

Nanopartículas de plata de *Punica granatum* cultivada en San Lucas, Atotonilco el Grande, Hidalgo

Aguirre Labastida Ali Anaid, Molina González María Graciela*, Cruz Monsalvo Reyes Alejandro, Martínez García Martha, Aguilar Ayala Ismael

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Profesionales Iztacala, Colección de Cultivos Bacterianos, Av. De los Barrios #1, Los reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. México, C. P. 54090, México.

*Autor para correspondencia: marias@unam.mx

Recibido:

19/marzo/2020

Aceptado:

30/octubre/2020

Palabras clave:

Punica granatum,
nanopartículas,
bacteria

Keywords:

Punica granatum,
nanoparticles,
bacteria

RESUMEN

Las nanopartículas de plata se han utilizado recientemente en diferentes campos de investigación tales como medicina, ingeniería y microbiología. En este trabajo se obtuvieron nanopartículas de plata (AgNPs) vía síntesis verde, utilizando como agente reductor el jugo de la granada roja (*Punica granatum*) y como agente precursor nitrato de plata (AgNO_3) 10mM. Evaluamos la capacidad inhibitoria de las nanopartículas (GpAgNO₃Ps) sintetizadas, en dos bacterias fitopatógenas. El arreglo experimental fue de 5 tratamientos con 5 repeticiones. La presencia de nanopartículas se determinó mediante el cambio de color y su caracterización con espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis). La formación de nanopartículas de los arilos de *P. granatum* (GpAgNO₃) se evidenció por el cambio de color y punto máximo de absorbancia a los 300 nm. Los resultados arrojaron que las GpAgNPs inhibieron el crecimiento de *Xhantomonas campestri* y de una cepa bacteriana aislada de *Punica granatum*.

ABSTRACT

Silver nanoparticles have been used recently in different fields of investigation, such as medicine, engineering, microbiology, etc. In this work, the silver nanoparticles (AgNPs) were obtained via green synthesis, using red pomegranate juice (*Punica granatum*) as a reductive agent and silver nitrate (AgNO_3) 10mM as a precursor agent. We evaluated the inhibitory capacity of the synthesized nanoparticles (GpAgNO₃Ps), applying the nanoparticles to two phytopathogenic bacteria. The experimental arrangement was of 5 treatments with 5 repetitions. The presence of nanoparticles was determined through change of color and its characterization with visible ultraviolet spectroscopy (UV-vis). The formation of nanoparticles of the arils of *P. granatum* (GpAgNO₃) was evidenced by the change of color and maximum absorbency point at 300 nm. The results showed that GpAgNPs inhibited the growth of *Xhantomonas campestri* and one isolated bacterial strain of *Punica granatum*.

Introducción

La nanotecnología es uno de los campos que ha tenido un mayor desarrollo dentro de las últimas décadas, se realiza la fabricación de estructuras atómicas y materiales a escalas nanométricas (1nm a 100 nm), presentando propiedades químicas, biológicas y físicas distintas a sus escalas macro. Las nanopartículas (NPs) tienen su aplicación en diversas áreas como la biología, farmacología, electrónica, medicina, alimentaria, cosmética, ingeniería y agricultura (Muhammad et al., 2018). Los métodos en los que las nanopartículas (NPs) se sintetizan mediante una sal metálica y un agente reductor químico, a sido comprobada y altamente explorada. Debido a sus propiedades únicas tanto ópticas como térmicas, así como por su relación de área superficial con respecto al volumen, proporcionan un mejor contacto con los organismos, haciéndolos favorables para una gran diversidad de aplicaciones (Prateek et al., 2018).

Una manera de determinar que se ha formado la nanopartícula metálica es la resonancia del plasmón (SPR, por sus siglas en inglés), es un fenómeno óptico que se observa cuando la radiación electromagnética excita la superficie de electrones conductores de nanopartículas de metales nobles, lo que da como resultado una oscilación de resonancia coherente alrededor de una partícula (Willems y Van Duijn, 2007), éste fenómeno físico puede ser observado por someter las NPs a un barrido espectral UV-vis. La absorbancia del SPR, oscila entre los 300 a 700 nm, lo que dependerá del tipo de metal y agente reductor, por ejemplo, a medida que las nanopartículas de oro (AuNPs) aumentan su tamaño, la longitud de onda del SPR, relacionada con la luz absorbida, se desplaza hacia la zona visible del espectro electromagnético de longitudes mayores, que corresponde al color rojo; se absorbe la luz roja y se refleja la luz azul y la solución coloidal presentará una coloración azul o púrpura, también el color depende del tamaño de las NPs.

