

Biofabricación de nanopartículas de metales usando células vegetales o extractos de plantas*

Biomanufacturing of metal nanoparticles using plant cells or plant extracts

América Berenice Morales-Díaz¹, Antonio Juárez-Maldonado², Álvaro Morelos-Moreno³, Susana González-Morales³ y Adalberto Benavides-Mendoza^{4§}

¹Robótica y Manufactura Avanzada-Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN- Unidad Saltillo. Avenida Industria Metalúrgica 1062, C. P. 25900, Parque Industrial, Ramos Arizpe, Coahuila. ²Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. ³Cátedras CONACYT-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. ⁴Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923. C. P. 25315. Saltillo, Coahuila, México. (abmoralesd@gmail.com; juma841025@hotmail.com; alvarinho001@gmail.com; qfb_sgm@hotmail.com). [§]Autor para correspondencia: abenmen@gmail.com.

Resumen

Se presenta una revisión acerca de la biofabricación de nanopartículas (NPs) de metales usando extractos vegetales, cultivos celulares de órganos o bien plantas vivas. Se describen los dos métodos de biofabricación verde de nanopartículas: el proceso bioquímico con extractos y el proceso biológico que involucra células vivas. Se discute el mecanismo redox de biofabricación de NPs, haciendo énfasis en aquellos puntos que requieren mayor dilucidación con el propósito de estandarizar los procesos para adaptarlos a un sistema industrial de producción. Se describe igualmente lo que se conoce acerca del destino de las NPs biofabricadas en células vivas, remarcando el proceso de movilización extra- e intracelular así como entre diferentes tejidos y órganos de la planta. Se discuten por último los factores que regulan la tasa de biofabricación de nanopartículas en las células y tejidos vivos, dirigiendo la atención hacia aquello que se necesita dominar para obtener biofábricas para la producción de NPs en donde la variabilidad de tamaño, forma y reactividad se ajusten a estándares industriales.

Palabras clave: balance redox, bioproducción, bioreducción de metales, síntesis química verde.

Abstract

A review is presented on the biomanufacturing of nanoparticles (NPs) of metals using plant extracts, cell organ cultures or live plants. The two methods of manufacturing green nanoparticles are described: the biochemical process extracts and biological process involving living cells. The redox mechanism biomanufacturing of NPs is discussed, emphasizing those points that require further clarification in order to standardize processes to adapt to an industrial production system. It also describes what is known about the fate of NPs biomanufacturing in living cells, highlighting the process of extra- and intracellular as well as between different tissues and organs of the plant mobilization. Finally the factors discussed that regulate the rate of biomanufacturing of nanoparticles in living cells and tissues, directing attention to what you need to master to obtain bio-factories for the production of NPs where the variability in size, shape and reactivity fit to industry standards.

Keywords: balance redox, bioproduction, bioreduction metal, green chemical synthesis.

* Recibido: marzo de 2016
Aceptado: mayo de 2016

Introducción

La nanotecnología se ha constituido en promesa de mejora y rápido cambio en la forma de pensar, diseñar y hacer la tecnología. La definición de nanociencia es “la investigación y el desarrollo tecnológico a una escala de 1 a 100 nm utilizando átomos, moléculas o macromoléculas” (EPA 2007). Los elementos químicos en su forma nanométrica o de nanopartículas (NPs) muestran propiedades distintas a las que se manifiestan en la escala micro o macroscópica o bien cuando se encuentran en forma iónica (Hochella *et al.* 2008). Las NPs metálicas presentan propiedades electrónicas, magnéticas, catalíticas y ópticas únicas, que difieren de aquellas que experimenta el mismo material a granel (Gericke y Pinches, 2006). Estas nuevas propiedades emergentes constituyen su valor agregado, se manifiestan *per se* en las nanopartículas y dependen principalmente de un elevado cociente superficie/volumen (Nie *et al.*, 2010), el cual crece significativamente conforme disminuye el tamaño de las NPs (Karlsson *et al.* 2009), alcanzando valores superiores a $60 \text{ m}^2 \text{ cm}^{-3}$ (E. C. 2011).

En esta revisión se describe el avance en un sector específico de la nanotecnología que es la biofabricación de NPs usando como herramienta las células vegetales vivas o los extractos de plantas. Estas técnicas denominadas verdes permiten la fabricación de las NPs con un coste ambiental mucho menor al de las técnicas fisicoquímicas (Zhang *et al.* 2011), sin embargo, a pesar de esta ventaja aún no se han establecido procesos de biofabricación verde de NPs en niveles de planta piloto o escala industrial. El objetivo del ensayo es señalar los avances en la comprensión bioquímica y fisiológica del fenómeno de biofabricación de NPs con plantas o sus extractos, indicando los factores que pudieran resultar en una mayor capacidad de producción de NPs en sistemas de producción ubicados en laboratorios, reactores industriales o invernaderos.

Biofabricación de nanopartículas

Se conocen diferentes métodos de fabricación de NPs, nanomateriales o nanodispositivos (EPA, 2007), pero en particular el uso de metabolitos, extractos vegetales, células, tejidos, semillas o estructuras para reproducción vegetativa, órganos y organismos completos para la biofabricación de NPs constituye un área de gran dinamismo científico (Iravani, 2011; Kuppusamy *et al.*, 2016). La cantidad de publicaciones es muy grande y buena parte de los estudios se refieren a la biosíntesis

Introduction

The nanotechnology has become promise of improvement and rapid change in thinking, designing and making technology. The definition of nanoscience is "research and technological development at a scale of 1 to 100 nm using atoms, molecules or macromolecules" (EPA 2007). Chemical elements in nanometric form or nanoparticles (NPs) show different properties that are manifested in the macroscopic scale or micro or when in ionic form (Hochella *et al.*, 2008). The metal NPs exhibit properties unique electrical, magnetic, catalytic and optical, differing from those undergoing the same bulk material (Gericke and Pinches, 2006). These new emergent properties are value added, *per se* manifest in the nanoparticles and depend mainly on a high ratio surface/volume (Nie *et al.*, 2010), which grows significantly with decreasing the size of the NPs (Karlsson *et al.*, 2009), reaching values above $60 \text{ m}^2 \text{ cm}^{-3}$ (E. C. 2011).

In this review the progress described in a specific sector of nanotechnology is the biomanufacturing of NPs using as a tool the living plant cells or plant extracts. These green techniques called allow the manufacture of NPs with an environmental cost much less than the physicochemical techniques (Zhang *et al.*, 2011), however, despite this advantage has not yet been established processes green biomanufacturing of NPs in levels pilot plant or industrial scale. The test objective is to highlight the advances in biochemical and physiological understanding of the phenomenon of biomanufacturing of NPs with plants or extracts, indicating the factors that may result in increased production capacity of NPs in production systems located in laboratories, industrial reactors or greenhouses.

Nanoparticles biomanufacturing

The different manufacturing methods NPs, nanomaterials and nanodevices (EPA, 2007) are known, but in particular the use of metabolites, plant extracts, cells, tissues, seeds or structures for vegetative reproduction, organs and whole organisms for biomanufacturing of NPs is an area of great scientific dynamism (Iravani, 2011; Kuppusamy *et al.*, 2014). The number of publications is very large and most of the studies refer to the biosynthesis of metal NPs, but also found results about the biosynthesis of nanomaterials such as graphene (Gurunathan *et al.*, 2014). It has a series

de NPs de metales, aunque también se encuentran resultados acerca de la biosíntesis de nanomateriales como el grafeno (Gurunathan *et al.*, 2014). Se dispone de una serie de revisiones de literatura que señalan muchos casos específicos, incluyendo las especies vegetales utilizadas para la biofabricación de NPs, así como los elementos transformados a NPs (Iravani, 2011; Baker *et al.*, 2013; Rai y Yadav, 2013; Pardha-Saradhi *et al.*, 2014b; Ahmed and Ikram, 2015; Keat *et al.*, 2015).

