



# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

## INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

### DENOMINADA:

EVALUCION DE FITONANOPARTICULAS DE PLANTAS NATIVAS DE  
CHIPILIN (*Crotalaria longirostrata*) Y CHAYA (*Cnidocolus  
chayamansa*) EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS.

### LUGAR DE REALIZACION:

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE BAJA CALIFORNIA.

### COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO BIOQUÍMICO.

### PRESENTA:

CRISTOBAL MONTES DE OCA GARCÍA

### No. DE CONTROL:

14270409

### ASESOR:

DR. FEDERICO A. GUITIERREZ MICELI

CHIAPAS, TUXTLA GTZ.

DICIEMBRE/ 2018

## 2. Dedicatoria

### ***A mis padres.***

*Por haberme dado todo su apoyo incondicional, moral y económico. No sé qué sería de mi si ellos, son mi mayor inspiración y motor para realizarme como individuo y persona de bien. Sinceramente a ellos se los debo todo y sé que pase lo que pase ellos estarán conmigo, a cada paso que dé. Confiaron en mí desde que empecé este viaje y ahora que estoy a punto de finalizarlo les dedico todo el éxito que logre. Desde el fondo de mi corazón, muchas gracias.*

### 3. Resumen

En la siguiente investigación se realizó, mediante síntesis verde, fitonanopartículas a partir de extractos acuosos de dos diferentes plantas nativas del estado, Chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y Chaya (*Cnidocolus chayamansa*), las cuales redujeron, para formar a las fitonanopartículas, metales como el cobre, zinc y una mezcla 50-50 de estos.

Por técnicas espectrofotométricas, confirmamos que, efectivamente, hubo síntesis de estas partículas. Se obtuvo fotografías de las partículas, proporcionadas por el instituto de ingeniería de la universidad, donde los tamaños oscilan los 200 nm de diámetro en su forma coloidal.

Una vez comprobado que los extractos funcionaron para realizar la síntesis de las partículas, se procedió a realizar evaluaciones de estas fitonanopartículas y probar su efectividad como promotor de crecimiento en plantas de interés agrícola. Se rociaron las soluciones de nanopartículas de ambas plantas en conjunto con los 3 tipos de soluciones metálicas (Cobre y zinc) en semillas de diferentes plantas como tomate, lechuga, rábano, moringa y mezquite. Los resultados mostrados durante los días que duro el experimento y al culminó de este fueron interesantes ya que se vio, a primera instancia, que las nanopartículas lograron aumentar la longitud de las plantas tratadas, en comparación con agua común como control.

La segunda parte del experimento fue evaluar la toxicidad de las nanopartículas y poder saber con exactitud la concentración óptima de la solución de metal. La concentración de nanopartículas que se empleo fue de 300 ppm, que fue nuestro 100% y a partir de ahí medimos la letalidad de concentraciones de 75%, 50% y 25%. Medimos parámetros fisiológicos en las plantas tratadas como en las soluciones de nanopartículas. En las plantas se cuantifico la cantidad de plantas germinadas, su longitud, severidad, viabilidad y % de celular muertas. A las nanopartículas se cuantifico flavonoides y fenoles totales además de su actividad enzimática (peroxidasa).

Al culminó del experimento, se evidencio el gran potencial de estas dos plantas para realizar la síntesis de las nanopartículas; además de su gran potencial como posibles nanofertilizantes, ya que estas nanopartículas promovieron el crecimiento de las plantas evaluadas pero a concentraciones altas, estas partículas llegan a ser perjudiciales por lo cual posteriores estudios son necesarios para conocer las concentraciones optimas donde la fisiología y anatomía de la planta sea adecuada.

## 5. Introducción.

El chipilín (*Crotalaria longirostrata*) es una planta silvestre, perenne y está catalogada como una de las especies más importantes del sur del país, junto con la *chaya* (*Cnidoscolus chayamansa*). Originarias del suroeste del país, desde tiempos precolombinos se le conoce su consumo y hasta la actualidad se encuentran en la gastronomía chiapaneca (1), sin embargo existe poca información de la implementación de dichas plantas con fines más allá de lo gastronómico o lo medicinal. Los pocos estudios que se han realizados muestran que ambas plantas, por sus cualidades tanto culinarias como medicinales, contienen gran cantidad de compuestos (2), que se podrían ser las encargados de reducir a las partículas metálicas y realizar la síntesis de las nanopartículas, de ahí nace la inquietud de realizar la investigación utilizando estas plantas nativas de la región.

México destaca como uno de los principales exportadores mundiales de productos agroalimentarios y pesqueros, y además se ha convertido en un proveedor importante de los mercados mundiales de un gran número de productos frescos y procesados. El creciente mercado y la reducción de los espacios de siembra llevan a concluir que la agricultura convencional no será viable en un futuro para abastecer las necesidades de una población en incremento.

La reducción en el uso de herbicidas, pesticidas y fertilizantes de origen químico es una de las opciones pensadas para poder atacar este cuestionamiento, por lo cual, la aplicación de sustancias amigables con el ambiente es un hecho irrefutable. En los últimos años, la nanotecnología ha hecho grandes avances en el área de la agricultura, hasta llegarse a considerada como la segunda área de aplicación de esta ciencia, después del mercado energético.

En México el uso de nanopartículas en el área agropecuaria es reciente y se enfoca en evaluar la aplicación de Nanopartículas obtenidas por síntesis química en la germinación de plantas (3). No obstante, este método de obtención es caro y genera residuos que pueden representar un riesgo a la salud del ecosistema. En este sentido, una alternativa biotecnológicamente viable es la síntesis de Fitonanopartículas a partir de plantas, en donde los compuestos bioactivos presentes en la misma sirven como agentes estabilizantes y reductores de los metales, proceso que no genera residuos.

Hasta la fecha, existe escasos reportes que demuestren el uso de fitonanopartículas a partir de plantas nativas y el efecto que tienen como biofertilizante, por dicho motivo se planteó la presente investigación donde se realiza la síntesis de dichas partículas y su evaluación en el proceso de germinación de plantas de interés agrícola como tomate, lechuga y mezquite.

## **6. Descripción de la empresa**

El Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), se localiza en el Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, donde ofrece al estudiante las condiciones necesarias para desarrollar una formación científica y tecnológica en el ámbito agropecuario, con una conciencia crítica, social y de valores. Cuenta con la infraestructura necesaria para llevar a cabo las funciones sustantivas de la UABC como son docencia, investigación y difusión de la cultura.

El ICA ofrece atención personalizada a través de un programa de tutoría y de orientación educativa y psicológica, biblioteca, programa de becas, un programa de movilidad e intercambio estudiantil, áreas de producción agrícola y pecuaria, laboratorios especializados y campos experimentales.

### **6.1 Misión**

Formar íntegramente ciudadanos profesionales, competentes en el ámbito local, nacional, transfronterizo e internacional, libres, críticos, creativos, solidarios, emprendedores, con una visión global, conscientes de su participación en el desarrollo sustentable global y capaces de transformar su entorno con responsabilidad y compromiso ético; así como promover, generar, aplicar, difundir y transferir el conocimiento para contribuir al desarrollo sustentable, al avance de la ciencia, la tecnología, las humanidades, el arte y la innovación, y al incremento del nivel de desarrollo humano de la sociedad bajacaliforniana y del país.

### **6.2 Visión**

En 2025, la UABC es ampliamente reconocida por ser una institución socialmente responsable que contribuye, con oportunidad, pertinencia y los mejores estándares de calidad, a incrementar el nivel de desarrollo humano de la sociedad bajacaliforniana y del país; así como por ser una de las cinco mejores instituciones de educación superior en México y de las primeras 50 en Latinoamérica en la formación universitaria, la generación, aplicación innovadora y transferencia de conocimiento, y en la promoción de la ciencia, la cultura y el arte.

## 7. Problemas a resolver

El proyecto está planteado para resolver principalmente problemas relacionados con el ambiente y el uso excesivo de fertilizantes químicos. Estas prácticas traen problemas graves y con el paso de los años, se ha agravado cada vez más los problemas relacionados con dichos fertilizantes, llegando a dañar inclusive la salud humana. Por lo cual se pretende buscar la manera de generar un producto que, con más pruebas y estudios, llegue a sustituir los fertilizantes convencionales.

## 8. Objetivo

### 8.1 General

Analizar el proceso de síntesis de fitonanopartículas obtenidas de extractos de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) en plantas de interés agrícola.

### 8.2 Específicos

1. Realizar la síntesis verde de las fitonanopartículas a partir de extractos de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) a partir de la metodología establecida, con las adecuaciones pertinentes.
2. Realizar la caracterización física y química de las fitonanopartículas.
3. Determinar el efecto de las fitonanopartículas de Zinc y Cobre obtenidas de extracto de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) en plantas de interés agrícola.
4. Evaluar la citotoxicidad de las fitonanopartículas en las plantas modelo.