Actualmente una de las técnicas más innovadoras y utilizadas debido a la reducción de contaminantes tóxicos al ambiente, su simplicidad y rapidez es aquella mediada por extracto de plantas, las cuales presentan antioxidantes naturales, generalmente biomoléculas y metabolitos que actúan como agentes reductores y protectores para la síntesis de NPs metálicas (Chohan y Guleria, 2020; Chen et al., 2018; Babak et al., 2015). Una buena parte de estos estudios se han realizado con extractos de partes de la planta, como hojas, tallo y flores y su uso como microbicida. La exploración sobre la síntesis de NPs con semillas y frutos, no son tan abundantes, en particular las frutas que comemos directamente de la planta como fruta fresca.

Dentro de las investigaciones que han demostrado el éxito de formación de NPs con extractos de frutas están los reportados por Kumar, Smita, Cumbal y Debut, 2015; Yugandhar y Savithramma, 2016; Vijayakumar, 2019).

La Granada roja (*Punica granatum L.*) es un fruto originario de Irán y fue extendida a diversos países de Asia y la zona mediterránea. Este fruto fue introducido a América por misioneros españoles y cultivados principalmente en Estados Unidos y México. En México se adaptó principalmente en el estado de Puebla. Sin embargo, por cuestiones de urbanización en las últimas décadas el cultivo ha ido desapareciendo (López et al., 2010). La Granada roja ha cobrado gran relevancia, debido a la difusión de información referente a su alto contenido en vitaminas, minerales y antioxidantes, los que le confieren propiedades antiinflamatorias, antitumorales, anticancerígenas, antimicrobianas y hepatoprotectiva (Lansky y Newman 2007; López et al., 2010; Nelam 2012; Bhowmik et al., 2013).

Uno de los problemas que presenta el cultivo de granada roja en México es la pudrición del fruto causado por hongos como *Penicillium* spp. (Podredumbre azul), *Botrytis cinerea* (podredumbre gris), *Aspergillus niger*, *Pilidiella granati*, *Alternaria* spp y bacterias como *Xantomonas axonopodis* que provocan pérdidas para los productores (Castañeda et al., 2010). En la localidad de San Lucas, Atotonilco el Grande, Hidalgo, los pobladores viven de de la gricultura: aguacate, nuez y granada. En la localidad, la cosecha de la granada tiene la particularidad de adelantarse dos meses a los otros municipios del edo del Hidalgo, pertenecientes a la Reserva de la Biósfera de la Barranca del Valle de Mezquital son: Acatlan, Eloxochitlán, Huasca de Ocampo, Metepec, Mezquital, San Agustín Metzquitlán, Zacualtipán.

La localidad de san Lucas cuenta con 18 habitantes que se dedican a la comercialización de granada roja (SIAP, 2018); En el 2018, los productores señalaron que han perdido gran parte de la producción a causa de la pudrición del fruto.

Durante el proceso fenológico aislamos bacterias, que pudieran ser la causa de la pudrición. Así que aprovechando las propiedades microbicidas del jugo de los extractos de la granada, que compilan Howell y D'Souza, (2013), sumado a los compuestos fitoquímicos como fenoles, flavonoides y antioxidantes, el equipo de trabajo decidió analizar la posibilidad de sintetizar nanopartículas de plata con el jugo de los arilos de la grana (*Punica granatum*) y su efecto inhibitorio en una bacteria propia del árbol (cepa 3.1, código interno) y *Xantomonas campestris*, causante de la pudrición del fruto.

Metodología

Obtención del material vegetal

El material vegetal se colectó en julio del 2019 en la localidad de San Lucas, ubicada en Atotonilco el Grande, Hidalgo.

Síntesis de nanopartículas Ag

Los frutos fueron lavados debidamente con agua destilada y jabón libre de fosfatos, posteriormente se cortaron a la mitad y se extrajeron los arilos para ser triturados durante 5 minutos en un mortero y obtener el jugo. El jugo fue filtrado 3 veces con papel filtro, y este fue utilizado como agente reductor.