Métodos de biofabricación de nanopartículas. Pueden clasificarse en (i) bioquímicos y (ii) biológicos. Ambos tipos se han denominado “verdes”, ya que al contrario que los métodos fisicoquímicos no generan subproductos contaminantes (Kharissova *et al.*, 2013) y entre otras ventajas tienen un menor costo ya que no requieren de tanta infraestructura, reactivos y gasto de energía (Li *et al.*, 2011).

Para la fabricación bioquímica de NPs no se utilizan seres vivos, sino los extractos frescos o secos obtenidos de raíces, hojas, tallos, flores o frutos de diferentes especies vegetales (Mittal *et al.*, 2013; Borovaya *et al.*, 2014) o de sus semillas (Rajasekharreddy and Rani, 2014), de la biomasa remanente de procesos bioindustriales o biosólidos (Sarkar *et al.*, 2014; Dauthal y Mukhopadhyay, 2015), o bien biopolímeros, carbohidratos, gomas y látex (Hortigüela *et al.*, 2011; Iravani, 2011) que se ponen en contacto con una solución conteniendo de 1 a 5 mM de iones de metales para que el potencial reductor de los compuestos contenidos en el extracto o compuesto bioquímico lleve a cabo la reacción indicada en la ecuación (1).

Catión del metal + compuesto reductor \Rightarrow metal con valencia cero + compuesto oxidado 1)

Por otra parte para la fabricación biológica de NPs es posible utilizar cultivos de bacterias o cianobacterias (Patel *et al.*, 2015), hongos (Ahmad *et al.*, 2003), microalgas (Patel *et al.*, 2015) o bien cultivos de células u órganos vegetales (Al-Shalabi y Doran 2013), plantas completas (Mittal *et al.*, 2014) o sus estructuras, por ejemplo brotes (Gardea-Torresdey *et al.* 2003), flores y tallos (Kuppusamy *et al.*, 2016) o raíces (Pardha-Saradhi *et al.*, 2014b). El proceso de fabricación biológica puede ocurrir de forma intracelular (Haverkamp and Marshall 2008), extracelular (Li *et al.*, 2011) o inclusive *ex planta* por medio de los exudados radicales (Pardha-Saradhi *et al.*, 2014a). Básicamente lo que se lleva a cabo para la biofabricación de NPs es poner en contacto una solución con 1 a 2 mM de iones de un metal con un cultivo celular, órgano, semillas o planta completa, de tal forma que se

of reviews of literature that indicate many specific cases, including plant species used for biomanufacturing of NPs, as well as elements transformed to NPs (Iravani, 2011; Baker *et al.*, 2013; Rai and Yadav, 2013; Pardha-Saradhi *et al.*, 2014b; Ahmed and Ikram, 2015; Keat *et al.*, 2015).

Biofabricación de nanopartículas. Pueden clasificarse en (i) bioquímico y (ii) biológico. Ambos tipos se han denominado “verdes” porque a diferencia de los métodos fisicoquímicos no generan subproductos contaminantes (Kharissova *et al.*, 2013) y entre otras ventajas vienen a un menor costo ya que no requieren de tanta infraestructura, reactivos y energía (Li *et al.*, 2011).

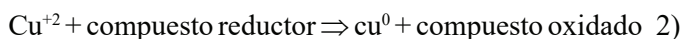
Para la fabricación bioquímica de NPs no se utilizan seres vivos, sino los extractos frescos o secos obtenidos de raíces, hojas, tallos, flores o frutos de diferentes especies vegetales (Mittal *et al.*, 2013; Borovaya *et al.*, 2014) o de sus semillas (Rajasekharreddy and Rani, 2014), de la biomasa remanente de procesos bioindustriales o biosólidos (Sarkar *et al.*, 2014; Dauthal and Mukhopadhyay, 2015) o biopolímeros, carbohidratos, gomas y látex (Hortigüela *et al.*, 2011; Iravani, 2011) que se ponen en contacto con una solución conteniendo de 1 a 5 mM de iones de metales para que el potencial reductor de los compuestos contenidos en el extracto o compuesto bioquímico lleve a cabo la reacción mostrada en la ecuación (1).

Metal cation + reducing compound \Rightarrow metal with zero valent + oxidized compound 1)

Por otra parte para la fabricación biológica de NPs se pueden utilizar cultivos de bacterias o cianobacterias (Patel *et al.*, 2015), hongos (Ahmad *et al.*, 2003), microalgas (Patel *et al.*, 2015) o cultivos de células u órganos vegetales (Al-Shalabi and Doran 2013), plantas completas (Mittal *et al.*, 2014) o sus estructuras, por ejemplo brotes (Gardea-Torresdey *et al.*, 2003), flores y tallos (Kuppusamy *et al.*, 2014) o raíces (Pardha-Saradhi *et al.*, 2014b). El proceso de fabricación biológica puede ocurrir de forma intracelular (Haverkamp and Marshall 2008), extracelular (Li *et al.*, 2011) o incluso *ex planta* por medio de los exudados radicales (Pardha-Saradhi *et al.*, 2014a). Básicamente lo que se lleva a cabo para la biofabricación de NPs es poner en contacto una solución con 1 a 2 mM de iones de un metal con un cultivo celular, órgano, semilla o planta completa, de tal forma que se

desarrolle el proceso reductivo indicado en la ecuación (1). La concentración más baja indicada se utilizaría para elementos con alta toxicidad como el Cu y la más alta para elementos como el Au.

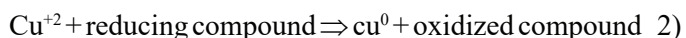
El mecanismo de biofabricación de nanopartículas. La síntesis bioquímica o biológica de NPs de metales es una reacción redox y ocurre gracias a la capacidad reductora de los componentes celulares o extracelulares como proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, fenoles y otros metabolitos (Haverkamp y Marshall, 2008; Juárez-Maldonado *et al.*, 2013; Rai y Yadav, 2013; Kumar *et al.*, 2013), los cuales aportan electrones a los cationes de los metales llevándolos a una forma metálica con carga cero y de escala nanométrica. En general para las NPs de metales como Cu, Ag, Pd, Au, Ni, Ce, entre otros, el proceso es como el indicado en la ecuación (2) siguiente:



El compuesto reductor en las ecuaciones (1) y (2) indica un único metabolito o compuesto químico o bien un conjunto de varios de ellos provenientes de un extracto vegetal o de células vivas. Los grupos funcionales que se ha reportado intervienen en la biosíntesis de NPs son los alcoholes, aldehídos, aminos, carboxilos, cetonas, hidroxilos, sulfhidrilos (Baker *et al.*, 2013; Rai y Yadav, 2013; Huang *et al.*, 2015), por lo que puede suponerse que prácticamente cualquier compuesto biológico que aporte dichos grupos es utilizable para transformar iones de metales en NPs. Sin embargo, Rai y Yadav (2013) indican que algunos compuestos como los terpenoides, flavonoides, heterocíclicos diversos, polifenoles, azúcares reductores, glutatión y ascorbato se involucran directamente en la biosíntesis, mientras que otros, como las proteínas funcionan como agentes estabilizantes, formando por adsorción una cubierta orgánica denominada corona.

