

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Cu EN  
HIDROGELES DE QUITOSÁN-PVA SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA Y  
COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL CHILE JALAPEÑO

**TESIS**

Que presenta ZEUS HUITZILOPOCHTLI PINEDO GUERRERO  
Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Diciembre, 2016

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Cu EN  
HIDROGELES DE QUITOSÁN-PVA SOBRE LA CALIDAD  
POSCOSECHA Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL CHILE  
JALAPEÑO

Tesis

Elaborada por ZEUS HUITZILOPOCHTLI PINEDO GUERRERO  
como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias  
en Horticultura con la supervisión y aprobación del Comité de  
Asesoría

Dr. Antonio Juárez Maldonado  
Asesor Principal

Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Asesor

Dra. Hortensia Ortega Ortiz  
Asesor

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes  
Asesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Subdirector de Postgrado  
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre, 2016

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para realizar mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme abierto sus puertas.

Al programa de la Maestría en Ciencias en Horticultura.

Al Dr. Antonio Juárez Maldonado por brindarme todo su apoyo, asesoría y tiempo para el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza por su apoyo, tiempo y asesoría.

A la Dra. Hortensia Ortega Ortiz por su apoyo, tiempo y asesoría.

A la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes por su apoyo, tiempo y asesoría.

A la LCQ Irma Oralia Solís De la Peña por su apoyo en la determinación de los minerales por espectroscopia de emisión de plasma (ICP)

Al M.C. Hipólito Hernández Hernández por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo así como por su amistad.

A la M.C. Paola Catalina Leija Martínez por su apoyo brindado en el laboratorio.

A todos los profesores del programa de la Maestría en Ciencias en Horticultura por sus enseñanzas y orientación durante mi estancia en la Maestría.

A todos los compañeros y trabajadores que colaboraron para el desarrollo de este trabajo.

## **DEDICATORIAS**

A mi esposa Valeria que estuvo a mi lado, apoyándome durante este tiempo a pesar de la distancia.

A mis padres por su apoyo, cariño, por enseñarme a cumplir mis metas en esta vida y no flaquear a pesar de lo difícil que esto parezca.

## Índice General

	No. Página
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Resumen	viii
Abstract	x
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	3
Objetivos Especificos	3
Hipotesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
El cultivo del chile	5
Morfología del chile	5
Valor nutritivo del chile	6
Importancia nutraceutica del chile	6
Nanotecnología	7
Nano partículas	10
Antioxidantes	10
Actividad antioxidante	13
Mecanismos de reacción de los antioxidantes	14
Radicales libres	14
Compuestos Fenolicos	16
Flavonoides	17
MATERIALES Y METODOS	19
Síntesis de hidrogeles de quitosan-polivinil alcohol y absorción de nanoparticulas	19
Desarrollo experimental	20
Variables de crecimiento y producción de chile jalapeño	21
Almacenamiento de chile jalapeño	21
Análisis fisicoquímicos	21

Análisis funcionales	22
Análisis estadístico	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	39
REFERENCIAS	40

## Lista de Cuadros

Tabla 1	Plantas de chile jalapeño tratadas con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu.	27
Tabla 2	Comportamiento de la Acidez titulable (% Ácido Cítrico) durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ y 80% HR).	29
Tabla 3	Comportamiento de los Solidos Solubles Totales (°Brix) durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ y 80% HR)	31
Tabla 4	Comportamiento de la Acidez titulable (% Ácido Cítrico) durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ y 80% HR)	33
Tabla 5	Comportamiento del pH durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ y 80% HR)	35
Tabla 6	Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH, Fenoles Totales y Flavonoides en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ y 80% HR) por 15 días	38

## Resumen

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE Cu EN  
HIDROGELES DE QUITOSÁN-PVA SOBRE LA CALIDAD POSCOSECHA Y  
COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL CHILE JALAPEÑO

POR

ZEUS HUITZILOPOCHTLI PINEDO GUERRERO  
MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO - ASESOR

Saltillo, Coahuila

Diciembre, 2016



## Resumen

Los chiles son consumidos en todo el mundo ya que aportan sabor, aroma y color a los alimentos. Además de su importancia sensorial juegan un rol relevante en la salud humana, ya que contienen una alta concentración de compuestos biofuncionales y antioxidantes, Los tratamientos utilizados fueron: un testigo absoluto, Cs-PVA solo, y cuatro tratamientos con 0.02, 0.2, 2 y 10 mg (nCu) g<sup>-1</sup> (Cs-PVA). La aplicación de nCu afecta el crecimiento de la planta sobre todo en concentraciones altas, pero aumenta el número de frutos y el peso promedio de estos. Además disminuye la pérdida de peso de los frutos almacenados durante 30 días tanto en refrigeración como a temperatura ambiente. Incrementa también la cantidad de sólidos solubles totales en frutos almacenados a temperatura ambiente durante 15 días. En general la aplicación de nano partículas de Cu en hidrogeles que quitosán-PVA aumenta el contenido de antioxidantes ABTS y DPPH, fenoles totales y flavonoides (4, 6.6, 5.9 y 12.71% respectivamente) en los frutos de chile jalapeño almacenado por 15 días a temperatura ambiente. Mientras que en refrigeración aumenta antioxidantes DPPH, fenoles totales y flavonoides (23.9, 1.54 y 17.2% respectivamente). La aplicación de nanopartículas de Cu en hidrogeles de quitosán-PVA aún y cuando se aplican al sustrato no solo tiene efecto en el desarrollo del cultivo de chile, sino que también modifican las características de poscosecha de los frutos de chile jalapeño.

**Palabras clave:** compuestos bioactivos, chile jalapeño, poscosecha, antioxidantes.

**Abstract**

THE APPLICATION OF Cu NANOPARTICLES IN HYDROGELS OF  
CHITOSAN-PVA MODIFIES THE CHARACTERISTICS OF POST HARVEST  
AND BIOACTIVE COMPOUNDS IN JALAPEÑO PEPPER

BY

ZEUS HUITZILOPOCHTLI PINEDO GUERRERO  
MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO - ADVISOR

Saltillo, Coahuila

December, 2016

## **Abstract**

Peppers are consumed all over the world due to their flavor, aroma and color that it adds to food. In addition to their sensory importance, peppers play a relevant role in human health, as they contain a high concentration of bio functional compounds and antioxidants. The treatments used were: an absolute control, Cs-PVA, and four treatments with 0.02, 0.2, 2 and 10 mg (nCu) g<sup>-1</sup> (Cs-PVA). The application of nCu affects plant growth especially in high concentrations, but increases the number and average weight of fruits. It also decreases the weight loss of fruits stored for 30 days in both refrigeration and room temperature. It increases the amount of total soluble solids in fruits stored at room temperature for 15 days. In general, application of Cu nanoparticles in chitosan-PVA hydrogels increases the content of antioxidants ABTS and DPPH, total phenols and flavonoids (4, 6.6, 5.9 and 12.71%, respectively) in jalapeño chili fruits stored for 15 days at room temperature. While in refrigeration increases DPPH antioxidants, total phenols and flavonoids (23.9, 1.54 and 17.2% respectively). The application of Cu nanoparticles in chitosan-PVA hydrogels even when applied to the substrate not only has an effect on the development of the jalapeño pepper crop, but also modify the post-harvest characteristics of the jalapeño pepper fruits.

**Key words:** bioactive compounds, jalapeño pepper, post-harvest, antioxidants.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial China es el país que presenta la mayor producción de chiles frescos. El área cosechada en 2011 fue de 705,000 hectáreas, con una producción de 15,520,000 toneladas, lo que representa el 53% de la producción mundial de chiles. El segundo lugar en producción lo ocupa México con el 7% y una superficie de 144,391 hectáreas y 2,131,740 toneladas de producción de chiles frescos (FAOSTAT, 2013). En México, el chile es el 8° cultivo con mayor valor económico, alcanzando alrededor de 13 mil mdp anualmente, con un volumen de producción promedio de 2.2 millones de toneladas, del cual se exportan cerca de 900 mil toneladas de chiles frescos, secos y procesados (SAGARPA, 2015). El chile jalapeño cuenta con una superficie cosechada de 30,148.74 ha, y una producción de 836,246.34 Ton (SIAP, 2015).

Los chiles son consumidos en todo el mundo ya que aportan sabor, aroma y color a los alimentos. Además de su importancia sensorial juegan un rol relevante en la salud humana, ya que contienen una alta concentración de compuestos biofuncionales y antioxidantes, que participan de manera importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y desórdenes neurológicos. De hecho, se ha documentado que el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) se asocia con diferentes enfermedades en humanos, esto ha llevado a un incremento en el consumo de alimentos que reducen el daño oxidativo en los sistemas biológicos (Ornelas-Paz *et al.*, 2013; Delgado-Vargas y Paredes-Lopez, 2003; Shetty, 2004).

