisis). Una reacción fotocatalítica importante en torno al cuidado del medio ambiente, es la degradación de colorantes orgánicos en medio acuoso (48). La reacción fotocatalítica inicia a partir de la interacción de la luz con las nanopartículas metálicas conductoras, y las longitudes de onda de la luz asociadas con la actividad fotocatalítica de las nanopartículas metálicas se encuentran principalmente en la región visible (60). La buena estabilidad de las AuNP en este tipo de mediciones, las hacen atractivas en acciones de remediación ambiental, principalmente en la reducción de contaminantes orgánicos en aguas residuales (48).

1.6. Actividad antioxidante

Las NP juegan un papel fundamental en investigaciones científicas recientes, una de ellas es como vehículos de suministro de antioxidantes. Un antioxidante (AO) interactúa con los radicales libres poniendo fin a las reacciones adversas en cadena y convirtiéndolas en productos inofensivos. Sin embargo, la eficacia

de los antioxidantes naturales o sintéticos se ve limitada por tres situaciones principales: su mala absorción, las dificultades para atravesar las membranas celulares y la degradación durante el suministro, lo que contribuye a su limitada biodisponibilidad. Para abordar estos problemas, se han tomado las siguientes acciones: utilizar AO enlazados covalentemente a NP, AO en nanogeles, AO dentro de partículas huecas o encapsulados en NP de diverso origen. En otras palabras, se ha echado mano de las NP para proporcionar una mejor estabilidad, liberación gradual y sostenida, biocompatibilidad y entrega dirigida de los antioxidantes con mejores resultados (61). Estudios recientes, demostraron que las AuNP “verdes” tienen buen potencial antioxidante, que se atribuye a las propiedades de los diversos fitoquímicos o fitocomponentes de la planta incrustados sobre la superficie de las NP. En consecuencia, los fitoconstituyentes se comportan como agentes de protección y proporcionan una excelente actividad antioxidante a las NP. (62).

Las nanopartículas de metales: oro (Au), plata (Ag), platino (Pt) y de óxidos de metales de transición como óxido de cobre (CuO) y óxido de níquel (NiO) son las comúnmente usadas y probadas para determinar su actividad antioxidante. Las propiedades antioxidantes de estas nanopartículas dependen de su naturaleza, composición química, carga superficial, tamaño de partícula, relación superficie/volumen y recubrimiento superficial. Las NP ofrecen varias ventajas sobre los métodos tradicionales de administración de antioxidantes como son, el aumento de la biodisponibilidad, la administración dirigida de antioxidantes y la liberación controlada en el sitio de acción. Los principales desafíos para las aplicaciones in vivo de estos nanomateriales son el estrés oxidativo, la activación de las células inmunitarias, la respiración mitocondrial y la genotoxicidad (63).

1.7. La planta Cancerina < *Hippocratea excelsa* HBK >

Hippocratea excelsa HBK es una especie nativa de México y América central, la corteza de la raíz de esta planta conocida como “Cancerina” (Fig. 1.3), es usada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de úlceras pépticas,

infecciones gastrointestinales, afecciones en la piel, enfermedades renales, trastorno menstrual y como antihipertensivo (64). Además, el extracto de la raíz (corteza) de *H. excelsa* HBK posee actividad insecticida contra la plaga de *Sitophilus zeamais* (65) y cuenta con diversos metabolitos: alcaloides, quinonas, cumarinas, saponinas, resinas, fenoles, taninos, flavonoides, terpenos y principios amargos y astringentes (66). Los terpenoides y los alcaloides sesquiterpénicos son de los compuestos más estudiados de la planta (67,68). Los principios o esencias amargas tienen propiedades medicinales, como aumentar la función del aparato digestivo al tiempo que mejora el apetito (69).

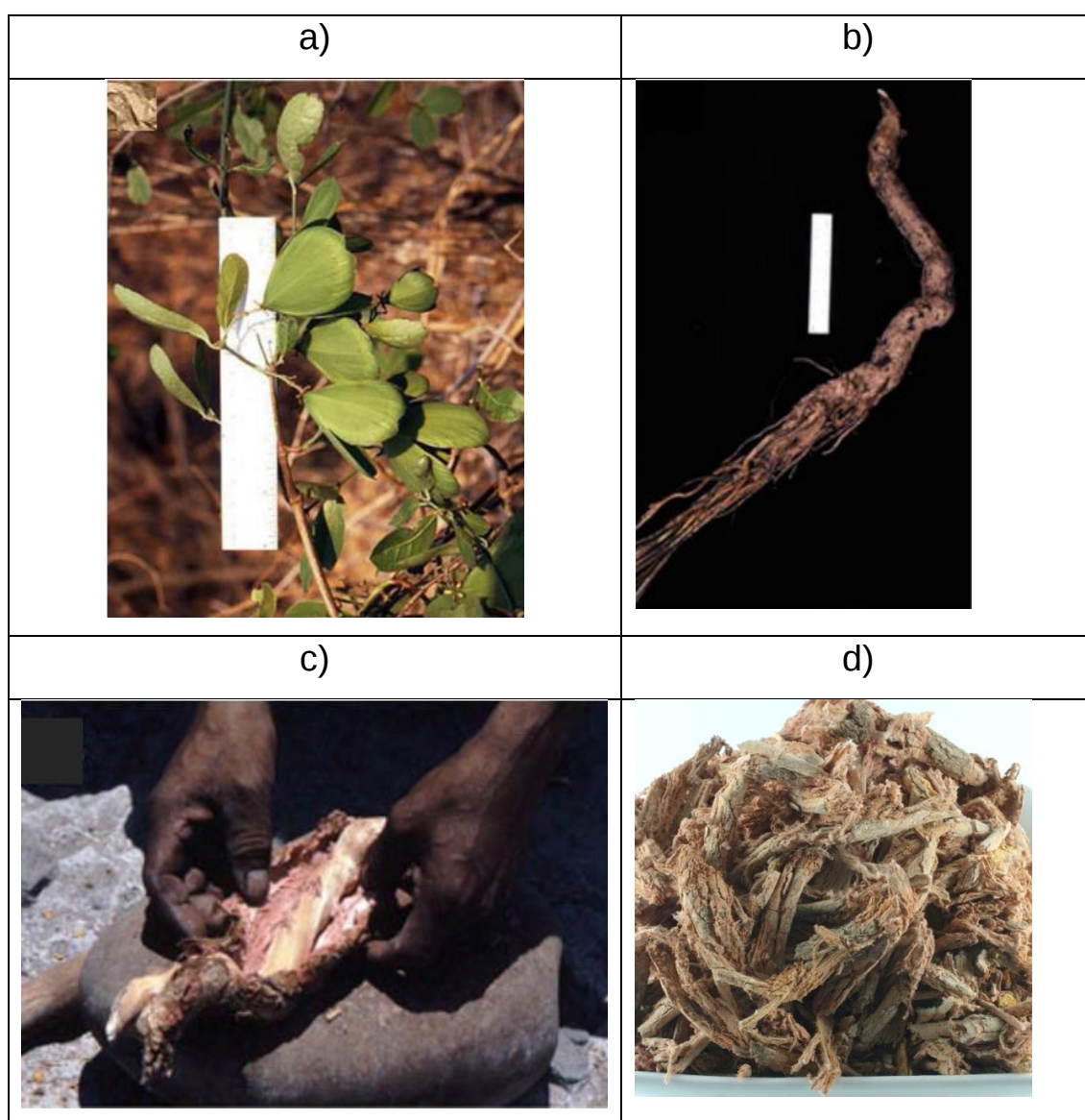


Figura 1.3. a) Tallo y hojas y (b, c y d) corteza de la raíz de *H. excelsa*.

1.8. Estado del arte

1.8.1. Biosíntesis de AuNP

Gonnelli *et al.* (2018) escribieron en su trabajo: “Los métodos rentables y respetuosos con el medio ambiente para obtener nanopartículas metálicas representan un problema importante en la ciencia de materiales moderna. En particular, las rutas sintéticas que dependen de la química verde parecen ser prometedoras para la producción a gran escala” (70). Keijok *et al.* (2019) investigaron los principales mecanismos que afectan el control de la síntesis, utilizando diseño factorial para la preparación de AuNP con extracto de *Coffea arabica*. Obtuvieron nanopartículas estables (con medición de potencial zeta, espectroscopia UV-vis y dispersión de luz), monodispersas y cuasi esféricas (por microscopia electrónica de transmisión), que presentaban moléculas aromáticas adsorbidas (por espectroscopia FTIR y Raman) y estructura cristalina definida (por difracción de rayos X). Comprobaron que el extracto vegetal actuó como un agente reductor, así como un estabilizador y funcionalizador de las nanoestructuras sintetizadas (57).

Ying *et al.* (2020) demostraron la síntesis de AuNP utilizando extracto de hoja de *Lycoris aurea*. Las AuNP preparadas mostraron un tamaño promedio de 24 nm según la caracterización por microscopía electrónica de transmisión. Los investigadores aplicaron las AuNP biosintetizadas para la modificación de la superficie de un electrodo. El electrodo modificado se utilizó con éxito para la determinación electroquímica de aspirina. El electrodo modificado logró detectar aspirina de 2.6 mM a 100 M con un límite de detección de 11.3 M (71).

Doan *et al.* (2020) reportaron en un método simple de un paso la síntesis verde de AuNP utilizando extracto de fruta de *Litsea cubeba* (LC) como agente reductor y estabilizador simultáneamente (Fig. 1.4). Los principales parámetros que afectan la formación de AuNP, incluida la concentración de iones de oro, el tiempo de reacción y la temperatura de reacción, se optimizaron utilizando mediciones de espectroscopia UV-vis. Los grupos funcionales responsables de

reducir los iones de oro a AuNP se examinaron mediante espectroscopía FTIR. Las mediciones de microscopía electrónica de transmisión (TEM) mostraron que las AuNP biosintetizadas eran en su mayoría esféricas con un tamaño promedio de 8 – 18 nm (72).

En la síntesis de las AuNP, los autores explican que una vez que se agregó la solución de HAuCl_4 al extracto de fruta LC, el color de la mezcla obtenida cambió de amarillo pálido a púrpura debido a la formación de las AuNP y proponen que la reacción es impulsada por fitoquímicos. Los fitoquímicos presentes en el extracto de fruta LC, incluidos los alcaloides, flavonoides, amidas, lignanos y esteroides, pueden actuar como agentes reductores para la conversión de iones Au^{3+} en Au^0 , seguido del proceso de aglomeración de átomos de Au en partículas nanométricas. Con esto, las AuNP obtenidas fueron inmediatamente estabilizadas por los residuos fitoquímicos para dar AuNP esféricas. Para controlar el tamaño de las AuNP, este grupo de trabajo se encaminó a investigar tres condiciones de síntesis principales, la concentración de iones de oro, la temperatura de reacción y el tiempo de reacción. El cambio de color de la solución de AuNP debido a la resonancia de plasmón de superficie localizada (SPR) junto con la presencia de la banda característica UV-vis a 535 nm les sirvió como método de inspección visual para la optimización.



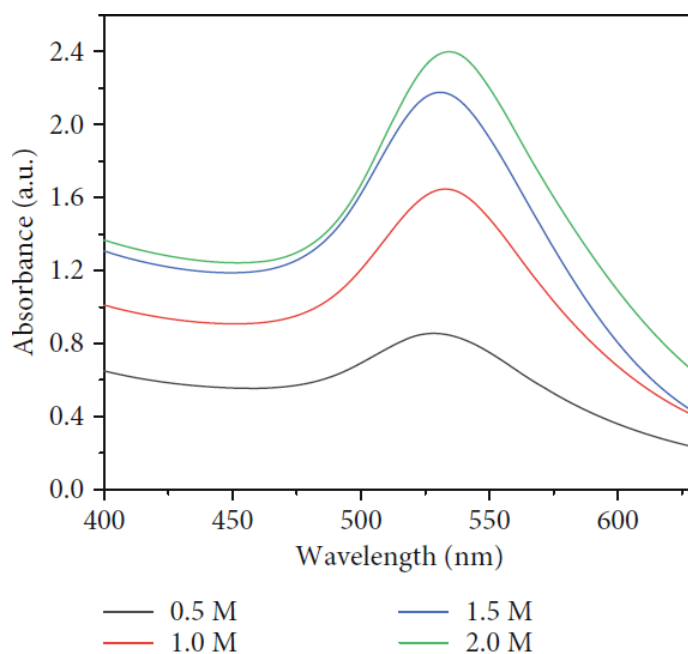
Figura 1.4. Procedimiento de síntesis de AuNP utilizando extracto de fruta de *Litsea cubeba*.

En primer lugar, Doan *et al.* (2020) investigaron el efecto de la concentración de iones de oro en la formación de AuNP ajustando la concentración de la solución de HAuCl_4 en un intervalo de 0.5 – 2.0 M, mientras que la temperatura y el tiempo de reacción se mantuvieron constantes a 45° C y 60 min, respectivamente (Figura 1.5(a)). Los autores observaron a través de espectroscopia UV-Vis que todos los espectros mostraban una banda de absorción alrededor de 535 nm, que se atribuye a la banda SPR de las AuNP, y la concentración de iones de oro afecta fuertemente la formación de AuNP. El aumento en la concentración de iones de oro condujo a una mayor absorbancia UV-vis. Sin embargo, los autores notaron que con una concentración de iones de oro superior a 1.5 M, se observó un ligero desplazamiento de la longitud de onda máxima hacia valores mayores, lo que indica la formación de AuNP de mayor tamaño. Por lo tanto, concluyeron que la concentración apropiada de HAuCl_4 para formar AuNP más estables fue de 1.5 M.

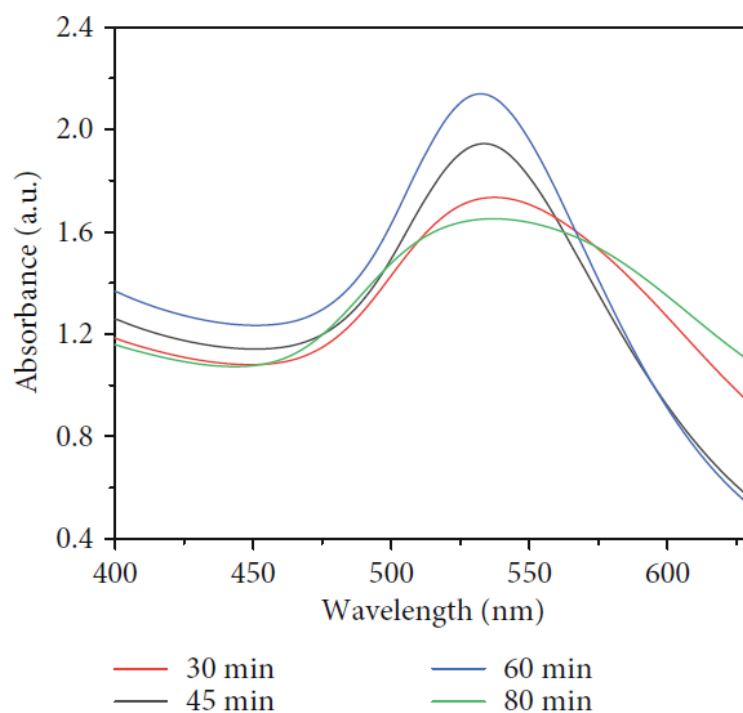
Como se observa en la Figura 1.5(b), a medida que aumenta el tiempo de reacción de 30 a 60 min, la intensidad de la banda aumentó gradualmente y alcanzó un máximo después de 60 min. Cuando dejaron el tiempo de síntesis hasta 80 minutos, la absorbancia UV-vis disminuyó significativamente; esto lo explicaron por una aglomeración de AuNP recién formadas. Por lo tanto, establecieron el tiempo de reacción de 60 min para realizar una mayor síntesis de AuNP.

Finalmente, los autores investigaron la temperatura óptima de reacción en el rango de 30 – 80°C, mientras que la concentración de Au^{3+} y el tiempo de reacción se mantuvieron constantes (1.5 mmol/L y 45 min). Los resultados a los que llegaron se muestran en la Fig. 1.5(c) e indican que la temperatura de reacción también afectó significativamente la formación de AuNP. Hallaron que el aumento de la temperatura a 45 °C proporcionó una cantidad adecuada de energía a los iones Au^{3+} para su conversión en nanopartículas. En cambio, a temperaturas más altas, descubrieron que los iones de oro podrían moverse más rápido y el número de colisiones efectivas podría aumentar rápidamente, lo que

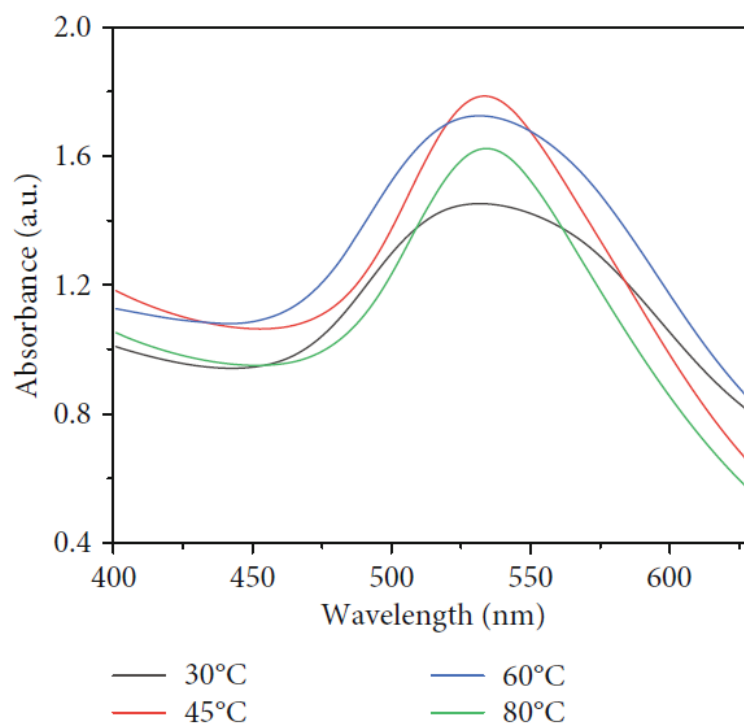
daría como resultado una coagulación parcial de las nanopartículas recién formadas con un tamaño mayor, lo que provocaría una disminución de la densidad óptica. Por lo tanto, la temperatura de 45 °C la eligieron como óptima para la síntesis de AuNP.



(a)



(b)



(c)

Figura 1.5. Espectros de absorción UV-Vis de LC-AuNP sintetizadas a (a) diferentes concentraciones de HAuCl_4 , (b) diferentes tiempos de reacción y (c) diferentes temperaturas de reacción.

En su análisis espectral FTIR, los espectros del extracto seco de la fruta LC y las AuNP cubiertas con extracto de fruta LC se muestran en la Fig. 1.6. Los autores observaron que los espectros de ambas muestras indicaron la similitud en las bandas de absorción. Las bandas anchas centradas en 3276 cm^{-1} se asignaron a las vibraciones de estiramiento de los grupos O–H de alcaloides, flavonoides, lignanos y esteroides presentes en el extracto. Los picos en 2933 y 2883 cm^{-1} están asociados con vibraciones de estiramiento C–H de los enlaces $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2-$. Los picos en 1716 y 1627 cm^{-1} corresponden al estiramiento acíclico de cetonas y al estiramiento de enlaces $\text{C}=\text{C}$ aromáticos, respectivamente. El pico en 1412 cm^{-1} está relacionado con $-\text{C}=\text{C}-$ del estiramiento del enlace aromático. Los picos en 1242 y 1028 cm^{-1} se identifican con el estiramiento de la banda C–O aromática y C–O alifática relacionado con la naturaleza cíclica del éter y el grupo funcional ácido carboxílico, respectivamente.

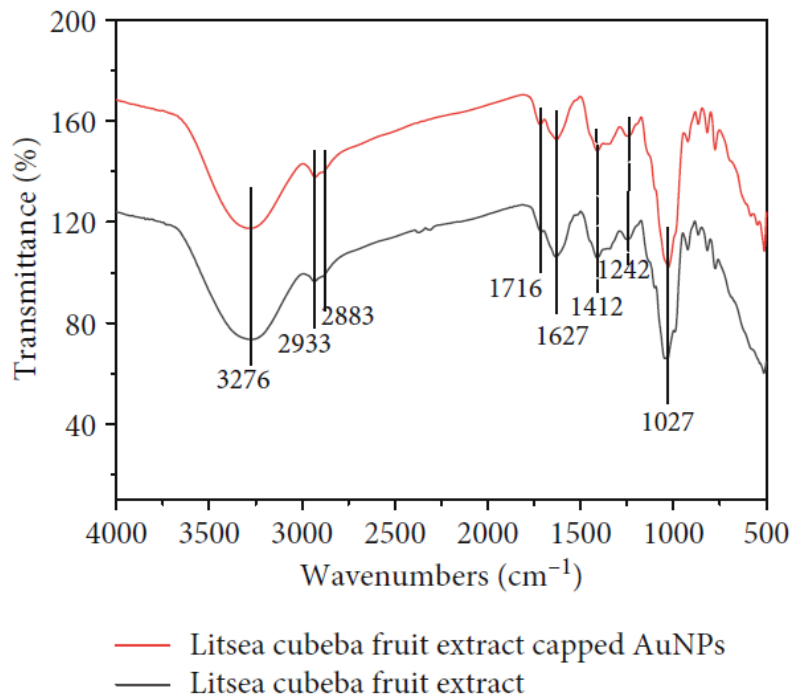


Figura 1.6. Espectros FTIR de extracto de fruta LC y AuNP con capuchón de extracto de fruta LC.

En el estudio de dispersión de luz dinámica, Doan *et al.* (2020) hallaron que en comparación con el núcleo seco de AuNP dentro de las AuNP cubiertas con LC examinadas por microscopía TEM, las AuNP hidrodinámicas en el extracto acuoso tienen un tamaño promedio mayor de aproximadamente 65 nm (Fig. 1.7). En resultado, la diferencia en el tamaño de los AuNP medidos por TEM y los AuNP cubiertos por LC hidrodinámicos les permitió ver que las AuNP biosintetizadas están rodeadas por una capa gruesa de moléculas orgánicas, que desempeñan un papel en la separación de las AuNP de los procesos de aglomeración y coagulación (72).

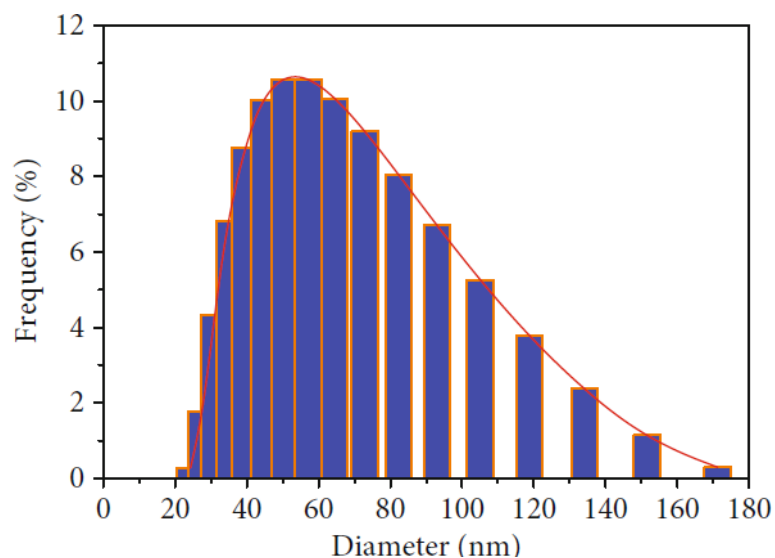


Figura 1.7. Distribuciones de diámetro de dispersión de luz dinámica de AuNP biosintetizadas.

El estudio morfológico que realizaron se muestra en la micrografía TEM de las AuNP de la Fig. 1.8. Como se puede ver, las AuNP biosintetizadas son en su mayoría de forma esférica y se dispersan bien en la solución acuosa de extracto de fruta LC. Las AuNP coloidales tienen un tamaño de partícula TEM que varía de 10 a 18 nm y se ubican por separado (72).

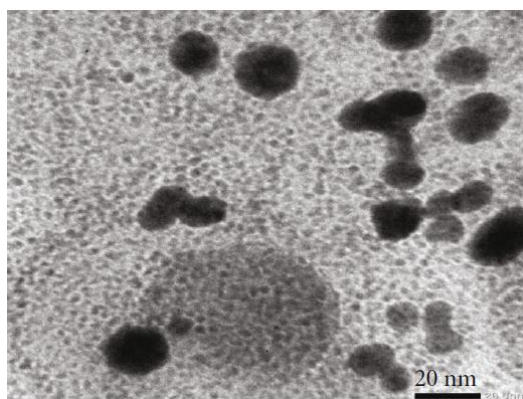


Figura 1.8. Imagen TEM de las AuNP biosintetizadas.