Para la síntesis de las nanopartículas (NPs), se utilizó el jugo concentrado y dos diluciones 1:1 y 1:10 (NPs 1:1 y NPs 1:10). La síntesis química se realizó con ácido ascórbico 1% (NPsAA). Se realizó el siguiente protocolo para la síntesis de nanopartículas: 10 ml agua MiliQ de 50 a 60 °C, se agregó gota a gota 2 mL de AgNO_3 1mM y 2 mL del agente reductor, bajo agitación constante hasta que se observó un cambio de color.

Espectroscopia ultravioleta visible (Uv-vis)

El pico de absorción UV- vis se determinó mediante espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis). Quinientos microlitros de las nanopartículas se suspendieron en 2 mL de agua MiliQ y se colocó en una celda de cuarzo. Se realizó un barrido en un rango de 300-700nm.

Ensayo de inhibición

Las bacterias utilizadas fueron *Xanthomonas campestris* y la cepa 3.1 fue aislada del árbol de granada en el periodo de amarre del fruto y del fruto. Ambas bacterias forman parte de la Colección de Cultivos Bacterianos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

El ensayo de inhibición bacteriana se llevó a cabo por la técnica de difusión en disco, como se describe a continuación: una colonia bacteriana con crecimiento de 24H, sirvió para ajustar la densidad poblacional a 1.5×10^8 UFC en la escala de MacFarland.

Con un hisopo de algodón impregnado de la suspensión de cada bacteria, se inocularon cajas Petri conteniendo agar Mueller Hinton. Un hisopo para cada caja Petri, cinco para cada bacteria.

Después de 5 min que el inóculo se expandió por todo el agar, se dispusieron discos de papel filtro impregnados con 10 μL de Nps 1:1, NPs 1:10, NPs del jugo y de los controles NPsAA, AgNO_3 10 mM. Se incubaron por 24 h a 30°C y se realizó la medición de los halos de inhibición con un vernier.

Análisis estadístico

Con los promedios de los cm de halos de inhibición se realizó una prueba de ANOVA de un factor completamente al azar, para cada bacteria y una prueba de diferencia de medias LSD. Se graficó el error estándar en las medias de las cinco repeticiones.

Resultados y discusión

Una solución translúcida fue observada en el momento en que el jugo obtenido de los arilos de *Punica granatum* reaccionó con AgNO_3 , un producto amarillo-café se pudo visualizar a los pocos segundos de iniciada la reacción (Figura 1b,c), lo que indica la formación de nanopartículas de plata. El color café oscuro derivado de la biosíntesis de nanopartículas de plata con el jugo diluido 1:1 (Nps 1:1), indica una mayor cantidad de nanopartículas sintetizadas, de acuerdo con Ritthichai (2019). Las nanopartículas de plata presentan fuerte espectro de absorción en las proximidades de longitudes de onda entre 300 y 400 nm, lo que claramente se ve en la Fig. 1d, las bandas de resonancia del plasmón (SPR por sus siglas en inglés) están en los 300nm.

Castro en 2018 elaboró nanopartículas de plata vía síntesis verde a partir de compuestos orgánicos presentes en la cáscara de *Punica granatum*. Durante la síntesis de nanopartículas observó un cambio de color, de amarillo claro a un marrón oscuro; así mismo Jacometo (2017) notó un cambio de color de rojo claro a marrón oscuro. Estos resultados lo atribuyen a los compuestos presentes en la cáscara: polifenoles, flavonoides, taninos, alcaloides y a su actividad antioxidante que está ligada directamente con la capacidad reductora de la granada. Los arilos de la granada contienen los mismos compuestos fitoquímicos pero en concentraciones diferentes, hecho que pudimos constatar en frutos colectados en el valle de Mezquital, Hidalgo (datos no publicados), la relación compuestos fitoquímicos y síntesis NPs con arilos de *P. granatum* cultivada en el Naranjo, Hidalgo, se establecería con certeza, toda vez se realice el perfil fitoquímico de la misma.