## 9. Justificación

Cuando se habla de agricultura, no se puede dejar de mencionar el uso de agroquímicos, porque al paso del tiempo, estos han resultado efectivos para erradicar maleza indeseable o disminuir el tiempo de crecimiento de los cultivos, sin embargo estos han traído consigo un sinnúmero de problemas ambientales por el abuso que ha tenido la humanidad que, inclusive, ha repercutido en la salud humana y en la misma naturaleza; conforme las generaciones van pasando, los patógenos y plagas que afectaban a los cultivos, fueron mutando hasta llegar al punto donde los pesticidas o fertilizantes convencionales ya no les causan efecto alguno, con lo cual se emplean dosis mayores, agravando más la situación.

Es bien sabido que, en los últimos años, se ha buscado nuevas alternativas para modificar las técnicas que se tienen de la agricultura convencional porque, como sabemos, esta no es viable para el futuro. Las tendencias actuales del mercado es ir creando productos que no dañen directamente o parcialmente el ambiente y a la vez no generen residuos.

Nuevas tecnologías se han ido probando, demostrando la efectividad de métodos biológicos como de síntesis verde, pero en muchos de los casos, estos productos son sumamente caros en comparación con los convencionales o demasiado específicos para una cierta región o cultivo, por lo que los productores prefieren seguir utilizando los mismos productos, ignorando el daño que estos causan.

Es por ello que, la síntesis de las fitonanopartículas obtenidas de extractos acuosos de plantas nativas de una región en específico, en este caso chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) se presenta como una alternativa biotecnológicamente viable para su uso como biofertilizante, ya que una de las mayores ventajas que se presentan sería su bajo costo de producción, además de, obviamente, ser un producto completamente inerte para el ambiente y en comparación de agentes biológicos, estos no son específicos a una gama corta de plantas y podría aplicarse a diferentes cultivos, brindando una mayor efectividad.

## 10. Marco teórico

### 10.1 *Crotalaria longirostrata*

El chipilín (*C. longirostrata*) es una leguminosa silvestre tropical (Figura 1), utilizada desde tiempos prehispánicos donde el hombre por necesidad de sobrevivencia se dio a la tarea de recolección de plantas y semillas para su alimentación (Hernández y León, 1994) manteniendo las características antropocéntricas reportadas para otras plantas del país (Vieyra y col. 2002). Abarca una amplia gama de aplicaciones tales como: comida y bebida refrescante para los seres humanos conocidas hasta hoy en día debido a que se ha venido transmitiendo de generación en generación (Centurión col. 2000), se ha utilizado no solo en la gastronomía y en la medicina alternativa natural, sino también para los cultivos de cobertura o abono verde (mediante la fijación de nitrógeno atmosférico), mejora de los barbechos (Desaeger y Rao 1999), elaboración de papel, planta medicinal y especies melíferas (Fischler y Wortman 1999); (4).



**Figura 1** Hojas de chipilín (*Crotalaria longirostrata*)

El nombre de chipilín corresponde a su nombre científico *Crotalaria longirostrata* es una planta originaria del sur de México y Centroamérica, es la especie más utilizada como alimento, donde se consumen las hojas y los brotes tiernos y es utilizado como un acompañamiento en diferentes platillos, sus hojas son ricas en proteína, de alto contenido en lisina, por lo que es un excelente suplemento de los cereales, además de un elevado contenido de carotenos de alta biodisponibilidad, crece en terrenos húmedos, laderas abiertas y plantadas en campos y jardines.(Rivas J, 2014); (5).



El origen de la palabra «chipilín»: del Náhuatl, cuyo significado es «alimento con que los enfermos tomarán fuerza», y de la palabra Tzotzil «Tsi-ipilli» que significa «Hierba de la fuerza». De los diversos «chipilines» que se consumen en México, el «Chipilín blanco» (*Crotalaria longirostrata*) es el que se emplea en la alimentación tradicional del estado de Chiapas. *C. longirostrata* crece de forma silvestre o en cultivo de traspatio y sus tallos y hojas jóvenes son empleadas para preparar diversos alimentos, ya sea como aderezo o como componente principal.

### 10.1.1 Taxonomía

Según (Hook Y Arn 1838); (6), la *Crotalaria longirostrata* (Chipilín) es un arbustos perteneciente de la familia fabácea que su crecimiento seda de forma silvestres en muchos lugares de Centro américa, su crecimiento seda de forma anual y a veces permanece todo el año dependiendo en la región en que se encuentre, es un vegetal indígena por su crecimiento repentino y rápido.

Crece de manera vertical alcanzando un tamaño de hasta 2 m de alto; tallos terete casi glabros con delgadas ramas verticales o arqueadas casi cilíndricas, contienen en pelos diminutos.

**Tabla 1.** Tabla Taxonómica de *Crotalaria Longirostrata*.

<b>TAXONOMIA</b>	
<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Fabales</i>
<b>Familia</b>	<i>Fabaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Faboideae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Crotalarieae</i>
<b>Genero</b>	<i>Crotalaria</i>
<b>Especie</b>	<i>Crotalaria Longirostrata</i>

### 10.1.2 Uso alimentario

Esta es una de las plantas más apreciadas en México y América Central (Standley & Steyermark, 1946); (7). Las hojas, los tallos y las yemas tiernas se usan en tamales y sopas o cocidos como verduras con sal y limón. La flor guisada con cilantro y ajo se toma como té. Con las hojas y las flores también se preparan pupusas (Chízmar Fernández, 2009); (8). Existen platillos con arroz y cerdo o frijoles.

### 10.1.3 Tabla de valor nutricional del chipilín de diferentes literaturas

En la tabla 1 se presenta el valor nutricional y calidad proteica de tres plantas autóctonas de Guatemala (chipilín, hierba mora y bledo). Reportado por (Rivas Larios; 2014); (5).

**Tabla 2.** Valor nutricional del maíz, frijol y de las plantas de chipilín, bledo, y hierba mora o quelite y en 100 gramos de producto.

Nutrientes	Chipilín	Bledo	Hierba mora	Maíz	Frijol
Kilocalorias (Kcal)	57	32	45	365	343
Agua (%)	81.8	87.7	85	10.37	10.40
Proteína (g)	7.1	2.72	5.1	9.42	22.70
Grasas (g)	1	0.55	0.8	4.74	1.60
Carbohidratos(g)	8.7	5.73	7.3	74.26	61.60
Calcio (mg)	248	278	226	7	134
Fosforo(mg)	74	81	74	210	415
Hierro(mg)	4.9	6.34	12.6	2.71	7.10
Vitamina A(mcg)	3843	517	1883	11	0
Tiamina (mg)	0.33	0.05	0.20	0.38	0.47
Riboflavina (mg)	0.52	0.24	0.35	0.2	0.15
Niacina (mg)	2.02	1.2	0.97	3.63	2.09
Ácido ascórbico (vitamina C)(mg)	112	65	92	0	1

### 10.1.4 Uso medicinal

A comienzo del siglo XVI, en plena Conquista, en América Central se generó un proceso gradual de transculturización; una mezcla de lenguajes, razas, hábitos alimenticios, prácticas agrícolas y ganaderas, tradiciones, prácticas médicas, religiones, etc. Los antiguos médicos brujos, ahora conocidos como “curanderos” para sanar a sus pacientes empleaban cierta información empírica, aunque combinada mayormente con elementos de magia, superstición y religión (Ayala, 2002); (9). Todos estos “remedios” han sido pasados de generación en generación sin comprobar su base científica.

A continuación se mencionan algunos de los usos tradicionales del chipilín en la medicina popular:

- Alcoholismo: Afición obsesiva hacia las bebidas alcohólicas ocasionada por “enviciamiento” o por un “daño” (acto de brujería). En esta categoría podemos encontrar dolencias como la resaca, el asco y los vómitos amargos post-borrachera. Remedio: “Horchata” de 20 hojas frescas de “chipilín” (1/2 taza) más un trago de licor en ayunas (Ayala, 2002); (9).
- Envenenamiento: Ciertas sustancias o partes vegetales de determinadas plantas ocasionan leves o severas intoxicaciones y en algunos casos hasta la muerte. Remedio: raíz seca y triturada de “chipilín”, mezclada con las bebidas o comidas; “mata poco a poco” (Ayala, 2002); (9).
- Quemaduras: Descomposición de un tejido orgánico producida por el contacto con el fuego (calcinación), agua hirviendo (escaldadura) o sustancias cáusticas o corrosivas. Las quemaduras o “quemadas” pueden variar desde el simple enrojecimiento cutáneo superficial y la vesicación (“ampollamiento”) hasta la destrucción profunda de los tejidos. Remedio: macerar 3 “cogollos frescos” y hacer cataplasma varias veces al día (Ayala, 2002); (9).
- Esta planta también es utilizada como un antidiarreico infantil (Chízmar Fernández, 2009); (8), como somnífero para dormir bien y como vomitivo y purgante (Morton, 1994); (10).

## 10.2 *Cnidoscolus chayamansa*

La chaya (*C. chayamansa*) es un arbusto semiperenne y semileñoso, de hasta 5 m de altura, que se cultiva en climas cálidos subhúmedos, de 0 a 1000 m snm y requiere de suelos bien drenados; es tolerante a las lluvias fuertes y a la sequía intraestival. En México, su principal uso es como verdura, forraje y medicina; siendo sus hojas la parte más aprovechada (11); sin embargo, no se tienen datos precisos de producción, debido a que es una especie de traspatio (solar), que se encuentra asociada con otras en sistemas agroforestales.