Gonnelli *et al.* (2018) prepararon y caracterizaron AuNP a partir de extractos de hojas de *Cucurbita pepo* L. (subproducto agrícola de gran difusión y abundante biomasa). Su investigación se realizó en plantas de diferentes edades (de 1 a 4 meses) y se correlacionó la producción de nanopartículas (en términos de

tamaño, forma y rendimiento) con la concentración de clorofilas y carotenoides en los extractos. La síntesis la llevaron a cabo utilizando extractos puramente acuosos a temperatura de 70 °C y con soluciones diluidas del precursor de oro: HAuCl_4 en $[5 \times 10^{-5} \text{ M a } 10^{-3} \text{ M}]$ en las muestras finales. La microscopía TEM evidenció que una concentración más baja de Au^{3+} promueve la formación de partículas anisotrópicas y plaquetas, mientras que concentraciones más altas favorecen una gran producción de AuNP más monodispersas con un tamaño de 10 a 15 nm (Fig. 1.9). Además, demostraron que la edad de las plantas desempeña un papel en el control de la forma y el tamaño de las AuNP. Sus resultados abren nuevas perspectivas para el control de forma y tamaño de nanopartículas obtenidas por métodos verdes de cara a sus aplicaciones en campos tecnológicos, que pueden ir desde la nanocatálisis hasta la biomedicina (70).

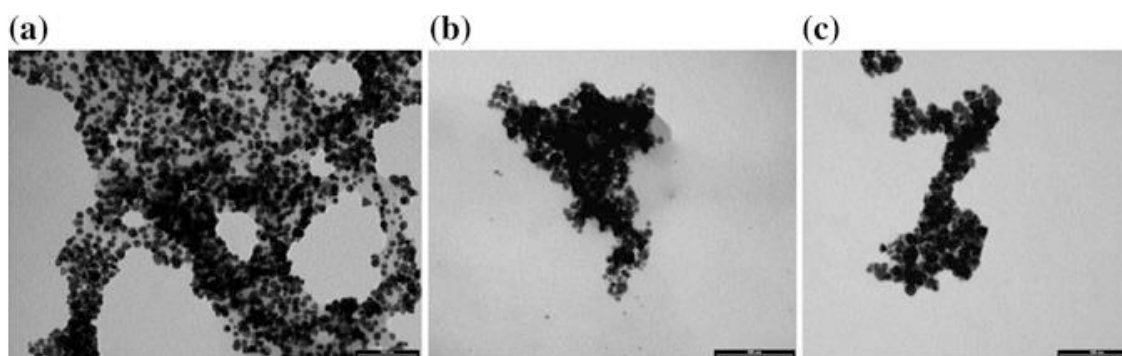


Figura 1.9. Imágenes TEM obtenidas de la muestra 1MAu-5 (AuNP biosintetizadas con planta de 1 mes de crecimiento y mayor concentración de oro). Escala de barras 100 nm.

Irfan *et al.* (2022) comentan que “las modulaciones meticulosas de tamaño y morfología son un desafío para producir AuNP mediadas por plantas. Además, el papel específico de los fitoquímicos para preceder a la reacción de bio-reducción y el recubrimiento de las nanopartículas también es un misterio y debe abordarse”. En la misma línea de acción, informan sobre un método verde, ecológico, eficiente y de un solo paso para la síntesis de AuNP de tamaño y forma personalizados y controlados por varios parámetros de proceso, incluidos

el pH, el volumen de extracto y la concentración de precursor de oro. El proceso de bio-reducción y la formación de AuNP lo identificaron mediante diversas técnicas de caracterización, incluidas UV-vis, TEM, DLS, FTIR, XRD y XPS. Además, los autores realizaron un análisis TEM para observar la forma y el diámetro proyectado de las partículas. Sus imágenes TEM demostraron que la mayoría de las partículas son esféricas junto con algunas otras partículas que eran cuasi esféricas y de forma irregular, como se muestra en la Fig. 1.10 a. También notaron que las partículas se dispersaron bien en solución sin ninguna aglomeración. Los tamaños de partículas de AuNP se observaron en un intervalo de 4.14 a 25.48 nm con un tamaño de partícula promedio de 9.49 nm, como se muestra en la Fig. 1.10 b.

Un examen minucioso de las AuNP reveló la fabricación de una esfera de halo alrededor de su superficie que respalda la presencia de la capa de encapsulación para mejorar la estabilidad coloidal, como se revela en la Fig. 1.10 c. Esta capa es bastante fácil de observar debido a la disparidad entre el fondo y la superficie de las nanopartículas. La existencia de esta capa de encapsulación también fue reconocida por análisis DLS. Generalmente, el análisis DLS mide el diámetro hidrodinámico (h_d) que comprende el tamaño del núcleo junto con cualquier material de recubrimiento o capa de solvente adherida a la partícula. Sin embargo, el análisis TEM proporciona información solo para el diámetro proyectado del núcleo inorgánico sin tener en cuenta la capa protectora que encapsula las nanopartículas. La Fig. 1.10 d, mostró el h_d de AuNP como 168 nm, que fue lo suficientemente mayor en comparación con el tamaño de partículas observado por el análisis TEM. La diferencia en estos valores demostró la presencia de una capa protectora de biomoléculas alrededor de la superficie central de las AuNP sintetizadas (73).

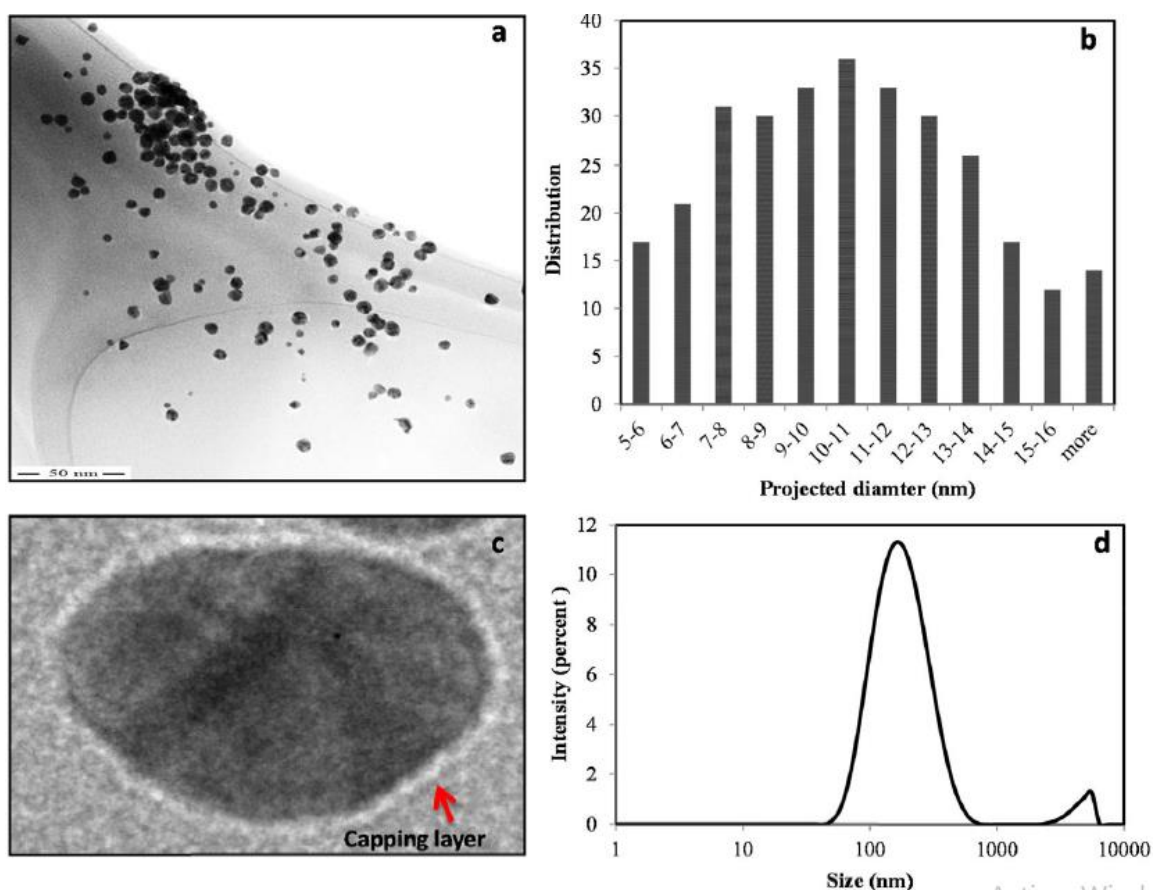


Figura 1.10. Análisis de imágenes TEM que exhibe la (a) forma de AuNP sintetizadas observadas predominantemente esféricas, (b) distribución de tamaño de AuNP, (c) un examen detallado de una sola AuNP que muestra un recubrimiento que encapsula las AuNP y (d) un análisis DLS que muestra la distribución de tamaño de las AuNP.

1.8.2. Degradación fotocatalítica

Singh *et al.* (2021) obtuvieron AuNP mediante extracto de hojas de té verde y estudiaron su actividad fotocatalítica en la degradación del colorante azul de metileno (AM) bajo luz solar con borohidruro de sodio (NaBH_4). En estado oxidado el AM es de color azul, pero cuando se expone a un agente reductor se reduce a azul de leucometileno (ALM) que es incoloro. Los autores encontraron que después de 1 min la banda de absorbancia se reduce y calcularon la degradación catalítica en 36 %, que se puede verificar comparando el color azul

más claro. El color azul de la solución desaparece gradualmente y finalmente se vuelve incoloro (leucoforma) Fig. 1.11 a, b.

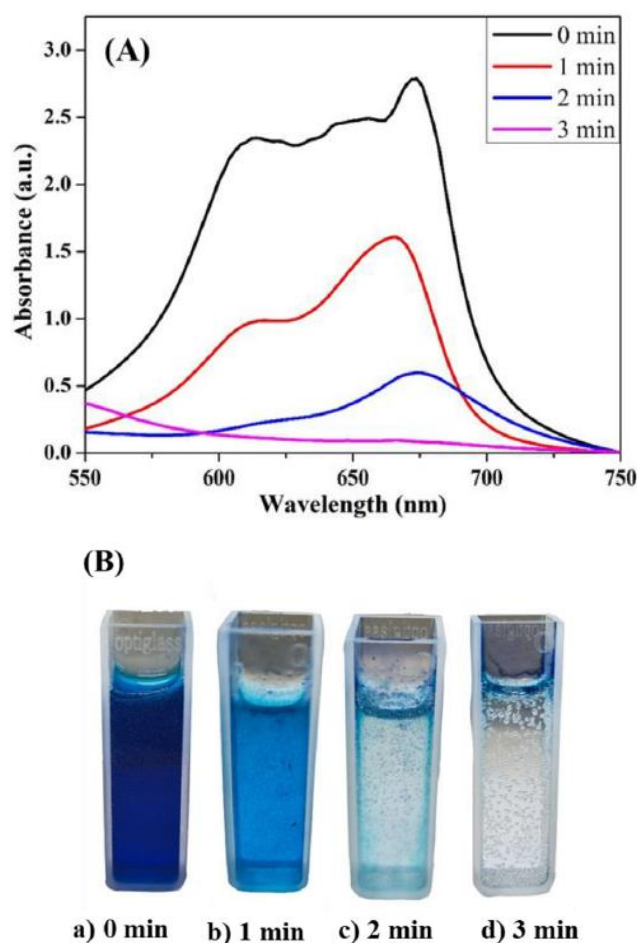


Figura 1.11. a) Espectro de absorción que compara la degradación fotocatalítica de AM por AuNP con b) fotografías de la degradación del AM en diferentes intervalos de tiempo.

Por lo tanto, las AuNP permiten la transferencia de electrones entre el borohidruro (donante) y la solución de colorante (aceptor). Los autores calcularon la degradación catalítica después de 2 y 3 min en ≈ 79 y 96% respectivamente y explican que el NaBH_4 siendo un agente reductor débil ayudó en la reducción del AM, pues la actividad catalítica de las AuNP facilitó la transferencia de electrones de los iones BH_4^- al AM (Fig. 1.12). Es decir, las AuNP se comportan como un sistema de transmisión de electrones que inicia del

NaBH₄ al AM, lo que da como resultado la reducción del colorante a ALM. También investigaron la tasa de catálisis del AM en ausencia de AuNP y vieron que el efecto era insignificante. Por lo tanto, concluyen que las materias primas utilizadas en su estudio, al ser económicas y respetuosas con el medio ambiente, justifican un esfuerzo por realizar más investigaciones a favor de aplicaciones prácticas (60).

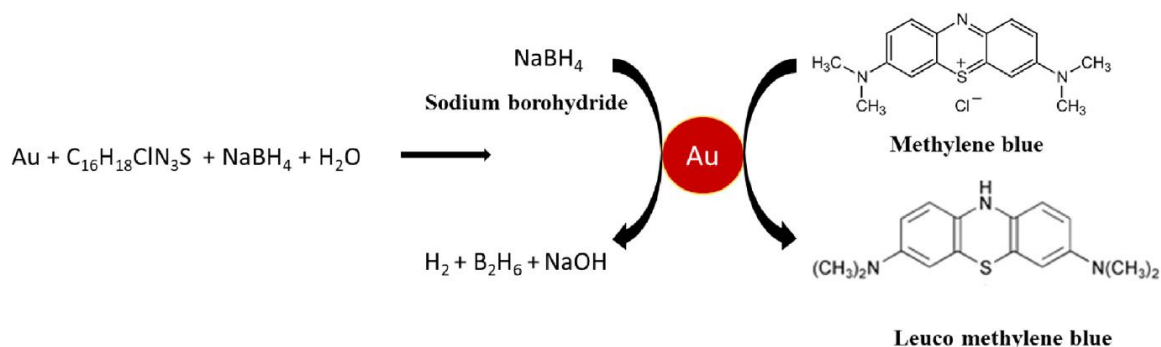


Figura 1.12. Mecanismo de reducción del AM catalizado por AuNP.

Vijayakumar *et al.* (2021) evaluaron la actividad catalítica de AuNP obtenidas con extracto de laminarina en presencia de H₂O₂, y al seguir la degradación del AM bajo luz solar observaron una degradación gradual del AM y completa en 60 minutos (74). Alikhani *et al.* (2022) obtienen AuNP mediante extracto del fruto de *Rosa canina* y analizan la degradación del AM en presencia de NaBH₄. La reducción del AM se corroboró por la pérdida del color azul en un lapso de 60 s (75).

1.8.3. Actividad antioxidante

Chahardoli *et al.* (2018) estudiaron la reducción de iones de oro en AuNP utilizando extracto de hoja de *Nigella arvensis*. La formación de las nanopartículas mediadas por *N. arvensis* (NA-AuNP) se confirmó mediante espectroscopia UV-vis, XRD, FT-IR y TEM. El patrón XRD confirmó la estructura

cristalina de las nanopartículas y la imagen TEM mostró una distribución de tamaño de 3 – 37 nm de AuNP con forma casi esférica.

Las pruebas fitoquímicas les revelaron que el extracto de *N. arvensis* contenía 212 µg/ml de flavonoides totales y 145 µg/ml de compuestos fenólicos totales en la concentración más alta de extracto (500 µg/ml), mientras que los contenidos de fenoles y flavonoides de las NA-AuNP fueron 68 y 189 µg/ml respectivamente (Fig. 1.13 a, b). Estos resultados obtenidos mostraron el papel de los compuestos antioxidantes polifenólicos en la reducción y funcionalización de las AuNP mediante la transferencia de electrones π a los iones Au^{3+} .

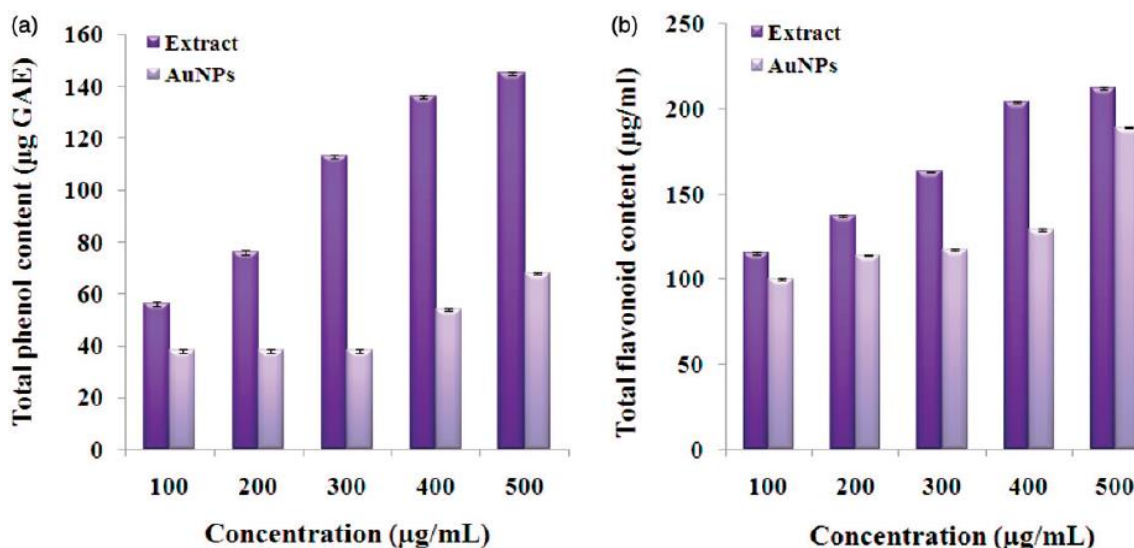


Figura 1.13. a) Contenido fenólico total y b) contenido total de flavonoides del extracto de *N. arvensis* y las NA-AuNP a distintas concentraciones (µg/ml).

Enseguida, los autores midieron el % de inhibición de DPPH frente a diferentes concentraciones de las NA-AuNP y el extracto de *N. arvensis* y observaron que la actividad de eliminación del DPPH por los extractos y las NA-AuNP aumentó al aumentar la concentración de cada uno (Fig. 1.14). El extracto y las NA-AuNP (a la concentración más alta: 500 µg/ml) mostraron una actividad máxima de eliminación del DPPH de 32 y 12 % respectivamente, de modo que las NA-AuNP no mostraron mejores propiedades antioxidantes comparadas con el extracto de

la planta. Los autores explican que la reducción de la concentración de metabolitos de las plantas durante la formación de las AuNP conduce a una disminución de la actividad antioxidante de las NP (76).

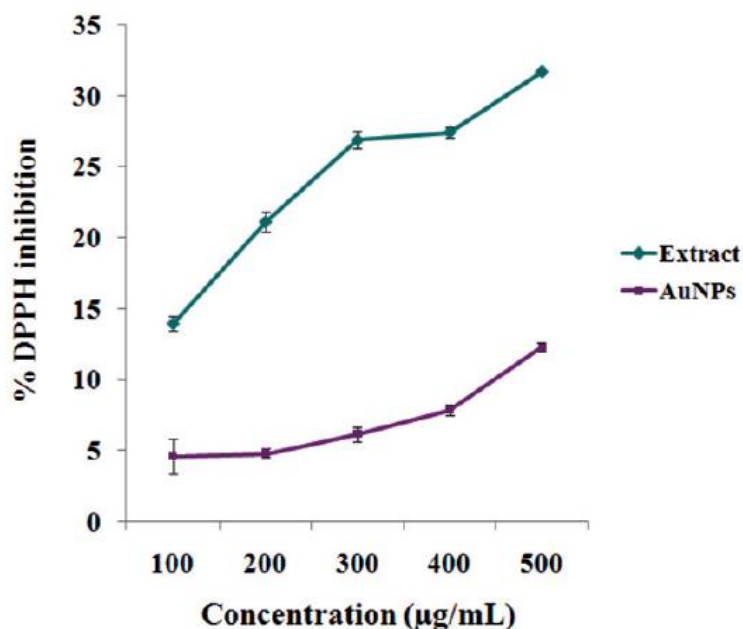


Figura 1.14. Actividad de eliminación de DPPH del extracto de *N. arvensis* y AuNP en varias concentraciones.

Hosny *et al.* (2022) obtuvieron AuNP usando el extracto acuoso de las hojas de *T. capensis* y al medir la actividad antioxidante tanto de las AuNP como del extracto llegaron a resultados del 70.7 y 85.6 % respectivamente. El DPPH de color violeta originalmente se decoloró debido a que recibió electrones de las AuNP o del extracto, es decir ambas sustancias actuaron como hidrógeno o donadores de electrones (77). También Sekar *et al.* (2022) sintetizaron AuNP con extracto acuoso de *Physalis minima* y obtuvieron buenos resultados de % de inhibición del DPPH para el extracto como para las AuNP de aproximadamente 86 y 90 % (78).

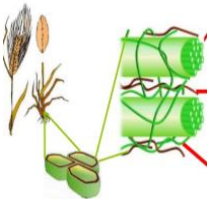
En resumen, la producción de AuNP es fácil y simple cuando se trata de síntesis verde. La reacción se puede realizar en ambientes suaves sin elevación de

temperatura y presión. La velocidad de reacción depende del agente reductor verde o fitoconstituyentes de la planta. Normalmente, un agente reductor a base de plantas da la reacción más rápida, que varía de minutos a horas en comparación con otros materiales verdes (79).

A pesar de las ventajas logradas por la síntesis verde, se necesita más trabajo para lograr comercializar y aumentar la producción de AuNP. A diferencia de la síntesis física y química, todavía existen muchos factores desconocidos que impiden que este método gane el lugar que le corresponde en la medicina. Se han realizado diferentes investigaciones utilizando materiales verdes debido a la presencia de compuestos orgánicos y grupos funcionales en los materiales. Sin embargo, el mecanismo de producción no está claro y una investigación más detallada debe centrarse en las propiedades de los agentes reductores (45). Dentro de esto, la determinación de los principales componentes reductores o grupos orgánicos debe realizarse de manera que se pueda establecer un método preciso y repetible. Debería estudiarse el mecanismo y la unión de la reacción, así como para proporcionar información para la utilización de las NP. Por tanto, es necesario dominar los detalles de la formación de NP antes de adaptarlos a diferentes áreas (80). En la Tabla 1.2 se muestran trabajos destacados.

Tabla 1.2. Trabajos recientes en síntesis de AuNP mediante extractos de plantas.

Autor/año	Planta	Técnicas de caracterización	Forma y tamaño	Aplicación
(81)	Frutos de <i>Garcinia indica</i> (GI) y <i>Garcinia cambogia</i> (GC) 	UV-Vis; FT-IR; XRD; EDX; HR-TEM; DPPH; Actividad citotóxica y antibacterial	Esféricas con una forma triangular y sus tamaños promedio oscilaron entre 2 y 10 nm.	Antioxidante Antibacterial

(82)	Aceite de <i>Persea americana</i> (aguacate)  Avocado Oil	UV-vis, TEM, DLS, XRD, FTIR	Esféricas, cuasi esféricas, decaédricas y triangulares: 48.8 ± 24.8 nm.	Antioxidante Fotocatálisis
(83)	Extracto de corteza de <i>Mimosa tenuiflora</i> 	TEM, DRX, UV-Vis, FTIR, XPS	Exhiben múltiples formas con tamaños entre 20 y 200 nm.	Antioxidante Fotocatálisis
(79)	Hojas de <i>Myristica fragrans</i>. 	UV-vis, FT-IR, XRD, HR-TEM, EDX	Partículas de 18.72 nm, polidispersas, hexagonales y triangulares en forma de placa, con la mayoría en forma casi esférica.	Fotocatálisis
(84)	Nanopartículas de lignina (LNP) a temperatura ambiente. 	UV-Vis, TEM, XPS, FT-IR, 31P	Esféricas bien dispersos en las LNP. Con diámetros de 10 a 30 nm.	Sensores, material sensible y actuadores.
(85)	Extracto de semilla de <i>Citrullus colocynthis</i> 	UV-Vis XRD, SEM y FT-IR	Esféricas oscilaron entre 7 y 33 nm (SEM)	Nanofertilizantes, aplicaciones bioherbidas, biomédicas y farmacéuticas.

Es importante comentar que las AuNP se pueden utilizar en diferentes áreas como la medicina, la tecnología, la química y la industria. De modo que es necesario realizar más estudios para determinar los usos potenciales de las AuNP en el área médica debido a sus propiedades únicas. Ya que una característica notable de las AuNP es que son capaces de emitir fluorescencia. Esta propiedad se puede utilizar como marcador de enfermedades. Otra propiedad es su funcionalidad multisuperficie, que los convierte en posibles candidatos para transportar medicamentos para un tratamiento específico. Y aunque muchos investigadores han demostrado que las AuNP no son tóxicas, se debe realizar una prueba de toxicidad detallada para determinar la seguridad de las AuNP en lo que respecta a su aplicación y uso (80).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1. Obtención del extracto de *H. excelsa*

Para la obtención del extracto se pesan 10 gr de corteza de tallo de cancerina, enseguida, se colocan en un matraz de bola con 100 ml de agua tridestilada. Después, la mezcla se somete a ebullición durante 15 minutos, se detiene el calentamiento y se deja enfriar. De este modo, el extracto obtenido se filtra para apartarlo de los restos de cancerina y se deja reposar durante una noche. Al día siguiente, el extracto se coloca en una centrifuga para acelerar la separación de sus componentes a 6000 rpm durante 5 minutos. Finalmente, el extracto se filtra y se deja en refrigeración. La Fig. 2.1 indica la metodología descrita.