En la nanotecnología, una partícula es definida como objeto pequeño que se comporta como una unidad entera en cuanto a su transporte y propiedades, sin embargo, el diámetro de la partícula es una variable usada para clasificar esas partículas, por convenio, partículas gruesas son aquellas que cubren un rango de 10,000 a 2,500 nm, partículas finas son aquellas que cubren un rango de 2,500 a 100 nm y nano partículas (NP's) o partículas ultra finas son aquellas

que van de 1 a 100 nm, si son dispersas en medios gaseosos, líquidos o sólidos (Ghosh y Pal, 2007; Buzea *et al.*, 2007). La investigación de NP's es actualmente un área de interés científico intenso impulsada por el deseo de fabricar materiales con propiedades nuevas y mejoradas debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en las áreas de las ciencias físicas, químicas, biológicas y de la salud y otros campos interdisciplinarios de la ciencia y la ingeniería (Ghosh y Pal, 2007; Taylor *et al.*, 2013). La nanotecnología, un nuevo y fascinante campo de la ciencia, permite la investigación avanzada en muchas áreas, y los descubrimientos nanotecnológicos podrían abrir nuevas aplicaciones en el campo de la biotecnología y la agricultura. En el campo de la electrónica, la energía, la medicina y las ciencias de la vida, la nanotecnología ofrece una investigación en expansión, como la ciencia y la tecnología reproductiva, la conversión de productos agrícolas y alimentarios, la nanotecnología ha creado grandes expectativas para el desarrollo de nuevos productos y aplicaciones en una amplia gama de sectores industriales y de consumo. Se espera que se revolucione toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta el procesamiento y almacenamiento de hortalizas y otros productos durante postcosecha (Carmen *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2010; Lili *et al.*, 2011). Se ha demostrado que las nCu en bajas concentraciones tienen un efecto estimulante que está relacionado con la inducción de la actividad antioxidante (Fu *et al.*, 2014). El manejo de concentraciones tan bajas puede representar un problema al momento de aplicarse a las plantas, sobre todo cuando las NP's se dirigen al suelo ya que pueden inactivarse, lixiviarse, o bien, simplemente la cantidad es tan pequeña que es difícil de manejar, no son solubles en agua por lo que forman dispersiones las que son complicadas para su manejo. En este sentido, el quitosán tiene la habilidad de quelatar minerales y otros nutrientes haciéndolos más disponibles para que la plantas los tome (White y Brown, 2010). Esto es posible por la unión de metales por la vía de los grupos funcionales (amino e hidroxilos) del quitosán (Kamari *et al.*, 2011). Este compuesto es un polímero lineal formado por monómeros de D-Glucosamina,

es un producto natural derivado principalmente de la quitina de los caparazones de crustáceos, las mezclas de quitosán con el alcohol polivinílico (PVA) forman hidrogeles estables (Hernández, 2004). El PVA es un polímero sintético obtenido por hidrólisis ácida o básica del acetato de polivinilo que a pesar de su origen sintético es un polímero biodegradable y biocompatible (Aguilar *et al.*, 2004). Por lo tanto gracias a las características de la unión con metales del quitosán-PVA puede funcionar como un vehículo para la aplicación de las NP's. Si bien se tiene conocimiento acerca del efecto de las NP's de cobre en diversos cultivos (Rizwan *et al.*, 2017), es necesario ampliar el conocimiento en la calidad de los frutos y sobre la vida de postcosecha de estos. Derivado de esto, los objetivos de este trabajo fueron:

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de la aplicación de nano partículas de Cu introducidas en hidrogeles de quitosán-PVA sobre el crecimiento de plantas de chile jalapeño, las características postcosecha y contenido de antioxidantes en los frutos.

### **Objetivos específicos**

- Determinar el efecto de las NP's de Cu sobre las características morfológicas de las plantas.
- Estudiar la concentración de los compuestos asociados con la capacidad antioxidante.
- Determinar el efecto de nCu sobre las características de postcosecha de los frutos de chile jalapeño.

### **Hipótesis**

Las nanopartículas de cobre modifican las características morfológicas de las plantas y aumentan la capacidad antioxidante de los frutos.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### El cultivo del chile

A nivel mundial China es el país que presenta la mayor producción de chiles frescos. El área cosechada en 2011 fue de 705,000 hectáreas, con una producción de 15,520,000 toneladas, lo que representa el 53% de la producción mundial de chiles. El segundo lugar en producción lo ocupa México con el 7% y una superficie de 144,391 hectáreas y 2,131,740 toneladas de producción de chiles frescos (FAOSTAT, 2013). En México, el chile es el 8° cultivo con mayor valor económico, alcanzando un valor económico de alrededor de 13 mil mdp anualmente, con un volumen de producción promedio de 2.2 millones de toneladas, del cual se exportan cerca de 900 mil toneladas de chiles frescos, secos y procesados (SAGARPA, 2015). En particular el chile jalapeño cuenta con una superficie cosechada de 30,148.74 ha, y una producción de 836,246.34 Ton (SIAP, 2015).

El cultivo de chile (*Capsicum annum* L.) en México es una importante fuente de divisas y de empleo para un gran sector de la población rural en el estado de Chihuahua; su importancia se manifiesta por la superficie que se destina a su cultivo (Lujan y Chávez, 2003).

El chile es un recurso agrícola en gran parte del mundo, en varios países incluso forma parte de la cultura, al ser utilizado como saborizante dentro de la dieta diaria y en medicina tradicional. El chile es el fruto de la planta del mismo nombre. Pertenece a la clase embriofita Siphongena, su género *Capsicum*, con cinco especies: *pubescens* (rocoto), *annum* (serrano, jalapeño, piquín), *frutescens* (tabasco), *baccatum* (ají) y *chinense* (habanero) (Celis, 2005).

El consumo de chile está ligado con la historia de América y en particular de México. Colón descubrió en este lugar especies como la pimienta, además este continente poseía muchas otras especies de plantas entre las que destacaba el chile. Los vestigios arqueológicos muestran que entre 5200 y 3400 a.C. lo

americanos nativos ya sembraban plantas cultivadas de Chile. Una vez que esta especie llegó a España su uso formó parte de la dieta de los pobladores de muchos países de este y otros continentes (Guzmán, 2004).

Los frutos de *Capsicum annuum* tiene numerosos usos en preparaciones culinarias que lo hacen uno de los más importantes vegetales, hay varias variedades, caracterizadas por diferentes tamaños y formas. Su proceso de maduración es distinto y para el consumo humano los frutos son colectados en diferentes etapas de maduración. Los frutos verdes y los rojos son los más usados en preparaciones culinarias (Silva *et al.*, 2013).

El interés por este cultivo no se centra únicamente en su importancia económica; se ha demostrado que el Chile es una fuente excelente de colorantes naturales, vitaminas como la C, E, A y minerales. Además, de otros compuestos, conocidos como fotoquímicos, que tienen un efecto benéfico sobre la salud humana (Guzmán-Maldonado y Paredes-López, 1998).

### **Morfología del Chile**

La taxonomía del género *Capsicum*, es una planta de ciclo anual, pudiendo alcanzar hasta los 12 meses de vida, dependiendo del manejo agronómico. Su altura es variable, pero en los cultivares comerciales pueden oscilar entre 75 y 120 cm. Las semillas son lisas, ovaladas y pequeñas (2.5 a 3.5 mm); tienen testa de color café claro a café oscuro y su periodo de germinación varía de ocho a 15 días. Tiene raíz pivotante y un sistema radicular bien desarrollado, cuyo tamaño depende de la edad de la planta, las características del suelo y las prácticas de manejo que se le proporcionen. Su tallo es grueso, erecto y robusto, generalmente tienen tendencia a formar tres tallos en la primera ramificación, la que ocurre entre la décima y duodécima hoja, para después continuar bifurcándose, con crecimiento semi-indeterminado; después de la primera trifurcación muy raramente las tres ramas alcanzan el mismo desarrollo.



Las hojas son simples, lisas que sus color, el cual puede presentar diferentes tonos de verde dependiendo de la pubescencia también de la variedad (Tun, 2001).

Con una nutrición adecuada se puede alcanzar hojas con un tamaño superior 15 cm de longitud y ancho. Las flores son de color blanco; su tamaño varía entre 1.5 y 2.5 cm de diámetro de la corola; estos órganos se emiten en cada ramificación. El número de sépalos y pétalos también es variable (cinco a siete) aun dentro de la misma especie, lo mismo la longitud del pedúnculo foral (Tun, 2001).

Los frutos se clasifican como una baya poco carosa; son huecos y tienen tres a cuatro lóculos; las semillas se alojan en placentas blancuzcas y secas, que no están envueltas por mucosa, y la membranas de los lóculos generalmente n se prolongan hasta el centro suelen ser de tamaño y forma variables (Tun, 2001).