Los resultados de espectro de absorción de SPR concuerdan con lo reportado por Abuelmagd y Rehab (2014) y Yee-Shing, Yung-Chung y Hui-Huang (2018), en que la concentración del agente reductor, granada y cáscara de arroz, y de la sal metálica influyen en el tamaño de las NPs. Por tanto, en el espectro de absorción. Nosotros pudimos advertir que la variedad del fruto influye en la síntesis de NPs. Las NPs sintetizadas con arilos de *P. granatum* cv apaseo tardía, cultivada en Ixmiquilpan, Hidalgo, el pico de absorción fue a 450nm (datos no publicados), en comparación con 300 nm de las NPs derivadas del jugo de los arilos de *P. granatum*

cosechada dos meses antes en el Naranja. La quimiodiversidad de las plantas o diversidad fitoquímica, es un proceso evolutivo, y su diversidad tiene su origen en las mutaciones que ocurren en las rutas biosintéticas y su mantenimiento es resultado de su función en las interacciones entre la planta y los factores bióticos y abióticos que encuentra en su ambiente (García-Rodríguez et al., 2012).

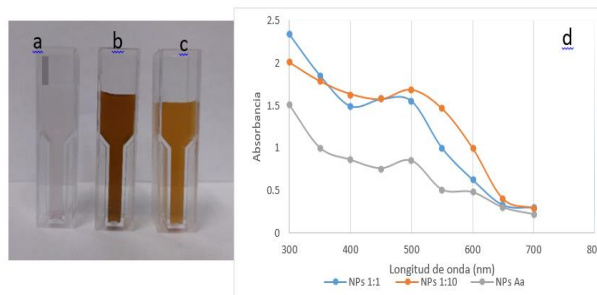


Figura 1. Biosíntesis de AgNP: **a.** Nanopartículas con ácido ascórbico (NPsAA) **b.** Nanopartículas con jugo de granada, dilución 1:1 (NPs 1:1) **c.** Nanopartículas con jugo de granada, dilución 1:10 (NPs 1:10) **d.** Barrido espectrotométrico uv-vis de las nanopartículas.

Ritthichai (2019) reportaron la síntesis de nanopartículas de plata mediante un método al que denominó “verde”, debido a que utilizó ácido tánico (1mM), presente en diversos frutos y hortalizas. La forma de las NPs fueron esféricas, con mayor pico de absorbancia en valores por debajo de 300 nm. El contenido de taninos totales en los arilos de *Punica granatum*, varía de acuerdo a la variedad y lugar de cultivo, siendo de 4.94 mM para el fruto dulce cultivado en huerto experimental ubicado en Celaya Guanajuato (Díaz, 2014), cinco veces más alto que 1mM de ácido tánico. Otro agente reductor de AgNO_3 , presente en arilos de granada es el ácido ascórbico, cuya concentración es de 44mg/100mL para frutos crecidos en Ixmiquilpan, Hidalgo (Solis-Guzman, Aguilar-Ayala, Molina-González, 2019), lugar próximo a San Lucas en donde se colectaron las granadas para este trabajo. A Ambas moléculas se les atribuye el efecto poder reductor para formar nanopartículas de plata.

Una extensa información existe acerca del uso de extractos de plantas para la formación de síntesis verde de NPs (Naranja-Herrera, Corea-Torres y Herrera-Barros, 2017; Folorunso et al., 2019; Serrano-Niño et al., 2020; Garibo et al., 2020) los reportes sobre el uso de frutos son menos favorecidos. Nosotros contribuimos en explorar los recursos naturales de México, en particular los frutos de *P. granatum* cultivados en San Lucas, Hidalgo, en donde la cosecha se adelanta dos meses antes que el resto de los estados en donde se cultiva granada. Esto puede favorecer la comercialización de granada con los

agricultores de la zona, toda vez la sistematización de producción de NPs con el fruto. Además de subsanar el problema de pudrición del fruto, que en los últimos dos años se ha presentado. La causa de pudrición en los arilos durante la madurez fisiológica todavía no quedado claro, los agricultores lo atribuyen a la abundante lluvia. Nuestro equipo de trabajo tiene otras hipótesis, una de ellas es que las bacterias causan la pudrición.