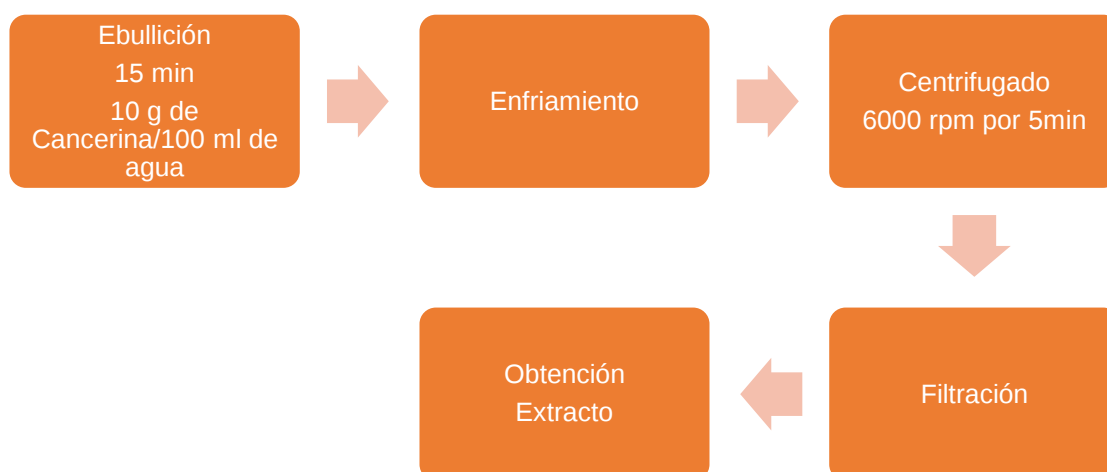


Figura 2.1. Diagrama de bloques del método de obtención del extracto de *H. excelsa*.

2.2. Síntesis de AuNP

Para la síntesis verde de AuNP se empleó ácido tetracloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) como precursor metálico. En primer lugar, se prepara una solución del precursor metálico a diferentes concentraciones (0.25, 0.5 y 1 mM).

Después, se colocan 10 ml de precursor metálico en diferentes frascos de vidrio. Enseguida, se añaden diferentes cantidades de extracto (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ml respectivamente) y de inmediato se inicia la agitación en la mezcla de reacción. Al transcurrir poco más de 1 minuto, se observa un cambio de color de la mezcla hacia un tono violeta oscuro. La reacción se mantiene en agitación durante 2 horas. La Fig. 2.2 muestra la síntesis verde de AuNP.

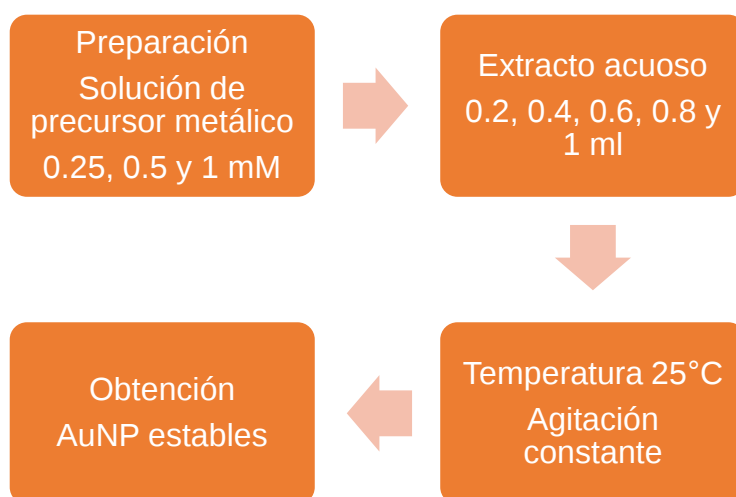


Figura 2.2. Diagrama de bloques del método simple para la producción de AuNP.

2.3. Caracterización de las AuNP

2.3.1. Espectroscopia UV-VIS

La espectroscopia UV-Vis se basa en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible con longitud de onda de 160 a 780 nm. La absorción de esta radiación provoca la promoción de un electrón a un estado excitado. Es una técnica robusta, sencilla, económica y rápida (86). Se emplearon dos equipos para realizar las mediciones: 1) espectrofotómetro Perkin Elmer en FIQ BUAP y Varian Cary en Ecocampus BUAP.

2.3.2. Dispersión de luz dinámica (DLS)

La dispersión dinámica de luz (DLS por sus siglas en inglés *Dynamic light Scattering*), espectroscopía de correlación de fotones (PCS por sus siglas en inglés *Photon Correlation Spectroscopy*) o QELS (*Quasi Elastic Light scattering*), es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión o macromoléculas en solución tales como proteínas o polímeros (87). La luz láser al alcanzar las numerosas partículas que hay en una suspensión, se dispersa en todas las direcciones posibles. Si las partículas se mueven rápidamente (partículas pequeñas), se acelera la variación de la intensidad de dispersión. Por el contrario, las partículas lentas (grandes) llevan a variaciones más lentas (88).

Para estas mediciones fue necesario realizar una dilución de la muestra de AuNP (50 μ L de AuNP con 1600 μ L de agua tridestilada). Después se somete a sonicación durante 5 minutos para dispersar bien a las nanopartículas, enseguida la muestra se coloca en una celda adecuada, que consta de 4 caras ópticas que hacen posible su medición en el equipo de dispersión de luz. El equipo de medición fue un *Zetasizer nanoserries* de Malvern Panalytical. Se estableció realizar 3 corridas por medición en el equipo, en los resultados se muestran los gráficos con 3 curvas correspondientes a cada corrida. Después de las primeras mediciones, se colocó el grafico obtenido con la primera corrida únicamente.

2.3.3. Potencial Z

La medición del potencial Z (PZ) permite conocer la carga superficial de las AuNP. La carga superficial es el potencial eléctrico entre una solución acuosa y la capa de iones estacionarios unida a las AuNP. Se considera que valores más positivos de 30 mV o más negativos de -30 mV demuestran que las nanopartículas son más estables (89). El PZ se mide en el equipo de DLS, para esto se tomó una cantidad de 1600 μ L de agua tridestilada en 50 μ L de AuNP. La celda que se emplea se muestra en la Fig. 2.3.



Figura 2.3. Celda para medir potencial Z llena de AuNP.

2.3.4. Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

TEM es uno de los microscopios más potentes, produce aumentos que son 2 millones de veces mejores que los obtenidos por el microscopio óptico. La imagen se construye a través de un haz de electrones que impacta sobre una muestra delgada y cuya longitud de onda corta produce imágenes de alta resolución (90).

La morfología y el tamaño de las AuNP sintetizadas se determinaron mediante un microscopio JEOL-JEM-2010 en modo de transmisión convencional, operando a 80 kV (91). Para esta caracterización, las muestras se prepararon colocando una gota de la solución en una rejilla de Cu recubierta de carbono antes de secarlas al aire. Se realizó un análisis estadístico de los tamaños de las NP, se contaron de 460 a 500 partículas, se digitalizaron y se calcularon sus dimensiones utilizando el software [Image J](#) (92).

2.4. Pruebas fotocatalíticas

Fotodegradación del tinte azul de metileno

La actividad fotocatalítica de las AuNP se evaluará con la capacidad de degradación del colorante azul de metileno. Básicamente, el AM presenta dos bandas de absorción UV-Vis características, una en ≈ 664 nm proveniente del monómero y la otra en ≈ 612 nm surgen debido al dímero del AM. Adicionalmente, el espectro posee dos bandas en la región UV alrededor de 245 y 292 nm provocadas por el benceno sustituido (93). Debido a peculiaridad de

resonancia plasmónica superficial de las AuNP, estas nanopartículas pueden considerarse un agente fotocatalítico potencial en el tratamiento de aguas residuales industriales (94).

Se preparó una solución del AM a concentración de 5 ppm para llevar a cabo los experimentos. Se mezclaron 40 ml de la solución de AM con 5 ml de las muestras de interés. Las muestras de interés corresponden a:

- Extracto de *H. excel/sa* diluido en agua en relación 1:1.
- AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavado.
- AuNP con HAuCl_4 [1 mM] sin lavado.
- AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sometidas a un proceso de lavado.
- AuNP con HAuCl_4 [1 mM] sometidas a un proceso de lavado.

Se utilizó una solución exclusivamente con AM como blanco. Las muestras se colocaron bajo la acción directa de sol con agitación constante durante 1 hora y media. Para monitorear el cambio en la composición química del colorante se recolectaron 5 muestras (suspensión de 2 a 3 ml) cada 20 minutos para evaluar la degradación fotocatalítica del tinte a intervalos de tiempo específicos. Finalmente, las muestras recolectadas de cada contenedor se analizaron por espectroscopía UV-Vis. La reducción de la intensidad de la banda de absorción principal del AM a 665 nm, refleja la disminución de la concentración de colorante en solución. Por tanto, la degradación del azul de metileno se calculó en términos de porcentaje de degradación mediante la ecuación (2.1):

$$\% \text{ degradacion} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad (2.1)$$

donde A_0 es la absorbancia inicial de la solución del colorante y A_t es la absorbancia de la solución del colorante después de la degradación fotocatalítica (93).

A partir de los gráficos de absorbancia vs tiempo se construyeron los gráficos de concentración del AM mediante la ecuación (2.2), que relaciona la absorbancia con la concentración del tinte de la siguiente forma:

$$\begin{aligned}
 A &\propto C \\
 A &= KC \\
 A_0 &= KC_0 \\
 \frac{A}{A_0} &= \frac{KC}{KC_0} \\
 \frac{A}{A_0} &= \frac{C}{C_0} \quad (2.2)
 \end{aligned}$$

De modo que el porcentaje de degradación se obtiene a partir de la ecuación (2.3) (93):

$$\% \text{ degradacion} = \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) \times 100 \quad (2.3)$$

2.5. Pruebas Antioxidantes: ABTS y DPPH

Se determinó la actividad antioxidante tanto del extracto de *H. excelsa*, como de las AuNP (95). En primer lugar, se preparó una solución de 50 ml de DPPH diluido en metanol a concentración 0.00037 M, se tomó 3900 μ L de la solución del DPPH y se mezcló con 100 μ L de la muestra de interés. Se realizaron 5 muestras del extracto de *H. excelsa* diluido en metanol a 10, 20, 30, 40 y 50 μ L/mL. Las AuNP se emplearon de modo directo frente al radical debido a que al realizar la medición de la absorbancia con las AuNP diluidas, no mostro un cambio significativo en la reducción de la misma. Las pruebas se realizaron por duplicado para cada concentración a temperatura ambiente y se dejó un periodo de 30 minutos de reacción entre el radical y la muestra de interés para después

medir el cambio en la absorbancia. Se usó metanol para la corrección de la línea de base. La absorbancia de las muestras se midió a 517 nm. El cambio notorio en la disminución de la absorbancia del radical indica una alta capacidad antioxidante de las muestras de interés. En otras palabras, la actividad de captación de radicales DPPH se logra expresar como un porcentaje de inhibición del radical y se calculó mediante la siguiente ecuación (2.4) (95).

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = \frac{(A_{control} - A_{prueba})}{A_{control}} \times 100 \quad (2.4)$$

Donde $A_{control}$ es la absorbancia del radical solo, sin mezclarse con las muestras y A_{prueba} es la absorbancia del radical mezclado con la muestra bajo estudio después de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

3.1. Espectroscopia UV-Vis

3.1.1. Síntesis de AuNP variando la cantidad de extracto de *H. excelsa*

Los espectros de absorción obtenidos para el agua tridestilada, el ácido cloroáurico 0.25 mM, el ácido cloroáurico 1 mM, el extracto puro y el extracto diluido en agua en relación 1:1 en volumen se muestran en la Fig. 3.1. Estas soluciones se denominan blancos. El espectro obtenido para el ácido cloroáurico presenta dos bandas características de la molécula, una en 220 nm y la otra alrededor de 300 nm, asignadas a la transferencia de carga entre los ligandos de cloro y oro (96–98).

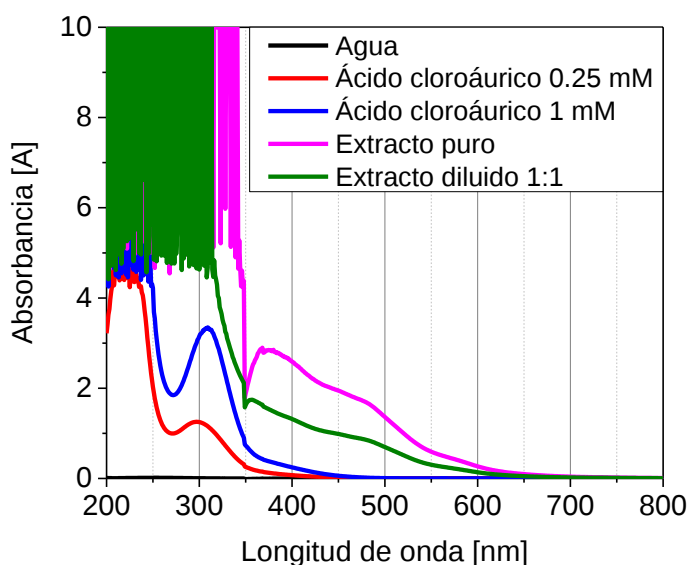


Figura 3.1. Espectro UV-vis de los blancos.

En la primera reacción de síntesis de AuNP se empleó el extracto puro y el ácido cloroáurico (1mM). El primer cambio que se percibe en la mezcla de reacción es un cambio de color, de amarillo a un café claro hasta llegar a un violeta oscuro que indica que se han formado AuNP de manera exitosa (99). El color ámbar del

extracto *H. excelsa* HBK puro, el color café claro del extracto diluido, el color amarillo tenue del HAuCl_4 y el color violeta oscuro de las AuNP obtenidas con distintas cantidades de extracto: 0.6, 0.8 y 1 ml se muestran en la Fig. 3.2. El cambio de color de la mezcla ocurre debido al fenómeno de resonancia plasmónica superficial (SPR) que únicamente ocurre en partículas a nanoescala. Suceso que se crea por la excitación de todos los electrones libres de la banda de conducción y que genera una oscilación colectiva de todos los electrones (100).

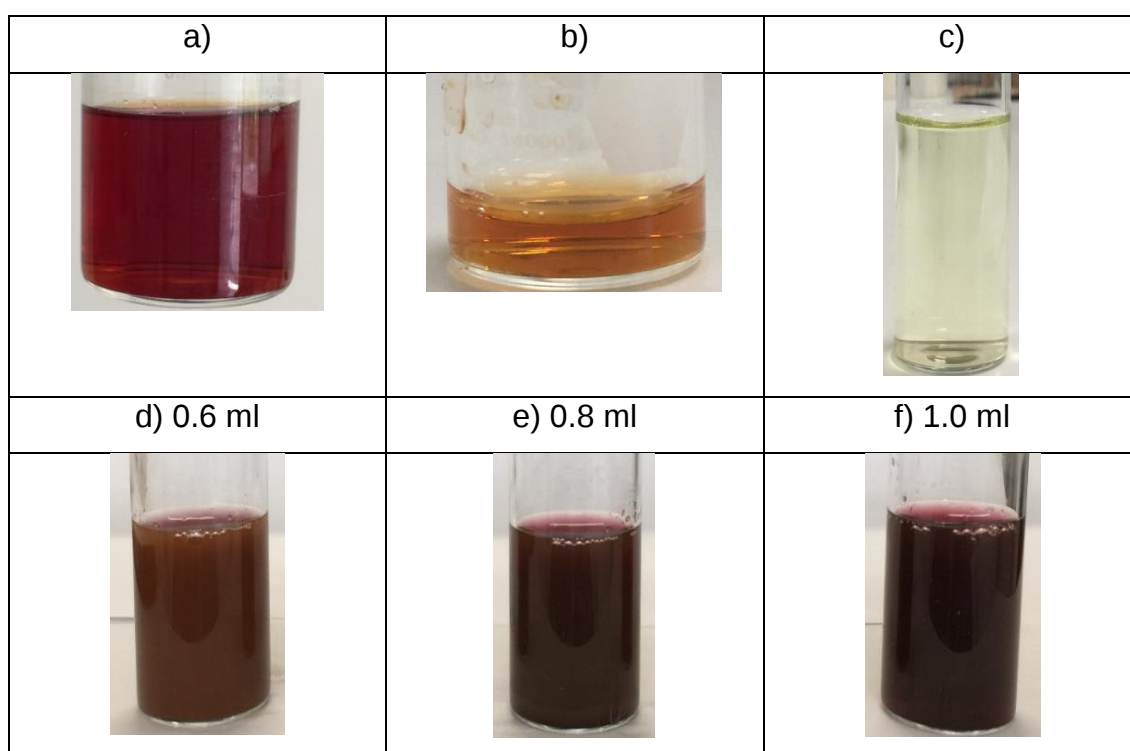


Figura 3.2. a) Extracto de *H. excelsa* HBK puro, b) extracto de cancerina diluido 1:1, c) solución de HAuCl_4 a [1 mM]. AuNP sintetizadas con diferentes cantidades de extracto de cancerina diluido: d) 0.6, e) 0.8 y f) 1.0 ml en combinación con la solución de HAuCl_4 [1 mM] a 23 °C. La fotografía fue tomada a los 125 min.

Los espectros que se obtuvieron al sintetizar AuNP con HAuCl_4 [1mM] con diferentes cantidades de extracto puro: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ml a los 45 minutos

de reacción se muestran en la Fig. 3.3. De acuerdo con Khatua *et al.* (2020) la banda de la resonancia plasmónica superficial en el espectro UV-vis ubicada en el intervalo de 525 a 540 nm indica la presencia de AuNP esféricas, de 10 – 18 nm de diámetro (101). En la Fig. 3.3 se observa que la banda del SPR para las reacciones con 0.4, 0.6, 0.8 y 1 ml de extracto se encuentra alrededor de 540 nm, sugiriendo AuNP de forma esférica. Sin embargo, en las AuNP sintetizadas con 0.2 ml de extracto el SPR se desplazó a mayor longitud de onda o hacia el color rojo del espectro visible (*red shift*, por su nombre en inglés), con una amplitud de banda mayor. Estos resultados sugieren que las nanopartículas obtenidas con una pequeña cantidad de 0.2 ml de extracto son más grandes y podrían poseer formas diferentes a la esférica (102).

Por otro lado, con el incremento de la cantidad de extracto, la banda de absorción presenta un aumento en la intensidad y un desplazamiento hacia el azul (*blue shift* por su nombre en inglés), indicando que el tamaño de las AuNP disminuye, en otras palabras, el tamaño de las AuNP es inversamente proporcional a la cantidad de extracto empleada (103).

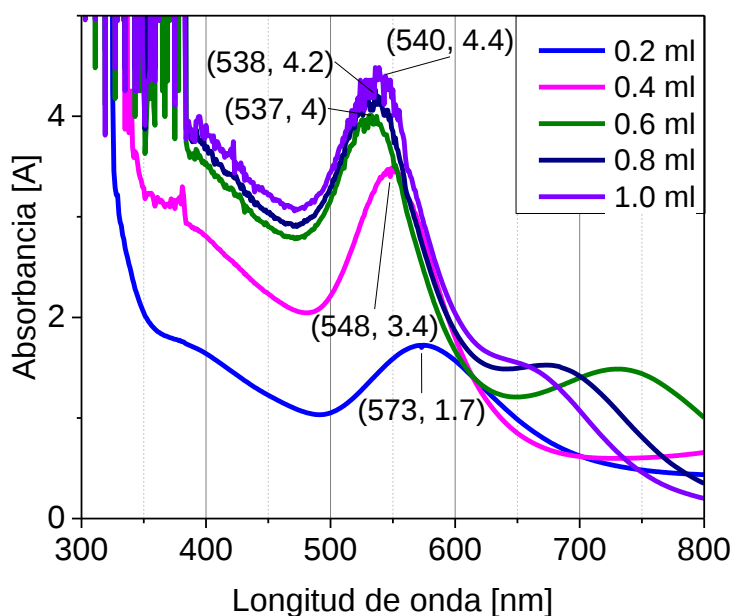


Figura 3.3. Espectros UV-vis de las AuNP obtenidas con diferentes cantidades de extracto de cancerina.

A continuación, se presentan los espectros de UV-vis para la síntesis de las AuNP con extracto diluido en agua tridestilada en relación 1:1, con un tiempo de reacción es de 2 horas (Fig. 3.4). Al incrementar la cantidad de extracto, la absorbancia aumenta desde 0.5 a 3.7 u. a., indicando la formación de una mayor cantidad de AuNP. Para 0.2 y 0.4 ml de extracto no se forma la banda característica del SPR en la región de 500 – 550 nm, sugiriendo la presencia de AuNP anisotrópicas, observe que la banda de absorción se ubica a partir de 600 nm (104). Este comportamiento sugiere que no hay suficientes biomoléculas capaces de cubrir y estabilizar a las nanopartículas. Sin embargo, cuando el volumen de extracto es de 0.6, 0.8 y 1 ml, la intensidad de la banda SPR aumenta de 2.2 hasta 3.7 y la longitud de onda de la banda de absorción en su punto máximo (λ_{max}) se desplaza de 573 a 545 nm. Este comportamiento señala que la cantidad de AuNP aumenta, el tamaño tiende a disminuir (100) y son monodispersas (105). Es importante recalcar que el recurso biológico que se emplea aquí es mínimo, del mismo modo que en la literatura (106).

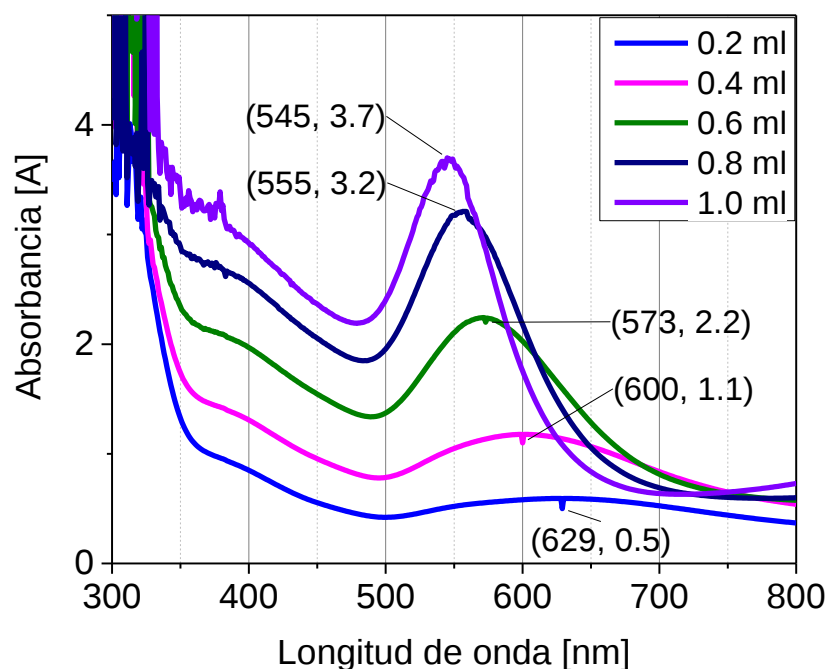
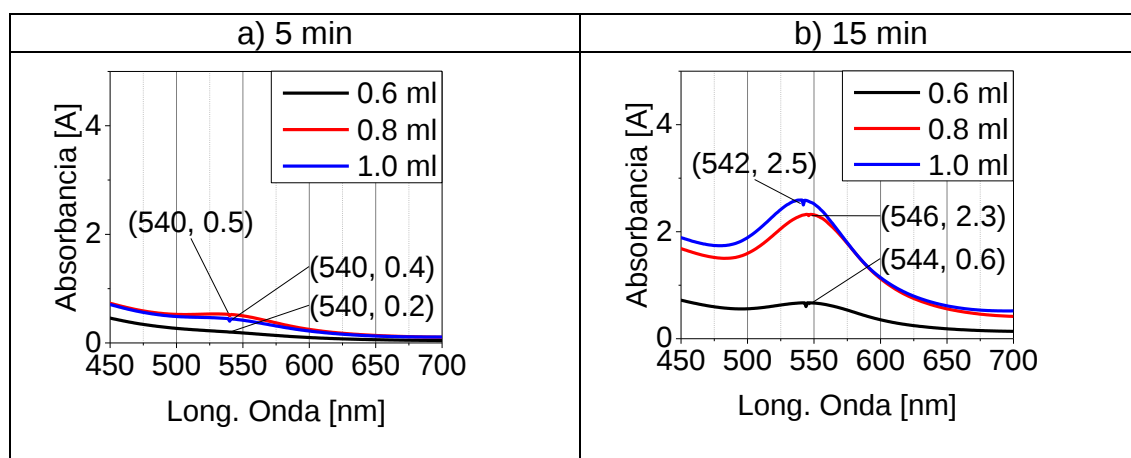


Figura 3.4. Espectros UV-vis de las AuNP obtenidas con diferentes cantidades de extracto de cancerina diluido 1:1.

A partir de los resultados obtenidos se optó por realizar una segunda síntesis de AuNP empleando el extracto diluido, pero sin tomar en cuenta el volumen de 0.2 y 0.4 ml de extracto de cancerina por no mostrar un efecto considerable. La medición de espectroscopia UV-vis de la formación de las AuNP desde el inicio hasta el final de la reacción a diferentes intervalos de tiempo se presenta en la Fig. 3.5. Es posible observar un incremento gradual de la absorbancia al aumentar el tiempo. Para 1 ml de extracto, la absorbancia se incrementa de 0.4 a 4.9 demostrando que se generó una mayor cantidad de AuNP. Sreedharan *et al.* sintetizaron AuNP mediante el patógeno *Macrophomina phaseolina* y señalan que el incremento en la absorbancia se debe a la continua reducción de los iones metálicos (107). Por otra parte, durante toda la reacción, la λ_{max} para la síntesis que emplea un volumen de 1 ml de extracto es de ~543 nm, valor menor a los correspondientes para 0.6 y 0.8 ml de extracto. Este comportamiento indica que el tamaño de las nanopartículas es menor para la reacción con 1 ml de extracto (83). Patil *et al.* (2019) sintetizaron AuNP con extracto de *A. pilosa*, cuyo pico de absorción máxima lo observaron en 535 nm, reportando tamaños que van de 20 a 50 nm (108).