El Cu de valencia cero (Cu^0) señalado en la ecuación (2) se obtuvo con la reducción en dos pasos del Cu^{+2} , primero a Cu^+ y luego a Cu^0 (Kitching *et al.*, 2014) el cual forma complejos con otros átomos de Cu^0 dando lugar por agregación a una nanopartícula que puede ser cristalina o amorfa y tendrá ciertas dimensiones y geometría específicas, ello dependiente del ambiente químico en donde ocurre la reacción y los compuestos que aportan el potencial reductor (Bashir *et al.*, 2015; Metz *et al.*, 2015). La magnitud nanométrica de las NPs da lugar a un alto cociente superficie/volumen, generando una gran exposición del plasma electrónico del metal con cantidades de masa muy pequeñas. Lo anterior

The mechanism biomanufacturing nanoparticles. Biochemical or biological synthesis of NPs metal is a redox reaction occurs because to the reducing capacity of the cell or extracellular components such as proteins, carbohydrates, organic acids, phenols and other metabolites (Haverkamp and Marshall, 2008; Juárez-Maldonado *et al.*, 2013; Rai and Yadav, 2013; Kumar *et al.*, 2013), which provide electrons to the metal cations taking them to a metallic form with zero load and nanometer scale. In general for NPs of metals such as Cu, Ag, Pd, Au, Ni, Ce, among others, the process is as shown in the following equation (2):



The reducing compound in equations (1) and (2) indicates a single metabolite or chemical compound or an assembly of several of them from a vegetable extract or living cells. Functional groups which have been reported involved in the biosynthesis of NPs are alcohols, aldehydes, amines, carboxyls, ketones, hydroxyls, sulfhydryls (Baker *et al.*, 2013; Rai and Yadav, 2013; Huang *et al.*, 2015), so it can be assumed that virtually any biological compound to provide such groups is usable to convert metal ions in NPs. However, Rai and Yadav (2013) indicated that some compounds like terpenoids, flavonoids, various heterocyclic, polyphenols, reducing sugars, glutathione and ascorbate are directly involved in biosynthesis, while others such as proteins function as stabilizing agents, forming by adsorbing an organic cover called crown.

The Cu zero valent (Cu^0) indicated in equation (2) was obtained with the reduction in two steps from Cu^{+2} , first Cu^+ and then Cu^0 (Kitching *et al.*, 2014) which forms complexes with other atoms of Cu^0 resulting aggregation to a nanoparticle can be crystalline or amorphous and will have a certain size and specific geometry, this chemical environment dependent reaction and where compounds provide reducing potential occurs (Bashir *et al.*, 2015; Metz *et al.*, 2015). The magnitude of nanometric NPs results in a high ratio surface/volume, generating a plasma exposure electronic metal with very small amounts of mass. This increases by several orders of magnitude the amount of electrostatic and kinetic energy of the electronic plasma available for interaction (for example with electromagnetic radiation or metabolites and proteins forming the crown) per unit mass of nanoelement (Noguez, 2007; Lynch and Dawson, 2008). Precisely therein lies much of the biological reactivity of NPs and what turns them on one side in a very effective microbicide but on

acrecienta en varios órdenes de magnitud la cantidad de energía electrostática y cinética del plasma electrónico disponible para interacción (por ejemplo con la radiación electromagnética o con metabolitos y proteínas que forman la corona) por unidad de masa del nanoelemento (Noguez, 2007; Lynch y Dawson, 2008). Precisamente allí radica gran parte de la reactividad biológica de las NPs y lo que las convierte por un lado en un microbicida muy efectivo pero, por otra parte, también las vuelve un agente inductor de estrés celular para otros organismos como plantas, animales y humanos.

Otros factores adicionales al cociente superficie/volumen, como la geometría de las NPs y el tipo de recubrimiento orgánico también modifican la interacción con los componentes celulares (Karlsson *et al.*, 2009). Esto explicaría parcialmente la existencia de reportes contradictorios respecto a los efectos positivos y negativos de diferentes tipos de NPs (Rivera-Gil *et al.*, 2013), ya que la actividad específica de las NPs de un mismo elemento dependería de la interacción superficial con los diferentes metabolitos y proteínas presentes (Metz *et al.*, 2015). De hecho se afirma que la corona formada por esta adsorción de proteínas y metabolitos diversos a la superficie de las NPs, es la señal que las células perciben y señalizan para modificar su comportamiento fisiológico y la expresión génica (Lynch y Dawson, 2008). Por otra parte, es posible que los diferentes métodos de síntesis: fisicoquímica, bioquímica y biológica den lugar a NPs con los mismos rangos de diámetro pero con diferencias en geometría y por lo tanto en su cociente superficie/volumen y en la cubierta orgánica o corona, lo cual daría lugar a que las NPs del mismo elemento y de la misma categoría diamétrica ejercieran efectos diferentes al aplicarse para ciertos usos o al interactuar con los seres vivos o los sistemas ecológicos.

Surge la cuestión del porqué las células vivas fabrican las NPs en presencia de iones de metales cuando se ha demostrado que aquellas son muy reactivas y capaces de inducir estrés oxidativo y otros desórdenes celulares (Navarro *et al.*, 2008). Es posible que simplemente se trate de una respuesta automática del sistema bioquímico que dispone de cierta capacidad antioxidante. O tal vez la respuesta se relacione con la mayor facilidad para mantener a las NPs en ubicaciones celulares específicas con un menor costo energético en comparación con los iones de metales en solución (Karlsson *et al.*, 2009).

Frente a un estrés inducido por el exceso de iones de metales las plantas responden con varios mecanismos de defensa como disminuir el ingreso y elevar la excreción de estos

the other hand, also becomes an inducing agent of cellular stress for other organisms such as plants, animals and humans.

Additional factors to the ratio surface/volume, as the geometry of the NPs and type of organic coating also modify the interaction with cellular components (Karlsson *et al.*, 2009). This partially explain the existence of conflicting reports concerning the positive and negative effects of different types of NPs (Rivera-Gil *et al.*, 2013), since the specific activity of NPs of an element depend on the surface interaction with different metabolites and proteins present (Metz *et al.*, 2015). In fact it states that the crown formed by the adsorption of proteins and various metabolites to the surface of the NPs, is the signal that the cells perceive and signaled to modify their physiological behavior and gene expression (Lynch and Dawson, 2008). Moreover, it is possible that different methods of synthesis, physical chemistry, biochemistry and biological lead to NPs with the same ranges in diameter but with differences in geometry and therefore in its ratio surface/volume and in organic cover or crown, which would result in the NPs of the same element and the same diameter class exert different effects when applying for certain uses or to interact with living beings or ecological systems.

The question arises as to why the living cells NPs manufactured in the presence of metal ions has been shown that when these are very reactive and can induce oxidative stress and other cellular disorders (Navarro *et al.*, 2008). You may simply try an automatic response of the biochemical system that has a certain antioxidant capacity. Or perhaps the answer is related to the greater facility to keep the NPs in specific cellular locations with lower energy costs compared with metal ions in solution (Karlsson *et al.*, 2009).

Faced with a stress-induced excess metal ions plants respond to various defense mechanisms such as lower income and increase the excretion of these elements by the root, complexation with metabolites, proteins or cell wall, accumulation of antioxidants and complexation and transport into the vacuole (Shahid *et al.*, 2014). All these responses are induced and require time and energy expenditure for functional implementation. The advantage of the formation of NPs is occurring rapidly, it depends only on the existing antioxidant potential at the time and works as an expedited response that would later be supplemented by the aforementioned adjustments that would lead to finer control and effective concentration metal ions.

elementos por la raíz, la complejación con metabolitos, proteínas o la pared celular, la acumulación de antioxidantes así como el transporte y complejación en la vacuola (Shahid *et al.*, 2014). Todas estas respuestas son inducidas y requieren de tiempo y gasto de energía para su implementación funcional. La ventaja de la formación de las NPs es que ocurre rápidamente, depende solamente del potencial antioxidante existente en el momento y funciona como una respuesta expedita que sería complementada posteriormente por los ajustes antes mencionados que darían lugar al control más fino y efectivo de la concentración de los iones de metales.

Tal parece entonces que la síntesis de NPs sería de las primeras respuestas defensivas de las plantas frente al estrés inducido por el exceso de iones de metales. Por ello se espera que la capacidad de producción de NPs de un sistema biológico responda por una parte al aporte de los iones de metales en concentraciones por encima de las adecuadas y por otro lado, a la capacidad del sistema para biotransformar los iones en NPs. Esto último obedecerá a la capacidad antioxidante global aportada por los metabolitos y otros compuestos localizados en el extracto vegetal o células vivas (Huang *et al.*, 2015; Valko *et al.*, 2016).

