

La nanociencia y la nanotecnología

Herramientas para medir lo diminuto

Zavaleta-Mancera, H.A.¹; Vilchis-Nestor, A.R.³; López-Carrillo, L.M.¹; Arenas-Alatorre, J.⁴; Hanako-Rosas, G.¹; Crosby-Galván, M.M.²

¹Unidad de Microscopía Electrónica y ²Laboratorio de Nutrición Animal, LPI-16 "Innovación Tecnológica" Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km. 36.5 Carr. Mex-Tex. 56230. Estado de México México. ³Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM. Km 14.5 Carr. Toluca-Atlaconulco, 50200. Toluca, México. ⁴Instituto de Física, Circuito Universitario, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Insurgentes Sur 3000, 04510. Ciudad de México, DF, México.

Autor responsable: arazavaleta@colpos.mx

RESUMEN

Se describen los conceptos de Nanociencias, Nanotecnología, nanómetro y nanopartículas (NPs), abundando en la escala micro y manométrica, comparativamente con otras unidades de magnitud. Se definen familias de nanoestructuras (fullerenos, nanopartículas, nanocápsulas, dendrímeros) y sus variantes, así como sus posibles aplicaciones. Además, se describen e ilustran algunas herramientas para la medición y caracterización de Nps. Microscopías Electrónicas, de Transmisión (TEM), de Barrido (SEM) de transmisión y alta resolución (HRTEM), de barrido y alta resolución o emisión de campo (HRSEM), microscopía de fuerza de barrido (SPM) por tunelaje (STM), o bien, de fuerza atómica (AFM), y otras técnicas, como la Espectroscopia de Absorción de Rayos X (XAS) y "Dinamic Light Scattering (DLS), que usa el Nanoseizer.

Palabras clave: Nanociencias, nanotecnología, nanopartículas, microscopía electrónica.

INTRODUCCION



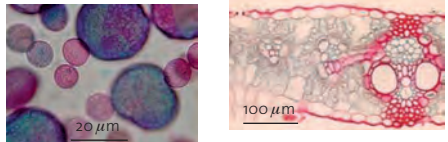
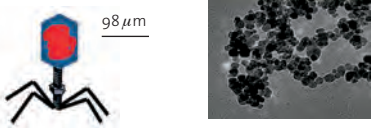
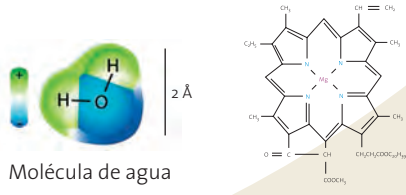
Los términos nanociencia y nanotecnología se escuchan cada vez con mayor frecuencia en el lenguaje científico y cotidiano. El prefijo nano viene del griego “**enano**”, que significa pequeño. Así, el nanómetro (nm) es la unidad de longitud que equivale a una mil millonésima 0.00000001 parte del metro (1×10^{-9}), y se usa para medir objetos mucho más pequeños que el micrómetro (μm), el cual equivale a 1×10^{-6} de metro (Hernando-Grande, 2007). Para dimensionar lo anterior, se tiene que una bacteria de $1 \mu\text{m}$ mide 1000 nm; un grano de polen de nopal

(*Opuntia spp.*), $80 \mu\text{m}$ (80,000 nm) de diámetro; y un cabello humano, 75,000 nm de diámetro (Cuadro 1).

¿Qué es la nanociencia y la nanotecnología?

La Nanociencia es un área emergente de la ciencia que se ocupa del estudio de las propiedades y los procesos que ocurren en estructuras en dimensiones manométricas. En 1985, Harry Kroto, Bob Curl, y Rick Smalley descubrieron esferas de carbón puro distintas al diamante y al grafito a las que llamaron “Buckyballs” en honor a Buckminster Fuller, descubrimiento que les valió el premio Nobel de Química en 1996 (Pradeep, 2008; Philip, 2011). Estas estructuras de

Cuadro 1. Comparación de las unidades de longitud y los objetos en el ambiente agronómico que pueden medirse con estas magnitudes.

Unidad	Fracción del metro	Equivalencia SI	Objeto
Centímetro cm	1/100 centésima	1×10^{-2} 0.01	 <p>Mazorca de maíz (<i>Zea mays</i>) Flores de gerbera</p>
Milímetro mm	1/1000 milésima	1×10^{-3} 0.001	 <p>Hormiga Semillas de lenteja</p>
Micrómetro μm	1/1000,000 millonésima	1×10^{-6} 0.000 001	 <p>Polen de Iris y Bromus Células de la hoja de <i>Zea mays</i></p>
Nanómetro nm	1/000,000,000 Mil millonésima	1×10^{-9} 0.000 000 001	 <p>Virus Nanopartículas metálicas (50 nm)</p>
Angström Å	1/000,000,000,0 Diez milmillonésima	1×10^{-10} 0.000 000 0001	 <p>Molécula de agua Molécula de clorofila</p>

60 carbonos (C₆₀) se encuentran en forma natural en el hollín (Figura 1 A). En 1991, Sumio Iijima descubrió nanotubos de carbón de 1 nm de diámetro a los que les llamó fullerenos. Los nanotubos de carbón son las fibras más fuertes que se conocen; un solo nanotubo perfecto es de 10 a 100 veces más fuerte que el acero y poseen propiedades físicas y químicas antioxidantes muy interesantes (Gharbi *et al.*, 2005). El grafeno es una lámina formada por átomos de carbono con un arreglo de “panal de abejas”, mientras que un nanotubo de carbono es una lámina de grafeno enrollada en forma de cilindro (Cepa *et al.*, 2013). La posible aplicación de un material ligero y muy resistente es de gran interés en la industria aeronáutica, espacial, automotriz, electrónica, textil, y medicinal (Poole y Owens, 2007).