Por otra parte, cuando se emplea un volumen de 0.6 ml de extracto, la λ_{max} se desplaza de 540 a 544, 559, 558 y hasta 559 nm para 5, 15, 35, 65 y 125 min respectivamente. Keijok *et al.* (2019) indican que cuando existen desplazamientos de la λ_{max} hacia la derecha o hacia valores mayores además de un incremento en la absorbancia, las nanopartículas se agregan y pierden estabilidad (57).



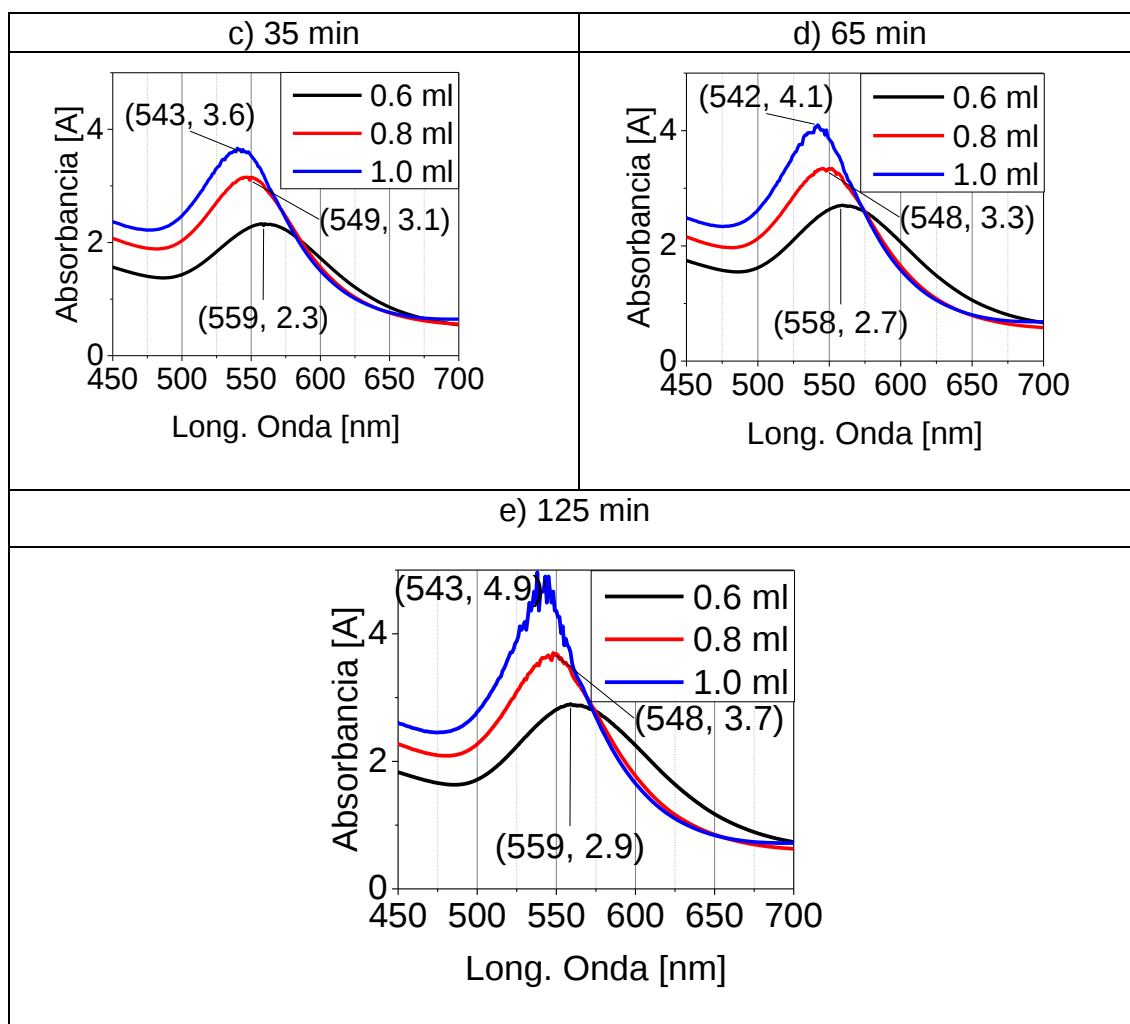
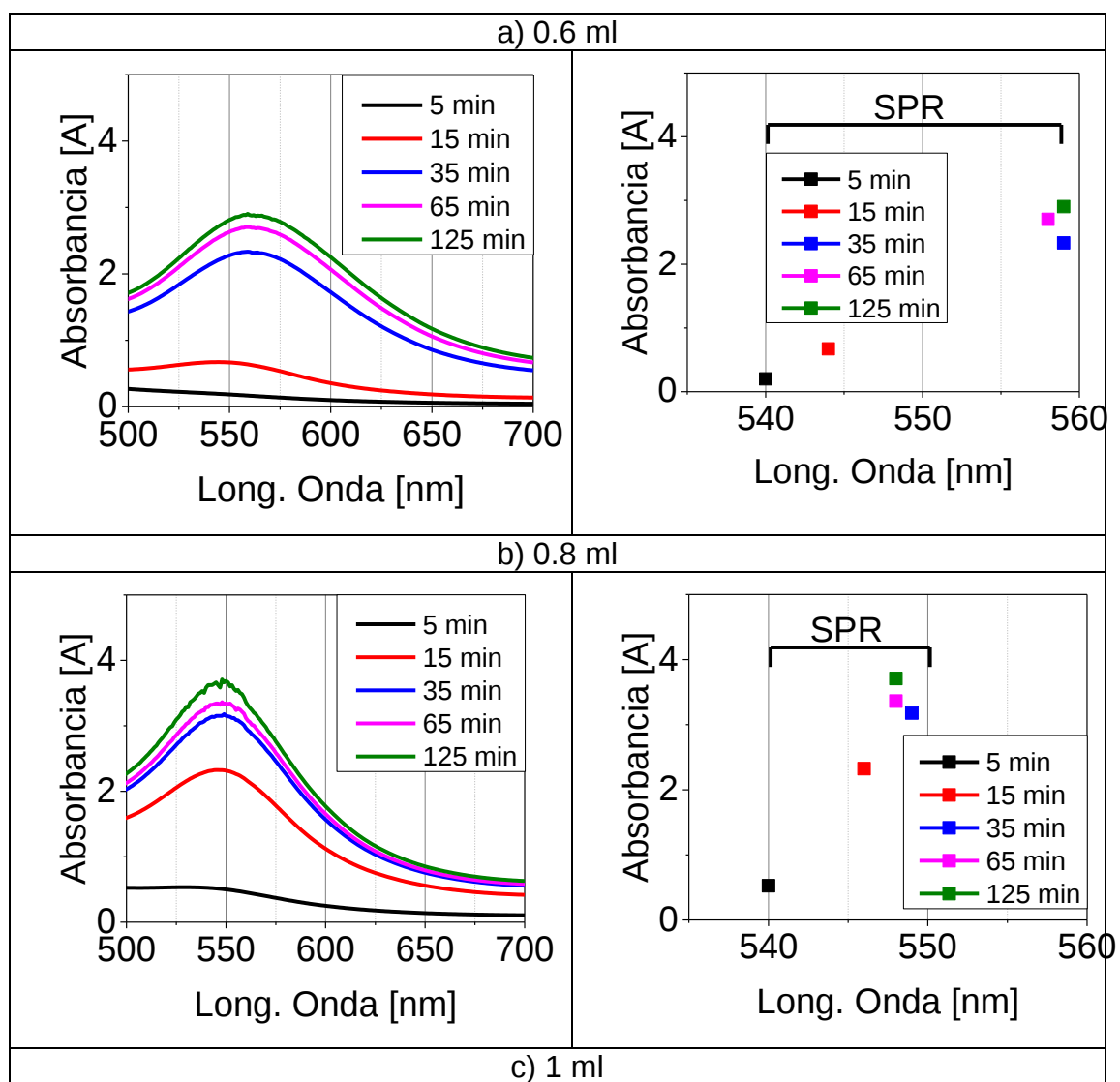


Figura 3.5. Espectros UV-vis obtenidos durante la formación de las AuNP con extracto de cancerina diluido 1:1 a diferentes intervalos de tiempo: a) 5, b) 15, c) 35, d) 65 y e) 125 minutos. Temperatura de síntesis 23 °C.

Desde otro punto de vista, los espectros UV-vis en la síntesis de AuNP empleando 0.6, 0.8 y 1 ml de extracto, muestran un desplazamiento de la banda del SPR hacia la derecha al aumentar el tiempo de reacción (Fig. 3.6). Como se comentó antes, el *red-shift* impacta en el tamaño de las AuNP, las cuales crecen. El intervalo de desplazamiento hacia la derecha de 540 a 545 nm cuando se emplea 1 ml de extracto en la síntesis, es menor que para 0.6 y 0.8 ml (Fig. 3.6 c). Este comportamiento sugiere que una mayor cantidad de extracto en la reacción promueve que las AuNP sean más pequeñas.

De manera sorprendente, se aprecia un pequeño desplazamiento de la λ_{max} hacia la izquierda de los 35 a los 65 minutos en los tres volúmenes de extracto empleados en las síntesis. Un corrimiento hacia el azul se asocia a que existe una mayor distancia entre las nanopartículas, es decir, las AuNP son más pequeñas y posiblemente esféricas (109).

Las bandas del SPR más amplias y de menor absorbancia ocurren para un volumen de 0.6 ml de extracto (Fig. 3.6 a). Mariychuk *et al.* (2020) comentan que bandas amplias indican la presencia de AuNP polidispersas, es decir, tamaños diferentes y grandes y que se ubican en un medio con mayor concentración de iones oro (Au^{3+}) (110).



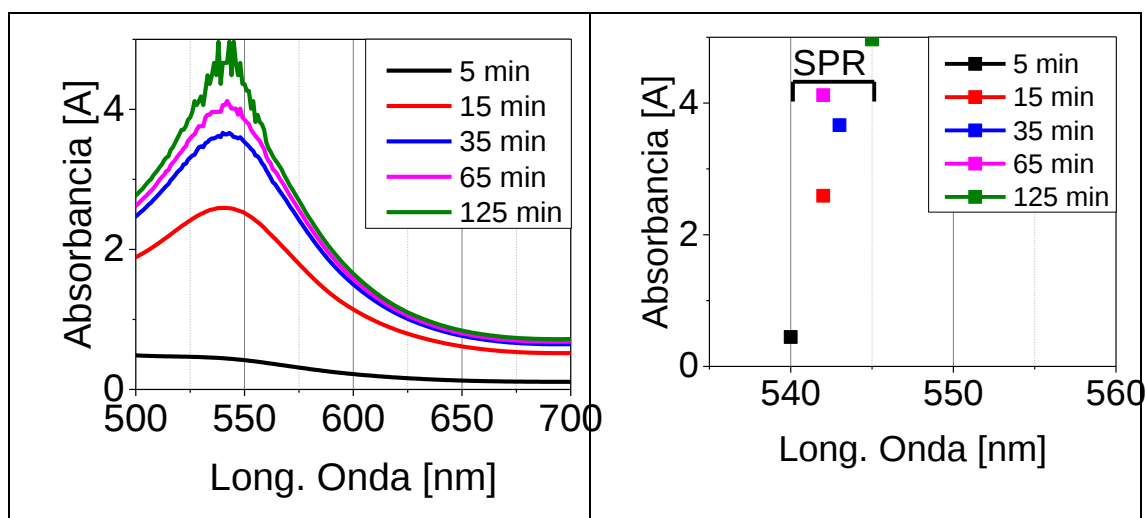
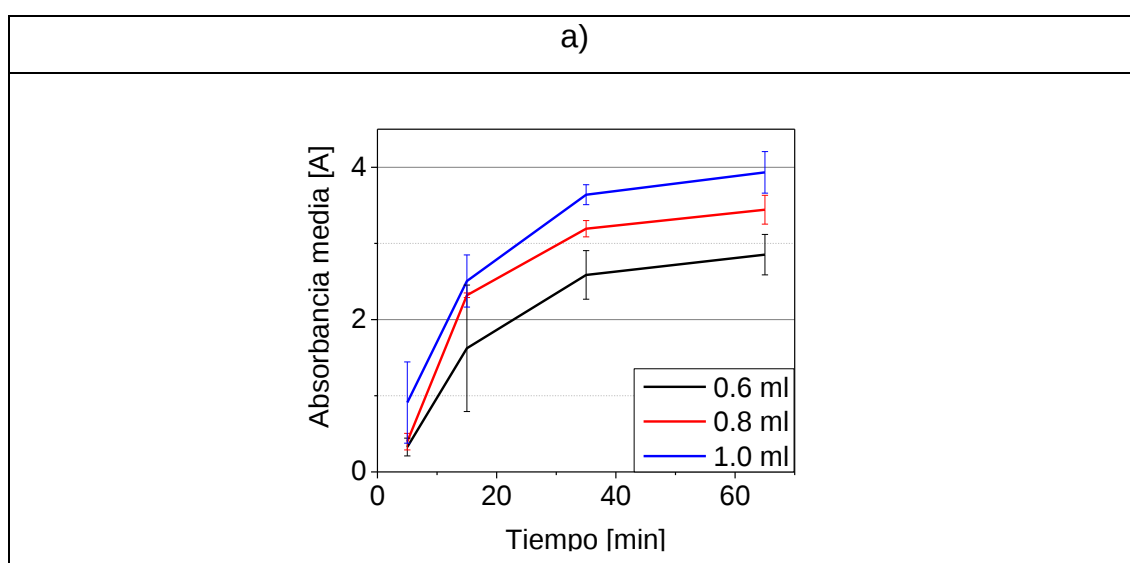


Figura 3.6. Espectros UV-vis de las AuNP con a) 0.6, b) 0.8 y c) 1 ml de extracto de *H. excelsa* K diluido 1:1.

A partir de 3 mediciones de espectroscopia UV-vis con volúmenes de 0.6, 0.8 y 1 ml de extracto diluido, se calculó la desviación estándar de la absorbancia y la λ_{max} de las bandas del SPR a diferentes tiempos (Fig. 3.7). La absorbancia es mayor para la reacción con 1 ml de extracto por tanto, la cantidad de AuNP formadas es mayor que en 0.6 y 0.8 ml de extracto (Fig. 3.7 a) (111). Por otra parte, la reacción con 1 ml de extracto genera una banda a menor longitud de onda, indicando la formación de AuNP de menor tamaño (112). Además, se presume una reacción más controlada debido a que la λ_{max} se desplaza en un pequeño intervalo de 536 a 541 nm (Fig. 3.7 b) (113).



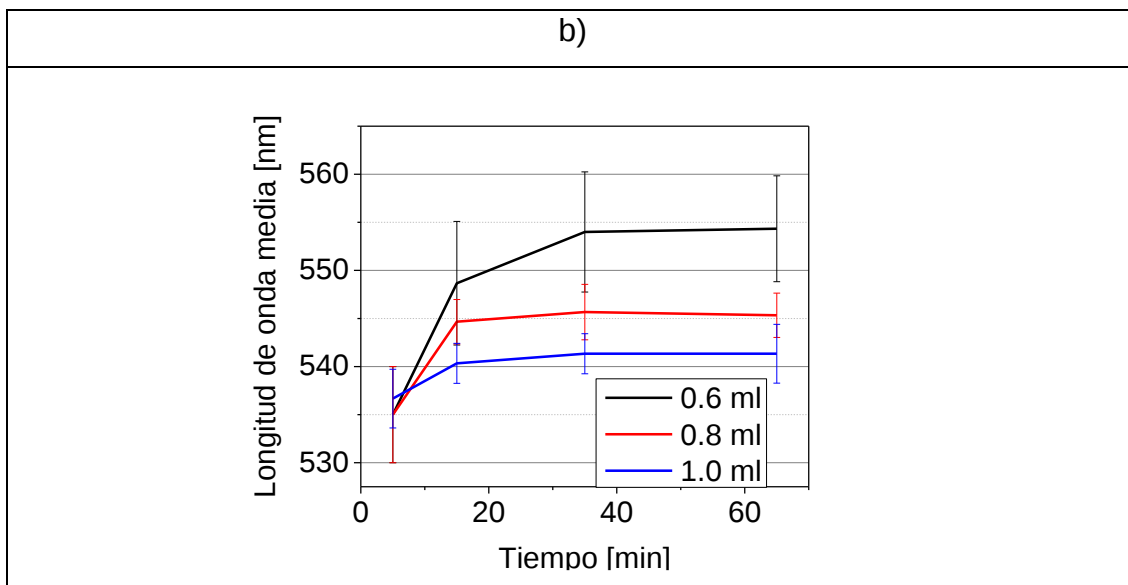


Figura 3.7. Cinética de formación de las AuNP en a) absorbancia y b) longitud de onda vs. tiempo para 0.6, 0.8 y 1 ml de extracto de *H. excelsa* diluido 1:1. La desviación estándar se representa con barras de error en cada tiempo.

3.1.2. Síntesis de AuNP variando la concentración del precursor metálico

De acuerdo con los resultados obtenidos, se decide trabajar con la síntesis que emplea 1 ml de extracto. En esta síntesis se modifica la concentración del ácido cloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) en: 0.25, 0.5 y 1 mM.

Al finalizar la reacción, se obtiene un color violeta oscuro, el color es más intenso cuando se emplea una concentración del precursor de 1 mM (la concentración de precursor está al cuádruple comparado con 0.25 mM) (Fig. 3.8) (83). El color uniforme indica la reducción de los iones Au^{3+} a Au^0 metálico (114).

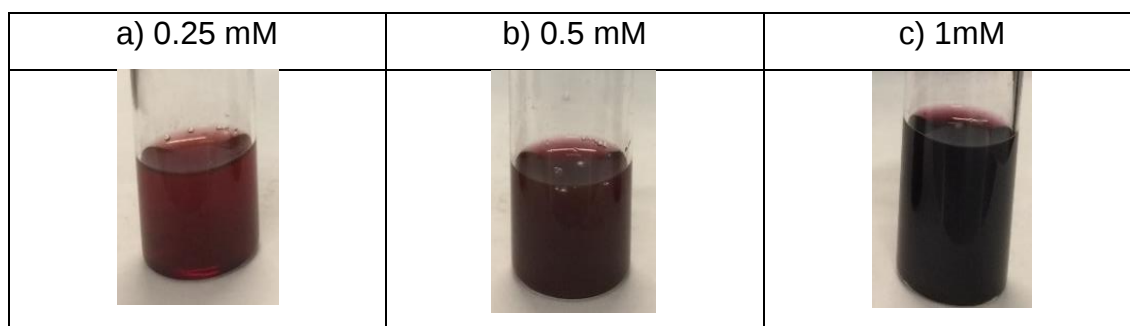


Figura 3.8. AuNP coloidales a diferente concentración de HAuCl_4 : a) 0.25, b) 0.5 y c) 1 mM con un tiempo de reacción de 52 min a 23 °C.

En el espectro UV-vis a una concentración de 0.25 mM del precursor, la banda del SPR ubicada en 540 nm no cambia en posición ni en absorbancia, en consecuencia, la reacción fue tan rápida que desde los 15 minutos se completó (Fig. 3.9 a) (101). El espectro a 0.5 mM muestra un comportamiento idéntico a partir de los 45 minutos, después de ese tiempo no hay variación significativa (Fig. 3.9 b). La reacción que empleo HAuCl_4 [1 mM] llevo a cabo la formación de las AuNP en aproximadamente 75 minutos (Fig. 3.9 c). El comportamiento de las muestras es estable a 105 min (Fig. 3.9 d).

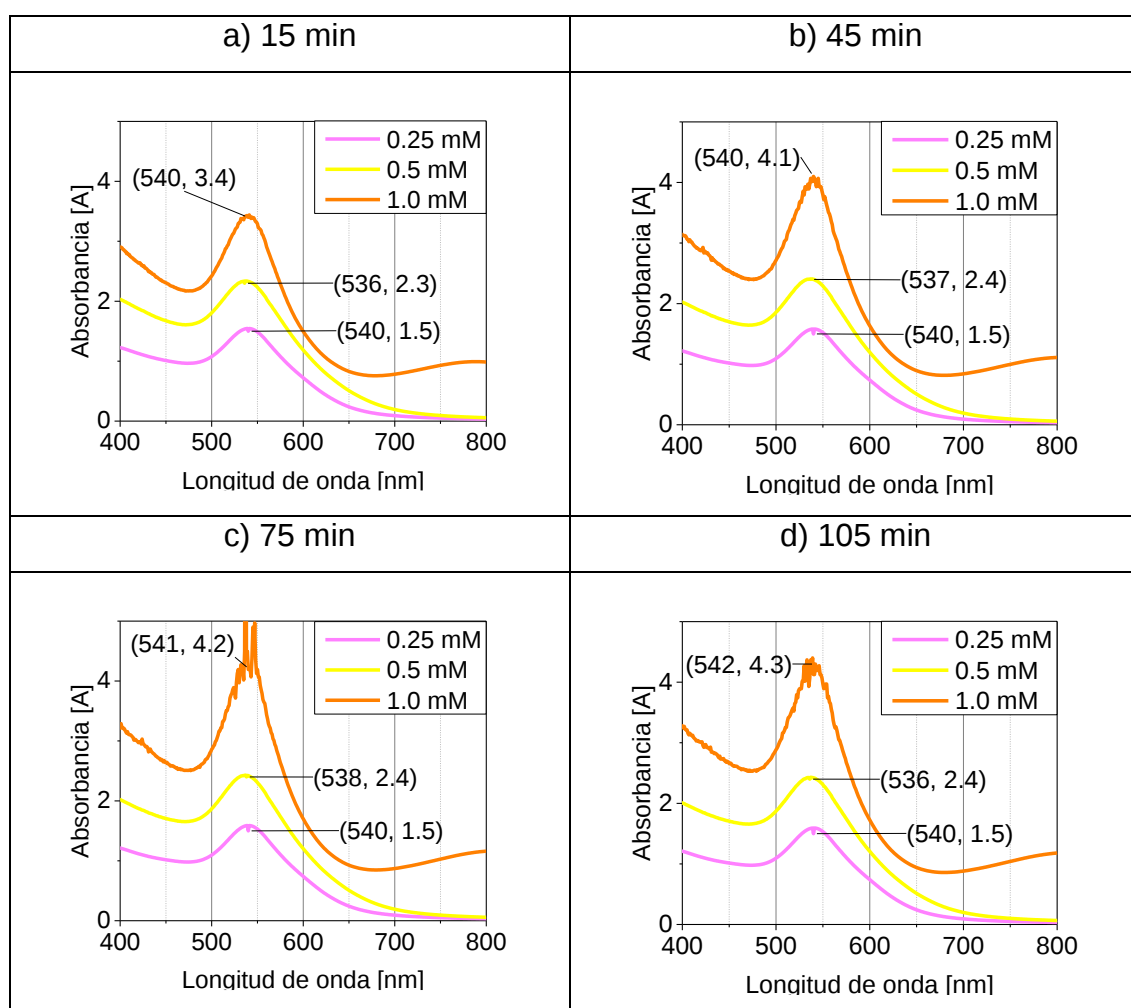
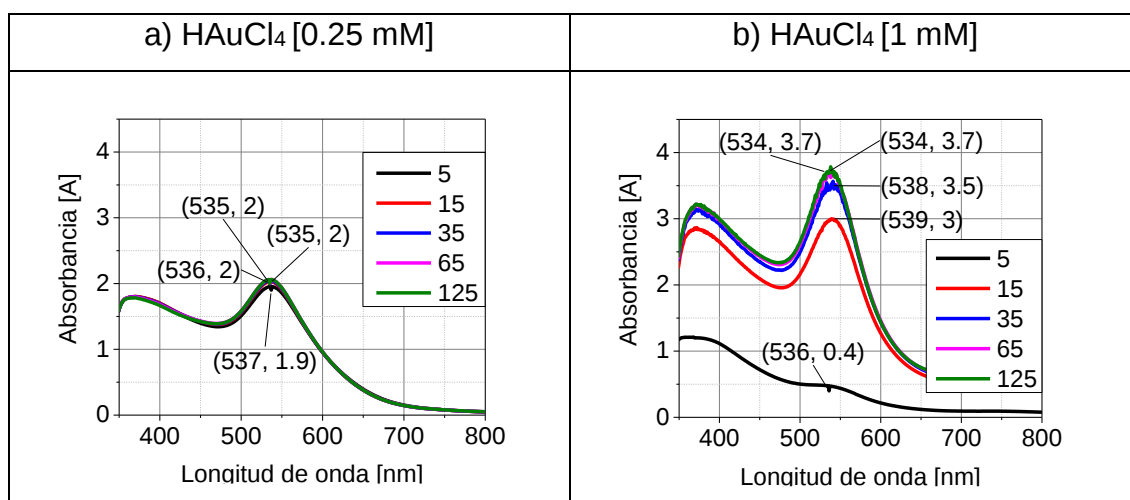


Figura 3.9. Espectros UV-vis de las AuNP a partir de concentración 0.25, 0.5 y 1 mM del HAuCl₄ con extracto diluido 1:1; e) absorbancia y f) longitud de onda vs. tiempo.