Como que raras veces produce semillas, es mejor propagar la planta por estacas herbáceas y semileñosas de 10 a 40 cm de longitud, las cuales se cortan y entierran en la época seca del año, para evitar pudriciones por exceso de humedad. Al utilizar estacas, el crecimiento inicial de la parte aérea es rápido, pero el de las raíces es lento; por ello, las hojas se deben cosechar hasta el segundo año. Sus hojas se cosechan continuamente, siempre y cuando no se exceda el 50 % del follaje, para garantizar un crecimiento vegetal adecuado (12).



**Figura 2** Arbusto de chaya (*Cnidoscolus chayamansa*)

### 10.2.1 Taxonomía

Dentro de la familia de las Euphorbiaceae se encuentra la especie *Cnidoscolus chayamansa* Mc. Vaugh, (13) la cual es originaria del sur de México conocida y cultivada en Mesoamérica; que vulgarmente conocida como "chaya" es apreciada por su valor nutricional y medicinal; debido a su utilidad en el tratamiento del cáncer, gangrena, hipertensión, úlceras, diabetes mellitus, como diurético, reumatismo, trastornos gastrointestinales y procesos inflamatorios. (14).

**Tabla 3.** Tabla Taxonómica de *Cnidoscolus chayamansa*

Taxonomía	
<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden:</b>	<i>Malpighiales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Euphorbiaceae</i>
<b>Subfamilia:</b>	<i>Crotonoideae</i>
<b>Tribu:</b>	<i>Manihoteae</i>
<b>Género:</b>	<i>Cnidoscolus</i>
<b>Especie:</b>	<i>chayamansa</i>

### 10.2.2 Información botánica y etnobotánica.

La chaya es un arbusto cultivado en la región maya de Guatemala, Belice, el sureste de México y partes de Honduras (BDMTM, 2015); (15), (Figura 3). Pertenece a la familia Euphorbiaceae y el género *Cnidoscolus*, está compuesta por 50 especies de las cuales 20 son endémicas de México (Ross-Ibarra y Molina-Cruz 2002; Steinmann, 2002); (16). Aunque es poco conocida fuera de la región, existen evidencias que la chaya era una planta importante para los mayas de la península de Yucatán y Centroamérica.



**Figura 3** Distribución geográfica de *Cnidocolus* spp.  
Adaptado de Ross-Ibarra y Molina-Cruz, 2002. (16).

Las hojas de *C. chayamansa* son amplias de 3 o más lóbulos, mientras que sus flores son blancas. Las semillas y la fruta madura son raras y desconocidas, Figura 2 (Cifuentes et al., 2010); (17). El crecimiento de la planta es rápido, las hojas son comestibles y los brotes pueden ser producidos en corto período (de 8 a 10 semanas).

Dentro de sus usos etnomedicinales, las hojas de *C. chayamansa* son empleadas para curar la gripe, como diurético, contra procesos inflamatorios, energizante, laxante y para incremento de la memoria (Loera et al., 2001; Villareal-Ibarra et al., 2010); (19, 20). En los estados de Morelos y Tabasco, la chaya se emplea para el dolor de riñones, para bajar de peso, bajar los niveles de glucosa y colesterol en sangre y para tratar el alcoholismo (Bautista-Cruz et al., 2011); (21). El látex de la hoja es utilizada para tratar padecimientos oftálmicos como irritación, manchas en la córnea y lagunas en los ojos y la sabia del tallo es empleada contra piquetes de insectos, acné, erupciones de la piel y picadura de alacrán, aplicándola directamente sobre el área de la piel dañada (Valenzuela-Soto et al., 2015); (22).

### 10.2.3 Uso alimenticio

Por su valor nutricional (alto contenido de aminoácidos, proteínas y minerales), las hojas de *C. chayamansa* son muy empleadas en el sureste de México y Centroamérica para el consumo humano en preparación de platillos y bebidas, algunos ejemplos se describen en la Tabla 4 (Steinmann, 2002); (18).

**Tabla 4.** Tabla Preparación de platillos tradicionales a partir de *C. chayamansa*.

<b>Platillo y/o Bebida</b>	<b>Modo de Preparación</b>
Sopa de chaya	Las hojas tiernas se cuecen en caldo de pollo, res o “jute” (caracoles de ríos o lagos). Se condimentan con consomé
Recado de chatate**	Las hojas de la chaya cocidas, se pican y se fríen en aceite con jitomate y cebolla
Verduras de chaya	Las hojas cocidas se escurren del agua y se comen en taco con tortilla y chile
Chaya con huevo	A las hojas de chaya cocidas se le agrega huevo revuelto
Chaya con Pino	Se prepara el Pinol: se cuece el maíz agregando pimienta molida gorda, agua, achiote y tomillo. Las hojas de chaya cocidas se escurren y se agregan al pinol y crema
Chatate de arroz y/o frijo	Las hojas cocidas y picadas se agregan al arroz o a los frijoles.
Tamalitos de chaya	Las hojas de chaya cocidas y escurridas se agregan al recado. El recado se prepara con jitomate y cebolla finamente picada cocinada con pollo molido o carne molida. La masa se envuelve en hojas de plátano u hojas de mashan y se cuecen al vapor
Té de chaya	Las hojas de la chaya se cuecen por no más de 1 minuto. Se tomas 3 tazas al día para bajar los niveles de glucosa en sangre.
Boyas de chaya	Las hojas de chaya cocidas se pican y se agregan la masa de maíz (tuza) y se cocen.

\*Adaptada de Cifuentes et al. (2010) \*\*Nota del editor: En Guatemala y otros países de centro y Sudamérica, se usa “recado” para referirse a un aderezo. En México se usa “recaudo” para referirse a dicho aderezo.

#### **10.2.4 Valor nutricional.**

El interés por la chaya viene principalmente por su potencial nutricional. Al compararlo con otros alimentos destaca por su alto contenido de proteínas, carbohidratos, grasas, fibra, vitamina A, vitamina C, y calcio entre otros.

Se ha establecido que la chaya es nutricionalmente superior a otras hojas comúnmente consumidas como la lechuga y la espinaca. La chaya tiene casi dos veces más proteína que la espinaca, más del doble de carbohidratos y grasas saludables, y más de seis veces la cantidad de vitamina A, B1 y C.

**Tabla 5.** Composición por 100g de porción fresca de hojas comestibles de *cnidoscolus chayamansa*

	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Fibra	Ceniza	Calcio	Fósforo	Hierro	Actividad Vit. A	Vitamina B1	Vitamina B2	Niacina	Vitamina C	% Humedad	Energía, kcal
Planta	Gramos							Miligramos							
Chaya*	5.7	2.2	10	3	2.7	332	81	3.5	7.2	0.2*	0.4*	1.6*		79	84
Bledo**	3.7	0.8	7.4	1.5	2.1	313	74	5.6	1.6	0.05	0.24	1.2	65	86	42
Chipilín**	7	0.8	9	2	2.5	287	72	4.7	3	0.33	0.49	2		82	56
H. mora **	5	0.8	7	1.4	1.8	199	60	9.9	0.2	0.18	0.35	1	61	85	45
Calabaza **	1.6	0.4	3.4	1.5	1.6	127	96	5.8	0.8	0.14	0.17	0.6	46	90	30
Espinaca **	2.8	0.7	5	0.7	1.8	60	30	3.2	1.2	0.06	0.17	0.6	46	90	30
Acelga **	1.6	0.4	5.6	1	1.6	110	29	3.6	0.9	0.03	0.09	0.4	34	91	27
Lechuga **	1	0.1	3	0.5	0.4	16	23	0.4		0.05	0.03	0.3	7	96	13

\* Contenido promedio de 4 selecciones sembradas a 20 msnm (Masagua Escuintla), Analizado cada una por lo menos en duplicado. \*\*Tomado de INCAP-ICNND, 1961. (Cifuentes et al. 1998); (27).

## 10.2.5 Investigación Fitoquímica de *C. chayamansa*

Desde el punto de vista químico, en las hojas y tallos de esta especie se ha descrito la presencia de proteínas y vitaminas como tiamina, niacina, riboflavina, retinol, beta caroteno y ácido ascórbico; minerales (calcio, hierro, fósforo, potasio, magnesio, sodio, manganeso, zinc y cobre); proteínas conformadas por aminoácidos como alanina, arginina, glutamato, glutamina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina y valina; por el contenido de estos aminoácidos es que se le atribuye alto valor nutricional a la especie. En el aceite esencial de las hojas se ha reportado la presencia de ácidos grasos como palmítico, esteárico, oleico, mirístico, araquidónico, láurico y linoléico. Además, en las hojas se ha descrito la presencia de flavonas como quercetina, kampferol, amentoflavona, astragalina (kamperol-3-O-rutinósido), cumarina, naringenina, rutina, catequina, ácido protocatéquico y dihidromirecetina; así como también metabolitos secundarios altamente tóxicos entre los que destacan los glucósidos cianogénicos como la linamarina, taninos, saponinas y polímeros de lignina, que se eliminan mediante el proceso de cocción (Cáceres et al., 2010; Kuti y Kuti, 1999; Jiménez-Arellanes et al., 2014; Jimoh et al., 2009; Valenzuela-Soto et al., 2015); (22-26).