La característica que hace únicas a las nanopartículas es que tienen una razón superficie/volumen muy grande. Eso significa que un gran número de los átomos de las nanopartículas se encuentran en la superficie; por esto, son muy interesantes ya que la super-

ficie de un material se multiplica varios millones de veces, de manera que sus propiedades físicas se modifican (Hernando-Grande 2007). Las nanoestructuras pueden agruparse en seis familias.

Nanoesferas y nanotubos carbono. Están formados sólo de átomos de carbono con un arreglo en panal (hexágonos y pentágonos) y reciben el nombre de fullerenos; son muy ligeros, poseen alta dureza, elasticidad y conductividad eléctrica (Cerpa *et al.*, 2013) (Figura 1).

Nanopartículas sólidas. Pueden estar formados de un solo elemento, como oro o plata (Au y Ag), o de algún compuesto reactivo (TiO₂, AlO₂, Fe₃O₄, Ca₂PO₄) (Grassian *et al.*, 2008). (Figura 2 A).

Nanopartículas core-shell. Son partículas que poseen un núcleo con propiedades físicas o químicas diferentes a la cubierta. Éstas pueden funcionalizarse con moléculas biológicas (Lloret *et al.*, 2007; Calvo y Avilés, 2013) (Figura 2 B y C).

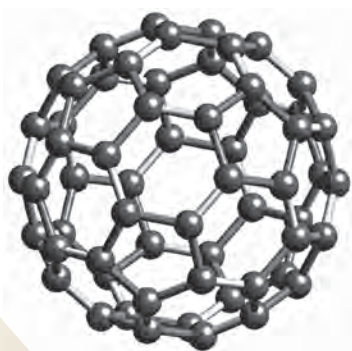
Dendrímeros. Polímeros con numerosas ramas de dimensiones nanométricas, con funciones químicas específicas (Blanco *et al.*, 2011) (Figura 2 D).

Nanocápsulas. Reservorio o cápsula polimérica, conteniendo el principio o material activo en un núcleo sólido, líquido o bien adsorbido en la pared polimérica de la nanocápsula (Figura 2 E, F).

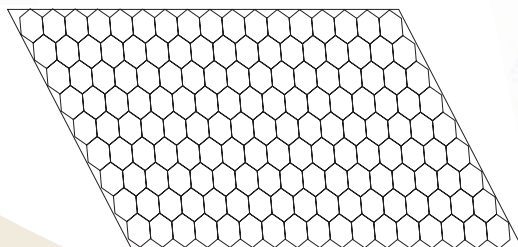
Nanoesferas. Esferas matriciales formadas por macromoléculas naturales, lípidos o polímeros sintéticos, cuyo principio activo se encuentra disperso en la matriz. La matriz puede albergar nano dominios (Blanco *et al.*, 2011) (Figura 2 G, H).

¿Qué es la nanotecnología?

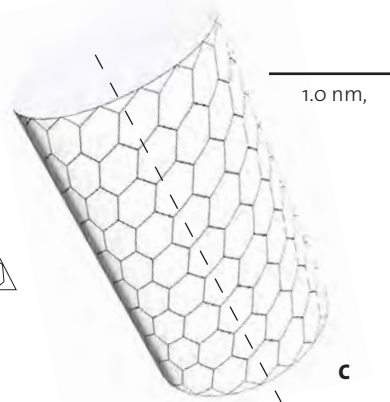
La nanotecnología es un campo de las Ciencias aplicadas, enfocado al diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales en escala nanométrica (1 y 100 nm) para el desarrollo de máquinas, herramientas y procedimientos al servicio del ser humano (Pradeep, 2008). Aunque la nanotecnología no ha llegado a un



A



B



C

Figura 1. A: Esferas de carbono “Buckyball”. La distancia alrededor de esta esfera es de 3,5 nm. B: Lámina de grafeno C: Nanotubo de carbono, fullereno.