Enseguida se realizan 4 mediciones a concentración 0.25 y 1 mM, para verificar su reproducibilidad. La reacción termina a los 35 minutos en la síntesis que emplea ácido cloroáurico 0.25 mM y en 65 minutos para la que emplea ácido cloroáurico 1 mM, debido a que la intensidad de la banda de resonancia plasmónica no cambia (Fig. 3.10 a, b). Este fenómeno se explica porque la síntesis que emplea ácido cloroáurico [0.25 mM] contiene menor cantidad de iones oro y, en consecuencia, los agentes reductores contenidos en el extracto interactúan cómodamente con ellos para formar las AuNP de un modo más rápido. Sin embargo, la síntesis que emplea una concentración de 1 mM toma más tiempo, porque los agentes reductores tienen que reducir una mayor cantidad de iones oro presentes (100). A partir de cuatro mediciones de espectroscopia UV-vis para HAuCl₄ [1 y 0.25 mM] se obtienen gráficos con barras de error que indican la desviación estándar en cada intervalo de tiempo (Fig. 3.10 c, d).



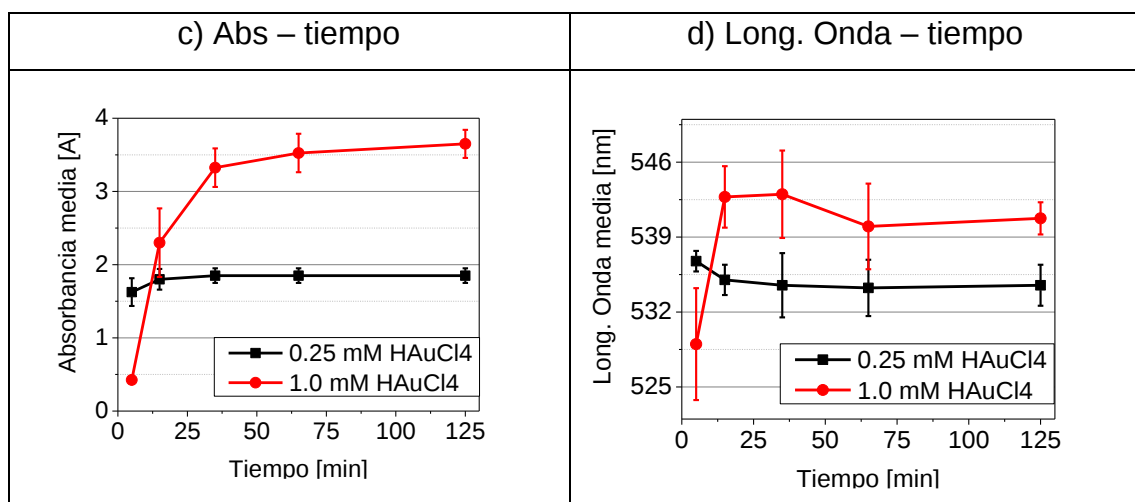


Figura 3.10. Espectros de absorbancia UV-vis de las AuNP con HAuCl₄: a) [0.25 mM] y b) [1 mM] durante 2 horas a 25 °C; cinética de formación de las AuNP con extracto de *H. excelsa* diluido 1:1 en c) absorbancia y d) longitud de onda vs. tiempo.

3.2. Dispersión de luz dinámica (DLS)

La distribución de tamaño de las AuNP empleando una solución acuosa de ácido áurico [0.25 mM] se presenta en la Fig. 3.11. La distribución de tamaño con respecto a la intensidad muestra una distribución bimodal con dos poblaciones de distintos tamaños de AuNP, una en ≈ 5 nm y en ≈ 40 nm (Fig. 3.11 a). El diámetro de partícula promedio es de 41 nm con un PDI de 0.46. La distribución de tamaño con respecto a número muestra un comportamiento unimodal o de una población, alrededor de 5 nm, es decir, de las dos poblaciones de tamaños de partícula que se encuentran hay un mayor número de AuNP de tamaño ≈ 5 nm (Fig. 3.11 b). Cabe destacar que este comportamiento fue reproducible, pero los resultados arrojados por el equipo no fueron de buena calidad. Este comportamiento sugiere que la solución coloidal tiene nanopartículas heterogéneas y polidispersas (115).

a)	b)
----	----

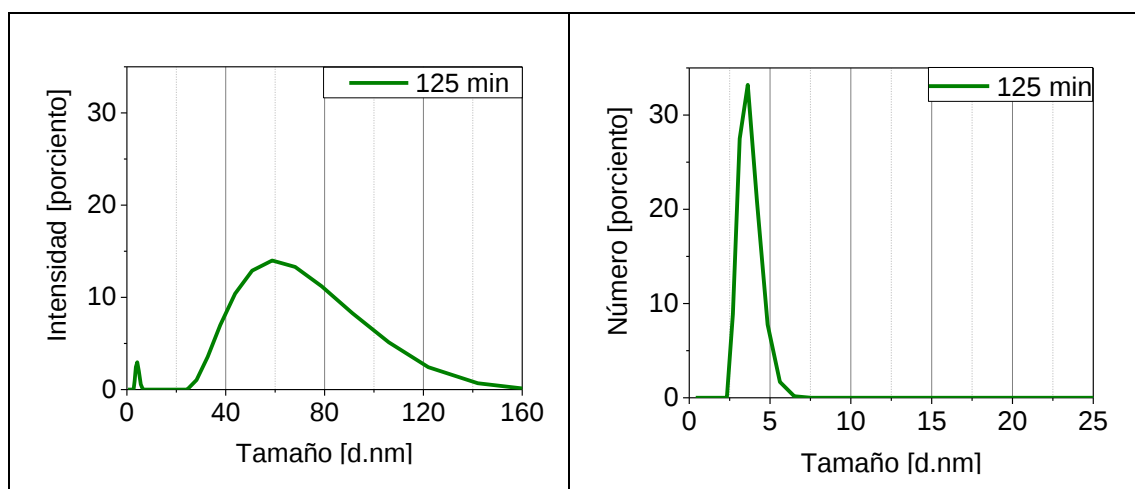


Figura 3.11. Distribución de tamaño de las AuNP obtenidas con extracto de *H. excelsa* diluido 1:1 y HAuCl₄ [0.25 mM] con respecto a a) intensidad y b) número.

La cinética del tamaño promedio de partícula y el PDI durante la reacción se muestra en la Tabla 3.1. El tamaño promedio fluctúa entre 80 y 55 nm y el PDI entre 0.2 y 0.9, sugiriendo que la muestra es polidispersa con posibles agregados o cúmulos de AuNP (116). Es importante retomar que DLS mide el diámetro hidrodinámico de la nanopartícula, en otras palabras, considera a los compuestos bio-orgánicos que rodean a la partícula. En este caso, se sugiere que en la solución coexisten diversas fuerzas de interacción como las de Van der Waals, que posibilitan la unión de AuNP en grupos o aglomerados con diámetros mayores (115).

Tabla 3.1. Tamaño de partícula e PDI para AuNP obtenidas con 1 ml de extracto de *H. excelsa* K diluido 1:1 y HAuCl₄ [0.25 mM] a diferentes lapsos de tiempo.

Tiempo (min)	Tamaño promedio (nm)	Índice de polidispersidad (PDI)
5	53.5	0.32
15	82	0.25
35	64	0.24

65	44	0.44
125	41	0.46

La distribución de tamaño respecto a intensidad y numero para las AuNP obtenidas mediante extracto de *H. excelsa* diluido 1:1 y ácido áurico [1 mM] se muestra en la Fig. 3.12. El tamaño promedio de partícula es de 60.2 nm y un PDI de 0.33. La cinética del tamaño y el PDI durante la reacción se muestra en la Tabla 3.2. Los valores reportados en la tabla sugieren que las AuNP son más homogéneas debido a que la literatura científica señala que un $PDI < 0.25$ indica la presencia de partículas monodispersas, es decir, con un tamaño y forma similar (117).

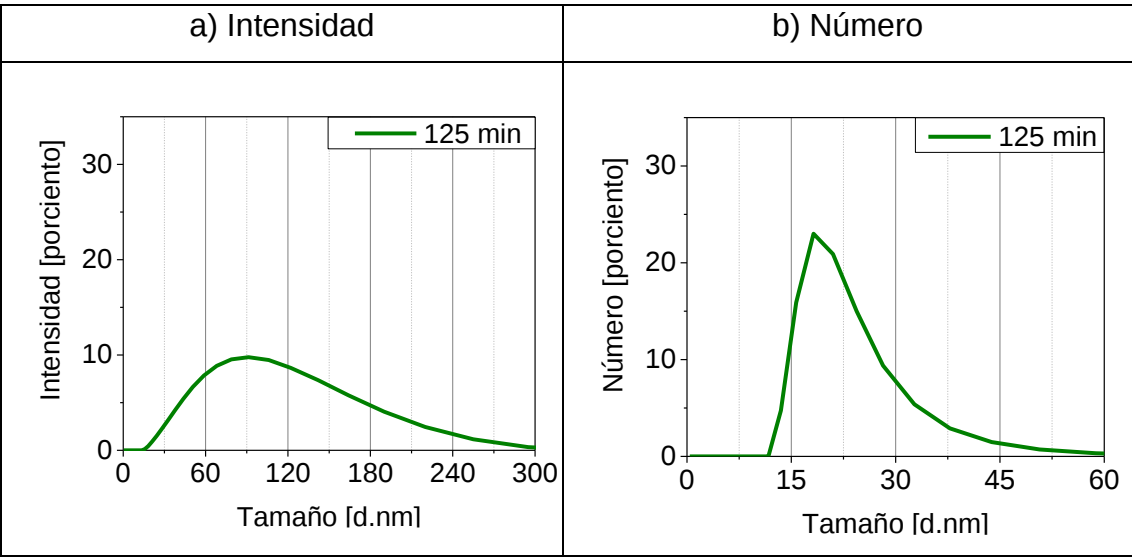


Figura 3.12. Distribución de tamaño de las AuNP obtenidas con extracto de *H. excelsa* K diluido 1:1 y HAuCl_4 [1 mM] en formato de intensidad y número.

Tabla 3.2. Tamaño de partícula e PDI de las AuNP obtenidas con 1 ml de extracto de *H. excelsa* K diluido 1:1 y HAuCl_4 [1 mM] a diferentes lapsos de tiempo.

Tiempo (min)	Tamaño promedio (nm)	Índice de polidispersidad (PDI)
5	58	0.4

15	62.5	0.27
35	66.3	0.27
65	66	0.27
125	60.2	0.33

Los resultados presentados en UV-vis están en correspondencia con DLS, debido a que las AuNP obtenidas con H_{AuCl}₄ [0.25 mM] presentan un SPR localizado a longitud de onda menor en comparación con las AuNP generadas con H_{AuCl}₄ [1 mM] (Fig. 3.10 d). A su vez, en DLS el tamaño promedio de partícula de 41 nm para las AuNP con H_{AuCl}₄ [0.25 mM] es menor para las AuNP con H_{AuCl}₄ [1 mM] con 60 nm. El resultado está de acuerdo con el trabajo de Seku *et al.* (2019) que comentan que al aumentar la concentración de H_{AuCl}₄, la cantidad de AuNP también aumenta (118). También Du *et al.* (2020) reportan que el empleo de H_{AuCl}₄ [1 mM] les genera la mayor banda de absorción a 525 nm (119).

3.3. Microscopia electrónica de transmisión (TEM)

Se obtuvieron imágenes TEM de las AuNP obtenidas con extracto de *H. excelsa* K y ácido áurico [1 mM] sin lavar. Las nanopartículas presentaron una forma semiesférica y con ayuda del software *Image J*, se construyó la distribución de tamaño de las AuNP, ver histograma de la derecha en la Fig. 3.13. Las tres imágenes presentaron un tamaño promedio de 10 nm. Los tamaños reportados por DLS son más grandes que los reportados por TEM debido a que la técnica DLS mide el diámetro hidrodinámico de la partícula que se encuentra en solución y puede aglomerarse (120).

a) AuNP [1 mM] sL

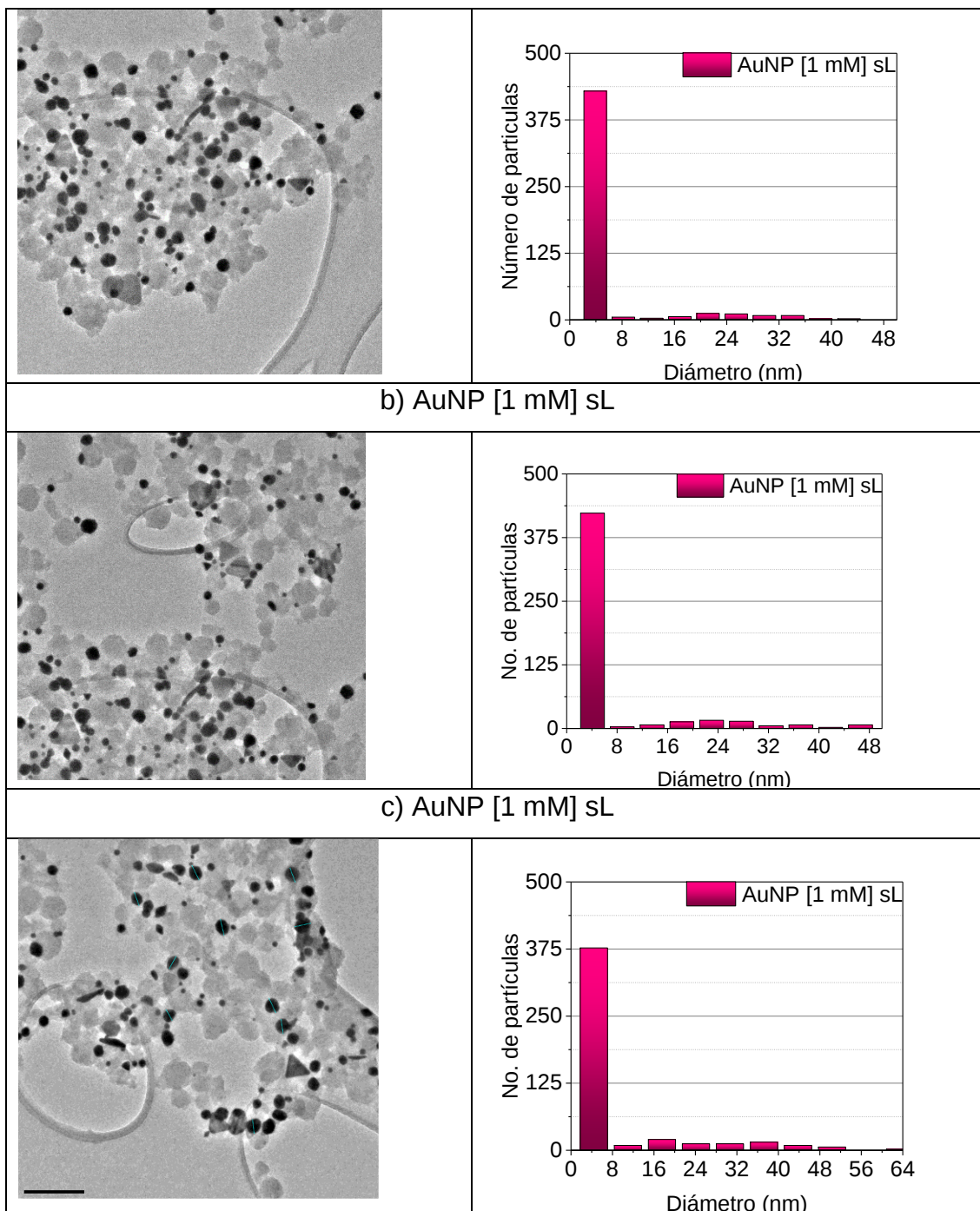


Figura 3.13. Imágenes TEM de las AuNP formadas con 1 ml extracto de *H. exce/sa* diluido 1:1 y HAuCl_4 [1 mM] sin lavar, con su respectiva distribución de tamaño.

3.4. Lavado de AuNP

3.4.1. UV-Vis y DLS

El espectro UV-Vis de las AuNP biosintetizadas mediante HAuCl_4 [0.25 y 1 mM] sin lavar (SL) y lavadas (L) se muestran en la Fig. 3.14 a y b, respectivamente. El lavado de las AuNP se realizó dos veces. Se observa en el espectro de las muestras lavadas que la banda se desplazó ligeramente hacia la derecha para ambas concentraciones de ácido cloroáurico (Fig. 3.14 b). Es decir, las AuNP lavadas presentan ligeramente un mayor tamaño, posiblemente, el centrifugado que se realiza durante el lavado provoco que las AuNP se aglomerasen (121). Con respecto a la intensidad de la banda, ésta disminuye en ambos casos, sugiriendo que al aglomerarse las NP disminuye su cantidad en la solución. El sobrenadante (SN) o agua de lavado que se retiró de las AuNP se midió por espectroscopia UV-vis (Fig. 3.14 c). El espectro del SN, tanto del primer lavado (SN1) como del segundo lavado (SN2), no mostro señal alguna en la región de 500 a 600 nm, indicando que no contiene AuNP.

Con respecto a las mediciones de tamaño (mediante técnica DLS) para las AuNP lavadas, se obtuvo un tamaño promedio de 150 nm e PDI = 0.3 para las nanopartículas sintetizadas con HAuCl_4 [0.25 mM] y un tamaño promedio de 125 nm e PDI = 0.37 para las que emplean HAuCl_4 [1 mM] (Fig. 3.14 d, e). Las AuNP lavadas, en ambas concentraciones [0.25 y 1 mM], incrementan su tamaño después de la centrifugación. Este comportamiento sugiere que las AuNP lavadas se aglomeran y el proceso posterior de sonicación no es suficiente para separar los cúmulos de AuNP formados.

a)	b)
----	----

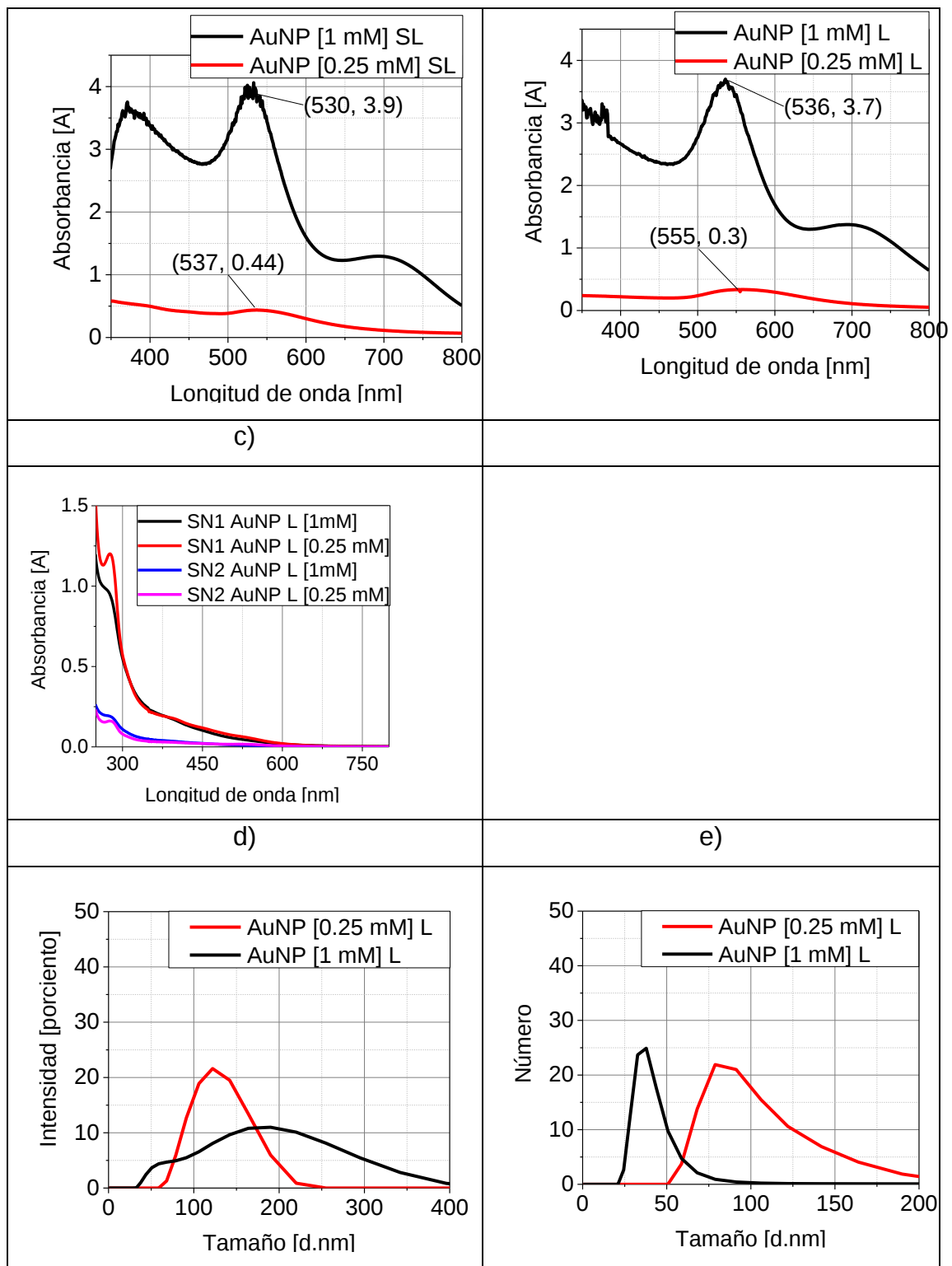
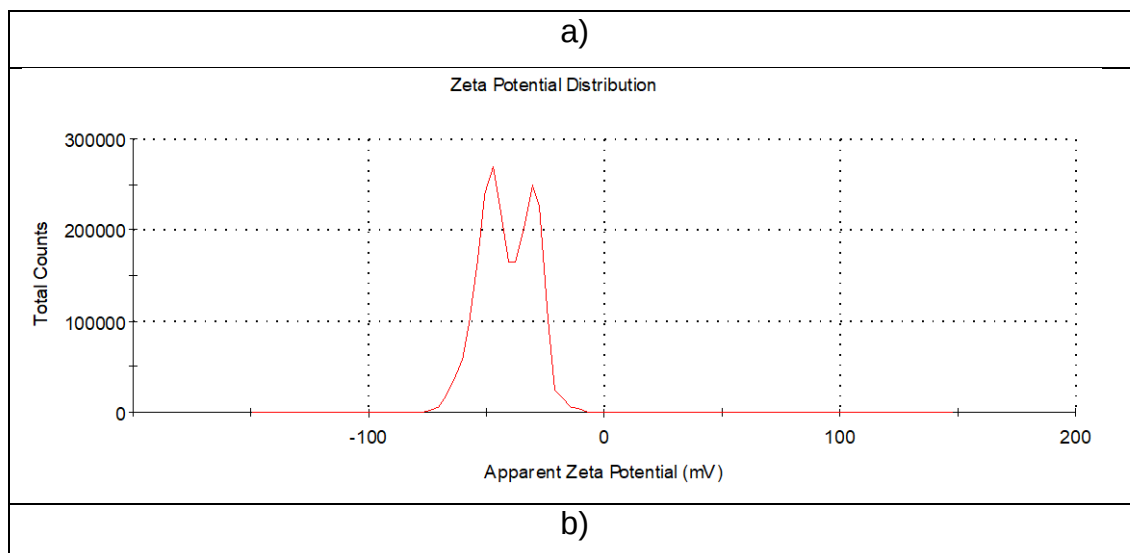


Figura 3.14. Espectros UV-vis de a) AuNP sin lavar, b) AuNP lavadas y del c) sobrenadante de cada muestra. Distribuciones de tamaño de las AuNP en formato de d) intensidad y e) número.

3.4.2. Potencial Z (PZ)

“El valor del potencial zeta se utiliza como un indicador clave de la estabilidad de las partículas” (122). Las AuNP [0.25 y 1 mM] lavadas mostraron un valor de potencial Z de - 41.1 y - 30.1 mV respectivamente, ver Fig. 3.15 a, b. Stozhko *et al.* (2019) observaron que al disminuir el diámetro promedio de las AuNP se incrementaba el potencial Z y la estabilidad de las AuNP (123). También Rey Méndez *et al.* (2022) encontraron un resultado similar en sus tres dispersiones coloidales de AuNP denotadas como Au@HPF, Au@HPS y Au@HPL con cargas superficiales de - 39.24, - 23.74 y - 18.58 mV con diámetros hidrodinámicos en el análisis DLS de 45.9, 139.7 y 141.4 nm respectivamente (87). Por consiguiente, las moléculas orgánicas que cubren a las AuNP son superficies altamente cargadas negativamente. La fuerte carga negativa de las AuNP biosintetizadas les proporciona estabilidad coloidal. En consecuencia, las NP no se aglomeran y ganan estabilidad a largo plazo (124).