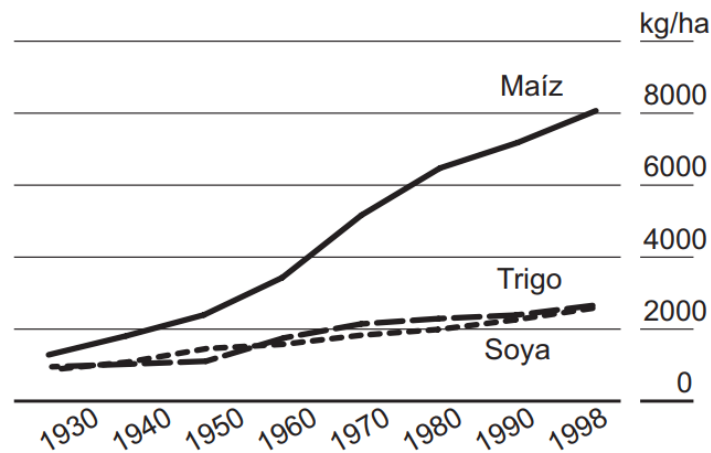


### 10.3 Uso de fertilizantes

La aplicación de fertilizantes químicos incrementa los rendimientos de los cultivos y la calidad de los productos cosechados. Los agricultores saben que al momento de calcular las fórmulas óptimas de fertilización, deben considerar muchos factores,

Los fertilizantes proveen nutrientes que los cultivos necesitan. Con los fertilizantes se pueden producir más alimentos y cultivos comerciales, y de mejor calidad. Con los fertilizantes se puede mejorar la baja fertilidad de los suelos que han sido sobreexplotados. Todo esto promoverá el bienestar de su pueblo, de su comunidad y de su país.

Los nutrientes que necesitan las plantas se toman del aire y del suelo. Esta publicación trata solamente los nutrientes absorbidos del suelo. Si el suministro de nutrientes en el suelo es amplio, los cultivos probablemente crecerán mejor y producirán mayores rendimientos. Sin embargo, si aún uno solo de los nutrientes necesarios es escaso, el crecimiento de las plantas es limitado y los rendimientos de los cultivos son reducidos. En consecuencia, a fin de obtener altos rendimientos, los fertilizantes son necesarios para proveer a los cultivos con los nutrientes del suelo que están faltando. Con los fertilizantes, los rendimientos de los cultivos pueden a menudo duplicarse o más aún triplicarse (Figura 4). (28).



**Figura 4** Rendimientos de cultivos en los Estados Unidos de América, de 1930 a 1998

## 10.4 Alternativas de fertilizantes no convencionales.

En los países en desarrollo, la mayoría de los agricultores activos del sector de producción de alimentos son agricultores de pequeña escala que forman parte de la pobreza rural. La introducción de nuevos sistemas agrícolas y de tecnologías mejoradas es muy importante para ellos, dado que la mejora de la productividad resulta no sólo en más alimentos sino también en más ingreso.

En consecuencia, las actividades agrícolas tienen dos objetivos principales:

- Suministrar a la población creciente de su país (o también a la de otros países) con las cantidades crecientes de alimentos y de fibras necesarias.
- Proveer un ingreso satisfactorio para el agricultor y su familia.

Es difícil estimar exactamente la contribución de los fertilizantes minerales al aumento de la producción agrícola, debido a la interacción de muchos otros factores importantes. No obstante, los fertilizantes continuarán a jugar un papel decisivo, y esto sin tener en cuenta cuáles tecnologías nuevas puedan aún surgir.

Antes de pensar en la aplicación de los fertilizantes, todas las fuentes disponibles de los nutrientes deberían ser utilizadas, por ejemplo excrementos de vaca, de cerdos, de pollos, desperdicios vegetales, paja, estiba de maíz y otros materiales orgánicos. Sin embargo, éstos deberían ser convertidos en abono y ser descompuestos antes de su aplicación en el suelo. Con la descomposición del material orgánico fresco, por ejemplo paja de maíz, los nutrientes del suelo, particularmente el nitrógeno, serán fijados provisionalmente; de este modo no son disponibles para el cultivo posterior. Aun cuando el contenido de nutriente del material orgánico sea bajo y variable, el abono orgánico es muy valioso porque mejora las condiciones del suelo en general. La materia orgánica mejora la estructura del suelo, reduce la erosión del mismo, tiene un efecto regulador en la temperatura del suelo y le ayuda a almacenar más humedad, mejorando significativamente de esta manera su fertilidad. Además la materia orgánica es un alimento necesario para los organismos del suelo.

El abono orgánico a menudo crea la base para el uso exitoso de los fertilizantes minerales. La combinación de abono orgánico / materia orgánica y fertilizantes minerales (Sistema Integrado de Nutrición de las Plantas, SINP) ofrece las condiciones ambientales ideales para el cultivo, cuando el abono orgánico / la materia orgánica mejora las propiedades del suelo y el suministro de los fertilizantes minerales provee los nutrientes que las plantas necesitan.

No obstante, el abono orgánico / la materia orgánica por sí solo no es suficiente (y a menudo no es disponible en grandes cantidades) para lograr el nivel de producción que el agricultor desea. Es donde nace la inquietud de buscar alternativas para combatir el déficit y esto sea rentable. (28).

## **10.6 Propiedades de *C. longirostrata* y *C. chayamansa* como promotoras de crecimiento.**

*C. longirostrata* y *C. chayamansa* han sido objeto de interés científico significativo por la gran cantidad de compuesto que estas contienen y se ha demostrado que los extractos de estas plantas tienen una acción medicinal, por lo que son una alternativa potencial para posibles aplicaciones biotecnológicas. Existen diversos reportes donde demuestran que los extractos acuosos de diferentes plantas tienen acción antimicrobial, antifúngicas o como control de diferentes malezas, sin embargo y dependiendo del tipo de planta, al implementar diversos extractos en el proceso de germinación de semillas se demuestra que existe pocas diferencias significativas. (29).

Los extractos vegetales han sido promovidos como alternativas a fármacos y agroquímicos por considerarse que presentan menores efectos residuales y colaterales. Uno de los usos de estos extractos es como biocidas generales, que se definen como sustancias químicas de origen natural que pueden destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control sobre otros organismos. (30).

## **10.5 Síntesis de Fitonanopartículas**

El National Institute of Health (NIH) de los Estados Unidos de América define la nanotecnología como la creación de materiales funcionales, dispositivos y sistemas a través del control de la materia a escala de 1 a 100 nanómetros y la explotación de propiedades novedosas y fenómenos a esa misma escala (31). En los últimos años, el uso de plantas como fuente de compuestos bioactivos para la reducción de nanopartículas de diferentes metales ha llamado la atención, debido a la eliminación de reactivos dañinos y la síntesis efectiva de los productos esperados a través de un método económico. (32).

En general, la síntesis de Fitonanopartículas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de los siguientes componentes:

- Precursor metálico
- Agente reductor (compuestos bioactivos presentes en extracto acuoso de la planta)
- Agente estabilizante (compuestos bioactivos presentes en extracto acuoso de la planta)

El interés sobre las especies químicas de tamaño nanométrico es una de las áreas de trabajo más importantes de la investigación en química debido, fundamentalmente, a la gran variedad de nuevas propiedades y potenciales aplicaciones que se explotan en diversos campos (33).

## 10.5.1 Técnicas de Caracterización de las Fitonanopartículas

### Espectroscopia UV-Vis

La espectroscopia describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética, y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada por una longitud de onda ( $\lambda$ ), una frecuencia ( $\nu$ ) o una energía ( $E$ ); la relación existente entre ellas está dada por la ecuación de Planck (34).

El instrumento usado en la espectrofotometría ultravioleta-visible se denomina espectrofotómetro UV-Vis, y permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto con una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia (34).

### Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es el mejor método adaptado al estudio de la morfología de las superficies. A diferencia de un microscopio óptico que utiliza fotones del espectro visible, la imagen entregada por el SEM se genera por la interacción de un haz de electrones que "barre" un área determinada sobre la superficie de la muestra.

La técnica esencialmente consiste en hacer incidir en la muestra un haz de electrones. Este bombardeo de electrones provoca la aparición de diferentes señales que, captadas con detectores adecuados, nos proporcionan información acerca de la naturaleza de la muestra. (35).

## 10.6 Toxicidad en Plantas

Dentro de los elementos esenciales, los metales han cumplido un papel importante en el curso de la evolución por sus propiedades químicas, como la de intervenir en reacciones químicas de transferencia de electrones (reacciones de óxido-reducción) dentro de las células, por ejemplo el cobre y el hierro, o la posibilidad de formar, con otras moléculas, compuestos que intervienen en diversos procesos fisiológicos de los organismos, entre otras. Pero estas mismas propiedades químicas que vuelven a los metales indispensables para la vida los pueden transformar en tóxicos cuando se encuentran en exceso, y el límite entre uno y otro caso es una brecha muy delgada.