### **Valor nutritivo del chile**

El chile contiene: agua, carbohidratos, proteínas, grasas, fibra, vitaminas A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B6, B12, vitamina C, azufre, calcio cloro, cobre, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, niacina, potasio, sodio y yodo (Celis, 2005).

### **Importancia nutracéutica del chile**

Los vegetales están presentes en casi todas las dietas a lo largo del mundo debido a que son buena fuente de almidón, fibra dietética, proteína, lípidos y minerales. En adición a su valor nutritivo, contienen fotoquímicos con propiedades antioxidantes que son benéficos para la salud humana (O'sullivan *et al.*, 2010).

Los chiles frescos han sido reconocidos como una excelente fuente de vitamina C y E, provitamina A, carotenoides y compuestos fenólicos, metabolitos que son bien conocidos por su capacidad antioxidante (Materka y Perucka, 2005; Sun *et al.*, 2007). Estos compuestos tienen efectos positivos en la salud humana, tal como un potencial de acción en contra ciertos tipos de cáncer, prevención de úlceras gástricas, estimulación del sistema inmune, prevención de enfermedades cardiovasculares y protección contra la degeneración macular relacionada con la edad y cataratas (Materka y Perucka, 2005; Sun *et al.*, 2007).

Los chiles (*Capsicum spp.*) pertenecen a las *Solanacea* y proveen varios nutrientes esenciales. Chiles tales como habanero, cayenne, jalapeño y serrano, contienen fenoles, flavonoides (Bae *et al.*, 2012), carotenoides (Ha *et al.*, 2007), vitamina C, vitamina E (Garcia-Closas *et al.*, 2004) y alcaloides (Srinivas *et al.*, 2009), que juegan un importante papel en la salud humana. Ha sido demostrado que los flavonoides actúan como antioxidantes y poseen actividad antiinflamatoria, antialérgica, antiviral y antibacterial (Loke *et al.*, 2008; Sellinger *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Hong *et al.*, 2006).

## **Nanotecnología**

La nanotecnología es un término usado para identificar la tecnología en el campo nano. La escala de nano es usualmente de 1 a 100 nm (Bernard-Mantel *et al.*, 2010; Wickson *et al.*, 2010). La primera idea de la nanotecnología apareció en 1959 (donde la tecnología aún no se identificaba con algún nombre específico) Richard Feynman propuso la idea de que “Hay un montón de espacio en el fondo” en esta hipótesis Feynman argumenta que en el futuro cercano las moléculas y átomos pueden ser directamente manipulados. La palabra “nanotecnología” primero vino a la existencia por el Profesor Norio Taniguchi en 1974, y usó la palabra para materiales precisos con alta tolerancia en los límites nanométricos (Quandt y Ozdugan, 2010; Grimes y Kobrin, 2008).

Un nanómetro es una mil millonésima parte de un metro ( $10^{-9}$  m) alrededor de cien mil veces más pequeño que el diámetro de un pelo humano, mil veces más pequeño que un glóbulo rojo, alrededor de la mitad del diámetro del ADN (Neuman, 2010).

La nanotecnología es un área en crecimiento donde la manufacturación de nano partículas puede ser controlada en el tamaño, forma y distribución (Nadagouda *et al.*, 2009).

La investigación de las NP's es actualmente un área de interés científico intenso impulsada por el deseo de fabricar materiales con propiedades nuevas y mejoradas debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en las áreas de las ciencias físicas, químicas, biológicas y de la salud y otros campos interdisciplinarios de la ciencia y la ingeniería (Ghosh y Pal, 2007; Taylor *et al.*, 2013). La nanotecnología, un nuevo y fascinante campo de la ciencia, permite la investigación avanzada en muchas áreas, y los descubrimientos nanotecnológicos podrían abrir nuevas aplicaciones en el campo de la biotecnología y la agricultura. En el campo de la electrónica, la energía, la medicina y las ciencias de la vida, la nanotecnología ofrece una investigación en expansión, como la ciencia y la tecnología reproductiva, la conversión de productos agrícolas y alimentarios, la nanotecnología ha creado grandes expectativas para el desarrollo de nuevos productos y aplicaciones en una amplia gama de sectores industriales y de consumo. Se espera que se revolucione toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta el procesamiento y almacenamiento de hortalizas y otros productos durante postcosecha (Carmen *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2010; Lili *et al.*, 2011).

La nanotecnología puede incrementar el rendimiento en los cultivo, el valor nutricional y el valor de los productos (Misra *et al.*, 2013), provee nuevas formas para resolver problemas relacionados a plantas así como para incrementar la calidad de la comida (Sharon *et al.*, 2010).

Existen muchos tipos de nanomateriales producidos intencionalmente, y se espera que aparezcan en el futuro una variedad de otros. La mayoría de los nanomateriales actuales podrían organizarse en cuatro tipos (Neuman 2010):

- Materiales a base de carbono. Estos nanomateriales se componen principalmente de carbono, más comúnmente tomando la forma de unas esferas huecas, elipsoides o tubos. Los nanomateriales de carbono esférico y elipsoidal se denominan fullerenos, mientras que los cilíndricos se llaman nanotubos. Estas partículas tienen muchas aplicaciones potenciales, incluyendo películas y revestimientos mejorados, materiales más fuertes y más ligeros, y aplicaciones en electrónica.
- Materiales a base de metales. Estos nanomateriales incluyen puntos cuánticos, nano oro, nano plata y óxidos metálicos, como el dióxido de titanio. Un punto cuántico es un cristal semiconductor estrechamente compuesto de cientos o miles de átomos, y cuyo tamaño es del orden de unos pocos nanómetros a unos pocos cientos de nanómetros. Cambiar el tamaño de los puntos cuánticos cambia sus propiedades ópticas.
- Dendrímeros. Estos nanomateriales son polímeros nanométricos contruidos a partir de unidades ramificadas. La superficie de un dendrímero tiene numerosos extremos de cadena, que pueden adaptarse para realizar funciones químicas específicas. Esta propiedad también podría ser útil para la catálisis. Además, debido a que los dendrímeros tridimensionales contienen cavidades interiores en las que podrían colocarse otras moléculas, pueden ser útiles para la administración de fármacos.
- Los materiales compuestos que combinan nanopartículas con otras nanopartículas o con materiales más grandes a granel. Las nanopartículas, como las arcillas nanométricas, ya están siendo añadidas a productos que van desde piezas de automóviles hasta materiales de embalaje, para mejorar las propiedades mecánicas, térmicas, barrera y retardantes de llama.

## **Nanoparticulas**

En la nanotecnología, una partícula es definida como objeto pequeño que se comporta como una unidad entera en cuanto a su transporte y propiedades, sin embargo, el diámetro de la partícula es una variable usada para clasificar esas partículas, por convenio, partículas gruesas son aquellas que cubren un rango de 10,000 a 2,500 nm, partículas finas son aquellas que cubren un rango de 2,500 a 100 nm y nano partículas (NP's) (o partículas ultra finas) son aquellas que van de 1 a 100 nm, si son dispersas en un medios gaseosos, líquidos o sólidos (Ghosh y Pal, 2007; Buzea *et al.*, 2007). Son partículas ultra finas que sus dimensiones están en el rango de uno a 100 nanómetros, debido a sus propiedades físicas y químicas, los nanomateriales han sido estudio en varios capos de la ciencia y la ingeniería (Ghormade *et al.*, 2011; Cheng y wang, 2011). Las nano partículas han sido integradas a procesos industriales y de manufactura en revestimientos textiles, aditivos en pintura, barnices, como catalizadores en combustibles de diesel o como semiconductores en electrónica (García *et al.*, 2011). En medicina, las nanoparticulas son investigadas para su aplicación en terapia contra el cáncer, administración de fármacos o diagnostico e imagen (Baldi *et al.*, 2007, Amiri y Shokrollahi, 2003; Romih *et al.*, 2015).

Los nanomateriales han revolucionado casi todos los campos de la ciencia, y la ciencia de las plantas no se podía mantener sin afectar, estos nanomateriales han mostrado que afectan a las plantas a cada etapa de su ciclo de vida (Cañas *et al.*, 2008; Lahiani *et al.*, 2013; Siddiqui y Al-Wahibi, 2014; Liu *et al.*, 2016).