Las NPs con el jugo diluido de los arilos, inhibieron el crecimiento de bacterias fitopatógenas: *Xantomonas campestris* y una bacteria 3.1(código interno del laboratorio) aislada del árbol de granada en el periodo de amarre del fruto. La bacteria 3.1 fue aislada de manera continua durante todas las fases fenológicas hasta la madurez fisiológica del fruto de *P. granatum*, motivo por el cual se decidió evaluar el efecto inhibitorio de las NPs producidas por el jugo del fruto en la bacteria. Cabe mencionar que las características coloniales y microscópicas de la cepa 3.1 son similares a *X. campestris* (Figura 2). La figura muestra claramente los halos de inhibición de las NPs sintetizadas con el jugo diluido 1:1 y 1:10, las NPs de síntesis química con ácido ascórbico (NPsAA) y la solución AgNO_3 1mM. Las NPs elaboradas con jugo concentrado (NPs extracto), sólo inhibieron a la cepa 3.1. Esta bacteria también fue inhibida por el jugo solo (Figura 2a), el dato no fue tomado en cuenta para el análisis estadístico. Para el ensayo de inhiación con *X. campestris* (Figura 2b), no se utilizó el jugo.

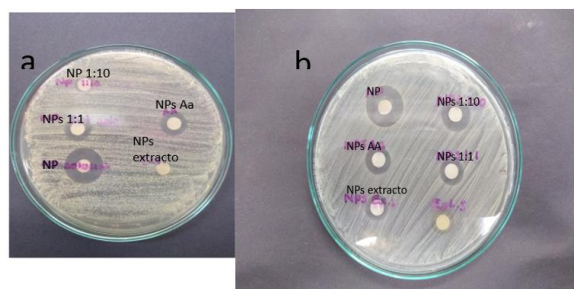


Figura 2. **a.** Inhibición de *Xantomonas campestris* **b.** Inhibición de la bacteria cepa 3.1 por NPs derivadas del jugo por NPs derivadas del jugo (extracto) de arilos de *Punica granatum*, cosechada en Atotonilco el Grande.

La figura 3, concentra los resultados de inhibición bacteriana de la cepa 3.1, no hubo diferencias significativas en el efecto inhibitorio entre las NPs verde y las químicas con ácido ascórbico (NPAA), lo que resulta conveniente para una síntesis de NPs eco-amigables. El nitrato de plata (NP) 1mM, provocó un mayor halo de inhibición que las NPs 1:1, 1:10 y AA, las NPs extracto (en la figura rotulada como jugo) también inhibieron a la bacteria, que por el tamaño del halo no se considera que la bacteria 3.1 sea sensible. Se presentó un patrón similar de inhibición de las NPs por síntesis verde en *X. campestris* (Figura 4), sólo que con diferencias significativas en

relación con NPSAA y NP. Resalta el hecho de que la bacteria 3.1 indígena del fruto fue mayormente sensible a los NPs que *X. campestris*, lo que sugiere la autodefensa del árbol de la granada, aunado a que el jugo *per se* causó un halo de inhibición (Figura 2b).

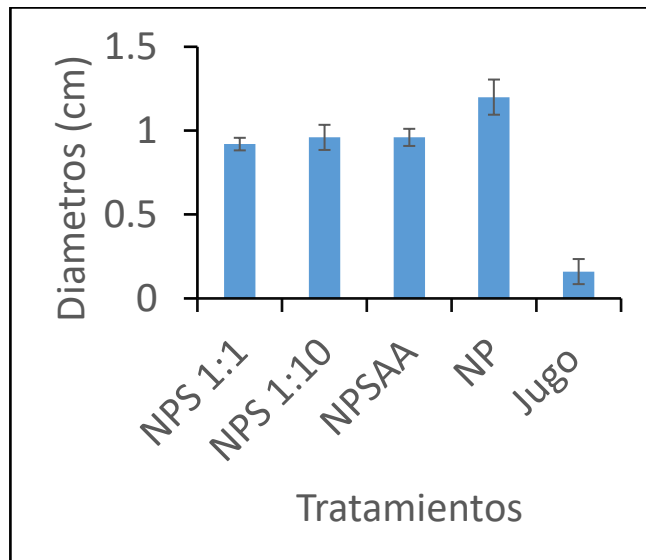


Figura 3. Efecto inhibitorio de la cepa 3.1 de NPs con jugo de arilos de *Punica granatum*, cultivada en el Naranjo, Atotonilco, Hidalgo. NPS 1:1 y NPS 1:10, biosíntesis de nanopartículas con diluciones diferentes del jugo, NPSAA síntesis con ácido ascórbico, NP solución de nitrato de plata 1mM y NPs con jugo concentrado. Barras con error estándar, medias (n=5). Diferencia significativa con $p < 0.05$.