La biosíntesis de NPs ocurre de forma espontánea en la naturaleza, tanto en sus componentes abiótico como biótico (Hochella *et al.*, 2008). Sin embargo, la literatura consultada muestra un sesgo de información, en el sentido de que los estudios publicados se dirigen principalmente hacia la biofabricación de NPs así como a los efectos de NPs artificialmente manufacturadas y su destino ecológico. Hay poca información acerca de las NPs generadas en condiciones naturales. ¿qué efectos causan en los organismos y que funciones ecológicas desarrollan las NPs naturales? El tema parece relevante no solo para las NPs de metales sino también para las NPs de arcillas, de minerales diversos y de componentes biológicos.

La biosíntesis de NPs se observa incluso en células humanas (Anshup *et al.*, 2005; El-Said *et al.*, 2014), y en general en los sistemas bioquímicos derivados de seres vivos, es decir, sistemas que muestren capacidad reductora como por ejemplo los extractos frescos o secos obtenidos de organismos vegetales (Mittal *et al.* 2013; Kumar *et al.* 2013; Huang *et al.*, 2015), la miel (Venu *et al.*, 2011), el vino (Mittal *et al.*, 2014), o hasta el material obtenido de la lisis celular (El-Said *et al.*, 2014). Las NPs obtenidas pueden formar óxidos (Haverkamp y Marshall, 2008) o complejos hidratados (Petit *et al.*, 2015), aunque lo que normalmente

It seems then that the synthesis of NPs would be the first defensive responses of plants to stress induced by excess metal ions. It is therefore expected that the production capacity of NPs of a biological system to respond in part to the contribution of metal ions in concentrations above the right and on the other hand, the system's ability to biotransform ions in NPs. The latter obey the global antioxidant capacity provided by the metabolites and other compounds located in the plant extract or living cells (Huang *et al.*, 2015; Valko *et al.*, 2015).

The NPs biosynthesis occurs spontaneously in nature, both in its abiotic components and biotic (Hochella *et al.*, 2008). However, the literature shows an information bias, in the sense that published studies are mainly directed towards the biomufacturing of NPs as well as the effects of artificially manufactured NPs and their ecological destination. There is little information about NPs generated under natural conditions. What effects on organisms causing ecological functions and develop natural NPs? The issue seems relevant not only for metal NPs but also for NPs clay, various mineral and biological components.

The biosynthesis NPs is observed even human cells (Anshup *et al.*, 2005; El-Said *et al.*, 2014), and generally in biochemical systems derived from living things, that is, systems that exhibit reducing ability as example fresh or dried extracts obtained from plant organisms (Mittal *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2015), honey (Venu *et al.*, 2011), wine (Mittal *et al.*, 2014), or to the material obtained from cell lysis (El-Said *et al.*, 2014). The NPs obtained can form oxides (Haverkamp and Marshall, 2008) or complex hydrated (Petit *et al.*, 2015), but what usually happens is the NPs acquire an organic coating adsorbed on the surface of the NPs, which increases its stability and decreases aggregation (Iravani, 2011); i.e., biological agents develop a double function as reducing agents and as coating.

It is not yet clear whether the biotransformation is mainly dependent on one or a few types of metabolites or if what matters is the overall reduction potential, that is, the sum of the reducing capabilities of all biomolecules found in the system (Anshup *et al.*, 2005). None reported any limitation as to the transformation of ions NPs to be performed by some kind of specific compound (El-Said *et al.*, 2014), while some authors point out specific metabolites as responsible for biotransformation (Shukla *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2015), but without providing elements to totally exclude

ocurre es que las NPs adquieran un recubrimiento orgánico, adsorbido en la superficie de las NPs, que aumenta su estabilidad ya que disminuye la agregación (Iravani, 2011); es decir, los agentes biológicos desarrollan una doble función: como agentes reductores y como recubrimiento.

No está claro aún si la biotransformación depende principalmente de uno o unos cuantos tipos de metabolitos o bien si lo importante es el potencial reductor global, esto es, la suma de las capacidades reductoras de todas las biomoléculas encontradas en el sistema (Anshup *et al.*, 2005). No se ha reportado ninguna limitante en cuanto a que la transformación de iones a NPs deba realizarse por medio de algún tipo de compuesto específico (El-Said *et al.*, 2014), aunque algunos autores señalan metabolitos específicos como los responsables de la biotransformación (Shukla *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2015), pero sin aportar elementos que permitan excluir totalmente la acción de otras biomoléculas. Si lo que se requiere es la presencia de unos cuantos metabolitos reductores diferentes en gran cantidad se usarían organismos transgénicos o sus extractos vegetales (Hong-Bo *et al.*, 2010), o bien hiperacumuladores con innata capacidad de acumulación del elemento que se utilizará para la biosíntesis de las NPs (Iravani, 2011). Por otra parte si se necesita una gran capacidad reductora general proveniente de muchos metabolitos distintos entonces pudiera aplicarse selección genética, manipulación ambiental o manejo agronómico (Ortega-Ortiz *et al.*, 2007).

Destino de las nanopartículas en la célula o tejido. Una vez que se forman las NPs en las células o tejidos vivos a partir de los iones del elemento de interés ¿qué ocurre con ellas? Se sabe que las NPs presentan movilidad intracelular y apoplástica (Larue *et al.*, 2014), pudiendo ingresar en organelos como los cloroplastos (Miralles *et al.*, 2012), la vacuola y el núcleo (Kurepa *et al.*, 2010) por lo que es posible que se distribuyan en toda la célula. Adicionalmente se ha demostrado que las NPs de varios elementos no mayores a 100 nm se movilizan entre los diferentes órganos de la planta a través del floema (Rico *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2013).

Es posible también que las NPs sean transformadas de nuevo al elemento en forma iónica, dando entonces lugar a un recambio continuo de estado del elemento de NPs a iones, verificándose así en el caso de la Ag que forma NPs inestables (Larue *et al.*, 2014), mientras que las NPs con mayor estabilidad serían aquellas de elementos como el Ce, que al acumularse causan daños por interferencia mecánica con los poros de las paredes celulares (Asli y Neumann., 2009), por interacción con las proteínas modificando la

the action of other biomolecules. If what is required is the presence of a few different reducing metabolites lot transgenic organisms or plant extracts (Hong-Bo *et al.*, 2010) or hyperaccumulators with innate ability to build the element to be used for would be used the biosynthesis of NPs (Iravani, 2011). On the other hand if you need a great general reducing capacity from many different metabolites then genetic selection, environmental manipulation or agronomic management could be applied (Ortega-Ortiz *et al.*, 2007).

Fate of nanoparticles in the cell or tissue. Once the NPs are formed in cells or living tissues from the element ions of interest, what happens to them? It is known that NPs have intracellular and apoplactic mobility (Larue *et al.*, 2014), can enter organelles such as chloroplasts (Miralles *et al.*, 2012), the vacuole and the core (Kurepa *et al.*, 2010) at which may be distributed throughout the cell. It has been further shown that several elements NPs not greater than 100 nm are mobilized between different organs of the plant through the phloem (Rico *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2013).

It is also possible that NPs are transformed back to the element in ionic form, then resulting in ongoing replacement element status NPs ion and therefore check in the case of the Ag forming NPs unstable (Larue *et al.*, 2014), while the NPs with greater stability would be those elements such as Ce, which cumulatively cause damage by mechanical interference with the pores of the cell walls (Asli and Neumann., 2009), by interaction with proteins modifying the conformation and functionality (Mahmoudi *et al.*, 2011), or by interference with the cytoskeleton or oxidative stress (Wang *et al.*, 2011). The phenotypic changes observed in cells or whole organisms in the presence of NPs possibly come from the aforementioned interactions occurring in the genomic, epigenomic, biochemical and metabolic areas. The general scenario that is obtained is high mobility between organs of plants, both in terms of NPs intact and its replacement to the ionic form of the element and vice versa. This must be considered for their potential environmental impact and for food purposes use of plants that interact with NPs.