Además, el resto de los metales presentes en la superficie terrestre que no cumplen funciones biológicas en las plantas, como el cadmio, el mercurio o el plomo, entre otros, son potencialmente tóxicos, aun cuando se encuentran en concentraciones pequeñas. (36).

La disminución del crecimiento y el amarillamiento de las hojas (clorosis) son los síntomas más visibles en las plantas que crecen en suelos con alta concentración de metales. Frecuentemente la toxicidad es provocada por la similitud de los metales con otros elementos esenciales, que los reemplazan en sus funciones. Interfieren con diversas moléculas (especialmente de proteínas, lípidos y nucleótidos) bloqueando sus grupos funcionales, modificando su conformación o simplemente alterando su integridad. Entre las causas involucradas en la toxicidad por metales se destaca el estrés oxidativo que ocurre como consecuencia del desbalance entre la generación de especies activas del oxígeno que surgen durante su transformación en agua (reducción) y la capacidad de la célula de evitar su acumulación.

Esta reducción parcial de una molécula de oxígeno conlleva la generación de especies activas como el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo ( $HO^\cdot$ ), que se caracterizan por poseer un alto poder oxidante capaz de dañar moléculas esenciales para la vida como las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos. Los metales pueden conducir al incremento de los niveles de especies activas del oxígeno a través de diferentes mecanismos (37).

## 11. Procedimiento y descripción de las actividades realizadas

### 11.1 Material vegetal

Se utilizaron para la obtención del extracto acuoso las hojas de *C. longirostrata* y *C. chayamansa*. Se secaron a la luz del sol por 3 días, posteriormente el material que se requeriría para el extracto acuoso se sometió a 50°C en un horno por lo menos 6 horas, para poder eliminar todo rastro de contaminantes externo. Después se trituró hasta un tamaño reducido y uniforme.



**Figura 5** Hojas secas y trituradas de chipilín de *C. longirostrata* (a) y *C. chayamansa* (b).

### 11.2 Preparación del extracto acuoso

Del material vegetal procesado, se preparó el extracto acuoso, tomando en una relación 1:10 (p/v) de material triturado con agua purificada en un matraz erlenmeyer dejándolo en agitación a 150 rpm durante 24 horas.

Posteriormente se filtró con una gaza, separando así el material vegetal sobrante del extracto. Después se pasó el extracto obtenido a tubos cónicos de 15 mL y se realizó una centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos.

### 11.3 Preparación de las soluciones metálicas

#### Sulfato Cúprico ( $\text{CuSO}_4$ )

Para la solución de sulfato cúprico a una concentración de 10 mM, a una base de 100, se pesó 0.156 g reactivo en un matraz y se aforo a 100 mL.

## **Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>)**

Para preparar la solución de sulfato de zinc a una concentración de 10 mM, a una base de 100, se pesó 0.1613 g de sulfato de cobre en un matraz y se aforo a 100 mL.

## **Síntesis de las Fitonanopartículas**

Para la síntesis se empleó la técnica utilizada por (Ali y col, 2016); (38), donde se utiliza una relación 1:4 (v/v) de extracto acuoso con las respectivas soluciones metálicas. Una vez mezclados el extracto y los metales se calientan a baño maría a 60°C por 30 min.

## **11.4 Caracterización de las Fitonanopartículas**

### **Espectroscopia UV - Visible**

Para estudiar el comportamiento de las muestras y confirmar la síntesis de las nanopartículas, las muestras se analizaron en un espectrofotómetro Uv-vis DR 6000 HACH en una longitud de onda de 700 nm. Las muestras fueron diluidas 1:10 con agua destilada antes de leerlas al espectrofotómetro y se utilizó como blanco para cada Fitonanopartículas las soluciones de metales correspondientes a cada una.

### **Microscopia Electrónica de Barrido**

Para la caracterización del tamaño y morfología de las partículas se utilizaron diferentes equipos, en particular para su tamaño se utilizó el Microscopio electrónico de barrido, y para medir su tamaño en su forma coloidal se utilizó el equipo Nanotrak. Ambos análisis fueron realizados por el Instituto de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, en Mexicali, Baja California.

### **Cuantificación de Fenoles totales.**

Para saber la concentración de fenoles totales en las nanopartículas y en los extractos acuosos se realizó la técnica descrita por Singlenton et al., (1999); (39). A 20 µL de la muestra a analizar, se le agregan 1.5 mL de agua destilada, 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se agregan 300 µL de solución de carbonato de sodio al 20%, se deja reposar por 2 horas a temperatura ambiente o a 30 minutos a 40°C.

Posteriormente se mide la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro HACH® DR 6000. Se realiza una curva estándar de ácido gálico a diferentes concentraciones a partir de una solución patrón de 1mg\*mL<sup>-1</sup>. El contenido de fenoles totales se expresan como mg equivalentes de ácido gálico\*mL<sup>-1</sup>.

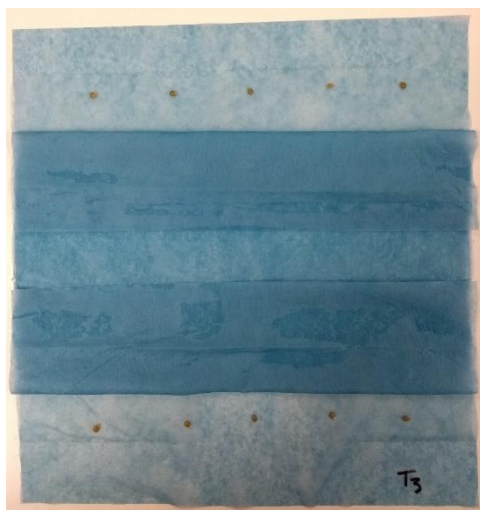
## Cuantificación de Fenoles totales

Los flavonoides totales fueron determinados por el método desarrollado por Zhishen et al (1999), (40); una alícuota de 250  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra fue mezclada con 1000  $\mu\text{L}$  de agua desionizada; inmediatamente después se añadió 75  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}$  y se dejó reaccionar 5 minutos. Posteriormente, 75  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}$  al 10 % fue adicionado y 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1 M. La mezcla fue centrifugada a 3500 r.p.m. durante 5 minutos. Los flavonoides totales fueron expresados en mg CAT/100 g de muestra. Las absorbancias fueron medidas a 510 nm.

## 11.5 Evaluación Biológica de las Fitonanopartículas

Para la evaluación de la actividad biológica de las fitonanopartículas, estas se probaron con semillas de diferentes plantas para observar si inducían o no el crecimiento de las plantas. Los parámetros que se determinaron fueron % de germinación, longitud de germinación, viabilidad celular, % de células muertas, severidad y actividad enzimática.

En papel secante, se colocaron 10 semillas de tomate (figura 6), dispersas en el papel y 30 de lechuga, con una repetición para cada tratamiento. Durante una semana se monitoreo la germinación y el largo de la radícula expuesta.



**Figura 6** Semillas de Tomate dispersas en papel secante.

Para cuantificar la viabilidad celular, el porcentaje de células muertas y severidad se utilizó la técnica de tinción vital usando azul de Evans y modificaciones (41, 42). Se seleccionaban 5 raíces aleatoriamente y en cajas Petri desechables se colocaban junto con la solución de azul de Evans, previamente preparada, al 0.1% y se dejaba teñir por 20 minutos.



Posteriormente, las raíces se retiraron de la caja y se lavaron con agua destilada y una vez limpias se sumergían en una solución extractora de SDS al 1% diluida en metanol al 50% y se incubó durante 40 minutos a baño maria a 65° C. Después se centrifugo a 3000 rpm por 15 minutos. El sobrenadante se guarda y la pastilla se le adiciona 2 ml de solución extractora y se repite lo anterior hasta llegar a un volumen final de 8 mL. Se lee la absorbancia a 600 nm y simultáneamente se hace un tratamiento con una raíz sometida a 70°C como control 100% de muerte celular. El blanco fue la solución extractora de SDS.

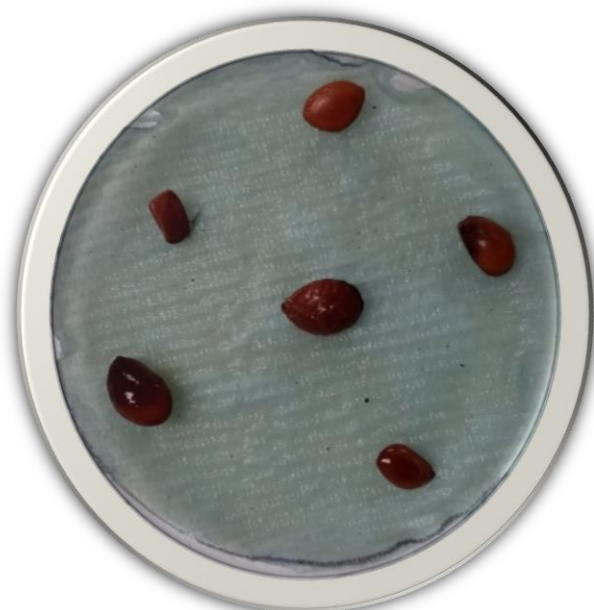
Para los cálculos de viabilidad celular y %de células muertas se utilizó la siguiente formula;

$$\% \text{ Cel. Muertas} = \frac{AV}{AM} * 100$$

*Viabilidad* = 100 – % *Cel. Muertas*

AV= Abs del tratamiento  
AM= Abs 100% muerte.