## **Antioxidantes**

Un antioxidante biológico es definido como “cualquier sustancia que cuando está presente en bajas concentraciones comparado con el substrato oxidable, reduce o previene significativamente la oxidación de este sustrato” (Benzie y Strain, 1996). Es así como los radicales libres y las EOR (especie oxigenada reactiva) usualmente son removidas o inactivadas *in vivo* por enzimas antioxidantes endógenas, como la superóxido dismutasa, la peroxidasa y por

compuestos de bajo peso molecular como el tocoferol, el ácido ascórbico y por polifenoles, reduciendo de esta forma los posibles daños inducidos por el estrés oxidativo. Sin embargo, las EOR se tornan dañinas cuando se producen en exceso bajo ciertas condiciones anormales, como inflamación, isquemia y en presencia de iones catalíticos, por ejemplo  $\text{Fe}^{2+}$ , (Adelman, 2005). Por ello, el consumo de alimentos funcionales está asociado con la disminución de enfermedades crónicas, debido a la presencia de compuestos bioactivos, entre los que se encuentran antioxidantes tales como vitaminas C y E, carotenoides, flavonoides, taninos y otros compuestos fenólicos (Dasgupta y De, 2007). Esto sumado a la tendencia de los consumidores de incluir en sus dietas alimentos saludables y utilizar extractos de plantas y sus componentes activos para curar y prevenir enfermedades; ha conducido a la búsqueda de antioxidantes de origen natural que prevengan el estrés oxidativo en el cuerpo humano, y detengan la peroxidación lipídica que conduce al deterioro de los alimentos. Los compuestos antioxidantes pueden estar naturalmente presentes en diversos arreglos dentro de la microestructura de los alimentos (Naczki y Shahidi, 2006)

Los antioxidantes más importantes son:

- La Vitamina C: Se conoce como vitamina C al ácido L-ascórbico, es un compuesto hidrofílico de seis carbonos derivado de la L-treo-hex-2-enono-1,4-lactona con una estructura química semejante a la de las hexosas, contiene un grupo ene-diol que involucra a los Carbonos 2 y 3. Este grupo hace al ácido ascórbico un potente agente antioxidante que reacciona fácilmente con radicales peroxilo, los neutraliza y se transforma en radical dehidroascórbico. En las células, el ácido ascórbico y el ácido dehidroascórbico se encuentran en equilibrio químico, y ambos están dotados de actividad vitamínica. El carácter ácido del ácido ascórbico se debe a la facilidad del grupo  $-\text{OH}$  del carbono 2 de liberar un protón (Blasa et al., 2010). El ascorbato cumple una función como un antioxidante y un cofactor enzimático en la interacción redox que existe entre los organismos vivos y el ambiente (Cruz-Rus et al., 2012). El ácido ascórbico puede salir de la mitocondria por transporte activo. De esta

manera las moléculas de ácido ascórbico se convierten en captadores de especies reactivas de Oxígeno, protegen el genoma mitocondrial y evitan la depolarización de la membrana mitocondrial (Mandl et al., 2009).

- Los Beta-carotenos: De acuerdo a su estructura química, los carotenos se clasifican en dos grupos: los hidrocarburos llamados comúnmente carotenos, y las xantofilas; los carotenos están constituidos solo por átomos de Carbono e Hidrógeno, mientras que las xantofilas también contienen átomos de Nitrógeno. Otra clasificación se basa en las funciones biológicas que finalmente dependen de su estructura (Namita y Negi, 2010). La alta hidrofobicidad causa una baja solubilidad en sistemas acuosos y como consecuencia una pobre asimilación en el organismo. La absorción se realiza a través del sistema linfático y se inicia con la disrupción de la matriz alimentaria, la liberación de los carotenoides y la emulsión en forma de micelas que posteriormente son absorbidas en el intestino delgado (Thakkar et al., 2007). La actividad como antioxidante de los carotenoides se realiza a través de la captación del oxígeno singlete; también puede prevenir la formación de esta forma tan reactiva de oxígeno por la captación de sensibilizadores excitados (Rodríguez-Amaya, 2010).
- La Vitamina E: La vitamina E es un antioxidante lipofílico disruptor de cadena que se encuentra en la naturaleza en ocho diferentes isoformas derivadas de la estructura 6-hidroxicromano. Cuatro son tocoferoles con una larga cadena lateral isoprénica en el C2 y un número variable de grupos metilo unidos al anillo cromanol; y cuatro tocotrienoles que tienen la misma estructura que los anteriores, excepto por la cadena lateral que está insaturada con tres dobles enlaces (Blasa et al., 2010). Actúa sinérgicamente con el selenio neutralizando de forma muy eficiente los radicales peroxilo, en este proceso es oxidado a radical tocoperoxil y posteriormente reciclado a  $\alpha$ -tocoferol por el ácido L-ascórbico. Este reciclaje transforma a la vitamina E en el factor clave en la prevención de

la generación y propagación del estrés oxidativo protegiendo a los ácidos grasos poliinsaturados frente a la oxidación, ya sea, en los fosfolípidos de las biomembranas y/o en las lipoproteína plasmáticas (García-Parrilla 2008; Cruz-Rus et al., 2012).

Las defensas antioxidantes son de tipo enzimático y no enzimático. La primera defensa antioxidante es intracelular y es principalmente de tipo enzimático; está controlada genéticamente por un sistema de retroalimentación en el que participan pequeñas concentraciones de radicales libres de origen endógeno (Gonchar y Mankovska, 2010; Zhang *et al.*, 2010).

### **Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante de un compuesto es un proceso químico que depende de sus propiedades redox, de partición, quelantes, como donador de hidrogeno y como captador de radicales. Idealmente todas esas propiedades deberían medirse en cada componente para valorar la actividad antioxidante total (Languerrer *et al.*, 2007; Williamson *et al.*, 1999).

Los mecanismos de acción de los compuestos antioxidantes incluyen (Dills y Trochopoulou, 2010; Leonarduzzi *et al.*, 2010):

- La inhibición/captación de especies reactivas.
- La reducción y la acción quelante de metales.
- Un mecanismo propuesto recientemente que es independiente de las propiedades antioxidantes consiste en la interacción química directa el “antioxidante” con enzimas de señalización y factores de transcripción.

Se ha establecido que la exposición de los organismos a factores exógenos y endógenos, genera diversas EOR tales como los radicales superóxido ( $O_2$ ) e hidroxilo (OH) y otras especies radicalarias no libres como  $H_2O_2$  y el oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), que inducen alteraciones en las células, citotoxicidad y/o indirectamente genotoxicidad; favoreciendo la aceleración del envejecimiento y



la aparición de cáncer, enfermedades cardiovasculares y degenerativas (Dasgupta y De, 2007; Tripathi *et al.*, 2007).

### **Mecanismos de reacción de los antioxidantes**

En general los antioxidantes pueden ser clasificados dentro de dos categorías respecto a su mecanismo:

1. Antioxidantes preventivos: inhiben la formación de especies de oxígeno reactivo. Dentro de estos antioxidantes se encuentran el peróxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y transferrin.
2. Antioxidantes de rompimiento de cadena: son compuestos que eliminan el oxígeno radical y por lo tanto rompen la secuencia en cadena del radical. Ellos incluyen vitamina C, vitamina E, ácido úrico, bilirrubina y polifenoles, entre otros. Para el rompimiento de la cadena, se presenta:
  - a) Una transferencia del átomo de hidrógeno (TAH), donde el radical oxigenado captura un hidrógeno del antioxidante, resultando en la formación de un radical estable del antioxidante.

### **Radicales Libres**

Para los organismos aerobios la oxidación es esencial en la obtención de la energía necesaria para realizar procesos biológicos. Sin embargo, la producción descontrolada de radicales libres derivados del oxígeno es hostil y dañina para las células y sus funciones, y es el origen de una reacción en cadena que da lugar a la regeneración de nuevos radicales libres que causan cambios o transformaciones oxidativas (Jin-wei *et al.*, 2005).

Un radical libre es cualquier especie, cargada o no, que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado en su orbital más externo, lo que les confiere un carácter de moléculas inestables y altamente reactivas (Venereo, 2002). Los radicales libres cuya actividad es considerada como biológicamente relevante son los derivados del Oxígeno: el radical peroxilo,  $RO_2$ ; el anion superóxido  $O_2^-$ ; el radical hidroxilo HO (Roginsky y Lissi, 2005).

Actualmente es evidente que existe una relación entre alimentación y las enfermedades crónico – degenerativas, las cuales también se relacionan directamente con los radicales libres, esto es debido en gran parte al estrés oxidativo generado, contribuyendo de manera significativa el estilo de vida, tipo de alimentos que se ingieren y la manipulación o exposición a sustancias químicas que contribuyeron a la disminución de la resistencia a las enfermedades (Reyes, 2007).

Los radicales libres pueden afectar varios sustratos como: lípidos, ácidos nucleicos y las proteínas, siendo los más susceptibles los ácidos grasos poliinsaturados y los ésteres de colesterol (Speisky 2000).

Bajo condiciones de estrés, el  $O_2$  actúa como un oxidante ya que favorece a que el  $Fe^{2+}$  contenido en diversas moléculas quede disponibles para la reacción de Fenton facilitando, finalmente la producción de OH a partir de  $H_2O_2$  (Valko *et al.*, 2005; Leonard *et al.*, 2004).

Otros radicales reactivos derivados del oxígeno que se pueden formar en sistemas vivos son los radicales peroxilo (ROO), el peroxilo más simple es HOO, llamado radical hidroperoxil o perhidroxil que es la forma protonada del ion superóxido  $O_2^-$  (De Grey, 2002).