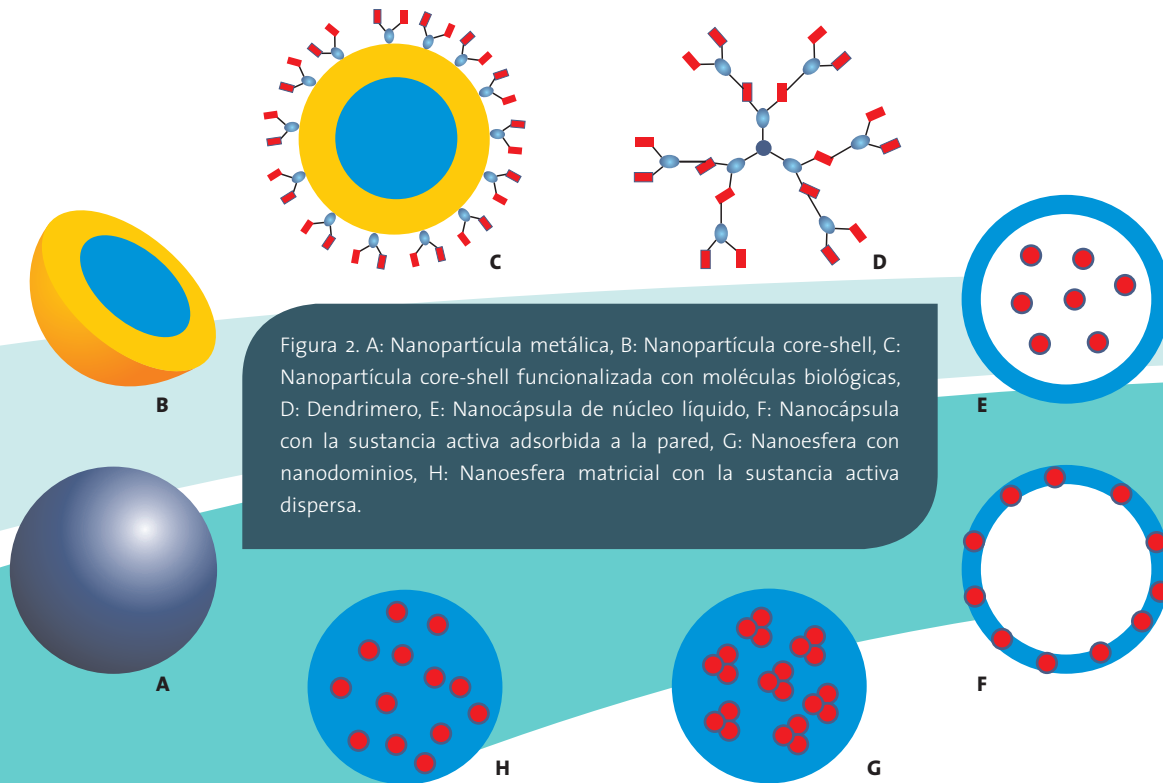


Figura 2. A: Nanopartícula metálica, B: Nanopartícula core-shell, C: Nanopartícula core-shell funcionalizada con moléculas biológicas, D: Dendrímero, E: Nanocápsula de núcleo líquido, F: Nanocápsula con la sustancia activa adsorbida a la pared, G: Nanoesfera con nanodominios, H: Nanoesfera matricial con la sustancia activa dispersa.

estado de completo desarrollo, los nanomateriales ya son usados en aplicaciones electrónicas, magnéticas, optoelectrónicas, biomédicas, farmacéuticas, cosméticas, energéticas y catalíticas (Navalakhe *et al.*, 2007; Liu 2006). Algunas aplicaciones específicas son: cintas de grabado magnético, bloqueadores solares, catalizadores de automóviles, fibras ópticas, marcado biológico y otros (Raimondi 2005); sin embargo, su aplicación en la agricultura ha recibido poca atención.

Con frecuencia, la producción de nanopartículas metálicas usa reactivos tóxicos que deterioran el ambiente. En la Línea Prioritaria de Investigación LPI-16: Innovación Tecnológica del Colegio de Postgraduados (COLPOS), entre otros proyectos, se investigan métodos para biosíntesis de partículas metálicas, usando extractos vegetales como una alternativa no tóxica. Trabajos previos han reportado el potencial de los extractos vegetales en la síntesis de nanopartículas de plata (Ag) (Prabhu *et al.*, 2010); sin embargo, el método que se desarrolla en el COLPOS produce nanopartículas de Ag pequeñas (5-10 nm) de tamaños uniformes, en una solución que las mantiene estables por más de 18 meses, además de ser un método muy económico de gran potencial tecnológico (Figura 3).

Las NPs de Ag poseen propiedades ópticas y antimicrobianas que pueden usarse para diagnóstico, terapia médica,

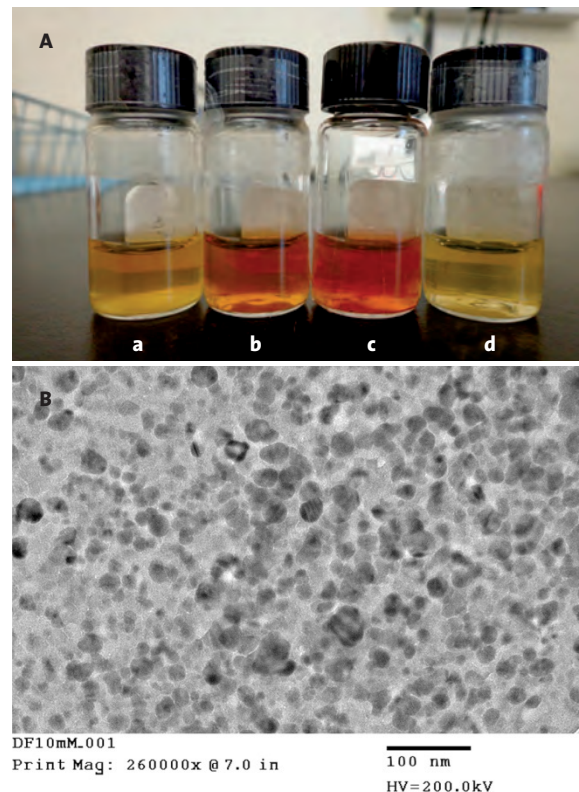


Figura 3. Nanopartículas de plata desarrolladas por la LPI-16 Luis Manuel Carrillo. A: Reducción en extractos acuosos (a y b), reducción en fracciones no polares (c y d). B: Nanopartículas de plata de 10 y 20 nm observadas con Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) campo claro.

recubrimiento de instrumental quirúrgico, componente en ropa y pintura antiséptica, nano recubrimientos de refrigeradores, y en nano empaques de hortalizas (Joshi *et al.*, 2008; Kole *et al.*, 2013). De la aplicación de nanomateriales de carbono en la agricultura se conoce poco, pero estudios realizados por Khodakovskaya *et al.* (2009) y Kole *et al.* (2013) han demostrado que el fullerol $C_{60}(OH)_{20}$, derivado del fullereno pero soluble en agua, puede aumentar significativamente la biomasa, producción de frutos, concentraciones de cucurbitacina, licopeno y charantin en tomate (*Solanum lycopersicum*), y melón amargo (*Momordica charantia*), sugiriendo un papel prometedor en la producción de alimentos.

Por otra parte, el papel fitotóxico de NPs de TiO_2 , CeO_2 , Fe_3O_4 , and ZnO , Au, Ag, Cu y Fe se ha investigado con resultados polémicos, por lo que la absorción, bioacumulación, biotransformación y riesgos de nanomateriales en cultivos alimenticios no es bien conocida (Rico *et al.*, 2011).