Para medir el parámetro de severidad y actividad enzimática se realizó el mismo experimento pero en cajas Petri con hojas de papel secante, colocando 5 semillas de mezquite (*Prosopis juliflora*) en las cajitas, se regaron con cada solución de los respectivos tratamientos, durante una semana. (Figura 7).



**Figura 7** Semillas de Mezquite (*Prosopis juliflora*).

La severidad se representó en una proporción (%) de la altura total de la planta, de acuerdo con la fórmula propuesta por Aduraola et al (2000), la cual no requirió de transformación de datos.

$$SE(\%) = \frac{\text{Suma de los valores de las lesiones}}{(\text{No. total de valores})(\text{Valor maximo en lesiones})}$$

La actividad de la enzima peroxidasa se realizó por la técnica descrita por Frick (1976) mediante el método continuo usando como sustrato guayacol y peróxido de hidrogeno. La extracción de la enzima consistió en 0.2 g de muestra seca a la cual se le añadió 5 ML del buffer de extracción (Tris-HCl a 100 Mm con 1% polivinilpirrolidona, pH 7.1) y se homogenizo por 30 segundos, posteriormente se centrifugo a 10,000 rpm por 20 min a 4°C. El sobrenadante se usó para el ensayo, en el cual se colocaron 2.60 mL de buffer de ensayo (Tris-HCl 100 mM, pH 7.1), 50 µL del sobrenadante, 250 µL de guayacol 0.1 M directamente en la celda espectrofotométrica y dentro de ahí se le añadieron 100 µL de peróxido de hidrogeno al 25%. Se tomó la variación de densidad óptica en el tiempo ( $\Delta DO$ ) / ( $\Delta$ ), durante 3 minutos a intervalos de 15 segundos.

El cálculo de la actividad enzimática para este método continuo se realizó según la siguiente ecuación, donde se definió como una unidad de actividad enzimática equivalente al cambio de absorbancia por minuto, reportándose como actividad específica (U.mg<sup>-1</sup> de proteína)

$$\text{Actividad enzimatica} = \frac{\Delta DO}{\Delta t} * \frac{1}{K} * \frac{V_{ens}}{V_{enz}} * dil.$$

Donde:

K= Coeficiente de extinción molar del guayacol que es  $5570 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$

Vens= Volumen del ensayo

Venz= Volumen de enzima

Dil= Dilución de la Muestra

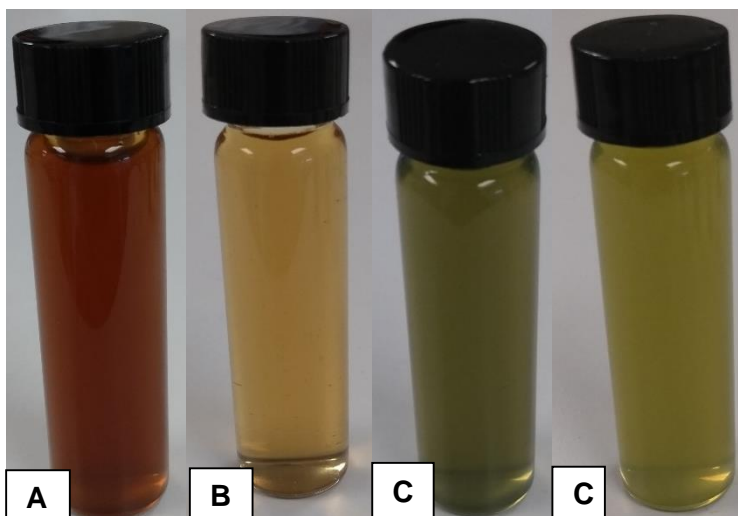
$\Delta DO$ = Diferencia entre la densidad óptica inicial y final

$\Delta t$ = Diferencia entre el tiempo inicial y final

## 12. Resultados.

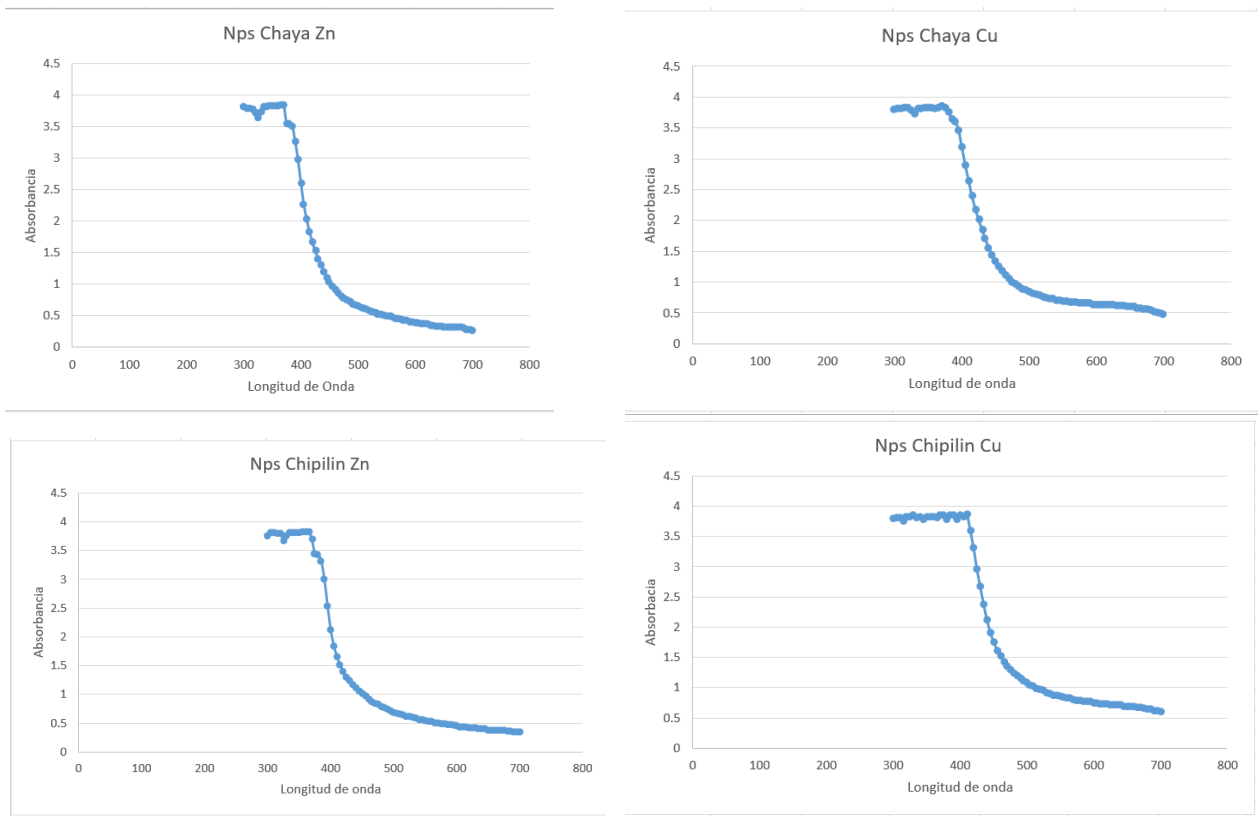
### 12.1 Caracterización de las Fitonanopartículas

Uno de los primeros puntos que confirmaron la síntesis de las nanopartículas fue el cambio de color de las soluciones, posterior al baño maría. En todos los tratamientos hubo un cambio de un color oscuro a un color más claro tornándose verdoso en las nanopartículas de Cu y más claro en las de Zn (Figura 8).



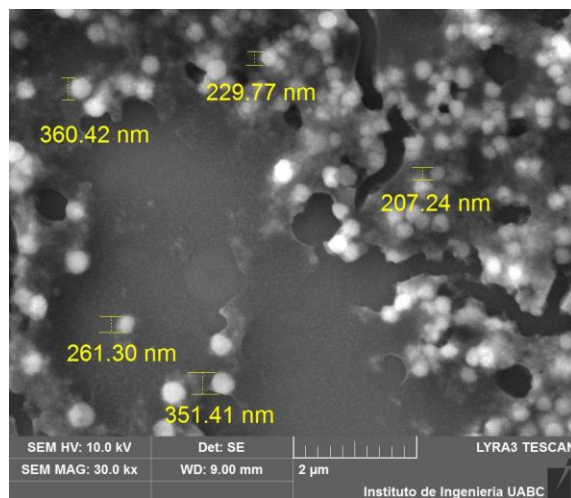
**Figura 8** Nps de Chipilín; A) Zn antes de la reacción; B) Zn después de la reacción; C) Cu antes de la reacción; D) Cu después de la reacción.