Cuando hay un exceso en la producción de radicales libres, estos pueden afectar a las enzimas protectoras, causando efectos de destrucción y muerte celular por oxidación de la membrana lipídica, proteínas, ADN y enzimas que intervienen en la respiración celular; esta serie de efectos está asociada a la

aparición de condiciones patológicas como cáncer, aterosclerosis, diabetes, neurodegeneración, degeneración macular y envejecimiento (Hernández-García *et al.*, 2010; Navarrete *et al.*, 2011; Andrade y Assuncao, 2012; Curtis *et al.*, 2012; Haque *et al.*, 2012; Matés *et al.*, 2012). La oxidación también afecta a los alimentos, siendo la causa principal del deterioro químico, originando enranciamiento y reducción de la calidad nutricional, color, sabor, textura e inocuidad (Laguerre *et al.*, 2007).

Para contrarrestar las especies de oxígeno reactivo y prevenir el daño que ocasionan a las moléculas biológicas, especialmente al ADN, lípidos y proteínas, todos los organismos aerobios están dotados con sistemas de defensa antioxidante (Wang *et al.*, 1996).

Los antioxidantes neutralizan la acción de los radicales libres; éstos al interactuar con el radical libre ceden un electrón y se oxidan. Por lo que la reposición de ellos debe ser continua mediante la ingestión de alimentos que los contienen (Yanishlieva, 2001).

### **Compuestos Fenólicos**

Los fenoles o polifenoles, son “metabolitos secundarios” que se sintetizan exclusivamente en plantas y microorganismos, son considerados como los principales antioxidantes en los alimentos. Se los encuentra en forma de lignina y otros polímeros estructurales, o como fenoles con función protectora frente a estreses ambientales (excesos de luz, temperaturas extremas, radiación UV, patógenos, herbívoros, ozono), actúan neutralizando el estrés oxidativo a través de captación o “detoxificación” de las especies reactivas de oxígeno.

Los compuestos fenólicos incluyen una amplia gama de compuestos sintetizados a partir de carbohidratos a través del ciclo de shikimate. Se caracterizan por que en estado puro son difíciles de disolver en medio acuoso; su peso molecular varía entre 500 a 4000; poseen entre 12-16 grupos fenólicos

y cinco a siete anillos aromáticos por masa molecular relativa de 1000; además tienen la propiedad de precipitar algunos alcaloides y otras proteínas en solución (Haslam, 1999).

Desde la perspectiva humana, se sabe que los fenoles dietarios afectan favorablemente la salud. Se han realizado estudios sobre las propiedades químicas y farmacológicas de los compuestos fenológicos presentes en frutas, hortalizas, cocoa, vino y té, entre otros alimentos. Aunque no son considerados como nutrientes, existe evidencia de que contribuyen a la quimiopreención de diversas afecciones humanas, incluida la enfermedad coronaria (Grendon *et al.*, 2010) y ciertas clases de cáncer (Grace, 2005). Tienen un rol específico en la inhibición de los estadios iniciales de desarrollo, promoción y progresión de tumores (Liu *et al.*, 2008; Beecher, 2003; Cook y Samman, 1996), ejercen actividad antiaterogénica y evitan la agregación plaquetaria al prevenir la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad, por ello su consumo en la dieta normal se relaciona con un efecto profiláctico, más que curativo, que impacta con la reducción de la mortalidad por enfermedades coronarias en diversos estudios poblacionales (Arts y Hollman, 2005; Zamora-Ros, 2012).

Se postula que atenúan el daño al hígado inducido por el consumo crónico de alcohol disminuyendo la actividad de la alanin-aminotransferasa y la aspartato-aminotransferasa séricas, mediante una mejora de la expresión de genes que codifican antioxidantes estratégicos y una subsecuente supresión del estrés oxidativo (Giriwono *et al.*, 2010).

## **Flavonoides**

Entre los compuestos fenólicos más importantes se encuentran los flavonoides los cuales, además de su comprobada actividad antioxidante, se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, tales como actividades

cardiotónica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplásica, antimicrobial, etc. (Gutiérrez *et al.*, 2008).

De los más de 8,000 polifenoles, se han identificado 4,000 flavonoides (Harborne *et al.*, 1999). Son compuestos de bajo peso molecular, que consisten en 15 átomos de carbono ordenados en una configuración C6-C3-C6. La estructura consiste en dos anillos aromáticos unidos por un enlace carbono tres, usualmente en la forma de un anillo heterocíclico. Las sustituciones en los anillos pueden incluir oxigenación, alquilación, glicosilación, acilación y sulfonación y dan lugar a las diferentes clases de flavonoides (Balasundram *et al.*, 2006). Son especialmente importantes por tener un elevado potencial redox lo que los hace agentes reductores, donadores de hidrógeno y captadores de oxígeno singlete, adicionalmente tienen potencial como quelantes de metales (Tsao y Yang, 2003). Son los fotoquímicos más comunes, se les encuentra en frutas y hortalizas en concentraciones que varían por factores diversos como los ambientales, condiciones de cultivo, clima, almacenamiento, condiciones de preparación (Caridi *et al.*, 2007).

En su relación con el hombre, se utilizan para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar. Algunos flavonoides pueden presentar actividad hepática protectora, antialérgica, antitrombótica, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, e incluso pueden ejercer efectos inhibidores sobre algunas enzimas. Se pueden dividir en tres clases de flavonoides:

- Flavononas. Se caracterizan por la presencia de una cadena saturada de tres carbonos y un átomo de oxígeno en posición C4. Generalmente están glicosilados por un disacárido en la posición C7. Solo en las frutas cítricas se encuentran en altas concentraciones, pero también se presentan en los tomates y ciertas plantas aromáticas como la menta.

Las principales agliconas son las naringenina (pomelos), hesperetina (naranjas), eriodictiol (limones) (Ignat *et al.*, 2011).

- Isoflavonas. Son estructuralmente semejantes a los estrógenos. Se les encuentra en alimentos de origen vegetal en forma de aglicona y como acetil-o malonil, etc.,  $\beta$ -glucosidos. Tienen efectos estrogenicos atribuidos a las similitudes con la estructura del  $\beta$ -estradiol, se les llama “fitoestrogenos” (Klejdus *et al.*, 2007; D'Árchivio *et al.*, 2007).
- Antocianinas. Son pigmentos hidrosolubles de color rojo, púrpura, o azul dependiendo del pH, sintetizados por la vía del ciclo fenilpropanoide. Se encuentran en todos los tejidos vegetales incluyendo hojas, tallos, raíces, flores y frutos. Se les conoce como antocianididas cuando están en su forma glicosidada (unidas a una o varias unidades de glucosa, galactosa, ramnosa o arabinosa).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Síntesis de hidrogeles de quitosán-polivinil alcohol (Cs-PVA) y absorción de nano partículas de Cu**

La síntesis de los hidrogeles de Cs-PVA se realizó en la planta piloto del Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA). Se disolvieron 250 mL de quitosán (Marine Chemical y  $M_v=200,000$  g/mol) al 2% y 250 mL de polivinil alcohol (PVA) (Aldrich,  $M_w=30,000$  a  $50,000$  y 98% de hidrólisis) al 4% mezclándolos por dos horas a 300 rpm y  $60^\circ\text{C}$  para obtener un hidrogel en una relación 1:2 (Cs:PVA). Posteriormente se agregaron 2.27 mL del entrecruzante (glutaraldehido al 50%) a 450 rpm por cinco minutos a  $25^\circ\text{C}$ . Después se agregaron 100 mL de NaOH al 6% a 300 rpm, y  $25^\circ\text{C}$  por una hora. Finalmente se hizo un lavado y purificación de los hidrogeles de Cs-PVA con agua destilada y etanol, se secaron y se pesaron.

Las nano partículas de Cu usadas en este trabajo fueron adquiridas en Sky Spring nanomaterials Inc. (USA), con morfología esférica, pureza del 99.8% y diámetro promedio de 25 nm. Se dispersaron 100 mg de las nCu en una solución de Tween al 1% por ultrasonido durante cinco minutos (potencia de 50 watts y frecuencia del 70%), luego se prepararon diluciones para obtener concentraciones de 10, 2, 0.2 y 0.02 mg, las cuales posteriormente se absorbieron en 1 gramo de hidrogel de Cs-PVA y se secaron a una temperatura de 60°C.