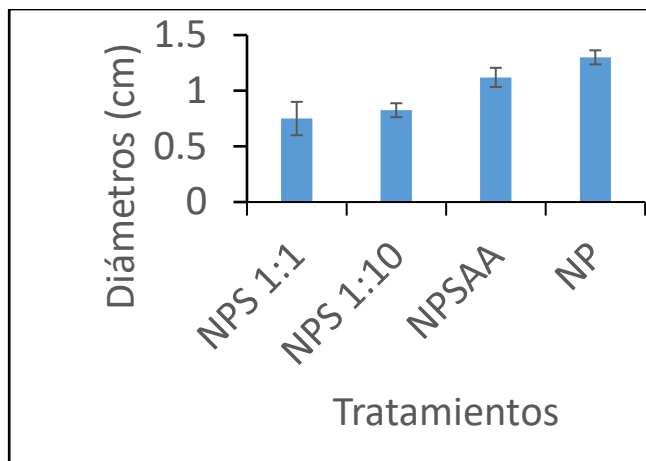


Figura 4. Efecto inhibitorio de *Xantomonas campestris* con NPs de jugo de arilos de *Punica granatum*, cultivada en el Naranjo, Atotonilco, Hidalgo. NPS 1:1 y NPS 1:10, biosíntesis de nanopartículas con diluciones diferentes del jugo, NPSAA síntesis con ácido ascórbico, NP solución de nitrato de plata 1mM y jugo concentrado. Barras con error estándar. De las medias (n=5). Diferencia significativa con $p < 0.05$.

Conclusiones

El jugo de los arilos de *Punica granatum*, cultivada en el Naranjo, Atotonilco el Grande, Hidalgo, redujeron las sales metálicas de plata para formar nanopartículas, con máximo pico de absorbancia a los 300nm.

Las nanopartículas elaboradas con jugo de grana inhibieron a la *Xantomonas campestris* y cepa 3.1 bacteria aislada del árbol de la granada en la etapa fenológica de amarre del fruto.

Agradecimientos

Al Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME), PE210419 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), UNAM, por el financiamiento para desarrollar el proyecto.

Agradecemos a los agricultores de la huerta ubicada en el Naranjo, Atotonilco el Grande, Hidalgo, que nos permitieron acceder a los árboles de la grana.

Nuestro agradecimiento al Dr. Manuel Mandujano Piña por su ayuda en la elaboración de gráficas con error estándar.

Referencias

- Abuelmagd M., A. Rehab M.A. (2014). Rapid green synthesis of metal nanoparticles using Pomegranate polyphenols. *IJSBAR*, 15(1),57-65.
- Babak S., Mohammadzadeh M., Babakhani B. (2015). Green synthesis of gold nanoparticles using Stevia rebaudiana leaf extracts: Characterization and their stability. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 148(1), 101-106.
- Castro K., Zalamea L. (2018). Elaboración de nanopartículas de plata vía síntesis y compuestos orgánicos de *Punica granatum* y catálisis bacteriana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*. Tesis de licenciatura. Universidad de Guayaquil. Recuperada 05 de octubre. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33323>.
- Chen Y., Tang X., Xiaomei L., Xinwei R., Meinan Z., Lan W. (2018). Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Leaf Extract for Reductive Catalysis. *Materials*,12(1), 189.
- Chohan S., Guleria S. (2020). Green synthesis of AgNPs using Cannabis sativa leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity. *Materials Science for Energy Technologies*, 3,536-544.