Factors regulating biomanufacturing nanoparticles in plant cells and tissues. According to Haverkamp and Marshall (2008) there are several limitations for biochemical and biological synthesis NPs from ions in solution:

In the case of biochemical manufacturing plant extracts finite volume of compounds that provide reduction potential in the system.

conformación y funcionalidad (Mahmoudi *et al.*, 2011), o bien por interferencia con el citoesqueleto o por estrés oxidativo (Wang *et al.*, 2011). Los cambios fenotípicos observados en células u organismos completos en presencia de NPs posiblemente provengan de las interacciones antes mencionadas que ocurren en los ámbitos genómico, epigenómico, bioquímico y metabólico. El escenario general que se obtiene es de una alta movilidad entre órganos de las plantas, tanto en términos de las NPs intactas como de su recambio a la forma iónica del elemento y viceversa. Esto debe de tomarse en cuenta tanto por su potencial impacto ecológico como para propósitos de uso alimenticio de las plantas que interactúen con NPs.

Factores que regulan la biofabricación de nanopartículas en las células y tejidos vegetales. De acuerdo con Haverkamp y Marshall (2008) existen varias limitantes para la síntesis bioquímica y biológica de NPs a partir de iones en solución:

En el caso de la fabricación bioquímica con extractos vegetales el volumen finito de compuestos que aportan potencial reductor en el sistema.

La capacidad de restauración o mantenimiento del potencial reductor, que en el caso de la fabricación biológica depende de la fotosíntesis y la respiración de las reservas de carbono de las plantas, órganos o células vegetales.

Para la transformación biológica el potencial redox (potencial de reducción electroquímico estándar) de la transformación del ión del elemento a su forma de valencia cero (ejemplo de Cu^{+2} a Cu^0), es un factor a considerar, estando limitada según los autores a valores mayores a 0 Voltios (V) (potencial electroquímico relativo a un electrodo estándar de hidrógeno) y por lo tanto incluye solamente a elementos como el Au, Ag, Cu, Se, Pd, Ir, Pt, Cr, Ru y Rh. Mientras mayor sea el valor positivo de este potencial redox más fácil ocurre la biotransformación, es decir, habrá un mayor porcentaje de recuperación del elemento en su forma nanoparticulada. Otros elementos como el Zn, Ni, Pb, Tl y Cd que tienen potenciales redox menores a 0 V para la transformación de su forma iónica común a la forma con valencia cero no parecen ser susceptibles de transformarse en NPs usando células, órganos o plantas completas, pero si por medios bioquímicos, usando por ejemplo extractos vegetales (Kuppusamy *et al.*, 2016).

La forma química del elemento en solución, tanto si se encuentra en forma iónica como Ag^+ o en forma de un complejo iónico como $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ ó $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ también

The ability to restore or maintain the gearhead potential, which in the case of biological production depends on photosynthesis and respiration of carbon stocks of plants, plant cells or organs.

For the redox potential biological transformation (potential standard electrochemical reduction) of the transformation ion of the element to form zero-valent (eg Cu^{+2} to Cu^0) is a factor, being limited by the authors to values greater than 0 Volts (V) (electrochemical potential relative to a standard hydrogen electrode) and therefore includes only elements such as Au, Ag, Cu, Se, Pd, Ir, Pt, Cr, Ru and Rh. The greater the positive value of the redox potential easier biotransformation occurs, i.e., there will be a higher percentage of recovery element in its nanoparticulate form. Other elements such as Zn, Ni, Pb, Tl and Cd having lower potentials redox to 0 V for the transformation of its common ionic form to the form with zero valent not appear to be susceptible to becoming NPs using cells, organs or whole plants but if by biochemical means, using for example plant extracts (Kuppusamy *et al.*, 2014).

The chemical form of the element in solution, whether in ionic form is as Ag^+ or in the form of an ionic complex as $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ or $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ also has an impact on the biotransformation process when it occurs intracellularly in cultured cells or microorganisms or plants intra somatically. It is not known with certainty why it occurs so but obtained ion NPs are larger to those obtained from ionic complexes (Haverkamp and Marshall, 2008). This difference could be related to the ease of diffusion or transport (Anshup *et al.*, 2005), which in turn is associated with ease of transport elements in ionic form (usually cations) by conveyors energized by proton pumps (Guerinot, 2000) vs ionic complex (which will normally be anions) and mobilized more slowly (Wright and Diamond, 1977). No reported special conveyors for elements which become NPs into cells, such as Ag and Au, but this occurs by means of the carrier proteins used to mobilize other elements such as Fe (Jain *et al.*, 2014) or directly through the lipid bilayer of cells or organelles apparently by vesicular transport (Serag *et al.*, 2012).

The concentration of the elements also impacts biosynthesis NPs since the rise salinity becomes less effective transport of ions into the cell or its different compartments (Grattan and Grieve 1998), also increase the toxic effect of some elements, especially non-essential, when they are above a certain threshold concentration (Poschenrieder *et al.*, 2013).

tiene un impacto en el proceso de biotransformación cuando éste ocurre intracelularmente en células en cultivo o microorganismos o bien intrasomáticamente en plantas. No se sabe con certeza porqué ocurre así pero las NPs obtenidas de iones son de mayor tamaño a las obtenidas de complejos iónicos (Haverkamp y Marshall, 2008). Esta diferencia pudiera relacionarse con la facilidad de difusión o transporte (Anshup *et al.*, 2005), que a su vez se asocia con la mayor facilidad de transporte de elementos en forma iónica (normalmente cationes) por transportadores energizados por bombas de protones (Guerinot, 2000) vs los complejos iónicos (que normalmente serán aniones) y que se movilizan más lentamente (Wright y Diamond, 1977). No se han reportado transportadores especiales para elementos que se transforman en NPs al interior de las células, como Ag y Au, sino que esto ocurre por medio de las proteínas transportadoras utilizadas para la movilización de otros elementos como el Fe (Jain *et al.*, 2014) o bien directamente a través de la bicapa lipídica de las células u organelos al parecer por transporte vesicular (Serag *et al.*, 2012).

La concentración de los elementos también impacta en la biosíntesis de NPs ya que al elevarse la salinidad se hace menos efectivo el transporte de los iones hacia la célula o sus diferentes compartimientos (Grattan and Grieve 1998), aumentando igualmente el efecto tóxico de algunos elementos, sobre todo los no esenciales, cuando se encuentran encima de cierta concentración umbral (Poschenrieder *et al.*, 2013). Adicionalmente los cambios en la concentración y las especies químicas en solución modifican el potencial redox del sistema, lo que impacta tanto en la capacidad para biotransformar los iones en NPs como en el tamaño finalmente obtenido de dichas NPs (Haverkamp y Marshall, 2008).

Una vez terminada la reacción de biotransformación de los iones a NPs el potencial reductor del sistema bioquímico tomaría menor magnitud. En el caso de un sistema vivo el potencial reductor pudiera ser igual o mayor dependiendo de la capacidad metabólica y el efecto inductivo del propio elemento en forma iónica o de sus NPs que en algunos casos da lugar a mayor capacidad antioxidante en el sistema biológico (Juárez-Maldonado *et al.*, 2013). La concentración de los iones del elemento o elementos sujetos a biotransformación disminuye en mayor o menor cantidad dependiendo del elemento de que se trate, de su forma química y de la capacidad de reducción del sistema (Haverkamp y Marshall, 2008), encontrándose que la eficiencia de biotransformación con microorganismos

Additionally the changes in the concentration and chemical species in solution modify the redox potential of the system, which impacts both the ability to biotransform ions in NPs and the size of such NPs finally obtained (Haverkamp and Marshall, 2008).

After the reaction biotransformation of ions NPs reducing potential of smaller magnitude would biochemical system. In the case of a live system reducing potential could be equal or greater depending on the metabolic capacity and inductive effect of the element itself in ionic or their NPs which in some cases leads to increased antioxidant capacity in the biological system (Juarez-Maldonado *et al.*, 2013). The concentration of ions of the element or elements subject to biotransformation decreases more or less depending on the element concerned, of its chemical form and capacity reduction system (Haverkamp and Marshall, 2008) and found to efficiency biotransformation microorganisms can be as high as 88% of the initial concentration of the metal in ionic form or complex (Suresh *et al.*, 2011). In the case of the use of live plants for biomanufacturing of NPs it found that species such as *Brassica juncea* and *Medicago sativa* can earn up to 3% of its dry weight in the form of silver nanoparticles, in times of 24-72 h, using a hydroponic solution containing 1 000 to 10 000 mg L⁻¹ of AgNO₃ (Harris y Bali, 2007).