### **Desarrollo experimental**

Se establecieron plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) híbrido var. Grande en un invernadero tipo multitúnel, con cubierta de polietileno del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y se desarrollaron por 120 días después del trasplante (ddt). La temperatura promedio fue de 22.4 °C, mientras que la radiación fotosintética activa fue en promedio de 677.15  $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$  y humedad relativa promedio del 62%. La densidad de plantación fue de tres plantas por metro cuadrado. Como sustrato se usó una mezcla de peat moss y perlita (50:50, v/v) colocado en bolsas de polietileno color negro de 12 L de capacidad. Previo al trasplante, para la aplicación de los tratamientos se pesaron 0.33 g de los hidrogeles de Cs-PVA sólidos, distribuyendo estos en el sustrato en la parte baja, media y alta de la maceta, esto para cubrir una mayor parte de la maceta y hasta aplicar un gramo del hidrogel por cada maceta. Se utilizó un sistema de riego dirigido con ayuda de goteros, aplicando cinco riegos por día, con una aplicación aproximada de 1.5 L por planta por día, usando una solución Steiner (Steiner, 1961), manejada en diferentes concentraciones: durante el crecimiento vegetativo del cultivo de chile se aplicó al 25%, durante floración al 50% y durante el desarrollo del fruto al 75%. Dicha solución nutritiva (75%) contenía 2.4 mg L<sup>-1</sup> de Fe en forma quelatada (EDTA). Los tratamientos utilizados fueron:

un testigo absoluto, Cs-PVA solo, y cuatro tratamientos con 0.02, 0.2, 2 y 10 mg (nCu) g<sup>-1</sup> (Cs-PVA).

### **Variables de crecimiento y producción de chile jalapeño**

Para la evaluación del crecimiento y rendimiento de las plantas de chile jalapeño al final del cultivo se contabilizó el número de frutos cosechados por planta, el peso promedio de frutos (g), el peso total de frutos cosechados y el peso fresco de biomasa aérea (g). El peso seco de la biomasa aérea (g), se obtuvo después de secar en una estufa de secado marca Drying Oven modelo DHG9240A durante 72 h a una temperatura constante de 80°C.

### **Almacenamiento de los frutos de chile jalapeño**

Los frutos se cosecharon a los 90 ddt y se seleccionaron verificando que no presentaron daños físicos, patológico y color uniforme. Una vez cosechados los frutos se dividieron en lotes de 50 frutos por tratamiento, cada fruto constituyo una unidad experimental. Para evaluar el efecto de las nCu en la calidad y comportamiento postcosecha, los frutos de chile jalapeño se almacenaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 1$  °C) y en condiciones de frigoconservación ( $10 \pm 1$ °C y 80% de humedad relativa) y se tuvieron tres tiempos de almacenamiento, 0, 15 y 30 días. Se tuvieron 6 repeticiones para pérdida de peso y tres repeticiones para los análisis fisicoquímicos y funcionales.

### **Análisis fisicoquímicos**

Porcentaje de pérdida de peso. Se midieron los cambio de peso que experimentan los frutos durante el periodo de almacenamiento, para eso se utilizó una balanza digital (OHAUS), la pérdida de peso se reportó como un porcentaje de perdidas acumulados respecto al peso inicial del fruto. Para la



determinación de las variables fisicoquímicas los frutos fueron cortados en rodajas y posteriormente triturados en un molino de cuchillas (RTSCH GM 200, Alemania). Solidos solubles Totales (°Brix) fueron determinados usando un refractómetro digital (PR-101, ATAGO PALETTE, Tokio, Japón). El pH fue medido con un potenciómetro digital (Hanna Instruments Woonsocket, RI, USA) y acidez titulable fue determinada por el método de la AOAC (942.15) basado sobre la titulación de la muestra con 0.1 M NaOH y pH 8.2 usando fenolftaleína como indicador (AOAC, 2000); acidez titulable fue reportada en g de ácido cítrico por 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

### **Análisis funcionales**

Para la preparación de las muestras de los análisis funcionales los frutos se cortaron en rodajas y se almacenaron en un ultracongelador a -70 °C (3003 Ultrafreezer Thermo Scientific, EE. UU.) por una semana y se liofilizaron a  $133 \times 10^{-3}$  mbar (Labconco, Freezone 6, EE. UU.). Una vez liofilizadas las muestras, se molieron en un molino de cuchillas (RTSCH GM 200, Alemania) a 9000 rpm por 50 s hasta que se obtuvo un polvo fino de 150 µm.

Para la determinación de la actividad antioxidante del radical ABTS [2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] se realizó por la metodología descrita por Re *et al.* (1999), esta se basa en la decoloración del catión radical ABTS. Para la preparación de la muestra se pesa un gramo de polvo liofilizado, se le agregan 20 mL de agua destilada y se centrifuga a 17500 rpm durante 10 minutos. Se toma 1 mL del sobrenadante y se diluye en 20 mL de alcohol metílico al 80 %. El radical ABTS (7 µM) se hizo reaccionar con persulfato de potasio (Mallinckrodt Chemicals, USA, 2.45 µM), mezclando ambos reactivos, en una proporción de 1:1. Esta mezcla se dejó en reposo cubierta con papel aluminio durante 16 horas antes de comenzar las determinaciones. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol al 20%, hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre  $0.7 \pm 0.01$  a 734 nm. Se midió la absorbancia inicial en espectrofotómetro (Varian CARY 100BIO, Italia) en una celda de

cuarzo y posteriormente se agregó 100 $\mu$ L de la muestra de chile, se agito rápidamente y se midió el cambio de absorbancia a los 6 min de la reacción. Se calculó la actividad antioxidante usando una curva estándar de ácido ascórbico con una concentración de 95-125 mg EAA L<sup>-1</sup>, dando un R<sup>2</sup>=0.9977. Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos de peso seco (mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS).

Para la determinación de la actividad antioxidante del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) para preparar la muestra de chile se pesa 1 g de polvo liofilizado, se le agrega 20 ml de agua destilada y se centrifuga a 17500 revoluciones por 10 minutos, se toma 1 mL del sobrenadante y se diluye en 20 mL alcohol metílico al 80 %. Se colocaron en una celda de cuarzo 2.5 mL de radical DPPH (Sigma Aldrich, USA) de una solución metanólica de DPPH 6.1x10<sup>-5</sup> M y se hicieron reaccionar con 0.5 mL de la muestra de chile., La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min, y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia en espectrofotómetro (Varian CARY 100BIO, Italia). La actividad antioxidante fue determinada usando una curva estándar con ácido ascórbico (0-80 mg L<sup>-1</sup>) dando un R<sup>2</sup>=0.999. Los resultados fueron expresados en mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Determinación de fenoles totales, se llevó a cabo mediante la metodología de Folin- Ciocalteau (Singleton *et al.*, 1999). Se pesó 1 g de chile liofilizado y se hidrató con 20 ml de agua destilada hasta obtener una mezcla homogénea la cual se centrifugó a 17,500 rpm y se decantó. Se tomaron 0.5 mL del sobrenadante y se adicionaron en tres tubos de ensayo cubiertos con papel aluminio, se mezclaron con 2.5 mL del reactivo diluido (1:10) de Folin-Ciocalteau 0.2 N (Sigma Aldrich, USA) dejándolos reposar por cinco min. Posteriormente se adicionaron 2 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% hasta lograr una mezcla homogénea. Se dejaron reposar durante dos horas y después se leyó la absorbancia de la mezcla en un espectrofotómetro (Varian CARY 100BIO, Italia) con celdas de cuarzo, a una longitud de onda de 760 nm. Los resultados obtenidos, se expresaron en miligramos de equivalentes de

ácido gálico por 100 gramos de peso seco (mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS) de acuerdo a la curva de calibración de ácido gálico con un R<sup>2</sup>=0.9957 en concentraciones de 20-80 mg L<sup>-1</sup>.

El contenido de flavonoides totales, Se realizó mediante el método Dowd, adaptado por Arvouet-Grand *et al.*, (1994). Se utilizó una solución de tricloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) (Fermont, Monterrey, Mex.) al 2% en metanol. Se pesó 0.1 g de chile liofilizado y se aforó con 10 mL de metanol y se homogenizó, posteriormente se filtró con papel filtro (Whatman No. 1). Se colocaron dos mL de la muestra filtrada más dos mL de la solución metanólica de AlCl<sub>3</sub> y se dejó reposar durante 20 min en la obscuridad. Transcurrido el tiempo se colocó en una celda de cuarzo y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm en un espectrofotómetro (Varian CARY 100BIO, Italia). El contenido total de flavonoides fue determinado usando la curva de calibración con quercetina (0-50 mg L<sup>-1</sup>) dando un R<sup>2</sup>=0.9946 con concentraciones de 200-400 mg L<sup>-1</sup>, los resultados fueron expresado en miligramos equivalentes de quercetina por 100 gramos de peso seco (mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS).