Técnicas para medir y caracterizar nanopartículas

Caracterización por Microscopía Electrónica

Los microscopios ópticos se emplean para observar materiales de tamaño micrométrico. La resolución no puede mejorarse en los microscopios ópticos, debido a las aberraciones y al límite en la longitud de onda de la luz blanca (400-700 nm) con la que se ilumina el objeto. En contraste, los microscopios electrónicos usan un haz de electrones (e^-) fuertemente acelerados, cuya longitud de onda (0.004 nm a 100 kV) es mucho menor que la de la luz visible e incluso que la de la luz ultravioleta (300-400 nm), de tal forma que los microscopios electrónicos pueden observar objetos en la escala nanométrica. Dentro de los más conocidos se encuentran el Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) y el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). En ambos tipos, la fuente de iluminación es un cañón de electrones que produce electrones primarios (e^-), los cuales son acelerados y bombardeados hacia la muestra, a través de una columna al alto vacío (0.0000027 Pa) que al interactuar con la muestra generan una serie de señales que dan información del material en observación (Bozzola y Russell, 1922) (Figura 4).

Microscopía electrónica de transmisión (MET)

Esta es una técnica en la que un haz de electrones es transmitido a través de un espécimen ultra delgado (nm de grosor). La información que se usa es la de los electrones transmitidos; la imagen se magnifica y se enfoca por lentes magnéticas, y posteriormente se forma la imagen en una pantalla fluorescente. La resolución de los microscopios electrónicos también está determinada por el diámetro del haz de electrones. De esta manera se han desarrollado microscopios de alta resolución, cuya distancia de punto a punto puede ser de 0.19 nm, logrando magnificaciones de 8 000 000 X (Joshi *et al.*, 2007). La Figura 5 muestra un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución JEOL 2010-F, el cual posee un cañón de emisión de campo de 200 kV y es capaz de observar los átomos en la muestra.

El contraste en una imagen de MET no es igual al de una de un microscopio de luz. En MET, la muestra cristalina interactúa con el haz de electrones, en su mayoría por difracción más que por absorción. La intensidad de la difracción depende de la orientación de los planos de los átomos en un cristal en relación con el haz de electrones. A ciertos ángulos, el haz de electrones es difractado fuertemente desde el eje del haz entrante, mientras que a otros ángulos el haz es en gran parte transmitido. Los MET modernos están equipados con porta muestras que permiten inclinar

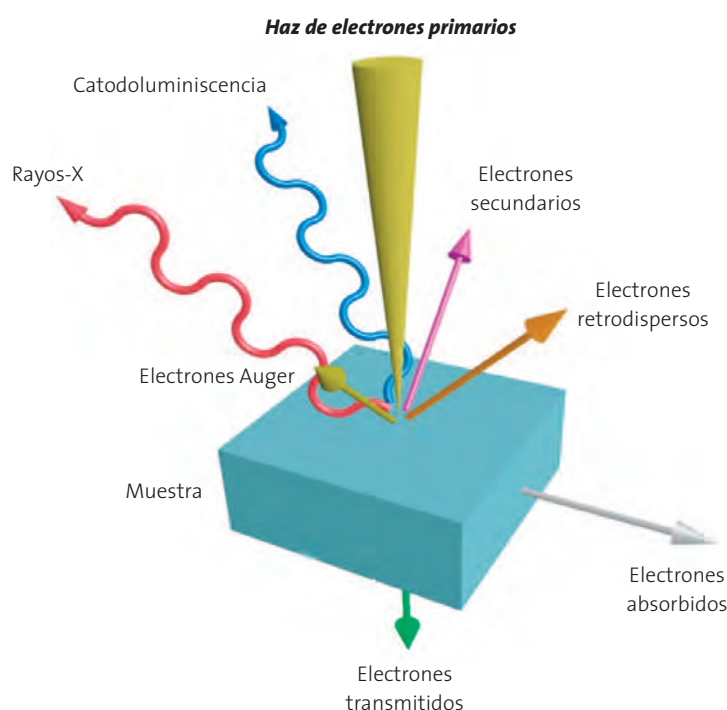


Figura 4. Interacción de electrones primarios bombardeados a la muestra. Electrones secundarios: topografía de la superficie de la muestra (MEB), Electrones transmitidos: Estructura interna, orientación e identificación de cristales y análisis elemental (TEM, STEM), Rayos X Microanálisis y distribución de elementos. Electrones retrodispersados: número atómico (MEB) e información cristalográfica. Electrones Auger: Información química de capas superficiales. Electrones absorbidos: estructura interna de semiconductores.