Escalation of nanoparticles biomanufacturing plants

A possible limitation in the larger scale use methods biotransformation with plants or their derivatives is that the reducing capacity of the system (whether it is a biological product such as honey, humic acids, a fresh extract or a set of living cells) it will be dependent on its composition (Iravani, 2011; Kharissova *et al.*, 2013), being complicated standardization principle since each specific combination of environment-organism will result in a different composition (Starnes *et al.*, 2010). Likewise the identity and reactivity of the crown of the NPs will differ depending on the composition of cells or extracts (Metz *et al.*, 2015). In the case of the use of plants for the biomanufacturing of NPs the result will be different depending on the species or variety, growth conditions (Jain *et al.*, 2014), the element in question of biotransformed and concentration so and the way it is applied to the plant is the root (López-Moreno *et al.*, 2010) or by foliar spraying (Juárez-Maldonado *et al.*, 2013).

If the system is not standardized biochemically then it is difficult to obtain NPs with certain standards (Starnes *et al.*, 2010), especially size, geometry and composition of

puede ser tan alta como el 88% de la concentración inicial del metal o complejo en forma iónica (Suresh *et al.*, 2011). En el caso del uso de plantas vivas para la biofabricación de NPs se ha encontrado que especies como *Brassica juncea* y *Medicago sativa* pueden acumular hasta 3% de su peso seco en forma de nanopartículas de plata, en tiempos de 24 a 72 h, usando una solución hidropónica con 1 000 a 10 000 mg L⁻¹ de AgNO₃ (Harris y Bali, 2007).

Escalamiento de la biofabricación de nanopartículas con plantas

Una posible limitante en el uso a mayor escala de los métodos de biotransformación con plantas o sus derivados es que la capacidad reductora del sistema (sea este un producto biológico como la miel, ácidos húmicos, un extracto fresco o bien un conjunto de células vivas) será dependiente de su composición (Iravani, 2011; Kharissova *et al.*, 2013), siendo en principio complicada su estandarización ya que cada combinación específica de ambiente-organismo dará lugar a una composición distinta (Starnes *et al.*, 2010). Igualmente la identidad y reactividad de la corona de las NPs será diferente dependiendo de la composición de las células o extractos (Metz *et al.*, 2015). En el caso del uso de las plantas para la biofabricación de NPs el resultado será diferente dependiendo de la especie o variedad, de las condiciones de crecimiento (Jain *et al.*, 2014), del elemento que se trate de biotransformar y de su concentración así como de la forma en que se aplique a la planta sea esta por la raíz (López-Moreno *et al.*, 2010) o por aspersión foliar (Juárez-Maldonado *et al.*, 2013).

Si el sistema no está bioquímicamente estandarizado entonces se dificultaría obtener NPs con ciertos estándares (Starnes *et al.*, 2010), sobre todo tamaño, geometría y composición de la corona. La estandarización proporciona certidumbre acerca de la efectividad de las NPs. Muchos estudios reportan la obtención de NPs por medios bioquímicos o biológicos, pero son estudios realizados en una ocasión, con una especie e individuos específicos, quedando sin respuesta la reproducibilidad del fenómeno en términos de las características de las NPs.

Efectivamente, si pensamos en un proceso con cultivos en invernaderos o casas sombra, en donde ya sea por medio de la solución nutritiva o por aspersión foliar se aplique el elemento que se busca biotransformar entonces la manera de elevar la producción de NPs tendría como base las mismas técnicas o procesos usados para:

the crown. Standardization provides certainty about the effectiveness of NPs. Many studies report obtaining NPs by biochemical or biological means, but studies on one occasion, with a kind and specific individuals, leaving unanswered the reproducibility of the phenomenon in terms of the characteristics of NPs.

Indeed, if we think of a process with crops in greenhouses and shade houses, where either through the nutrient solution or by foliar spraying the item you are looking biotransformed then apply the way to increase production of NPs would be based on the same techniques or processes used to:

- 1) To improve absorption of elements in agricultural production conditions in poor soils or saline soils including the use of zeolites, organic acids, mycorrhizal and rhizobacteria.
- 2) Allow growth in situations where natural or artificial plants are subjected to certain chemicals above a certain concentration. An example would be to use soils with high natural concentration of an element such as Se, Zn, Mg, Na, or soils contaminated by mining (*mine lands*) or wastewater with Cr, Pb, Hg, Cd, etc.
- 3) Achieve the accumulation of a particular element with a technique to promote biofortification or hyperaccumulation.
- 4) Get a greater capacity reduction and renewal capacity reduction which correlates with the growth and biomass accumulation. Is need to increase photosynthetic rate and storage of carbon compounds in the roots and stems so that the metabolic capacity to generate reducing potential increases.

As it is difficult for the production of NPs using whole plants compete with other systems (microorganisms or plant organs in bioreactors) in terms of ease of implementation, then it would be necessary to think about systems biomanufacturing of NPs dual purpose: an example would be the production hydroponic green fodder, a system designed for the production of biomass optimizing water use. If the ions to biotransformed, such as Cu⁺² or Ag⁺, we introduce in the nutrient solution (Haverkamp and Marshall, 2008) using the concentrations reported in the literature the biotransformation process will occur using the reducing potential obtained from the photosynthetic activity and respiratory the plants. Upon completion of the cultivation

1) Mejorar la absorción de elementos en condiciones de producción agrícola en suelos pobres o suelos salinos incluyendo el uso de zeolitas, ácidos orgánicos, micorrizas y rizobacterias.

2) Permitir el crecimiento en situaciones en donde de forma natural o artificial las plantas son sometidas a ciertos elementos químicos por encima de cierta concentración. Un ejemplo sería utilizar suelos con alta concentración natural de un elemento como el Se, Zn, Mg, Na, o bien suelos contaminados por actividades mineras (*mine lands*) o aguas residuales con Cr, Pb, Hg, Cd, etc.

3) Lograr la acumulación de un elemento particular con alguna técnica para promover la biofortificación o hiperacumulación.

4) Obtener una mayor capacidad de reducción y de renovación de la capacidad de reducción lo cual se correlaciona con el crecimiento y acumulación de biomasa. Es necesario aumentar la tasa fotosintética y el almacenamiento de compuestos de carbono en las raíces y tallos para que se incremente la capacidad metabólica de generar potencial reductor.

Como es difícil que la producción de NPs utilizando plantas completas compita con otros sistemas (microorganismos u órganos vegetales en biorreactores) en cuanto a la facilidad de implementación, entonces sería necesario pensar en sistemas de biofabricación de NPs con doble finalidad: un ejemplo sería la producción de forraje verde hidropónico, un sistema diseñado para la producción de biomasa optimizando el uso del agua. Si los iones para biotransformar, ejemplo Cu^{+2} o Ag^+ , los introducimos en la solución nutritiva (Haverkamp y Marshall, 2008) usando las concentraciones reportadas en la literatura el proceso de biotransformación ocurrirá utilizando el potencial reductor obtenido de la actividad fotosintética y respiratoria de las plantas. Al terminar el cultivo y antes de su cosecha las NPs serán cosechadas por molido y centrifugación y la pasta fresca remanente, que se espera tenga una mayor capacidad reductora por el efecto inductivo del elemento aplicado (Juárez-Maldonado *et al.*, 2013), pudiera utilizarse para la fabricación de composta o incluso para la alimentación del ganado, poniendo el debido cuidado en evitar la transferencia trófica de NPs a los organismos animales y humanos. Es obvio que el desarrollo de un sistema de esta clase requeriría de múltiples pruebas para verificar la seguridad del mismo en cuanto a la liberación de NPs a los ecosistemas y cadenas tróficas.

and before harvesting the NPs they will be harvested by grinding and centrifugation and fresh pasta remnant, which is expected to further reducing capacity by the inductive effect of the applied element (Juárez-Maldonado *et al.*, 2013), could use for making compost or even for livestock feed, putting the due care to avoid the trophic transfer of NPs to animals and human bodies. It is obvious that the development of a system of this kind require multiple tests to verify its safety regarding the release of NPs ecosystems and food chains.