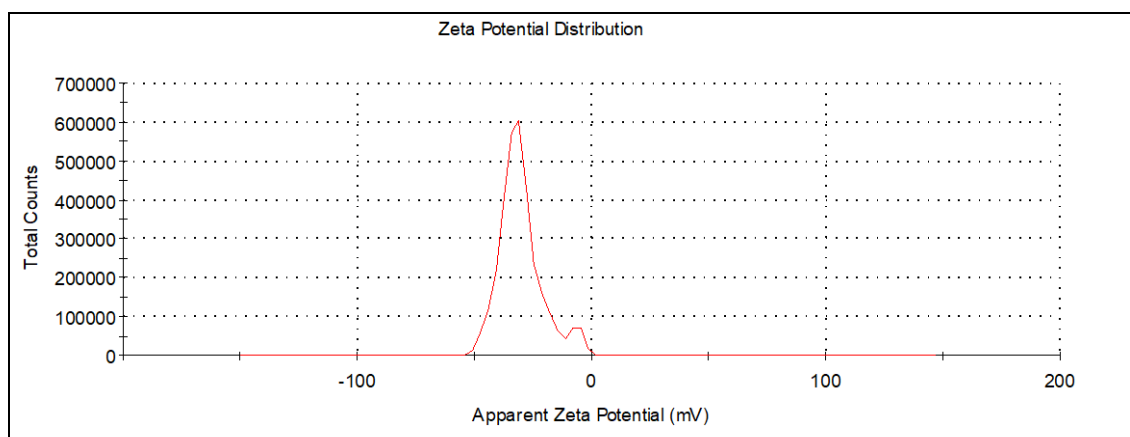
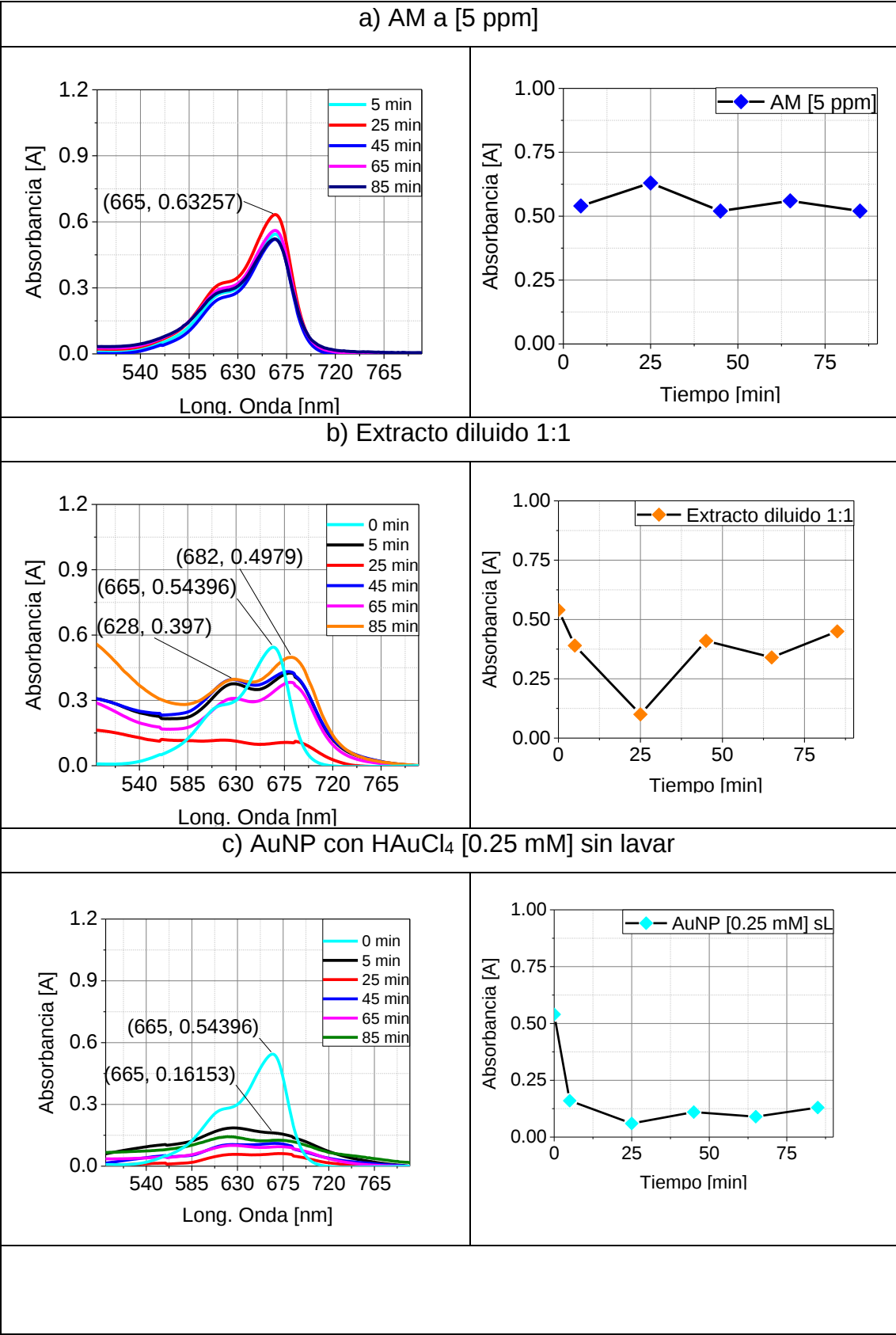


Figura 3.15. Gráfico de potencial Z de las AuNP obtenidas con extracto de *H. exce/sa* diluido 1:1 y HAuCl₄ a) [0.25 mM] y b) [1 mM] lavadas.

3.5. Pruebas de fotocatalisis

Degradación del colorante azul de metileno (AM)

Los resultados obtenidos en la fotodegradación del AM se muestran en la Fig. 3.16. Para el AM como blanco de las pruebas, no se notó un cambio drástico en su degradación (Fig. 3.16 a). En el caso del extracto se formaron dos bandas a 628 y 682 nm (Fig. 3.16 b) sugiriendo la creación de otros compuestos orgánicos (125). Las AuNP [0.25 mM] sin lavar presentan mejor degradación que la muestra lavada, la absorbancia disminuye de 0.54 a 0.16 u. a. a los 5 minutos de reacción (Fig. 3.16 c y d). Posiblemente una parte de las AuNP lavadas se aglomeró y eso impidió un mayor contacto de la superficie de la nanopartícula con el AM (126). Las muestras de AuNP [1 mM] sin lavar y lavada muestran que la banda situada en 665 nm disminuye; sin embargo se generan otras bandas en 614 nm característico del AM (127). La banda a 536 nm se asocia la formación de una forma leuco del AM (Fig. 3.16 e y f) (128).



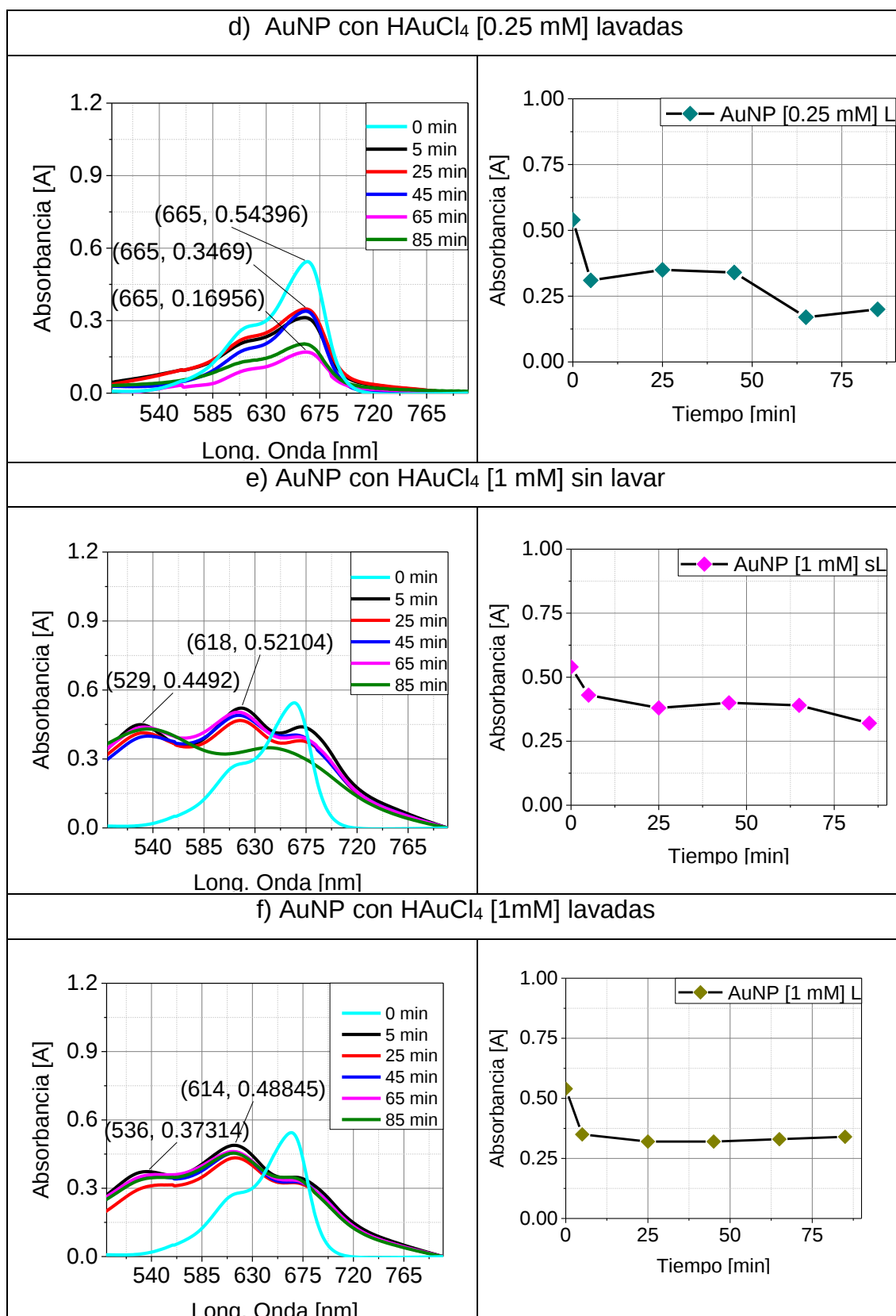
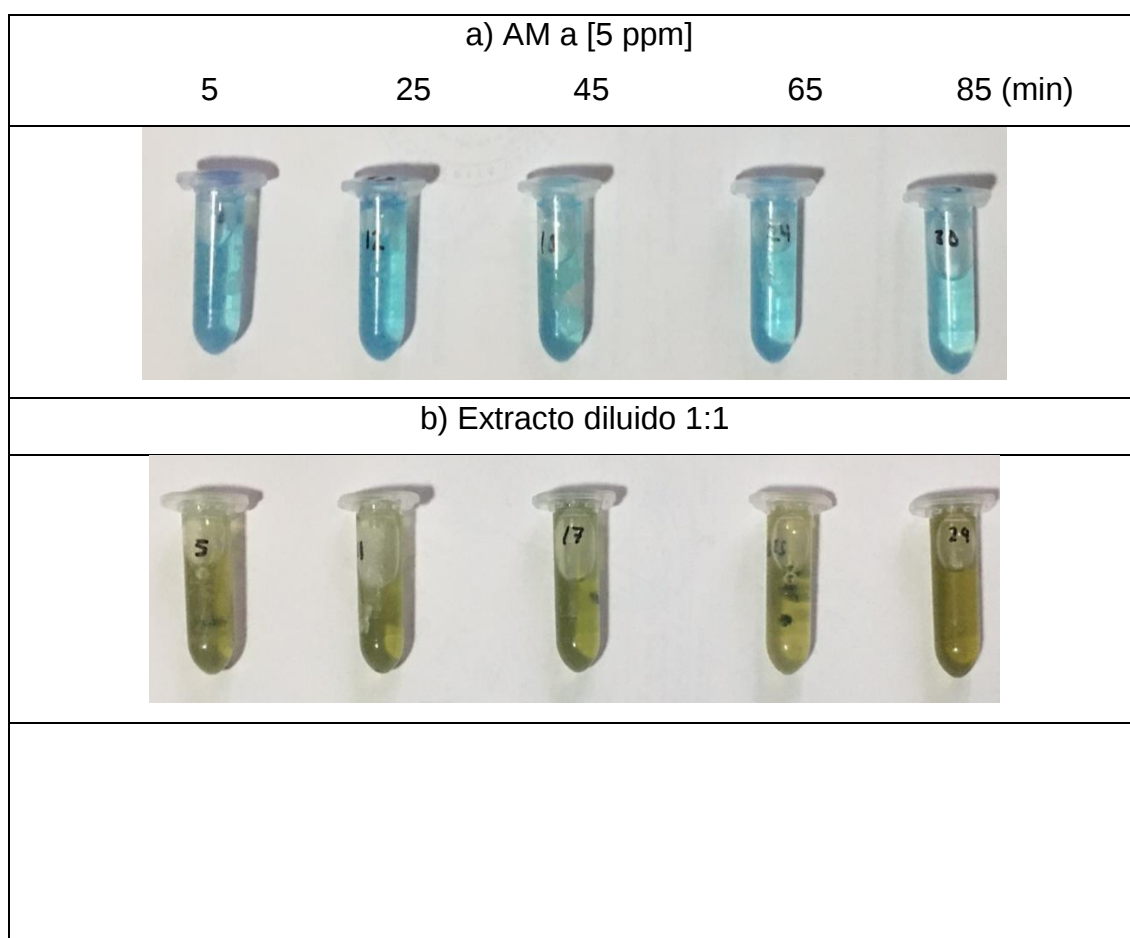


Figura 3.16. Espectros de degradación y gráficos absorbancia – tiempo de: a) AM a [5 ppm], b) extracto de *H. excelsa* H.B.K. diluido 1:1 + AM a [5 ppm], c)

AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar + AM a [5 ppm], d) AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] lavadas + AM a [5 ppm], e) AuNP con HAuCl_4 [1 mM] sin lavar + AM a [5 ppm] y f) AuNP con HAuCl_4 [1 mM] lavadas + AM a [5 ppm].

El cambio de color durante la degradación del AM por medio del extracto y las AuNP se observa en la Fig. 3.17. El AM sin alguna otra sustancia no sufre una degradación, pero cuando se combina con el extracto se nota el cambio de color a un verde. En cambio, la interacción del AM con las AuNP a [0.25 mM] sin lavar mostro un cambio de color a un azul casi invisible, que puede atribuirse al pequeño tamaño de las NP, que con una alta área superficial se favoreció el intercambio de electrones entre los fitoquímicos que rodean a las NP (radicales hidroxilo) y el AM, en consecuencia, desaparecer catalíticamente al AM (23) (129). Por otro lado, las AuNP a [1 mM] sin lavar y lavadas alcanzaron un color morado, posiblemente se generaron productos de la oxidación del AM (27,32).



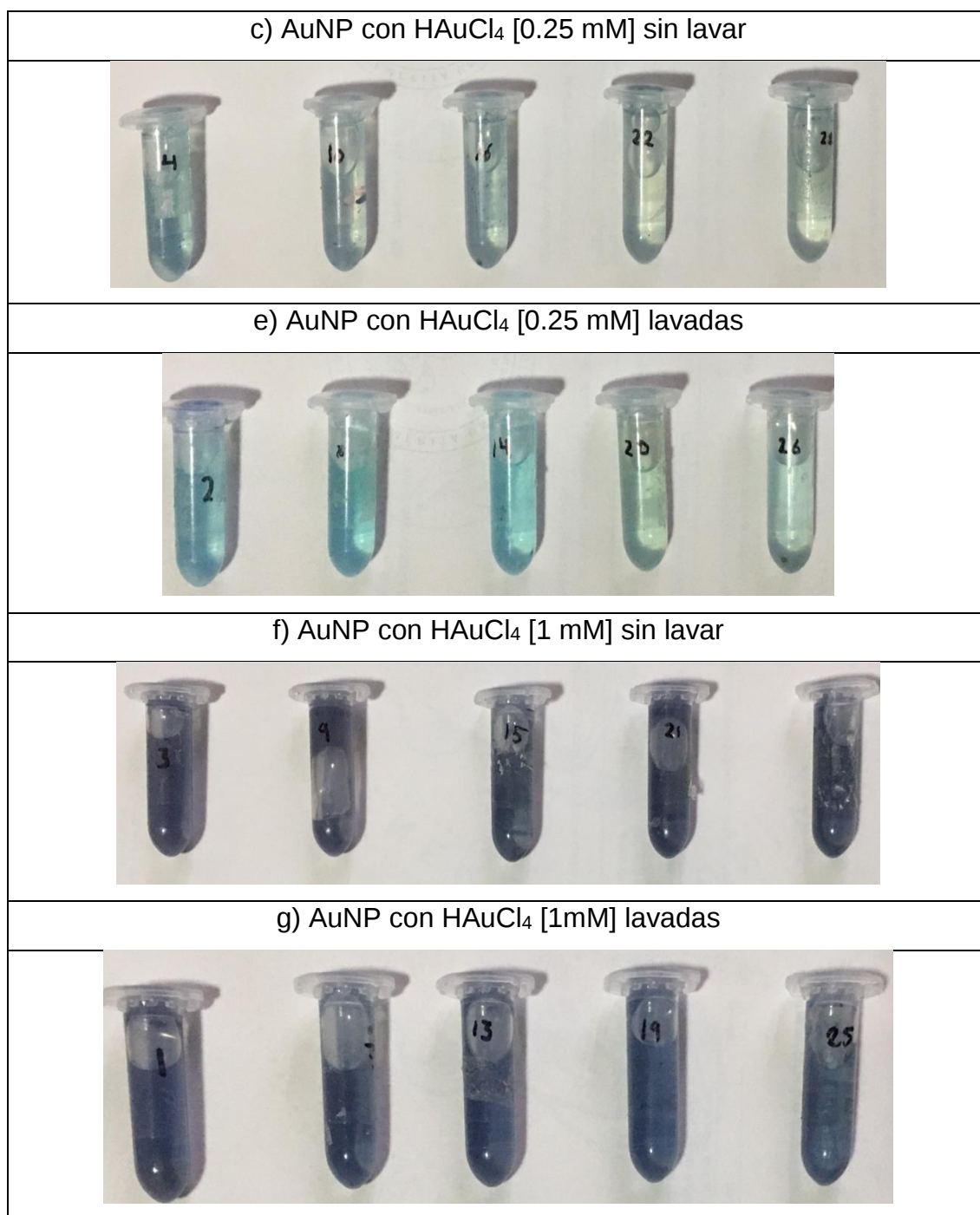
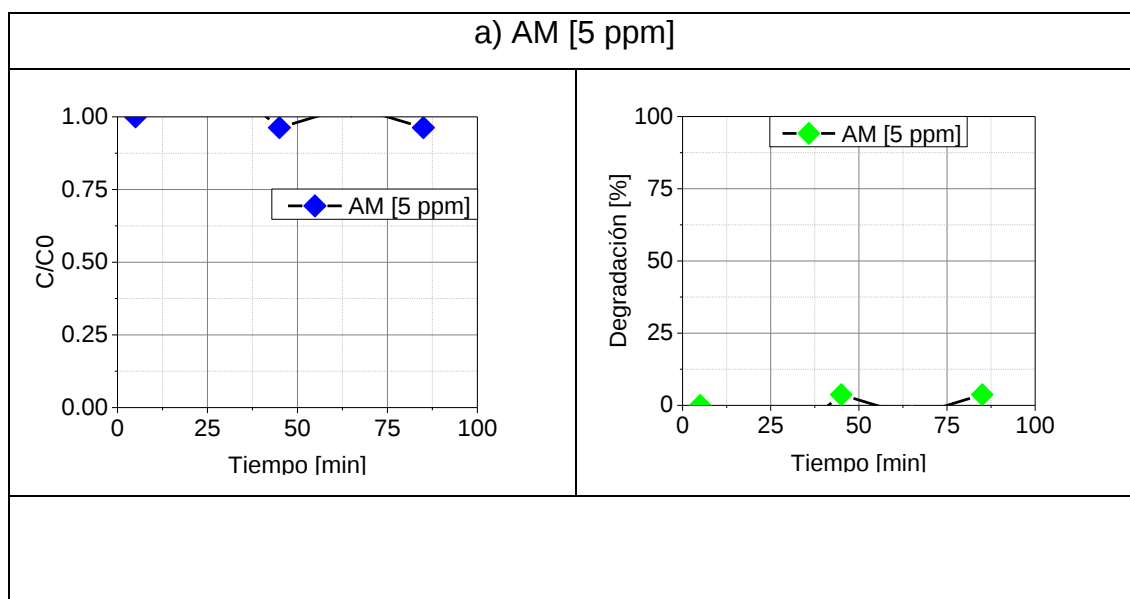


Figura 3.17. Imágenes de las muestras de degradación del a) AM a [5 ppm] solo, del extracto diluido con el AM y de las AuNP a [0.25 y 1 mM] sin lavar y lavadas con el AM.

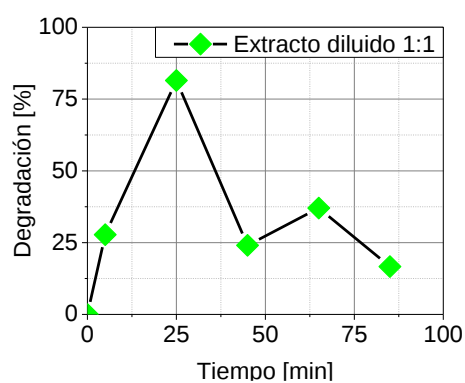
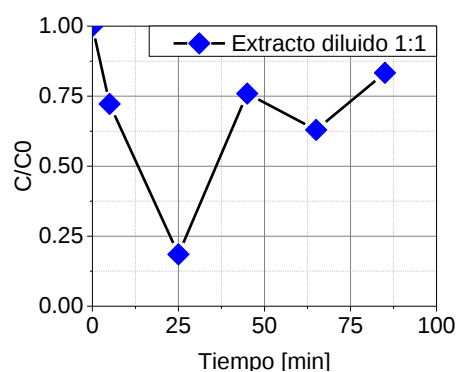
Otros trabajos que buscan probar la actividad catalítica de las AuNP son el de Hosny *et al.* (2021) emplean AuNPs en presencia de borohidruro de sodio (NaBH_4) para degradar completamente al AM y lo logran en un tiempo de 10

minutos con extracto de *A. halimus* (130). También Alikhani *et al.* (2022) usaron AuNP obtenidas con el extracto del fruto de *Rosa canina* y degradaron AM con NaBH_4 en un tiempo de 2 minutos, más rápido que en trabajo previos (75). Por lo tanto, la presencia del NaBH_4 favorece la degradación del AM (molécula grande), al comportarse como un buen agente reductor (131). En consecuencia, se sugiere que la falta del NaBH_4 provoca que la interacción de las AuNP con el AM genere incluso, una reacción inversa u otros compuestos, posiblemente por el efecto plasmónico de las AuNP (132).

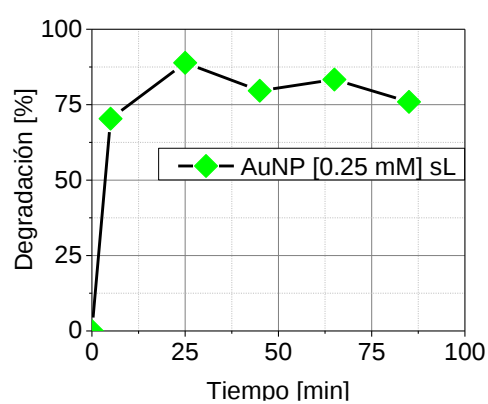
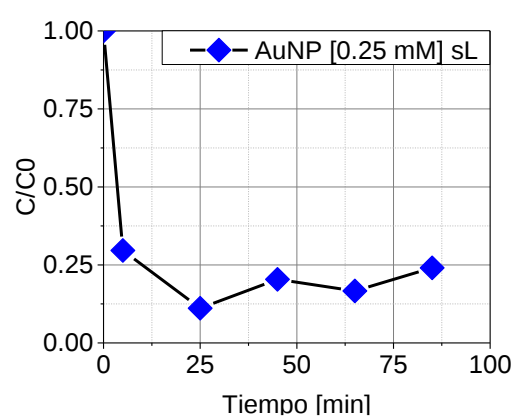
El siguiente paso fue calcular el porcentaje de degradación de cada prueba mediante la ecuación (2.1), el AM a [5 ppm] como control no muestra un cambio significativo en la concentración, en este sentido, la composición química de la molécula no se ve afectada (Fig. 3.18 a). El extracto presenta un comportamiento caótico, marcado por variaciones en la concentración (Fig. 3.18 b). En el caso de las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar, suceden cambios inusuales antes de alcanzar el porcentaje de degradación cercano al 80%, del mismo modo para las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] lavadas que alcanzan un 65 % de degradación (Fig. 3.18 c, d). Las AuNP con HAuCl_4 [1 mM] sin lavar también muestran cierta variación en el trayecto del % de degradación, alcanzando $\approx$ un 40 %. Las AuNP con HAuCl_4 [1 mM] lavadas muestran un % de degradación casi constante a través del tiempo, pero solo alcanzan un $\approx$ 35 % (Fig. 3.18 e y f).