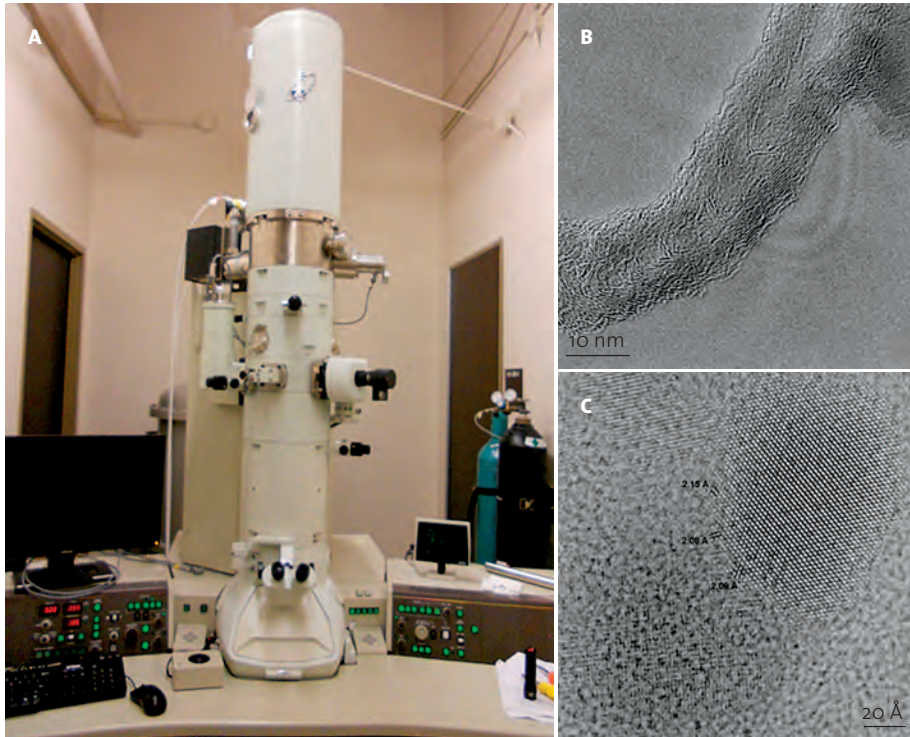


Figura 5. A: Microscopio Electrónico de Transmisión de alta resolución Jeol 2010-F. (Cortesía del Dr. Miguel José Jacamán, Kleberg Advanced Microscopy Center, University of Texas at San Antonio USA. B: Imagen de alta resolución de un nanotubo de carbono y C: distancias interplanales de una nanopartícula de Ni-Pt/SiO₂. Cortesías del Dr. Jesús Arenas a la Torre, Instituto de Física, UNAM, México.

el espécimen en un rango de ángulos que permiten obtener condiciones de difracción específicas. Por ello, se puede formar una imagen de alto contraste, bloqueando los electrones desviados fuera del eje óptico del microscopio mediante la colocación de la apertura, para permitir solamente los electrones no dispersados. Esto produce una variación en la intensi-

dad electrónica que revela información sobre la estructura del cristal. Esta técnica, sensible a defectos en la red cristalina ampliada, es conocida como campo claro o campo luz. También es posible producir una imagen de electrones desviados por un plano cristalino particular, lo cual se conoce como imagen de campo oscuro. El microscopio que se muestra en la Fi-

gura 5 está equipado con un detector campo-oscuro anular de alto-ángulo (HAADF, en inglés) y con detectores de campo oscuro, campo claro de bajo ángulo, para imágenes de microscopía electrónica de transmisión y barrido (STEM, en inglés) (Joshi *et al.*, 2007).

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) utiliza un haz de electrones que “escanea” en forma de zig-zag la superficie de la muestra, produciendo un gran número de señales (Figura 6). La señal más usada para la formación de imágenes en el MEB son los electrones secundarios, que son de baja energía (3-5 eV); debido a esta

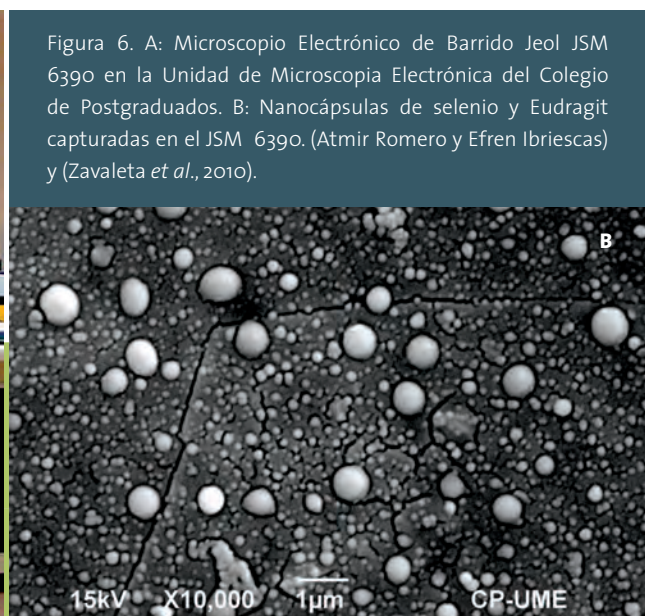


Figura 6. A: Microscopio Electrónico de Barrido Jeol JSM 6390 en la Unidad de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados. B: Nanocápsulas de selenio y Eudragit capturadas en el JSM 6390. (Atmir Romero y Efrén Ibriescas) y (Zavaleta *et al.*, 2010).

característica los electrones son atraídos fácilmente hacia el detector, cuya señal se convierte después en una imagen visible (Bozzola y Russell, 1992). Un MEB convencional puede alcanzar hasta una resolución de 3 nm, dependiendo de la conductividad de la muestra. El MEB tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra, dando la apariencia de 3D (Figura 6).

Muchos nanomateriales conductores (nanopartículas metálicas) y nanotubos de carbón pueden ser observados directamente sin preparación. Otros nanomateriales no conductivos, como las microcápsulas o nanopartículas orgánicas, requieren ser recubiertas con un material conductor (oro-paladio), o bien, ser observadas en modo de bajo vacío. Otra modalidad del MEB es el microscopio de Alta Resolución o de Emisión de Campo (HRSEM). Este equipo puede alcanzar 150 mil aumentos y el poder de resolución es de 30 Amstrong (Å) (Figura 7).

Microscopia de prueba de barrido (fuerza atómica y tunelaje)

Cuando se habla de Microscopia de Prueba de Barrido

(SPM, del inglés: Scanning Probe Microscopy), se refiere ya sea a Microscopia de Barrido por Tunelaje (STM, del inglés: Scanning Tunneling Microscopy) o a Microscopia de Fuerza Atómica (AFM, del inglés Atomic Force Microscopy). Microscopio de efecto túnel (STM scanning tunnelling microscope).