En conjunto con esto, lo que corrobora la síntesis son los datos obtenidos por la espectroscopia Uv-vis, mostrando bandas de absorción característica, en el caso de la chaya, las de Zn tuvieron picos en 365 y 670 nm, y en las de Cu fueron en 315, 350 y 370 nm. Para el caso de las de chipilín, las de Zn presentaron los picos de absorción en 310, 360 y 660 nm, y para el caso de las de Cu mostraron picos en 305, 325, 355, 370, 385 y 405. Según reportes mostrados (43) con partículas metálicas, donde picos característicos de absorbancia se encuentran entre los 300 a 600 nm, confirmarían la síntesis de las nuestras. (Grafica 1).



**Grafica 1** Bandas de absorbancias de las Nps de chipilin (*crotalaria longirostrata*) y chaya (*cnidoscolus chayamansa*)

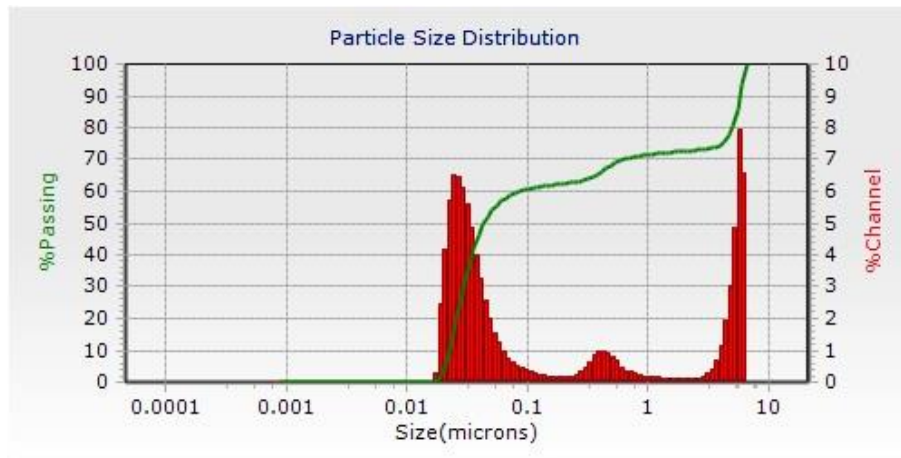
La microscopía electrónica de barrido (SEM), mostro la formación de aglomerados nanometricos, oscilando en tamaños de entre 200 a 360 nm, como se aprecia en la figura 9. Esto, en la bibliografía () marca que son tamaños adecuados para que las nanoparticulas conformen el orden nanomeric.



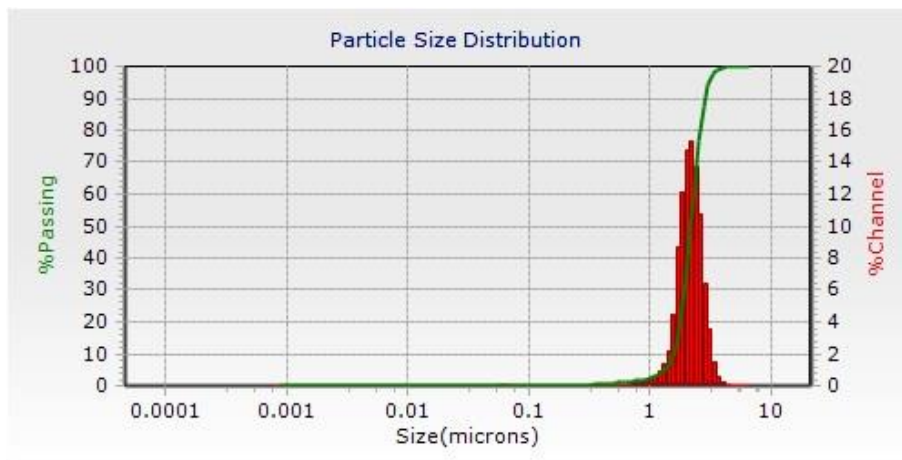
**Figura 9** Tamaño de las Nps de Chaya Zn en suspensión coloidal

Para el análisis de Dispersión de Luz Dinámica (DLS), las nanopartículas en forma coloidal mostraron picos entre los 100 nm hasta poco menos de 10 micras, como se ve en la gráfica 2 evidenciando que, en esta suspensión, las partículas reducidas forman aglomerados o nanocompositos a diferencia de la microscopia electrónica, donde se puede observar claramente el tamaño de las partículas individualmente. Esto nos mostraría los diferentes comportamientos de las nanopartículas en diferentes presentaciones.

Además, de poder observar claramente las diferencias de tamaños de los compuestos que están inmerso en la suspensión de nanopartículas, en comparación al extracto de chaya (Grafica 3), donde se observa más homogeneidad de tamaños en el rango de 1 micra. Esto podría ser claramente los compuestos propios del extracto, encargados en reducir a las partículas metálicas en la suspensión coloidal.

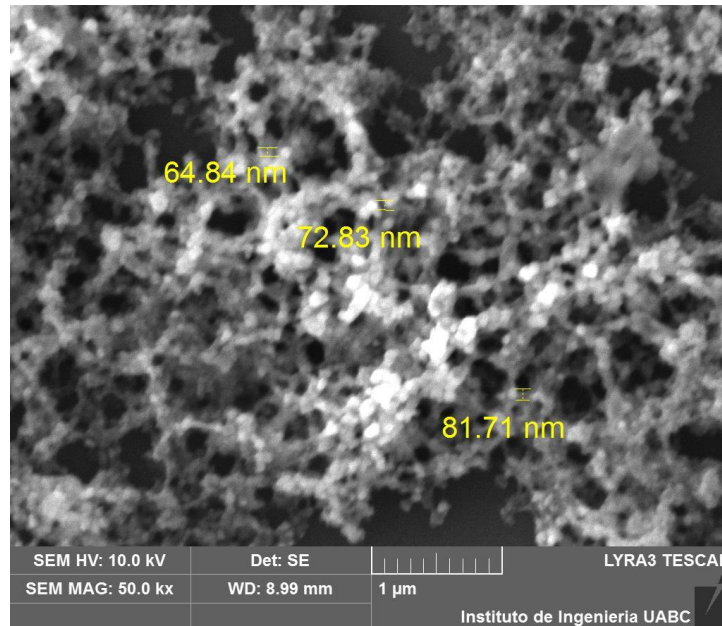


**Grafica 2** Tamaño de las Nps de chaya Cu, en su forma Coloidal.



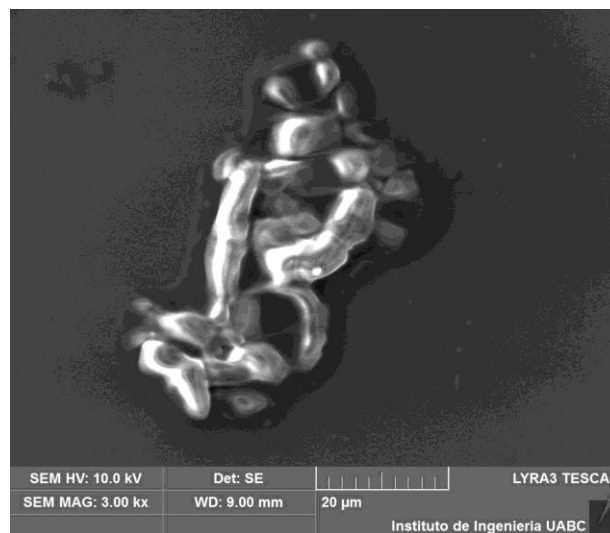
**Grafica 3** Tamaño de partícula en forma coloidal del extracto de Chaya (*cnidoscolus chayamansa*)

Por parte de las Nanopartículas de Chipilín, los tamaños de partículas mostradas en la microscopía electrónica se encuentran en el rango de entre 60 a 80 nm, mostrando tamaños más adecuados para incluirse en el orden de los nanomateriales, en comparación con las de chaya. (Figura 10)



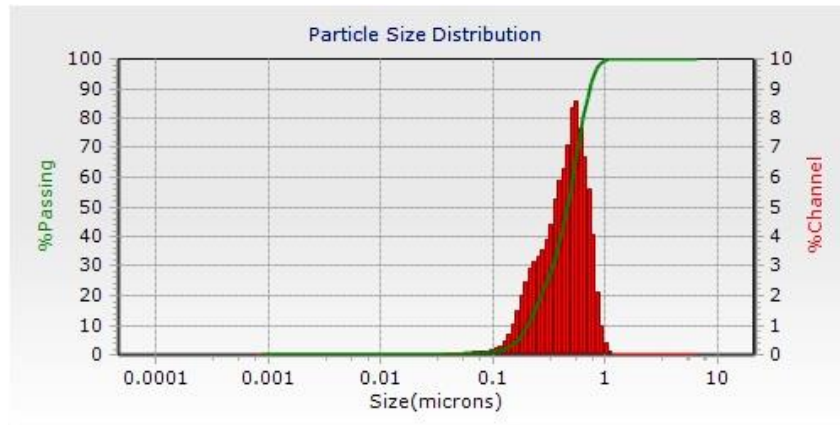
**Figura 10** Tamaño en suspensión coloidal de Nps de chipilín Cu.