Processes expected to occur in this system bioproduction of NPs coupled to the production of hydroponic green fodder are the same as naturally occur during mineral nutrition of plants or during a bioremediation of land with native plants, that is: ion complexation, absorption, assimilation and transport, use and storage or in cases of excess excretion (Haverkamp and Marshall, 2008; Jain *et al.*, 2014).

Conclusions

Biomanufacturing of nanoparticles (NPs) of metals using biochemical methods with fresh or dried plant extracts, or biological methods with cell cultures, organ cultures, seeds or whole plants is an area of study still developing with great potential for industrial production of NPs.

The mechanism redox in the transformation of metals is based on ionic form your form of NPs is reasonably well understood, but a lot still to research and develop in the control and standardization of reductive capabilities extracts or live cells of vegetables, subject to obtaining necessary industrial scale systems that will generate NPs functionality standards required by the medical, industrial and other applications.

Another area that requires further research is referring to the fate of NPs in living cells. These NPs suffer mobilization between cellular compartments and organs, in addition to remobilization of NPs stores to its ionic form. Greater understanding of these phenomena support in the implementation of techniques that maximize the production of NPs.

End of the English version



Los procesos que se espera ocurran en este sistema de bioproducción de NPs acoplado a la producción de forraje verde hidropónico son los mismos que de manera natural se presentan durante la nutrición mineral de las plantas o durante una biorremediación de tierras con plantas nativas, esto es: complejación del ión, absorción, asimilación y transporte, uso y almacenamiento o excreción en casos de exceso (Haverkamp y Marshall, 2008; Jain *et al.*, 2014).

Conclusiones

La biofabricación de nanopartículas (NPs) de metales usando métodos bioquímicos con extractos vegetales frescos o secos, o métodos biológicos con cultivos celulares, cultivos de órganos, semillas o plantas completas es un área de estudio aún en desarrollo y con gran potencial para la producción industrial de NPs.

El mecanismo redox en que se basa la transformación de los metales en forma iónica a su forma de NPs está razonablemente bien entendido, sin embargo falta mucho aún para investigar y desarrollar en cuanto al control y estandarización de las capacidades reductoras de los extractos o células vivas de los vegetales, tema necesario para la obtención de sistemas a escala industrial que permitan obtener NPs con los estándares de funcionalidad exigidos por la medicina, industria y otras aplicaciones.

Otra área que requiere mayor investigación es la que refiere al destino de las NPs en las células vivas. Estas NPs sufren movilización entre compartimentos celulares y órganos, además de removilización de los almacenes de NPs a su forma iónica. La mayor comprensión de estos fenómenos apoyará en la implementación de técnicas que maximicen la producción de NPs.

Literatura citada

- Ahmad, A.; Mukherjee, P.; Senapati, S.; Mandal, D.; Khan, M. I.; Kumar, R. and Sastry, M. 2003. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 28(4):313-318.
- Ahmed, S. and Ikram, S. 2015. Synthesis of gold nanoparticles using plant extract: An overview. *Nano Res. & Appl.* 1(1-5):1-6.
- Anshup, A.; Venkataraman, J. S.; Subramaniam, C.; Kumar, R. R.; Priya, S.; Kumar, T. R. S.; Omkumar, R. V.; John, A. and Pradeep, T. 2005. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir*. 21(25):11562-11567.
- Asli, S. and Neumann, P. M. 2009. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant Cell Environ.* 32(5):577-584.
- Baker, S.; Rakshith, D.; Kavitha, K. S.; Santosh, P.; Kavitha, H. U.; Rao, Y. and Satish, S. 2013. Plants: emerging as nanofactories towards facile route in synthesis of nanoparticles. *BioImpacts*. 3(3):111-117.
- Bashir, O.; Hussain, S.; Al-Thabaiti, S. A. and Khan, Z. 2015. Synthesis, optical properties, stability, and encapsulation of Cu-nanoparticles. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 140:265-273.
- Borovaya, M. N.; Naumenko, A. P.; Matvieieva, N. A.; Blume, Y. B. and Yemets, A. I. 2014. Biosynthesis of luminescent CdS quantum dots using plant hairy root culture. *Nanoscale Res. Lett.* 9(1):1-7.
- Dauthal, P. and Mukhopadhyay, M. 2015. Biofabrication, characterization, and possible bio-reduction mechanism of platinum nanoparticles mediated by agro-industrial waste and their catalytic activity. *J. Ind. Eng. Chem.* 22:185-191.
- E. C. 2011. Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. *Off. J. European Union*. 54(L275):38-40.
- El-Said, W. A.; Cho, H.-Y.; Yea, C.-H. and Choi, J.-W. 2014. Synthesis of metal nanoparticles inside living human cells based on the intracellular formation process. *Adv. Mater.* 26(6):910-918.
- EPA. 2007. Nanotechnology white paper. Washington, DC, USA. 132 p.
- Gardea, T. J. L.; Gomez, E.; Peralta, V. J. R.; Parsons, J. G.; Troiani, H. and Jose-Yacamán, M. 2003. Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*. 19(4):1357-1361.
- Gericke, M. and Pinches, A. 2006. Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy* 83(1):132-140.
- Grattan, S. and Grieve, C. 1998. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci. Hortic.* 78(1):127-157.
- Guerinot, M. L. 2000. The ZIP family of metal transporters. *Biochim. Biophys. Acta*. 1465(1):190-198.
- Gurunathan, S.; Han, J. W.; Park, J. H.; Eppakayala, V. and Kim, J.-H. 2014. *Ginkgo biloba*: a natural reducing agent for the synthesis of cytocompatible graphene. *Int. J. Nanomedicine*. 9:363-377.
- Harris, A. T. and Bali, R. 2007. On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants. *J. Nanoparticle Res.* 10(4):691-695.
- Haverkamp, R. G. and Marshall, A. T. 2008. The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation. *J. Nanoparticle Res.* 11(6):1453-1463.
- Hochella, M. F.; Lower, S. K.; Maurice, P. A.; Penn, R. L.; Sahai, N.; Sparks, D. L. and Twining, B. S. 2008. Nanominerals, mineral nanoparticles, and Earth systems. *Science*. 319(5870):1631-1635.
- Hong, B. S.; Li, Y. C.; Cheng, J. R.; Hua, L.; Gang, D. G. and Xiang, W. L. 2010. Understanding molecular mechanisms for improving phytoremediation of heavy metal-contaminated soils. *Crit. Rev. Biotechnol.* 30(1):23-30.
- Hortigüela, M. J.; Aranz, I.; Gutiérrez, M. C.; Ferrer, M. L. and del Monte, F. 2011. Chitosan gelation induced by the *in situ* formation of gold nanoparticles and its processing into macroporous scaffolds. *Biomacromolecules*. 12(1):179-186.
- Huang, J.; Lin, L.; Sun, D.; Chen, H.; Yang D. and Li, Q. 2015. Bio-inspired synthesis of metal nanomaterials and applications. *Chem. Soc. Rev.* 44(17):6330-6374.