Microscopia de Barrido por Tunelaje (STM)

El Microscopio de Barrido por Tunelaje (STM) fue desarrollado en 1981 por Gerd Benning y Heinrich Rohrer en los laboratorios de IBM de Zurich, Suiza. Ello les valió el Premio Nobel de Física, en 1986. Esta técnica permite observar átomos individuales en superficies metálicas, además de proporcionar un perfil tridimensional de la superficie de la muestra. Esta técnica es muy útil en la caracterización de agregados, textura y defectos superficiales de los metales, pero sólo es útil en materiales conductores (Goodhew y Humphreys, 1988). En un STM, una punta piezoeléctrica detectora (platino-Iridio-oro) y el metal a analizar, separados por un vacío, se aproximan. Los e^- no tienen la suficiente energía para escapar a través del vacío, pero puede darse un intercambio de electrones entre ambos metales por un efecto túnel si se encuentran suficientemente próximos. La

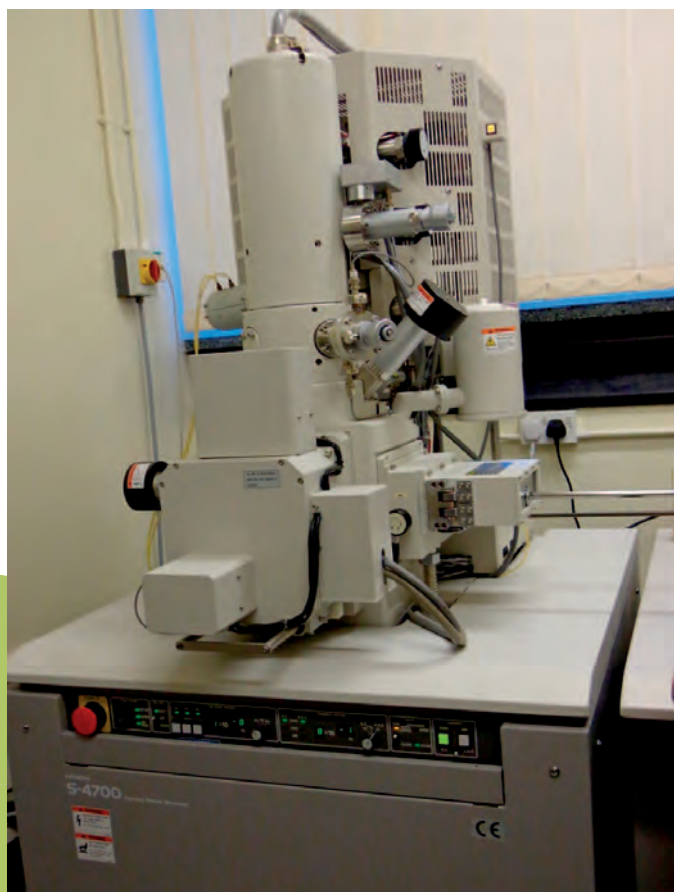
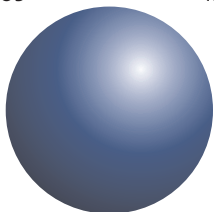


Figura 7. A: Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo, Hitachi S-4700. FESEM, cortesía Steve Wade PhD, Advanced Microscopy and Bioimaging, en la Universidad de Gales, Reino Unido Universidad de Gales UK. B: Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto vegetal, producidas en la LPI-16 por Zavaleta-Mancera, A.

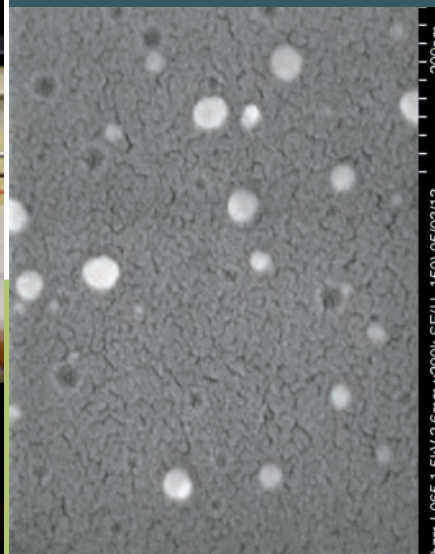


imagen se forma al barrer la punta detectora del STM a la superficie del metal.

Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

Posteriormente, en 1985, Benning y Rohrer construyeron el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM); instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nano newtons. Al analizar una muestra se registran las diferencias de altura entre el objeto de estudio y una punta cristalina de forma piramidal acoplada a un listón microscópico (“cantiliver”), muy sensible al efecto de las fuerzas y de sólo unos 200 μm de longitud (Goodhew y Humphreys, 1988).

La fuerza atómica es detectada cuando la punta está muy próxima a la superficie de la muestra; entonces, es posible registrar la pequeña flexión del listón mediante un haz láser reflejado en su parte posterior. Un sistema auxiliar piezoeléctrico desplaza la muestra tridimensionalmente, mientras que la punta recorre la superficie de forma ordenada. La resolución del instrumento es de aproximadamente 0.2 nm (Figura 8).