- Folorunso A., Sunday A., Kolawole O.A., Ajayi S., Babawale A.I.A., Morakinyo A. (2019) Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticle from leaf extracts of *Annona muricata*. *J. of Nanostructure in Chemistry*, 9,111-117.
- Gabriela Díaz Mena (2014). Calidad nutracéutica de extractos de granada dulce y ácida y bioaccesibilidad de sus compuestos fenólicos en un modelo in vivo. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro, México 32 pp. Recuperado el 03 de octubre 2020 <http://ring.uaq.mx/bitstream/123456789/580/1/RI001488.pdf>
- Gade A., Gaikwad S., Tiwari V., Yadav A., Ingle A., Rai M. (2010). Biofabrication of Silver Nanoparticles by *Opuntia ficus-indica*: In vitro Antibacterial Activity and Study of the Mechanism Involved in the Synthesis. *Nanociencia actual*, 6(4).
- Garibo D., Borbón-Nuñez H.A., de León J.N.D. et al. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. *Sci Rep*, 10, 12805., <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69606-7>.
- Jacometo W. (2017). Síntesis de nanopartículas de prata a partir da romã (*Punica granatum*): Análises físico-química, antibacteriana y citotóxica. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho. Tesis de Licenciatura.
- Khattak A.S.A., Rong Y., Wenge W., Mahidul I.M., Jinyan L., Yanli, W. et al. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles from pomelo (*Citrus maxima*) and their antibacterial activity against *Acidovorax oryzae* RS-2. *Matter. Res. Express*, 7.
- Kumar B., Smita K., Cumbal L., Debut A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using Andean black berry fruit extract. *Saudi J. of Biol. Sci.*, 24(1),45-50.
- Mahidul I.M., Mahfuja S., Khattak Sa. A., Yang Z., Adallah Y., Ezzeldin I., Wen Q., Chenqi Y., Bin Li. (2019). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Phyllanthus emblica* fruit extract and its inhibitory action against the pathogen *Acidovorax oryzae* strain RS-2 of rice bacterial brown stripe. *Antimicrobial, Resistance and Chemotherapy*, 10, 1-18.
- Muhammad O., Talha K., Muhammad A., Irshad A., Susheel K., Sudip N. (2018). Biosynthesis of Metal Nanoparticles via Microbial Enzymes: A Mechanistic Approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 4100.
- Naranjo-Herrera Ana María, Correa-Torres Sandra Natalia., Herrera-Barros Adriana Patricia (2017). Evaluación de la propiedad antimicrobial de las nanopartículas de oro sintetizadas con extractos de *tamarindus indica* L y *mangifera indica* L. *Ingeniería. Investigación y Tecnología*, XVIII (4), 389-398.
- García-Rodríguez Y., Bravo-Monzón A., Martínez-Díaz G., Torres-Gurrola G., Espinosa-García J. (2012). Variación fitoquímica defensiva en ecosistemas terrestres, 217-252. En: J.C. Rojas y E.A. Malo (eds). *Temas selectos de química de insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. México.
- Prateek M., Swati J., Ramteke S., Jain N. (2018). Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(51), 115-126.
- Serrano-Niño J.C., Contreras-Martínez C.A., Solís P.J.R., Zamudio O.A., Aguilar U.B.R. (2020). Optimization of the biosynthesis of gold nanoparticles using *Hypericum perforatum* and evaluation of their antimicrobial activity. *Rev. Me. De Ing. Quim*, 19(2), 889-902.
- Solis-Guzman C.E., Aguilar-Ayala I., Molina G. M-G. (2019). Efecto del ácido indol-3butírico sobre la calidad poscosecha de granada roja (*Punica granatum L.*) "Apaseo Tardía. *BIOCYT*, 12(46), 855-868.
- Thanawan Ritthichai, Vimolvan Pimpan (2019). Ammonia sensing of silver nanoparticles synthesized using tannic acid combined with UV radiation: Effect of UV exposure time. *Journal of King Saud University - Science*, 31,277-2.
- Vijayakumar S. (2019). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using fruit extracts and in vitro anticancer studies. *J. Saudi Chemical Society*, 23(699),753-761.
- Willems K. A., Van Duyne R. P. (2007). Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu. Rev. Phys. Chem.*,58, 267-297.
- Yee-Shing I. Yung-Chung Ch., Hui-Huang CH. (2018). Silver nanoparticle biosynthesis by using phenolic acids in rice husk extract as reducing agents and dispersants. *J. Food and Drug Analysis*, 26, 649-656.
- Yugandhar P., Savithamma N. (2016). Biosynthesis, characterization and antimicrobial studies of green synthesis silver nanoparticles from fruit extract of *Syzygium altgarnifolium* (Wt.) Walp. An endemic, endangered medicinal tree taxon. *Appl Nanosci*, 6, 223-233.