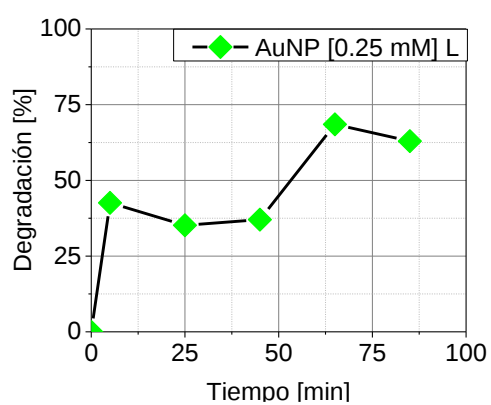
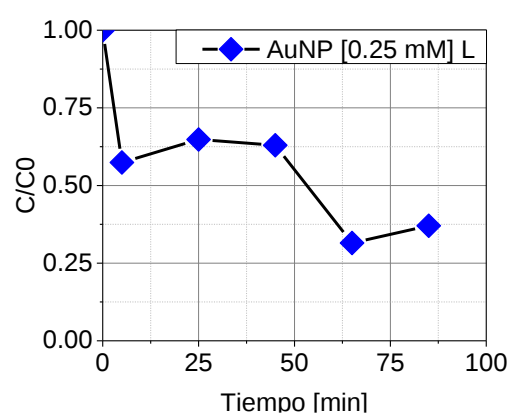
b) Extracto diluido 1:1



c) AuNP [0.25 mM] sin lavar



d) AuNP [0.25 mM] lavadas



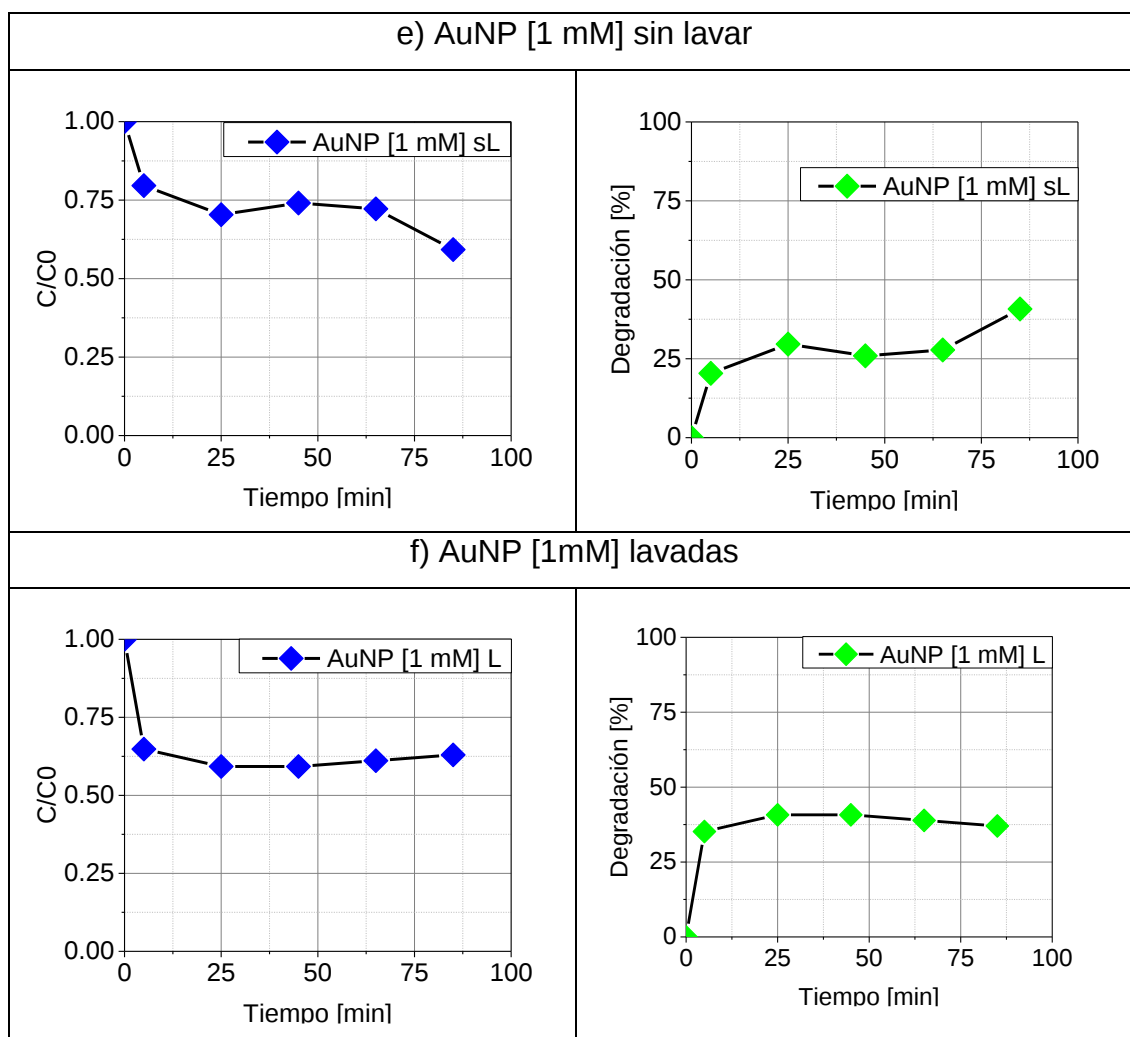


Figura 3.18. Gráficos de concentración de AM y porcentajes de degradación para las soluciones del a) AM [5 ppm], del b) extracto de *H. excelsa* diluido 1:1 + AM, c) AuNP con HAuCl₄ [0.25 mM] sin lavar + AM, d) AuNP con HAuCl₄ [0.25 mM] lavadas+ AM, e) AuNP con HAuCl₄ [1 mM] sin lavar + AM y f) AuNP con HAuCl₄ [1 mM] lavadas + AM.

La degradación del AM se llevó a cabo debido a las reacciones de oxidación que se llevan a cabo en la superficie de las AuNP bajo luz solar, de las cuales el AM consigue electrones y se reduce. La destrucción del MB se favorece por áreas superficiales grandes de las AuNP que promueven la velocidad de reacción, y podemos suponer que existen fitoquímicos unidos a la superficie de las AuNP que mejoran esta reacción al atraer a las moléculas del AM sobre la superficie catalítica por atracción electrostática (128). Respecto a las AuNP con HAuCl₄ [1

mM] que presentan bajos porcentajes de degradación, es atribuible a una baja área de sitios activos sobre las AuNP para la adsorción del AM. Por lo tanto, la cantidad de AuNP presentes en la solución con área superficial disponible es importante (24). El comportamiento en la degradación del azul de metileno, debido al comportamiento inusual, sugiere un estudio adicional, específicamente, sobre el mecanismo de degradación y la interacción del azul de metileno con el extracto.

3.6. Pruebas de actividad antioxidante

Primeramente, se midió la actividad antioxidante del extracto de *H. excelsa* frente a los radicales ABTS y DPPH. La concentración del extracto se varió de 10 a 50 $\mu\text{L/mL}$ y se alcanzó un porcentaje de inhibición cercano al 90 % para la máxima concentración en ambos radicales (Fig. 3.19). Al agregar el extracto en concentración de 50 $\mu\text{L/mL}$ a la solución del ABTS, se observó un cambio de color de azul a amarillo pálido (Fig. 3.20).

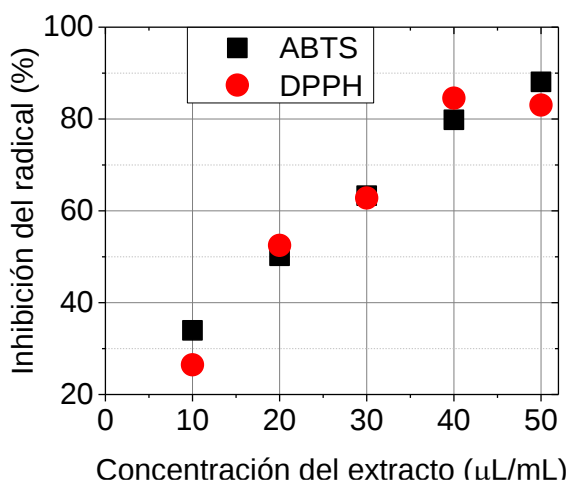


Figura 3.19. Capacidad antioxidante del extracto de *H. excelsa* diluido 1:1 a distintas concentraciones frente a los radicales ABTS y DPPH.

a) ABTS	a) ABTS + extracto de <i>H. excelsa</i>
	

Figura 3.20. Cambio de color del radical ABTS frente al extracto de *H. excelsa* a [50 μ L/mL].

Las AuNPs se emplearon de manera directa (no hay concentración) frente al ABTS y se obtuvieron los siguientes porcentajes de inhibición:

- Con HAuCl₄ [0.25 mM] sin lavar: **37.5 %**
- Con HAuCl₄ [0.25 mM] lavadas: 5.46 %
- Con HAuCl₄ [1 mM] sin lavar: **14.5 %**
- Con HAuCl₄ [1 Mm] lavadas: 3.8 %

En la prueba DPPH, la solución cambio de un color púrpura a amarillo pálido al agregar el extracto (Fig. 3.21). Las AuNP también se emplearon de manera directa y se obtuvieron los siguientes porcentajes de inhibición:

- Con HAuCl₄ [0.25 mM] sin lavar: **82.1 %**
- Con HAuCl₄ [0.25 mM] lavadas: 9.7 %
- Con HAuCl₄ [1 mM] sin lavar: **28.2 %**
- Con HAuCl₄ [1 mM] lavadas: 5.8 %

b) DPPH	b) DPPH + extracto de <i>H. excelsa</i>
	

Figura 3.21. Cambio de color del radical DPPH frente al extracto de *H. excelsa* a [50 μ L/mL].

Los resultados muestran que los porcentajes de inhibición fueron mayores para las AuNP sin lavar en ambas concentraciones de HAuCl_4 [0.25 mM y 1 mM]. Zayed *et al.* (2020) comentan en su trabajo de síntesis de AuNP y AgNP con extracto de *Pimpinella anisum*, que los compuestos fenólicos han sido reportados como los componentes de las plantas más importantes responsables de la capacidad antioxidante. Por lo tanto, los autores mencionan que la actividad de eliminación del radical DPPH puede ser debida al recubrimiento de las nanopartículas con los compuestos fenólicos propios del extracto de *P. anisum* (135). Se sugiere que las AuNP sin lavar cuentan con un mayor recubrimiento de compuestos fenólicos provenientes del extracto de *H. excelsa*, en consecuencia, alcanzan mayores % de inhibición.

Al comparar al extracto de las plantas con las AuNP, Al-Radadi (2022) sintetiza AuNP con extracto de la pulpa y semilla de *Hylocereus polyrhizus* y obtiene una mayor actividad de eliminación del DPPH en el extracto (13%) que en las AuNP (3%) a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$. El autor explica que la actividad antioxidante de los compuestos presentes en el extracto depende de características estructurales, como el número de grupos fenólicos hidroxilo o metoxilo y flavonas hidroxilo (136). También Dalavi *et al.* (2022) midieron la actividad antioxidante del extracto de *Saussurea obvallata* frente al radical DPPH y obtuvieron un porcentaje de inhibición cercano al 60% a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ de extracto y $\approx 10\%$ para las AuNP a la misma concentración. Pero encontraron que al aumentar la concentración de las AuNP aumentaba la actividad antioxidante, alcanzando el 64% a 1000 $\mu\text{g/mL}$, atribuyéndole al aumento de la concentración del extracto que persistió en la superficie de las AuNP. Sugiriendo que la actividad antioxidante de las AuNP está ligada al extracto de *S. obvallata* (133).

Después, Al-Radadi (2023) sintetiza AuNP con extracto de la planta *Ephedra*, y obtiene una mayor actividad de eliminación del ABTS por las AuNP que por el extracto. El autor menciona que las propiedades de estructura, polaridad y solubilidad influyen en la capacidad antioxidante de las AuNP (137). Antes, Al-Radadi (2021) midió la actividad de eliminación del DPPH y ABTS por AuNP en

IC₅₀ (concentración requerida de la muestra para un 50% de inhibición) de 74.5 y 77.65 µg/mL respectivamente. Las AuNP las obtuvo con extracto de la raíz de regaliz, y el IC₅₀ que obtuvo para el extracto frente a los radicales fue de 86.9 (DPPH) y 83.8 µg/mL (ABTS). De ahí que un IC₅₀ menor en las AuNP refleja una mejor capacidad antioxidante de las mismas (134).

En resumen, las AuNP con HAuCl₄ [0.25 mM] sin lavar destacan por su eficiencia porque muestran los % de inhibición más altos en la eliminación del radical ABTS y DPPH. Este resultado también es acorde a las pruebas de fotocátalisis, pues la muestra llegó a un % de degradación ≈ 75 % en 85 minutos. Además, los resultados de distribución de tamaño para las AuNP con HAuCl₄ [0.25 mM] sin lavar están en un promedio de ≈ 40 nm (Fig. 3.11), que es menor a las AuNP con HAuCl₄ [1 mM] sin lavar con un valor de ≈ 60 nm (Fig. 3.12). Por lo tanto, las AuNP [0.25 mM] cuentan con una distribución de tamaño adecuada y una cantidad de fitoconstituyentes de *H. excelsa* considerable para llevar a cabo el ataque a los radicales libres (DPPH y ABTS) y a la molécula del AM.

Conclusiones

En el presente estudio se sintetizaron nanopartículas de oro siguiendo principios de la química verde, a través del extracto de la corteza de *H. excelsa*, una planta endémica de nuestro país con propiedades medicinales. Comparada con otras plantas, la corteza de *H. excelsa* tiene una abundante biomasa, cualidad que la vuelve una opción adecuada para la síntesis de AuNP. La síntesis fue reproducible y se completó durante dos horas de reacción. El papel que jugaron las biomoléculas activas del extracto de *H. excelsa* en la reducción de los iones de oro en átomos estables de oro metálico, fue la parte esencial para la generación “verde” de las AuNP.

La formación exitosa de las AuNP fue confirmada por espectroscopia UV-vis a través de la aparición de la señal del plasmón de superficie localizado en un intervalo de 520 a 580 nm. La técnica de dispersión de luz dinámica permitió obtener la distribución de tamaño de partícula, que fue acorde a los espectros

obtenidos por UV-vis. Las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar alcanzaron el tamaño promedio menor alrededor de 40 nm, que fue mayor al obtenido por TEM, debido a la presencia de una capa de biomoléculas provenientes del extracto de *H. excelsa* que cubre a las AuNP. TEM mostró que la mayoría de las AuNP con HAuCl_4 [1 mM] tienen forma semiesférica y un tamaño < 20 nm.

En las pruebas de degradación, las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar alcanzaron un porcentaje de degradación superior al 75 %. En las pruebas de capacidad antioxidante, el extracto de *H. excelsa* obtuvo el mayor % de inhibición de ≈ 85 % frente a los radicales ABTS y DPPH, mientras que las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar alcanzaron % de inhibición del 37.5 y 82.1 % respectivamente.

En conclusión, las AuNP sintetizadas con HAuCl_4 [0.25 mM] y sin lavar mostraron un mayor % de degradación del AM y un mejor % inhibición de los radicales ABTS y DPPH. En consecuencia, se sugiere que las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar pueden ser aplicadas a estudios de degradación de otros colorantes, por ejemplo, rojo congo, naranja de metilo, rodamina B etc. Asimismo, pueden ser candidatos en detección de metales pesados (Pb, Cu, Ni etc.) en muestras de aguas reales y en remoción de antibióticos (amoxicilina, doxiciclina etc.) en medios acuosos. Por esta causa, las AuNP tienen potencial para tratar aguas residuales y proporcionar agua limpia, por ejemplo, al ser usadas como una sonda en el tratamiento de aguas y saneamiento (125).

Finalmente, se sugiere que las AuNP con HAuCl_4 [0.25 mM] sin lavar, así como el extracto de *H. excelsa*, sean investigados más a fondo para aplicaciones biomédicas, que incluye el tratamiento de enfermedades causadas por radicales libres, biomedicina, efecto antimicrobiano, terapia contra el cáncer, entrega dirigida de fármacos, biosensores y agentes terapéuticos (138). Por lo antedicho, el método de síntesis produce AuNP “verdes” efectivas, económicas y con propiedades fotocatalíticas y antioxidantes en desarrollo, entre otras más, que son el futuro de la nanobiotecnología.


Sociedad Nacional de Ingeniería Química y Bioquímica, A.C.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

X Simposio Nacional de Ingeniería Química y Bioquímica Aplicada

La Sociedad Nacional de Ingeniería Química y Bioquímica, A.C., otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A: *Cristian Nuñez Delgado, Nancy Tepale Ochoa, Adán Luna Flores,*
Anabel Romero López

Por su participación en *X Simposio Nacional de Ingeniería Química y Bioquímica Aplicada*, realizado de forma virtual en la plataforma zoom® del 21 al 23 de septiembre del 2022 con la ponencia en modalidad oral

BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO A PARTIR DE EXTRACTOS DE LA PLANTA HIPPOCRATEA EXCELSA KUNTH, EVALUACIÓN DE SU PROPIEDAD FOTOCATALÍTICA


Dra. Elsa Cervantes González
 Presidenta del Simposio


Dr. Víctor Manuel Rivera Arredondo
 Secretario del Simposio


Dr. Víctor Manuel Ovando Medina
 Presidente Comité Nacional

Escrito en

Matehuala, San Luis Potosí, México

XS_{NIQ}BA

Referencias

1. Nagaraj B, Musthafa SA, Muhammad S, Munuswamy-Ramanujam G, Chung WJ, Alodaini HA, et al. Anti-microbial and anti-cancer activity of gold nanoparticles phytofabricated using clerodin enriched clerodendrum ethanolic leaf extract. *J King Saud Univ - Sci* [Internet]. 2022;34(4):101989. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101989>
2. Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2021;20(2):101–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
3. Adnan M, Oh KK, Husen A, Wang MH, Alle M, Cho DH. Microwave-Assisted Synchronous Nanogold Synthesis Reinforced by Kenaf Seed and Decoding Their Biocompatibility and Anticancer Activity. *Pharmaceuticals*. 2022;15(2).
4. Suriyakala G, Sathiyaraj S, Babujanarthanam R, Alarjani KM, Hussein DS, Rasheed RA, et al. Green synthesis of gold nanoparticles using *Jatropha integerrima* Jacq. flower extract and their antibacterial activity. *J King Saud Univ - Sci* [Internet]. 2022;34(3):101830. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101830>
5. Sathiyaraj S, Suriyakala G, Dhanesh Gandhi A, Babujanarthanam R, Almaary KS, Chen TW, et al. Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. *J Infect Public Health* [Internet]. 2021;14(12):1842–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.007>
6. Kumari P, Meena A. Green synthesis of gold nanoparticles from *Lawsoniainermis* and its catalytic activities following the Langmuir-Hinshelwood mechanism. *Colloids Surfaces A*. 2020;606(June):125447.
7. Oladipo IC, Lateef A, Azeez MA, Asafa TB, Yekeen TA, Ogunsona SB, et al. Characterization and biomedical application of phytosynthesized gold nanoparticles from *Datura stramonium* seed extract. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2020;805(1).
8. El-Borady OM, Ayat MS, Shabrawy MA, Millet P. Green synthesis of gold nanoparticles using Parsley leaves extract and their applications as an alternative catalytic, antioxidant, anticancer, and antibacterial agents. *Adv Powder Technol*. 2020;31(10):4390–400.
9. Zhang D, Ma X, Gu Y, Huang H, Zhang G. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Potential Applications to Treat Cancer. 2020;8(October):1–18.
10. Alle M, Park SC, Bandi R, Lee SH, Kim JC. Rapid in-situ growth of gold nanoparticles on cationic cellulose nanofibrils: Recyclable nanozyme for

- the colorimetric glucose detection. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2021;253(July 2020):117239. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117239>
11. Muniyappan N, Pandeewaran M, Amalraj A. Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: Its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Environ Chem Ecotoxicol* [Internet]. 2021;3:117–24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.enccco.2021.01.002>
 12. Kumar B, Smita K, Debut A, Cumbal L. Andean Capuli Fruit Derived Anisotropic Gold Nanoparticles with Antioxidant and Photocatalytic Activity. *Bionanoscience* [Internet]. 2021;11(4):962–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12668-021-00911-9>
 13. Madiehe AM, Moabelo KL, Modise K, Sibuyi NRS, Meyer S, Dube A, et al. Catalytic reduction of 4-nitrophenol and methylene blue by biogenic gold nanoparticles synthesized using *Carpobrotus edulis* fruit (sour fig) extract. *Nanomater Nanotechnol*. 2022;12:1–14.
 14. Rafeeq H, Hussain A, Ambreen A, Zill-e-Huma, Waqas M, Bilal M, et al. Functionalized nanoparticles and their environmental remediation potential: a review. *J Nanostructure Chem* [Internet]. 2022;12(6):1007–31. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40097-021-00468-9>
 15. Yarak MT, Zahed Nasab S, Zare I, Dahri M, Moein Sadeghi M, Koohi M, et al. Biomimetic Metallic Nanostructures for Biomedical Applications, Catalysis, and beyond. *Ind Eng Chem Res*. 2022;61(22):7547–93.
 16. Ismail M, Khan MI, Khan MA, Akhtar K, Asiri AM, Khan SB. Plant-supported silver nanoparticles: Efficient, economically viable and easily recoverable catalyst for the reduction of organic pollutants. *Appl Organomet Chem*. 2019;33(8):1–19.
 17. Vázquez-Núñez E, Molina-Guerrero CE, Peña-Castro JM, Fernández-Luqueño F, de la Rosa-Álvarez MG. Use of nanotechnology for the bioremediation of contaminants: A review. *Processes*. 2020;8(7):1–17.
 18. Song WC, Kim B, Park SY, Park G, Oh JW. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Sargassum horneri* extract as catalyst for industrial dye degradation. *Arab J Chem* [Internet]. 2022;15(9):104056. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104056>
 19. Verma N, Kumar V, Kesari KK. Microbial and lignocellulosic biomass based dye decolourization. *Biomass Convers Biorefinery* [Internet]. 2022;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02537-7>
 20. Sunday ES, Adeola AA, Damilare SO. Phytogenically Bio-Engineered Metal Nanoarchitecture for Degradation of Refractory Dye Water Pollutants: a Pragmatic Mini-Review. *Applied Organometallic Chemistry*. 2022. 1–33 p.

21. Ghosh S, Roy S, Naskar J, Kole RK. Process optimization for biosynthesis of mono and bimetallic alloy nanoparticle catalysts for degradation of dyes in individual and ternary mixture. *Sci Rep*. 2020;10(1):1–14.
22. Tahir MB, Sohaib M, Sagir M, Rafique M. Role of Nanotechnology in Photocatalysis. *Encycl Smart Mater*. 2021;(January):578–89.
23. El-Borady OM, Fawzy M, Hosny M. Antioxidant, anticancer and enhanced photocatalytic potentials of gold nanoparticles biosynthesized by common reed leaf extract. *Appl Nanosci* [Internet]. 2021;(2019). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01776-w>
24. Subbulakshmi A, Durgadevi S, Anitha S, Govarthanan M, Biruntha M, Rameshthangam P, et al. Biogenic gold nanoparticles from *Gelidiella acerosa*: bactericidal and photocatalytic degradation of two commercial dyes. *Appl Nanosci* [Internet]. 2022;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02693-2>
25. Deepa K, Sridhar A, Panda T. Biogenic Gold Nanoparticles: Current Applications and Future Prospects. *J Clust Sci* [Internet]. 2022;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02304-8>
26. Hu X, Zhang Y, Ding T, Liu J, Zhao H. Multifunctional Gold Nanoparticles: A Novel Nanomaterial for Various Medical Applications and Biological Activities. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(August):1–17.
27. Thakare Y, Kore S, Sharma I, Shah M. A comprehensive review on sustainable greener nanoparticles for efficient dye degradation. *Environ Sci Pollut Res* [Internet]. 2022;29(37):55415–36. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20127-y>
28. Tauseef A, Hisam F, Hussain T, Caruso A, Hussain K, Châtel A, et al. Nanomicrobiology: Emerging Trends in Microbial Synthesis of Nanomaterials and Their Applications. *J Clust Sci*. 2022;0123456789.
29. Gupta A, Tandon M, Kaur A. Role of metallic nanoparticles in water remediation with special emphasis on sustainable synthesis: a review. *Nanotechnol Environ Eng* [Internet]. 2020;5(3):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s41204-020-00092-y>
30. Rana R, Ferdous J, Rahman M, Rahman F, Huq A, Ali Y, et al. Biosynthesis and chemical composition of nanomaterials in agricultural soil bioremediation: a review. *Environ Monit Assess* [Internet]. 2022;194(10). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10315-1>
31. Khandanlou R, Murthy V, Wang H. Materials Science & Engineering C Gold nanoparticle-assisted enhancement in bioactive properties of Australian native plant extracts , *Tasmania lanceolata* and *Backhousia citriodora*. 2020;112(July 2019).
32. Sarip NA, Aminudin NI, Danial WH. Green synthesis of metal nanoparticles using *Garcinia* extracts: a review. *Environ Chem Lett* [Internet].