### **Análisis estadístico**

El cultivo se estableció usando un diseño experimental en cuadro latino (seis x seis), con 18 unidades experimentales por tratamiento para las variables de crecimiento y rendimiento. Mientras que para las variables porcentaje de pérdida de peso, pH, sólidos solubles totales y acidez titulable se usó un diseño completamente al azar. Para el análisis estadístico de cada una de las variables se utilizó el programa estadístico InfoStat (2016), en el que se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Fisher LSD ( $\alpha \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados de las variables de crecimiento y producción de las plantas de chile jalapeño. Para la variable altura de la planta se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre los tratamientos aplicados, encontrándose la mayor altura en el testigo absoluto, mientras que la menor altura se observó en el tratamiento Cs-PVA + 2.0 mg nCu. Zuversza-Mena *et al.* (2015) reportaron una disminución del crecimiento en cilantro aplicando 80 mg nCu kg<sup>-1</sup> de suelo. También Nair y Chung (2015) observaron disminución en el crecimiento en mostaza de la India en aplicaciones de nCuO entre 20 a 500 mg por litro de sustrato. Zuverza-Mena *et al.* (2015) mencionan que la reducción en el crecimiento no parece asociarse con la asimilación y transporte. Sin embargo, Rizwan *et al.* (2017) mencionan que la toxicidad por NP's se puede manifestar en la planta por mecanismos como genotoxicidad, alteraciones en la absorción de nutrientes, generación de ROS, etc. Lo que puede resultar en la disminución del crecimiento de la planta.

En el número de frutos por planta se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) donde el mayor número de frutos se observaron en el tratamiento de Cs-PVA+0.2 mg nCu, mientras que el menor en el tratamiento de Cs-PVA + 2.0 mg nCu (Tabla 1). Este resultado es similar a Juárez-Maldonado *et al.* (2016) ya que encontraron un aumento en el número de frutos de tomate tratados con 0.006 mg L<sup>-1</sup> nCu+quitosán.

En el peso promedio de frutos y peso total de los frutos se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ). El mayor peso total de frutos cosechados se obtuvo con los tratamientos de Cs-PVA y Cs-PVA + 0.2 mg nCu, mientras que el menor peso total en el tratamiento Cs-PVA + 2.0 mg nCu. En cuanto al peso promedio de fruto el tratamiento con de Cs-PVA fue el mejor, y el menor peso se observó en el Cs-PVA + 10 mg nCu. Esto coincide con Lin y Xin (2007), y Stampoulis *et al.* (2009) quienes demuestran que la exposición a las NP's afecta el crecimiento y desarrollo en varias especies de plantas. Sin embargo, difiere a lo reportado por Juárez-Maldonado *et al.* (2016) quienes no observaron

diferencias en el peso de los frutos de tomate tratados con nCu+quitosán. Por su parte, Xiaphong (2007) en el cultivo del tomate y Terrero (2007) en el cultivo del pepino proponen que el quitosán constituye un estimulador que influye en los frutos y el rendimiento de éstos cultivos. Es común observar este tipo de resultados con la aplicación de nanopartículas en general, ya que se han reportado efectos tanto positivos como negativos sobre el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Rizwan *et al.*, 2017).

Por ejemplo, la aplicación de nCuO reduce el desarrollo de raíz y brotes por la producción de especies reactivas de oxígeno y peroxidación lipídica, se cree que esto ocurre por la interacción de las NP's con proteínas, membranas, ácidos nucleicos y diferentes metabolitos, así como electrones libres en la superficie de las NP's (Dimkpa *et al.*, 2012; Chatterjee *et al.*, 2014; Nair *et al.*, 2014; Van-Aken, 2015). Nair *et al.* (2014) reportaron que la aplicación de nCuO incluso a bajas concentraciones reduce el desarrollo de raíz y brotes por la producción en exceso de especies reactivas de oxígeno y peroxidación lipídica.

El peso seco y fresco de biomasa no se vio afectada por los tratamientos aplicados ya que no se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) (Tabla 1). Juárez-Maldonado *et al.* (2016) observaron una respuesta similar en peso fresco aéreo ya que no encontraron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) en plantas de tomate tratadas con quitosán y nCu. El quitosán tampoco causó algún efecto por sí solo, lo que difiere a lo encontrado por Benavidez-Mendoza *et al.* (2001) quienes reportan un aumento en la biomasa en plantas de lechuga tratadas con este compuesto. Esto indica que la respuesta a la aplicación de quitosán o nCu es diferente para cada especie vegetal. Además, se sabe que la aplicación de NP's puede producir efectos positivos o tóxico dependiendo de la dosis, forma, tamaño o especie vegetal (Rizwan *et al.*, 2017).

Tabla 1. Plantas de chile jalapeño tratadas con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu.

Tratamiento	Altura (cm)	No. de frutos	Peso promedio de fruto (g)	Peso total de frutos (g)	Peso fresco biomasa aérea (g)	Peso seco biomasa aérea (g)
Testigo absoluto	115.7 a <sup>z</sup>	115.8 ab	26.6 ab	3086.8 ab	808.6 a	192.9 a
Cs-PVA	110.6 ab	124.5 ab	27.0 a	3450.3 a	848.0 a	187.8 a
Cs-PVA+0.0 2 mg nCu	114.3 ab	115.6 ab	26.2 ab	3028.7 ab	766.6 a	171.0 a
Cs-PVA+0.2 mg nCu	113.5 ab	126.6 a	26.4 ab	3342.2 a	812.1 a	185.2 a
Cs-PVA+2.0 mg nCu	109.1 b	111.6 b	26.9 ab	3002.04 b	779.4 a	177.4 a
Cs-PVA+10 mg nCu	112.3 ab	118.8 ab	25.3 b	3005.6 ab	797.3 a	182.1 a
CV (%)	7.53	18.84	9.14	17.13	17.81	20.16

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher ( $P \leq 0.05$ ). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de 18 repeticiones.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la variable de pérdida peso, en esta se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) a los 15 y 30 días de almacenamiento tanto a temperatura ambiente como en refrigeración. Se observó una menor pérdida de peso en el testigo absoluto (5.80%) y en el tratamiento de Cs-PVA + 2.0 mg nCu (6.02%) cuando los frutos se almacenaron en refrigeración en un

periodo de 15 días. Sin embargo, a los 30 días de almacenamiento bajo la misma condición el tratamiento de Cs-PVA + 10 mg nCu fue el que presentó la menor pérdida de peso (20.52%).

En cuanto a los frutos almacenados durante 15 días a temperatura ambiente la menor pérdida registrada se observó en el tratamiento de Cs-PVA + 0.2 mg nCu (11.74%). Mientras que a los 30 días de almacenamiento la menor pérdida de peso fue con el tratamiento de Cs-PVA + 0.02 mg nCu (19%), y la mayor pérdida de peso se observó en los frutos del Testigo absoluto (20.79%).

Las pérdidas de peso observadas aquí fueron mayores las reportadas por Hernández-Fuentes *et al.* (2010) en frutos de pimiento morrón var. California a los 30 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración de  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  (13.03%), sin embargo esto puede ser debido a que fue una temperatura de almacenamiento  $5^{\circ}\text{C}$  más baja en comparación con la de este estudio. Báez-Sañudo *et al.* (2005) reportan en pimiento morrón que cuando los frutos pierden del 6 al 7 % de su peso, la firmeza y la apariencia disminuyen y por consecuencia la calidad. Espinosa-Torres *et al.* (2010) encontraron en chile manzano que bajo condiciones de almacenamiento a  $12^{\circ}$  y  $5^{\circ}\text{C}$  se prolongó la vida de anaquel de los frutos (1 y 2 semanas más, respectivamente) con menor pérdida de peso y firmeza en los frutos, sin causar daños por frío, en comparación con la temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ). Esto entonces sugiere que la vida de anaquel del chile jalapeño es de aproximadamente 15 días cuando se almacenan en refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$ ) pudiéndose prolongar a temperaturas más bajas, y es menor cuando se mantienen a temperatura ambiente.

Tabla 2. Perdidas de peso durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratadas con Cs-PVA y distintas concentraciones nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$  y 80% HR).

Tratamiento	Refrigerado		Temperatura ambiente	
	15 días	30 días	15 días	30 días
Testigo absoluto	5.80 c <sup>z</sup>	23.06 a	12.66 ab	20.79 a
Cs-PVA	7.91 a	22.32 ab	13.76 a	20.15 ab
Cs-PVA+0.02 mg nCu	7.84 ab	22.27 ab	12.80 ab	19.00 b
Cs-PVA+0.2 mg nCu	7.30 abc	21.93 ab	11.74 b	20.53 a
Cs-PVA+2.0 mg nCu	6.02 c	23.82 a	12.48 ab	20.31 a
Cs-PVA+10 mg nCu	6.28 bc	20.52 b	13.31 a	20.26 ab
CV (%)	19.40	7.62	10.27	5.45

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher ( $P\leq 0.05$ ). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de seis repeticiones.

En la Tabla 3 se presentan los resultados del contenido de Sólidos Solubles Totales. Se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) a los 0 y 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente. El tratamiento de Cs-PVA + 2.0 mg nCu presentó el mayor contenido de SST tanto al momento inicial como a los 15 días de almacenamiento con valores de 4.80 y 6.37 °Brix respectivamente. Además, se observó en general una tendencia de aumento de los SST hasta los 15 días de almacenamiento.