- Juárez, M. A.; Rosales,-Velázquez, J.; Ortega,-Ortiz, H.; Cabrera, De la F. M.; Ramírez, H. and Benavides, M. A. 2013. Accumulation of silver nanoparticles and its effect on the antioxidant capacity in *Allium cepa* L. *Phyton*. 82:91-97.
- Karlsson, H. L.; Gustafsson, J.; Cronholm, P. and Möller, L. 2009. Size-dependent toxicity of metal oxide particles--a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol. Lett.* 188(2):112-118.
- Keat, C. L.; Aziz, A.; Eid, A. M. and Elmarzughi, N. A. 2015. Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. *Bio. Bioprocessing* 2(1):1-11.
- Kumar, K. M.; Mandal, B. K. and Tammina, S. K. 2013. Green synthesis of nano platinum using naturally occurring polyphenols. *RSC Adv.* 3(12):4033-4039.
- Kuppusamy, P.; Yusoff, M. M. and Govindan, N. 2016. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications - An updated report. *Saudi Pharm J.* 24(4):473-484 doi:10.1016/j.jsps.2014.11.013.
- Kurepa, J.; Paunesku, T.; Vogt, S.; Arora, H.; Rabatic, B. M.; Lu, J.; Wanzer, M. B.; Woloschak, G. E. and Smalle, J. A. 2010. Uptake and distribution of ultrasmall anatase TiO₂ Alizarin red S nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana*. *Nano Lett.* 10(7):2296-2302.
- Larue, C.; Castillo-Michel, H.; Sobanska, S.; Cécillon, L.; Bureau, S.; Barthès, V.; Ouerdane, L.; Carrière, M. and Sarret, G. 2014. Foliar exposure of the crop *Lactuca sativa* to silver nanoparticles: evidence for internalization and changes in Ag speciation. *J. Hazard. Mater.* 264:98-106.
- Li, X.; Xu, H.; Chen, Z.-S. and Guofang, C. 2011. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *J. Nanomater.* 2011:1-16.
- López, M. M. L.; de la Rosa, G.; Hernández, V. J. A.; Castillo, M. H.; Botez, C. E.; Peralta, V. J. R. and Gardea, T. J. L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environ. Sci. Technol.* 44(19):7315-7320.
- Lynch, I. and Dawson, K. A. 2008. Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today*. 3(1):40-47.
- Mahmoudi, M.; Lynch, I.; Ejltehad, M. R.; Monopoli, M. P.; Bombelli, F. B. and Laurent, S. 2011. Protein-nanoparticle interactions: opportunities and challenges. *Chem. Rev.* 111(9):5610-5637.
- Miralles, P.; Church, T. L. and Harris, A. T. 2012. Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants. *Environ. Sci. Technol.* 46(17):9224-9229.
- Mittal, A. K.; Chisti, Y. and Banerjee, U. C. 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnol. Adv.* 31(2):346-356.
- Mittal, J.; Batra, A.; Singh, A.; Sharma, M. M. 2014. Phytofabrication of nanoparticles through plant as nanofactories. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* 5(4):043002.
- Navarro, E.; Baun, A.; Behra, R.; Hartmann, N. B.; Filser, J.; Miao, A.-J.; Quigg, A.; Santschi, P. H. and Sigg, L. 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*. 17(5):372-386.
- Nie, Z.; Petukhova, A. and Kumacheva, E. 2010. Properties and emerging applications of self-assembled structures made from inorganic nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* 5(1):15-25.
- Noguez, C. 2007. Surface plasmons on metal nanoparticles: The influence of shape and physical environment. *J. Phys. Chem. C.* 111(10):3806-3819.
- Ortega, O. H.; Benavides, M. A.; Mendoza, V. R.; Ramírez, R. H. and de Alba, R. K. 2007. Enzymatic activity in tomato fruits as a response to chemical elicitors. *J. Mex. Chem. Soc.* 51(3):141-144.
- Pardha, S. P.; Yamal, G.; Peddisetty, T.; Sharmila, P.; Singh, J.; Nagarajan, R. and Rao, K. S. 2014a. Plants fabricate Fe-nanocomplexes at root surface to counter and phytostabilize excess ionic Fe. *Biomaterials*. 27(1):97-114.
- Pardha-Saradhi, P.; Yamal, G.; Peddisetty, T.; Sharmila, P. Singh, J.; Nagarajan, R. and Rao, K. S. 2014b. Root system of live plants is a powerful resource for the green synthesis of Au-nanoparticles. *RSC Adv.* 4:7361-7367.
- Patel, V.; Berthold, D.; Puranik, P. and Gantar, M. 2015. Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnol. Reports*. 5:112-119.
- Petit, T.; Yuzawa, H.; Nagasaka, M.; Yamanoi, R.; Osawa, E.; Kosugi, N. and Aziz, E. F. 2015. Probing interfacial water on nanodiamonds in colloidal dispersion. *J. Phys. Chem. Lett.* 6(15):2909-2912.
- Poschenrieder, C.; Cabot, C.; Martos, S.; Gallego, B. and Barceló, J. 2013. Do toxic ions induce hormesis in plants? *Plant Sci.* 212:15-25.
- Rajasekharreddy, P. and Rani, P. U. 2014. Biofabrication of Ag nanoparticles using *Sterculia foetida* L. seed extract and their toxic potential against mosquito vectors and HeLa cancer cells. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 39:203-212.
- Rico, C. M.; Majumdar, S.; Duarte-Gardea, M.; Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. 2011. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *J. Agric. Food Chem.* 59(8):3485-3498.
- Rivera-Gil, P.; Jimenez de Aberasturi, D.; Wulf, V.; Pelaz, B.; del Pino, P.; Zhao, Y.; de la Fuente, J. M.; Ruiz de Larramendi, I.; Rojo, T.; Liang, X.-J. and Parak, W. J. 2013. The challenge to relate the physicochemical properties of colloidal nanoparticles to their cytotoxicity. *Acc. Chem. Res.* 46(3):743-749.
- Sarkar, J.; Ghosh, M.; Mukherjee, A.; Chattopadhyay, D. and Acharya, K. 2014. Biosynthesis and safety evaluation of ZnO nanoparticles. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 37(2):165-171.
- Serag, M. F.; Braeckmans, K.; Habuchi, S.; Kaji, N.; Bianco, A.; Baba, Y. 2012. Spatiotemporal visualization of subcellular dynamics of carbon nanotubes. *Nano Lett.* 12(12):6145-6151.
- Shahid, M.; Pourrut, B.; Dumat, C.; Nadeem, M.; Aslam, M. and Pinelli, E. 2014. Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 232:1-44.
- Shukla, D.; Krishnamurthy, S. and Sahi, S. V. 2014. Genome wide transcriptome analysis reveals ABA mediated response in *Arabidopsis* during gold (AuCl(-) 4) treatment. *Front Plant Sci.* 5:652. doi: 10.3389/fpls.2014.00652
- Suresh, A. K.; Pelletier, D. A.; Wang, W.; Broich, M. L.; Moon, J.-W.; Gu, B.; Allison, D. P.; Joy, D. C.; Phelps, T. J. and Doktycz, M. J. 2011. Biofabrication of discrete spherical gold nanoparticles using the metal-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*. *Acta Biomater.* 7(5):2148-2152.
- Valko, M.; Jomova, K.; Rhodes, C. J.; Kuča, K. and Musilek, K. 2016. Redox-and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch. Toxicol.* 90(1):1-37. DOI 10.1007/s00204-015-1579-5.
- Venu, R.; Ramulu, T. S.; Anandakumar, S.; Rani, V. S. and Kim, C. G. 2011. Bio-directed synthesis of platinum nanoparticles using aqueous honey solutions and their catalytic applications. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 384(1):733-738.

- Wang, S.; Kurepa, J. and Smalle, J. A. 2011. Ultra-small TiO₂ nanoparticles disrupt microtubular networks in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 34(5):811-820.
- Wang, W-N.; Tarafdar, J. C. and Biswas, P. 2013. Nanoparticle synthesis and delivery by an aerosol route for watermelon plant foliar uptake. *J. Nanoparticle Res.* 15(1):1417.
- Wright, E. M. and Diamond, J. M. 1977. Anion selectivity in biological systems. *Physiol. Rev.* 57(1):109-156.
- Zhang, X.; Yan, S.; Tyagi, R. D. and Surampalli, R. Y. 2011. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere.* 82(4):489-494.