- 2022;20(1):469–93. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01319-3>
33. Kumar L, Ragunathan V, Chugh M, Bharadvaja N. Nanomaterials for remediation of contaminants: a review. *Environ Chem Lett* [Internet]. 2021;19(4):3139–63. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01212-z>
 34. Garcia Contreras A, Castañeda-Facio A. Obtención de Nanopartículas Metálicas Empleando Metodologías Verdes. *J BioProcess Chem Technol*. 2020;14(24):8–15.
 35. Das G, Seo S, Yang I, Thi L, Nguyen H, Shin H, et al. Synthesis of Biogenic Gold Nanoparticles by Using Sericin Protein from Bombyx mori Silk Cocoon and Investigation of Its Wound Healing , Antioxidant , and Antibacterial Potentials Synthesis of Biogenic Gold Nanoparticles by Using Sericin Protein from Bomby. 2023;16–34.
 36. El Shafey AM. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications : A review. 2020;304–39.
 37. Gómez-Garzón M. Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Rev Repert Med y Cirugía*. 2018;27(2):75–80.
 38. Khan AU, Khan M, Malik N, Cho MH, Khan MM. Recent progress of algae and blue–green algae-assisted synthesis of gold nanoparticles for various applications. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2019;42(1):0.
 39. Taghizadeh SM, Morowvat MH, Negahdaripour M, Ebrahiminezhad A, Ghasemi Y. Biosynthesis of Metals and Metal Oxide Nanoparticles Through Microalgal Nanobiotechnology: Quality Control Aspects. *Bionanoscience*. 2020;
 40. Guleria A, Sachdeva H, Saini K, Gupta K, Mathur J. Recent trends and advancements in synthesis and applications of plant-based green metal nanoparticles: A critical review. *Appl Organomet Chem*. 2022;36(9).
 41. Zhu Y, Liu X, Hu Y, Wang R, Chen M, Wu J, et al. Behavior, remediation effect and toxicity of nanomaterials in water environments. *Environ Res*. 2019;174:54–60.
 42. Wu Y, Pang H, Liu Y, Wang X, Yu S, Fu D, et al. Environmental remediation of heavy metal ions by novel-nanomaterials: A review. *Environ Pollut*. 2019;246:608–20.
 43. Gour A, Jain NK. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2019;47(1):844–51.
 44. Kurhade P, Kodape S, Choudhury R. Overview on green synthesis of metallic nanoparticles. Vol. 75, *Chemical Papers*. Springer International Publishing; 2021. 5187–5222 p.
 45. Lee KX, Shameli K, Yew YP, Teow SY, Jahangirian H, Rafiee-Moghaddam

- R, et al. Recent developments in the facile bio-synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) and their biomedical applications. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:275–300.
46. Ettadili FE, Aghris S, Laghrib F, Farahi A, Saqrane S, Bakasse M, et al. Recent advances in the nanoparticles synthesis using plant extract: Applications and future recommendations. *J Mol Struct*. 2021;1248:131538.
 47. Vijayaraghavan K, Ashokkumar T. Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *J Environ Chem Eng*. 2017;5(5):4866–83.
 48. Kamran U, Bhatti HN, Iqbal M, Nazir A. Green Synthesis of Metal Nanoparticles and their Applications in Different Fields: A Review. *Zeitschrift fur Phys Chemie*. 2019;
 49. Uzma M, Sunayana N, Raghavendra VB, Madhu CS, Shanmuganathan R, Brindhadevi K. Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Commiphora wightii* and their cytotoxic effects on breast cancer cell line (MCF-7). *Process Biochem*. 2020;92:269–76.
 50. Chandra H, Kumari P, Bontempi E, Yadav S. Medicinal plants : Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2020;24(January):101518.
 51. Boomi P, Ganesan R, Prabu Poorani G, Jegatheeswaran S, Balakumar C, Gurumallesh Prabu H, et al. Phyto-Engineered Gold Nanoparticles (AuNPs) with Potential Antibacterial, Antioxidant, and Wound Healing Activities Under in vitro and in vivo Conditions. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:7553–68.
 52. Boomi P, Ganesan RM, Poorani G, Prabu HG, Ravikumar S, Jeyakanthan J. Biological synergy of greener gold nanoparticles by using *Coleus aromaticus* leaf extract. *Mater Sci Eng C*. 2019;#pagerange#.
 53. Anand K, Rajamanikandan R, Selva Sharma A, Ilanchelian M, Khan FI, Tiloke C, et al. Human serum albumin interaction, in silico and anticancer evaluation of Pine-Gold nanoparticles. *Process Biochem*. 2020;89(September):98–109.
 54. González-Ballesteros N, Rodríguez-González JB, Rodríguez-Argüelles MC. Harnessing the wine dregs: An approach towards a more sustainable synthesis of gold and silver nanoparticles. *J Photochem Photobiol B Biol*. 2018;178(September 2017):302–9.
 55. Malik T, Madan VK. Rapid and green synthesis of metallic / bimetallic nanoparticles using aqueous plant extract of Triphala with their excellent bio-efficacies. 2020;9(3):939–49.
 56. Shin M, Yang S, Kwak HW, Lee KH. Synthesis of gold nanoparticles using silk sericin as a green reducing and capping agent. *Eur Polym J [Internet]*.

- 2022;164(December 2021):110960. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110960>
57. Keijok WJ, Pereira RHA, Alvarez LAC, Prado AR, da Silva AR, Ribeiro J, et al. Controlled biosynthesis of gold nanoparticles with *Coffea arabica* using factorial design. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–10.
 58. Escobar Alarcón L, Solís Casados DA. Desarrollo de fotocatalizadores basados en TiO₂ en forma de película delgada para la degradación de moléculas orgánicas en solución acuosa. 2021;14(26):1–23.
 59. Lillo Ródenas MÁ. Nanomateriales que interaccionan con la luz. *Bol Grupo Español Carbón*. 2020;25–7.
 60. Singh T, Jayaprakash A, Alsuwaidi M, Madhavan AA. Green synthesized gold nanoparticles with enhanced photocatalytic activity. *Mater Today Proc* [Internet]. 2020;42(March):1166–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.531>
 61. Valgimigli L, Baschieri A, Amorati R. Antioxidant activity of nanomaterials. *J Mater Chem B*. 2018;6(14):2036–51.
 62. Huston M, Debelli M, Dibella M, Gupta A. Green synthesis of nanomaterials. *Nanomaterials*. 2021;11(8):1–29.
 63. Khalil I, Yehye WA, Etxeberria AE, Alhadi AA, Dezfooli SM, Julkapli NBM, et al. Nanoantioxidants: Recent trends in antioxidant delivery applications. *Antioxidants*. 2020;9(1).
 64. Guzmán Hernández E, Díaz Portillo S, Villafuerte Anaya Ó, González Valle MDR. Renoprotective and hepatoprotective effects of *hippocratea excelsa* on metabolic syndrome in fructose-fed rats. *Farmacia*. 2020;68(6):1106–19.
 65. Reyes Chilpa R, Jiménez Estrada M, Cristóbal Telésforo E, Torres Colín L, Villavicencio MA, Pérez Escandón BE, et al. Natural Insecticides from *Hippocratea excelsa* and *Hippocratea celastroides*. *Econ Bot*. 2003 Nov;57(1):54–64.
 66. Almaguer Vargas G, Pacheco Miramontes DF, Rivera Cabrera P, Becerril Flores MA. Tamizaje fitoquímico preliminar y actividad Antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de la corteza de *Hippocratea excelsa* Kunth (Cancerina). *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo* Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2019;8(15):41–7.
 67. Hernández Bolio GI, Ruiz Vargas JA, Peña Rodríguez LM. Natural Products from the Yucatecan Flora: Structural Diversity and Biological Activity. *J Nat Prod*. 2019;82:647–56.
 68. Douglas Kinghorn A, Falk H, Gibbons S. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Vol. 108, Springer. 2019. 278 p.

69. Waizel Bucay J, Waizel Haiat S. Plants with bitter principles and its medicinal use. A sweet future? *An Otorrinolaringol Mex* [Internet]. 2019;64(4):202–28. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/anaotomex/aom-2019/aom194f.pdf>
70. Gonnelli C, Giordano C, Fontani U, Salvatici MC, Ristori S. Green Synthesis of Gold Nanoparticles from Extracts of *Cucurbita pepo* L. Leaves: Insights on the Role of Plant Ageing. *Lect Notes Bioeng*. 2018;155–64.
71. Ying J, Zheng Y, Zhang H, Fu L. Biosíntesis a temperatura ambiente de nanopartículas de oro con extractos de hojas *Lycoris aurea* para la determinación electroquímica de la aspirina. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2020;11(1):23–43.
72. Doan VD, Thieu AT, Nguyen TD, Nguyen VC, Cao XT, Nguyen TLH, et al. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Litsea cubeba* Fruit Extract for Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol. *J Nanomater*. 2020;2020(Lc).
73. Irfan M, Moniruzzaman M, Ahmad T, Samsudin MFR, Bashir F, Butt MT, et al. Identifying the role of process conditions for synthesis of stable gold nanoparticles and insight detail of reaction mechanism. *Inorg Nano-Metal Chem*. 2022;52(4):519–32.
74. Vijayakumar S, Chen J, Kalaiselvi V, Divya M, González-Sánchez ZI, Durán-Lara EF, et al. Antibacterial and antibiofilm activities of marine polysaccharide laminarin formulated gold nanoparticles: An ecotoxicity and cytotoxicity assessment. *J Environ Chem Eng*. 2021;9(4):0–1.
75. Alikhani N, Hekmati M, Karmakar B, Veisi H. Green synthesis of gold nanoparticles (Au NPs) using *Rosa canina* fruit extract and evaluation of its catalytic activity in the degradation of organic dye pollutants of water. *Inorg Chem Commun* [Internet]. 2022;139(February):109351. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2022.109351>
76. Chahardoli A, Karimi N, Sadeghi F, Fattahi A. Green approach for synthesis of gold nanoparticles from *Nigella arvensis* leaf extract and evaluation of their antibacterial, antioxidant, cytotoxicity and catalytic activities. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2018;46(3):579–88.
77. Hosny M, Fawzy M, El-Badry YA, Hussein EE, Eltaweil AS. Plant-assisted synthesis of gold nanoparticles for photocatalytic, anticancer, and antioxidant applications. *J Saudi Chem Soc* [Internet]. 2022;26(2):101419. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101419>
78. Sekar V, Al-Ansari MM, Narenkumar J, Al-Humaid L, Arunkumar P, Santhanam A. Synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) with improved anti-diabetic, antioxidant and anti-microbial activity from *Physalis minima*. *J King Saud Univ - Sci* [Internet]. 2022;34(6):102197. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102197>
79. Susan Punnoose M, Bijimol D, Mathew B. Microwave assisted green

- synthesis of gold nanoparticles for catalytic degradation of environmental pollutants. *Environ Nanotechnology, Monit Manag.* 2021;16(January):100525.
80. Usman AI, Aziz AA, Noqta OA. Application of green synthesis of gold nanoparticles: A review. *J Teknol.* 2019;81(1):171–82.
 81. Kureshi AA, Vaghela HM, Kumar S, Singh R, Kumari P. Green synthesis of gold nanoparticles mediated by *Garcinia* fruits and their biological applications. *Pharm Sci.* 2020;27(2):238–50.
 82. Kumar B, Smita K, Debut A, Cumbal L. Utilization of *Persea americana* (Avocado) oil for the synthesis of gold nanoparticles in sunlight and evaluation of antioxidant and photocatalytic activities. *Environ Nanotechnology, Monit Manag.* 2018;10:231–7.
 83. Rodríguez-León E, Rodríguez-Vázquez BE, Martínez-Higuera A, Rodríguez-Beas C, Larios-Rodríguez E, Navarro RE, et al. Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Mimosa tenuiflora* Extract, Assessments of Cytotoxicity, Cellular Uptake, and Catalysis. *Nanoscale Res Lett.* 2019;14(1).
 84. Wang B, Yang G, Chen J, Fang G. Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using lignin nanoparticles. *Nanomaterials.* 2020;10(9):1–12.
 85. Mubeen B, Rasool MG, Ullah I, Rasool R, Imam SS, Alshehri S, et al. Phytochemicals Mediated Synthesis of AuNPs from *Citrullus colocynthis* and Their Characterization. *Molecules.* 2022;27(4).
 86. Cubas JM, Guadalupe R, Pimentel C, Enrique I, Merlín M, San E, et al. La espectroscopia UV-Vis en la evaluación de la viabilidad de células de cáncer de mama. 2018;1–7.
 87. Rey Méndez R, Rodríguez Argüelles MC, González Ballesteros N. Flower, stem, and leaf extracts from *Hypericum perforatum* L. to synthesize gold nanoparticles: Effectiveness and antioxidant activity. *Surfaces and Interfaces.* 2022;32(June).
 88. Malvern Panalytical. Dispersión de luz dinámica (DLS). Spectris company. 2021.
 89. Ramírez Rosas SL, Delgado Alvarado E, Sanchez Vargas LO, Herrera May AL, Peña Juárez MG, Gonzalez Calderon JA. Green Route to Produce Silver Nanoparticles Using the Bioactive Flavonoid Quercetin as a Reducing Agent and Food Anti-Caking Agents as Stabilizers. *Nanomaterials.* 2022;12(19).
 90. Cabrera C, Cervantes D, Muñoz F, Hirata G, Juárez P, Flores DL. Classifying nanostructured and heterogeneous materials from transmission electron microscopy images using convolutional neural networks. *Neural Comput Appl.* 2022;34(13):11035–47.

91. Dehghani F, Mosleh-Shirazi S, Shafiee M, Kasaei SR, Amani AM. Antiviral and antioxidant properties of green synthesized gold nanoparticles using *Glaucium flavum* leaf extract. *Appl Nanosci* [Internet]. 2022;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02705-1>
92. Ardelean AV, Moroşanu AM, Ardelean I, Moisescu C, Cornea CP. GOLD NANOPARTICLES SYNTHESIS BY GREEN MICROALGAE AND THE CYANOBACTERIUM *Synechocystis* PCC 6803 IN LIGHT AND IN DARKNESS, AND POLLUTANTS DEGRADATION BY THESE NANOPARTICLES IN VITRO. *AgroLife Sci* [Internet]. 2022;11(1):9–17. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/>
93. Boruah JS, Devi C, Hazarika U, Bhaskar Reddy PV, Chowdhury D, Barthakur M, et al. Green synthesis of gold nanoparticles using an antiepileptic plant extract: in vitro biological and photo-catalytic activities. *RSC Adv*. 2021;11(45):28029–41.
94. Shirzadi-Ahodashi M, Mizwari ZM, Mohammadi-Aghdam S, Ahmadi S, Ali Ebrahimzadeh M, Mortazavi-Derazkola S. Optimization and evaluation of anticancer, antifungal, catalytic, and antibacterial activities: Biosynthesis of spherical-shaped gold nanoparticles using *Pistacia vera* hull extract (AuNPs@PV). *Arab J Chem*. 2023;16(1).
95. Hemmati S, Joshani Z, Zangeneh A, Zangeneh MM. Green synthesis and chemical characterization of *Thymus vulgaris* leaf aqueous extract conjugated gold nanoparticles for the treatment of acute myeloid leukemia in comparison to doxorubicin in a leukemic mouse model. *Appl Organomet Chem*. 2020;34(2):1–14.
96. King SR, Massicot J, McDonagh AM. A straightforward route to tetrachloroauric acid from gold metal and molecular chlorine for nanoparticle synthesis. *Metals (Basel)*. 2015;5(3):1454–61.
97. Ali R, Alfeneekh B, Chigurupati S, Saleh SM. Green synthesis of pregabalin-stabilized gold nanoclusters and their applications in sensing and drug release. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2022;355(4):1–11.
98. Tezcan T, Boyaci IH. A new and facile route to prepare gold nanoparticle clusters on anodic aluminium oxide as a SERS substrate. *Talanta*. 2021;232(April):2–9.
99. Ahmad T, Technology I, Moniruzzaman M, Asghar HMA. Effect of Volume of Gold Chloroauric Acid on Size, Shape and Stability of Biosynthesized AuNPs using Aqueous *Elaeis guineensis* (Oil Palm) Leaves Extract. 2018;(March).
100. Aji A, Oktafiani D, Yuniarto A, Kurnia A. Biosynthesis of gold nanoparticles using Kapok (*Ceiba pentandra*) leaf aqueous extract and investigating their antioxidant activity. *J Mol Struct*. 2022;1270:133906.
101. Khatua A, Prasad A, Priyadarshini E, Kumar A, Aparupa P. Emerging Antineoplastic Plant-Based Gold Nanoparticle Synthesis: A Mechanistic

- Exploration of their Anticancer Activity Toward Cervical Cancer Cells. *J Clust Sci.* 2020;31(6):1329–40.
102. Vo QK, Nguyen AT, Ho HT, Huynh LTN, Nguyen TPP, Nguyen THT. Environmentally Friendly Controlled Synthesis of Gold Nanostars with Collagen by One-Step Reduction Method. *J Nanomater.* 2022;2022.
 103. Fan J, Cheng Y, Sun M. Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Biomedical Applications. *Chem Rec.* 2020;20(12):1474–504.
 104. Becerril-Castro IB, Calderon I, Pazos-Perez N, Guerrini L, Schulz F, Feliu N, et al. Gold Nanostars: Synthesis, Optical and SERS Analytical Properties. *Anal Sens.* 2022;2(3).
 105. Molnár Z, Bódai V, Szakacs G, Erdélyi B, Fogarassy Z. Green synthesis of gold nanoparticles by thermophilic filamentous fungi. 2018;(February):1–12.
 106. Singh P, Mijakovic I. Green synthesis and antibacterial applications of gold and silver nanoparticles from *Ligustrum vulgare* berries. *Sci Rep [Internet].* 2022;12(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11811-7>
 107. Sreedharan SM, Gupta S, Saxena AK, Singh R. *Macrophomina phaseolina*: microbased biorefinery for gold nanoparticle production. 2019;4000.
 108. Patil MP, Seo YB, Lim HK, Kim G Do. Biofabrication of gold nanoparticles using *Agrimonia pilosa* extract and their antioxidant and cytotoxic activity. *Green Chem Lett Rev [Internet].* 2019;12(3):208–16. Available from: <https://doi.org/10.1080/17518253.2019.1623927>
 109. Herrero-Calvillo R, Santoveña-Urbe A, Esparza R, Rosas G. A photocatalytic and electrochemical study of gold nanoparticles synthesized by a green approach. *Mater Res Express.* 2019;7(1).
 110. Mariychuk R, Grulova D, Grishchenko LM, Linnik RP, Lisnyak V V. Green synthesis of non-spherical gold nanoparticles using *Solidago canadensis* L. extract. *Appl Nanosci.* 2020;10(12):4817–26.
 111. Mzwd E, Ahmed NM, Suradi N, Alsae SK, Altowyan AS, Almessiere MA, et al. Green synthesis of gold nanoparticles in Gum Arabic using pulsed laser ablation for CT imaging. *Sci Rep.* 2022;1–11.
 112. Chen, Mei-Nung; Chan, Chin-Feng; Huang, Shu-Ling; Lin Y-S. Green biosynthesis of gold nanoparticles using *Chenopodium formosanum* shell extract and analysis of the particles' antibacterial properties. *J Sci Food Agric.* 2019;99(7):3693–702.
 113. Zheng Y, Zhang J, Zhang R, Luo Z, Wang C, Shi S. Gold nano particles synthesized from *Magnolia officinalis* and anticancer activity in A549 lung cancer cells. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2019;47(1):3101–9.

114. Boomi P. Green biosynthesis of gold nanoparticles using *Croton sparsiflorus* leaves extract and evaluation of UV protection , antibacterial and anticancer applications. 2020;(November 2019):1–13.
115. Ansul A, Jayalakshmi D, Xavier B. Materials Today: Proceedings Characterization of gold nanoparticles synthesized from *Solanum torvum* (Turkey Berry) fruit extract and its application in catalytic degradation of methylene blue and antibacterial properties. Mater Today Proc. 2021;(xxxx).
116. Raoul VL, Daniela AP, Cristina MU, Ar A. Effect of TAT-DOX-PEG irradiated gold nanoparticles conjugates on human osteosarcoma cells. 2020;1–14.
117. NanoTemper Technologies. DLS easily explained: What it tells you about your protein. USA: Nanotemper; 2021.
118. Seku K, Gangapuram BR, Pejjai B, Hussain M, Hussaini SS, Golla N, et al. Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using carboxymethylated gum *Cochlospermum gossypium* (CMGK) and their catalytic and antibacterial applications. Chem Pap [Internet]. 2019;73(7):1695–704. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00722-z>
119. Du J, Wu S, Hu Z, Yu Z, Zhao D, Bai Y. Green synthesis of salt-tolerant gold nanoparticles for the rapid qualitative detection of *Listeria monocytogenes* in lateral flow immunoassay. J Mater Sci [Internet]. 2020;55(32):15426–38. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10853-020-05118-z>
120. ELhabal SF, Elwy HM, Hassanin S, El-Rashedy AA, Hamza AA, Khasawneh MA. Biosynthesis and Characterization of Gold and Copper Nanoparticles from *Salvadora persica* Fruit Extracts and Their Biological Properties. Int J Nanomedicine. 2022;17:6095–112.
121. Ye S, Connell SD, McLaughlan JR, Roach L, Aslam Z, Chankhunthod N, et al. One-Step Preparation of Biocompatible Gold Nanoplates with Controlled Thickness and Adjustable Optical Properties for Plasmon-Based Applications. Adv Funct Mater. 2020;30(40).
122. Gholami-Shabani M, Sotoodehnejadnematalahi F, Shams-Ghahfarokhi M, Eslamifar A, Razzaghi-Abyaneh M. Physicochemical properties, anticancer and antimicrobial activities of metallic nanoparticles green synthesized by *Aspergillus kambarensis*. IET Nanobiotechnology. 2022;16(1):1–13.
123. Stozhko NY, Bukharinova MA, Khamzina EI, Tarasov A V., Vidrevich MB, Brainina KZ. The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles. Nanomaterials. 2019;9(12).
124. Hassaan MA, El Nemr A, Ragab S. Green Synthesis and Application of Metal and Metal Oxide Nanoparticles. Handb Nanomater Nanocomposites Energy Environ Appl. 2021;831–57.
125. Khan W, Jamila N, Khan N, Masood R, Wen Nee T, Bibi N, et al. Application

- of *Forsskaolea tenacissima* mediated gold nanoparticles in dyes discolouration, antibiotics removal, and metal ions detection. *Arab J Chem* [Internet]. 2022;15(10):104179. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104179>
126. Blanckenberg A, Malgas-Enus R. Raspberry-like gold-decorated silica (SSx-AMPS-Au) nanoparticles for the reductive discoloration of dyes. *SN Appl Sci* [Internet]. 2019;1(7):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0821-9>
 127. Nadaf NY, Kanase SS. Biosynthesis of gold nanoparticles by *Bacillus marisflavi* and its potential in catalytic dye degradation. *Arab J Chem* [Internet]. 2019;12(8):4806–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.020>
 128. Vijayan R, Joseph S, Mathew B. Anticancer, antimicrobial, antioxidant, and catalytic activities of green-synthesized silver and gold nanoparticles using *Bauhinia purpurea* leaf extract. *Bioprocess Biosyst Eng* [Internet]. 2019;42(2):305–19. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-018-2035-8>
 129. Rather MY, Shincy M, Sundarapandian S. Photocatalytic degradation of Rhodamine-B by phytosynthesized gold nanoparticles. *Int J Environ Sci Technol* [Internet]. 2022;(Iravani 2011). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04123-w>
 130. Hosny M, Fawzy M, Abdelfatah AM, Fawzy EE, Eltaweil AS. Comparative study on the potentialities of two halophytic species in the green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer, antioxidant and catalytic efficiencies. *Adv Powder Technol* [Internet]. 2021;32(9):3220–33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.appt.2021.07.008>
 131. Gangapuram BR, Bandi R, Alle M, Dadigala R, Kotu GM, Guttena V. Microwave assisted rapid green synthesis of gold nanoparticles using *Annona squamosa* L peel extract for the efficient catalytic reduction of organic pollutants. *J Mol Struct* [Internet]. 2018;1167:305–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.05.004>
 132. Perera M, Wijenayaka LA, Siriwardana K, Dahanayake D, Nalin De Silva KM. Gold nanoparticle decorated titania for sustainable environmental remediation: Green synthesis, enhanced surface adsorption and synergistic photocatalysis. *RSC Adv*. 2020;10(49):29594–602.
 133. Dalavi PA, V AJ, Thomas S, Prabhu A, Anil S, Seong GH, et al. Microwave-Assisted Biosynthesized Gold Nanoparticles Using *Saussurea obvallata*: Biocompatibility and Antioxidant Activity Assessment. *Bionanoscience* [Internet]. 2022;12(3):741–51. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12668-022-00994-y>
 134. Al-Radadi NS. Facile one-step green synthesis of gold nanoparticles (AuNp) using licorice root extract: Antimicrobial and anticancer study against HepG2 cell line. *Arab J Chem* [Internet]. 2021;14(2):102956.

Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102956>

135. Zayed MF, Mahfoze RA, El-kousy SM, Al-Ashkar EA. In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of metal nanoparticles biosynthesized using optimized *Pimpinella anisum* extract. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2020;585(October 2019):124167. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124167>
136. Al-Radadi NS. Biogenic proficient synthesis of (Au-NPs) via aqueous extract of Red Dragon Pulp and seed oil: Characterization, antioxidant, cytotoxic properties, anti-diabetic anti-inflammatory, anti-Alzheimer and their anti-proliferative potential against cancer cell . *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2022;29(4):2836–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.001>
137. Al-Radadi NS. Ephedra mediated green synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) and evaluation of its antioxidant, antipyretic, anti-asthmatic, and antimicrobial properties. *Arab J Chem* [Internet]. 2023;16(1):104353. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104353>
138. Thipe VC, Karikachery AR, Çakılkaya P, Farooq U, Genedy HH, Kaeokhamloed N, et al. Green nanotechnology—An innovative pathway towards biocompatible and medically relevant gold nanoparticles. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022;70(February).