Además, en esta forma, las nanopartículas de Zn presentaron también aglomeraciones nanométricas, que se pudieron observar en la figura 11. Este comportamiento podría ser debido a los metabolitos disponibles en el extracto acuoso, ya que son los encargados en reducir a las partículas metálicas.



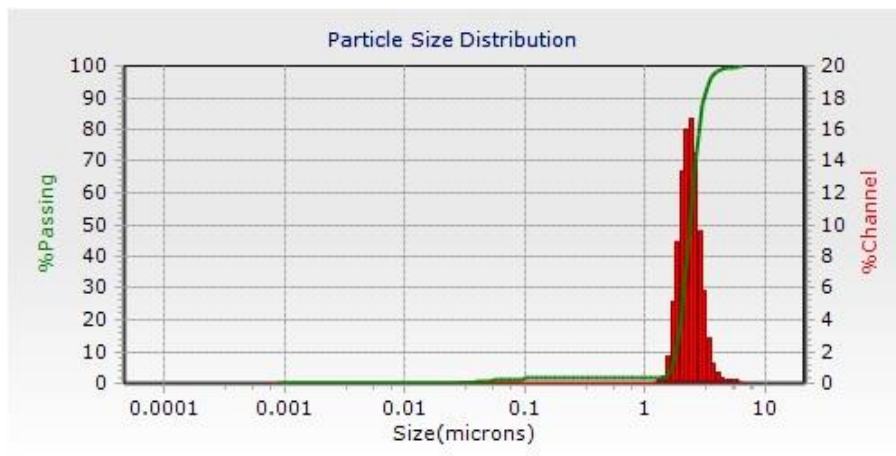
**Figura 11** Nps de chipilín Zn

A pesar de esto, las nanopartículas se comportaron de la misma manera en forma coloidal, dando como resultado partículas más estables en diferentes formas. Los tamaños que conforman las nanopartículas de Zn, como las de Cu, fueron entre 0.1 a 1 micra, dando mayor homogeneidad de tamaño en sus aglomeraciones coloidales (Grafica 4).



**Grafica 4** Tamaño en forma coloidal de las Nps de Chipilín Zn

Al igual que las de chaya, las de chipilín muestran tamaños de muestras menores que su respectivo extracto (Grafica 5), de esta forma podemos estar seguros de la formación de complejos nanométricos en las nanopartículas, tanto de Cu como las de Zn.



**Grafica 5** Tamaño de partículas en extracto acuoso de chipilín

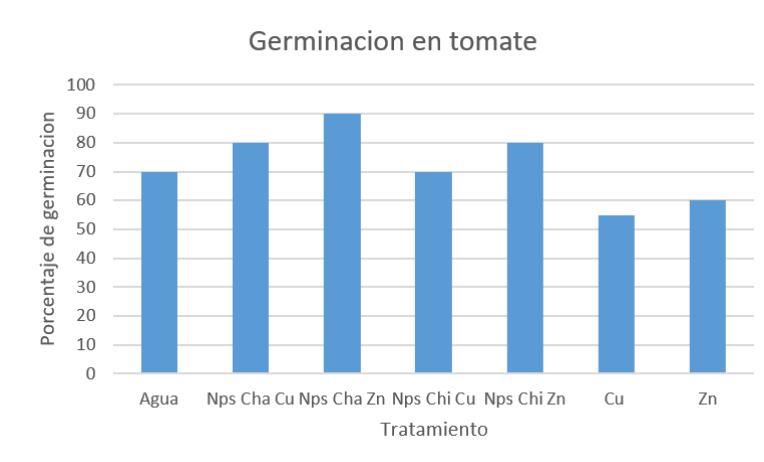
Por parte, el análisis para cuantificar la cantidad de fenoles totales y flavonoides demostró la capacidad reductora de estos compuestos, como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 5.** Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales en muestras de fitonanopartículas y extractos acuosos de chipilín (*crotalaria longirostrata*) y chaya (*cnidoscolus chayamansa*)

Muestra	Fenoles mg de ácido gálico*mL-1.	Flavonoides mg CAT/100 g
Extracto Chaya	4.591836735	0.774566474
Nps Chaya Cu	1.693877551	0.341040462
Nps Chaya Zn	3.693877551	0.161849711
Extracto Chipilín	4.775510204	0.936416185
Nps Chipilín Cu	2.591836735	0.156069364
Nps Chipilín Zn	3.265306122	0.080924855

## 12.2 Evaluación Biológica de las Fitonanopartículas

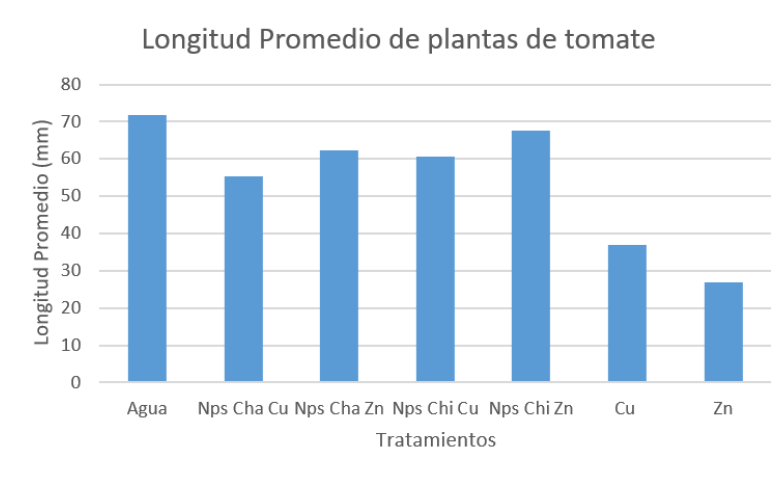
Para la evaluación biológica, se tuvieron como tratamientos las 4 fitonopartículas, las 2 soluciones de metales, como controles negativos y un control positivo que fue agua destilada. Para las plantas de tomate, el tratamiento que mejor tubo resultado fueron las fitonanopartículas de Chaya Zn, teniendo un 90% de germinación, 20% más de germinación en comparación con el control positivo (agua). Además, al comparar con las semillas tratadas con la solución de metal, hubo un 35% más germinación, demostrando así que las fitonanopartículas tienen una importante efectividad en el proceso de germinación en plantas de tomate. (Grafica 6).



**Grafica 6** Efecto de fitonanopartículas en germinación de plantas de tomate.

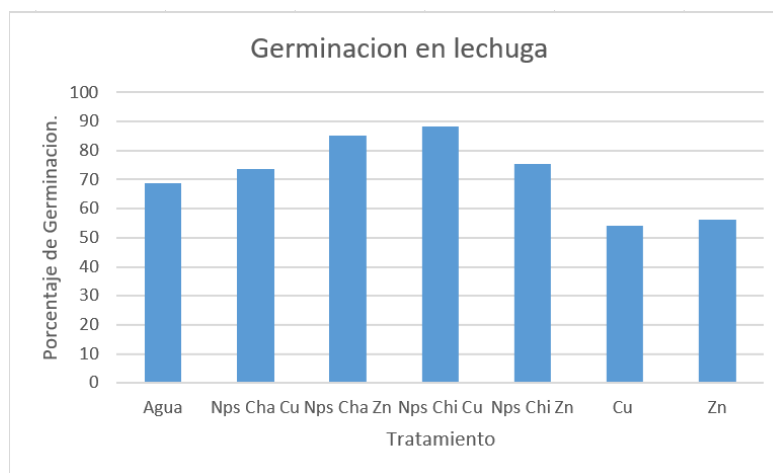


Al comparar estos resultados con la longitud promedio que tuvieron las plantas de tomates tratadas, los resultados muestran el efecto que tendrían estas fitonanopartículas a largo plazo. Las plantas que fueron tratadas con agua, tuvieron una longitud mayor a las que se trataron con las soluciones de nanopartículas. Las de chipilín Zn son las que tuvieron un mejor efecto en la elongación de la planta, además no existe diferencia significativa entre las nanopartículas de chipilín y chaya, teniendo resultados similares. Además, cabe resaltar, que los resultados están muy por encima de las soluciones metálicas, favoreciendo aún más la hipótesis. (Grafica 7).



**Grafica 7** Longitud promedio de plantas de tomates.

En el caso de la lechuga, el tratamiento que mejor tubo resultado fue las Nanopartículas de Chipilín Cu, dando cerca de 90% de germinación de las plantas tratadas con estas soluciones. En ambos casos, se pudo comprobar el efecto que tienen las nanopartículas de ambas plantas en el proceso de germinación, arrojando datos prometedores para esta línea. (Grafica 8).



**Grafica 8** Efecto de Fitonanopartículas en germinación de plantas de lechuga