Espectroscopia de absorción de rayos-X

La espectroscopia de absorción de rayos-X (XAS por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente

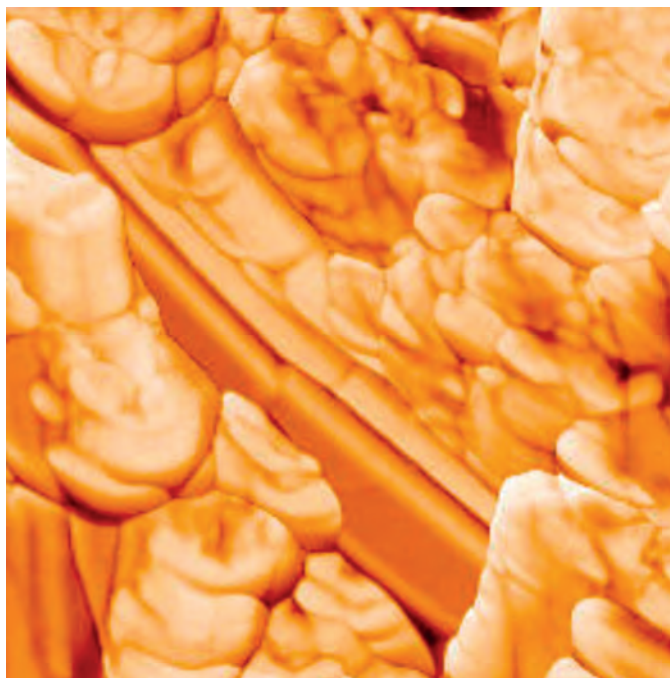


Figura 8. Textura de un portaobjetos de vidrio visto analizada con un Microscopio de Fuerza Atómica (AFM).

usada para la determinación del tamaño de partícula y del ambiente químico que la rodea (Gardea-Torresdey *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005). Los experimentos se llevan a cabo con radiación proveniente de un sincrotrón (Figura 9), la cual provee un haz intenso y sintonizable de rayos-X. Exis-

ten dos modalidades de esta técnica: XANES, que es una técnica sensible al estado de oxidación, simetría puntual, configuración electrónica y el ambiente de coordinación de la especie absorbente; y EXAFS, que es más sensitiva a las distancias interatómicas, número de coordinación, desorden térmico y estructura, así como a las especies vecinas del absorbente (Jentys *et al.*, 2000; López *et al.*, 2005).

Mediciones con un nanoseizer

El principio de esta técnica se basa en la medición de la dispersión o movimiento de las nanopartículas, la cual se mide comúnmente con una técnica no invasiva denominada Dispersión de Luz Dinámica “Dynamic

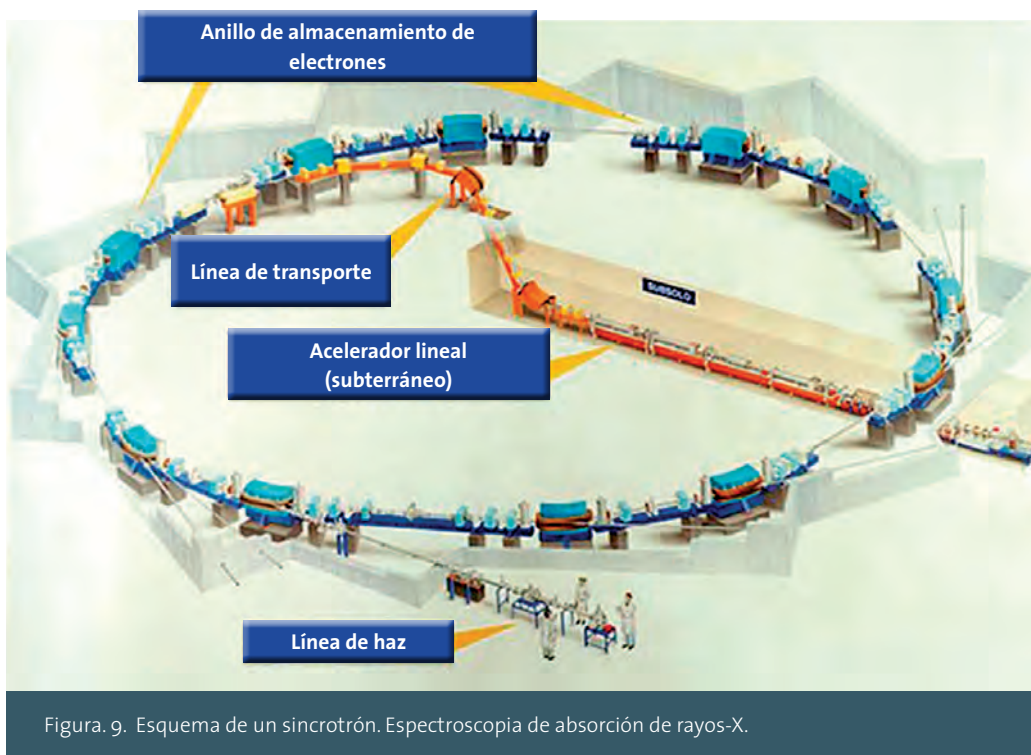


Figura 9. Esquema de un sincrotrón. Espectroscopia de absorción de rayos-X.

Light Scattering (DLS), también referida como Espectroscopia de correlación fotónica (Photon Correlation Spectroscopy) PCS o Quasi-Elastic Light Scattering (QELS). En términos más sencillos, la técnica usa el Movimiento Browniano que tienen las nano partículas al moverse o difundirse como una consecuencia de las colisiones con el solvente.

Este movimiento también está en función de la temperatura y la viscosidad del solvente. La Línea Prioritaria de Investigación LPI-16 Innovación tecnológica, cuenta con un NanoZeiser (ZEN 3600) que mide tamaño de partícula, potencial Z, y peso molecular.

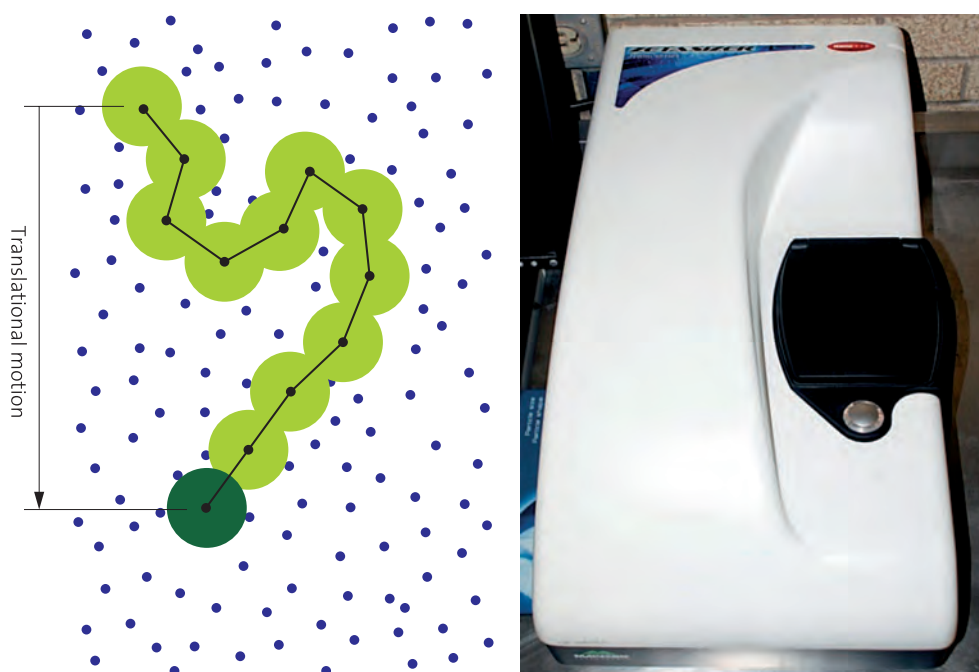


Figura 10. A: Principio de medición del Nanoseizer, movimiento Browniano. Cortesía. Marlvern Instruments. B: Nanoseizer ZEN 3600 equipo de medición de nanopartículas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo LPI-16.

LITERATURA CITADA

- Cerpa A., Kober M., Calle D., Negri V., Gavira J.M., Hernanz A., Briones F., Cerdán y Ballesteros S.P.. 2013. "Single-walled carbon nanotubes as anisotropic relaxation probes for magnetic resonance imaging". *Med. Chem. Comm* ,
- Blanco E., Hsiao A., Mann A.P., Landry M.G., Meric F., Ferrai M., 2011. Nanomedicine in cancer Therapy: Innovartive trends and prospects. *Cancer Science*. 102 (7): 1247-1252.
- Bozzola J.J. and Russell L.D. 1992. *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. Ed. Jones and Bartlett. Boston. 542 p.
- Calvo P., Avilés P. 2013. A new potential nano-oncological therapy based on polyamino acid nanocapsules. *Journal of Controlled Release* 169:10-16.
- Gardea-Torresdey J.L, Peralta-Videa J.R., Rosa G., Parsons J.G. 2005 Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorpction spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews* 249: 1797-1810.
- Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson S.R., Mousa F. 2005. Fullerene is a powerfull antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Letters* 5:2578-2585.
- Goodhew P.J. and Humphreys F.J. 1988. *Electron Microscopy and Analysis*, Edit. Taylor & Francis, London.
- Grassian V. H.. 2008 . When size really matters: size-dependent properties and surface chemistry of metal and metal oxide nanoparticles in gas and liquid phase environments. *Journal of Physical Chemistry* 112 (47): 18303-18313.
- Hernando-Grande A. 2007. Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: la Física actual en lucha contra la enfermedad. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat.* 101 (2):321-327.
- Jentys, L. Simon, J.A. Lercher. 2000. On the Determination of the Location of Metal Clusters Supported on Molecular Sieves by X-ray Absorption Spectroscopy. *Journal of Physics and Chemistry* 104: 9411.
- Joshi M., A. Bhattacharyya and S. Wazed Ali. 2008. Characterization Techniques for nanotechnology Applications in Textiles. *Indian Journal of Fibre and Textile Research* 33, 304-317. pp.304-317
- Khodakovskaya M., Dervishi E., Mahmood M., Xu Y., Li Z., Watanabe F., Biris A.S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano* 3: 3221-3227.
- Kole Ch., Kole P., Randunu K.M., Choudhary P., Podila R., Chun Ke P., Rao A.M., Marcus R.K. 2013. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: fist evidence for increased plant biomass, fruit yield and phytomedecine content in bitter melón (Momordica charantia). *BMC Biotechnology* 13: 37-46.
- Liu WT. 2006. Nanoparticles and their biological and environmental applications. *Journal Bioscience Bioengetic* 102(1):1-7.
- López M.L., Parsons J.G., Peralta Videa J.R, Gardea-Torresdey J.L. 2005. An XAS study of the binding and reduction of Au (III) by hop biomass. *Microchemical Journal* 81: 50-56.
- Navalakhe R.M, Nandedkar T.D 2007. Application of nanotechnology in biomedicine. *Indian Journal Experimental Biology* 45(2):160-165.
- Philip Y. (2011) Descubrimiento de las buckybolos y los nanotubos. *Investigación y Ciencia* Noviembre 422: p5.
- Poole, C. and Owens F. 2007. *Introducción a la Nanotecnología*. Editorial Reverté. Barcelona, España.
- Prabhu N, Divya R., Yamuna K., Siddiqua S, Puspha I.P. 2010. Synthesis of silver phyto nanoparticles and their antibacterial efficacy. *Digest Journal Nanomater Biostructure* 5:185-189.
- Pradeep T. 2008. *Nano the essentials understanding nanociencia and nanotechnology*. New Delhi: MacGraw-Hill. Publishing Company Limited;
- Rico C.M., Majimdar S., Duarte-Gardea M., Peralta-Videa J and Gardea-Rorresdey J.L. 2011. Interaction of Nanoparticles with Edible Plants and Their Possible Implications in the Food Chain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 59:3485-3498.
- Zavaleta-Mancera H.A., G. Hanako, E. Ramirez-Bribiesca, E. García-García, Wade S.C.. 2010 Looking at organic nanoparticles with SEM, CRIOSEM and HRSEM. *Microscopy and Microanálisis*. Vol 16: 1168-1169