Cuando los frutos fueron refrigerados se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento. A diferencia de los frutos que se almacenaron a temperatura ambiente en este caso el contenido de SST se mantuvo más constante. Se observó que el tratamiento de Cs-PVA + 2.0 mg nCu fue el que presentó los valores más altos de SST especialmente a los 30 días de almacenamiento (5.67 °Brix). Sin embargo, hubo diferencias entre los valores observados en refrigeración en el tratamiento Cs-PVA + 2.0 mg nCu en comparación con lo obtenido a temperatura ambiente, ya que en esta última condición se hubo un 12% más SST.

En general se observó un incremento en la concentración de SST con la aplicación Cs-PVA + nCu, obteniendo valores de hasta 6.37 °Brix (Cs-PVA + 2.0 mg nCu) los que superan incluso a los reportados por Hernández-Fuentes *et al.* (2010) en frutos de pimiento morrón var. California almacenados bajo refrigeración de  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 30 días (4.96 °Brix). Esta tendencia de aumento se debe a que los SST incrementan conforme la maduración del fruto progresa, debido a la degradación y biosíntesis de los polisacáridos y la acumulación de azúcares simples (Ghasemnezhad *et al.*, 2011). Además, la acumulación de azúcares en frutos no climatéricos está asociada con el desarrollo de la calidad óptima de consumo (Wills *et al.*, 1998), por lo que una mayor acumulación de SST representa mayor calidad de fruto tal como sucede en lo observado en este trabajo al aplicar Cs-PVA + nCu. Cuando los frutos están bajo refrigeración se disminuye el metabolismo por lo que no se limita el aumento en los SST. A diferencia de lo observado en este trabajo, en frutos de tomate Juárez-Maldonado *et al.* (2016) no observaron diferencias en los SST con la aplicación de nCu o nCu + quitosán, lo que indica que el efecto de la aplicación de este tipo de compuestos puede ser diferente para cada hortaliza.

Tabla 3. Comportamiento de los Sólidos Solubles Totales (°Brix) durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^\circ\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^\circ\text{C}$  y 80% HR).

Tratamiento	Temperatura ambiente			Refrigerado		
	Inicial	15 días	30 días	Inicial	15 días	30 días
Testigo absoluto	4.47 ab <sup>z</sup>	4.50 cd	5.30 a	4.47 ab	4.53 a	5.20 ab
Cs-PVA	4.33 ab	4.70 cd	5.17 a	4.33 ab	4.13 b	4.77 bc
Cs-PVA+0.02 mg nCu	4.17 b	5.23 b	5.20 a	4.17 b	4.57 a	4.43 cd
Cs-PVA+0.2 mg nCu	4.47 ab	4.37 d	5.50 a	4.47 ab	4.60 a	4.27 d
Cs-PVA+2.0 mg nCu	4.80 a	6.37 a	4.83 a	4.80 a	4.47 a	5.67 a
Cs-PVA+10 mg nCu	4.67 ab	4.80 c	4.67 a	4.67 ab	3.63 c	4.10 d
CV (%)	6.48	4.33	9.75	6.48	3.49	5.61

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher ( $P\leq 0.05$ ). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de tres repeticiones.

En el contenido de Acidez Titulable se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) en casi todos los tiempos de almacenamiento tanto para temperatura ambiente como en refrigeración, los resultados correspondientes se presentan en la Tabla 4. En los frutos almacenados a temperatura ambiente se observa una clara tendencia de aumento conforme pasa el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos incluido el testigo absoluto. En el caso de los frutos almacenados

bajo refrigeración solamente se observó esta tendencia de aumento en el testigo absoluto. Se ha reportado que la AT de diferentes cultivares de pimientos incrementa con la maduración, ya que mientras el fruto madura las reacciones metabólicas incrementan la concentración de ácidos orgánicos envueltos en el ciclo de Krebs (Ghasemnezhad *et al.*, 2011). Al refrigerar se disminuye el metabolismo por lo que se obtiene entonces un menor contenido de AT en los frutos refrigerados.

Al momento inicial de almacenamiento el tratamiento Cs-PVA + 2.0 mg nCu mostró el mayor valor de Acidez titulable en los frutos (0.65%), sin embargo a los 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente el tratamiento de Cs-PVA presentó el valor más alto (1.48% AC). En el caso de los frutos refrigerados, a los 30 días de almacenamiento el testigo absoluto presentó el valor más alto (1.13% AC) superando al resto de los tratamientos. Estos ácidos componen la reserva de energía y participan en las reacciones metabólicas de la síntesis de pigmentos, enzimas y otros materiales, y en la degradación de pectinas y celulosas que son esenciales para los procesos de maduración (Ghasemnezhad *et al.*, 2011), por lo que es lógico esperar entonces que la AT aumente conforme pasa el tiempo de almacenamiento.

Juárez-Maldonado *et al.* (2016) reportaron en frutos de tomate tratados con nCu+quitosán y quitosán valores de 0.38% y 0.45% AC. En el caso de quitosán los valores fueron idénticos a los encontrados aquí en chile jalapeño (0.45%), mientras que con la aplicación de nCu se observaron valores mayores en chile jalapeño en comparación con el tomate. Además, estos autores reportan un aumento en la acidez titulable de los frutos de tomate tratados con quitosán solo, lo que difiere a lo encontrado en los frutos de chile jalapeño de este trabajo ya que no hubo diferencias entre el testigo absoluto y la aplicación de quitosán solo. También a diferencia de estos autores, en el caso de chile jalapeño la aplicación de 0.2 y 2.0 nCu + Cs-PVA tuvo un efecto positivo en el aumento de la AT. Esto parece indicar que tanto el quitosán como las nCu +

Cs-PVA influyen directamente en el comportamiento de esta variable con el tiempo de almacenamiento en los frutos de Chile.

Tabla 4. Comportamiento de la Acidez titulable (% Ácido Cítrico) durante el tiempo de almacenamiento en frutos de Chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^\circ\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^\circ\text{C}$  y 80% HR).

Tratamiento	Temperatura ambiente			Refrigerado		
	Inicial	15 días	30 días	Inicial	15 días	30 días
Testigo absoluto	0.48 ab <sup>z</sup>	0.61 a	1.24 abc	0.37 b	0.60 a	1.13 a
Cs-PVA	0.45 ab	0.85 a	1.48 a	0.45 ab	0.35 b	0.76 b
Cs-PVA+0.02 mg nCu	0.35 b	0.72 a	1.01 c	0.35 b	0.61 a	0.74 b
Cs-PVA+0.2 mg nCu	0.60 ab	0.73 a	1.36 ab	0.60 a	0.55 ab	0.87 b
Cs-PVA+2.0 mg nCu	0.65 a	0.82 a	1.08 c	0.65 a	0.37 b	0.87 b
Cs-PVA+10 mg nCu	0.37 b	0.74 a	1.11 bc	0.37 b	0.55 ab	0.74 b
CV (%)	24.63	19.76	12.56	5.61	25.05	23.92

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher ( $P\leq 0.05$ ). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de tres repeticiones.

En cuanto al pH los resultados se presentan en la Tabla 5. Al momento inicial de la evaluación no se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre tratamientos, lo

que muestra que la aplicación de Cs-PVA solo o con nCu no afecta esta variable. Sin embargo, a los 15 días de almacenamiento tanto en temperatura ambiente como en refrigeración, se observó que el pH de todos los tratamientos fue estadísticamente menor en comparación con el testigo. Esto difiere de lo reportado por Juárez-Maldonado *et al.* (2016) ya que ellos registran un aumento del pH en frutos de tomate tratados con quitosán + nCu, lo que indica que el efecto puede ser diferente para cada hortaliza a la que se aplique.

A los 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente se observó que el tratamiento con Cs-PVA+0.2 mg nCu presentó el valor más bajo de pH (4.57), siendo estadísticamente diferente al resto de los tratamientos. Además, fue el único tratamiento en el que disminuyó el pH conforme aumentó el tiempo de almacenamiento. En el caso de refrigeración a los 30 días no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos.

Hernández-Fuentes *et al.* (2010) reportan en frutos de pimiento morrón var. California almacenados bajo refrigeración de  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  valores de pH que van desde 5.98 a 6.08 a los 0 y 30 días de almacenamiento respectivamente, siendo ligeramente superiores a los observados en este estudio. Tucker (1993) reporta que el pH en varios frutos se comporta de manera inversa a la variación en la acidez titulable, mientras que Hernández-Fuentes *et al.* (2010) reportaron una tendencia similar en frutos de pimiento morrón, esto coincide perfectamente con lo observado en los frutos de chile jalapeño del testigo absoluto (Tablas 4 y 5). En el caso de los tratamientos con Cs-PVA solo y con nCu no se observa esta tendencia, lo que indica que la aplicación de estos modifica el comportamiento del pH. Ya que la disminución o aumento en pH de los frutos se atribuye al contenido de ácidos orgánicos presentes en forma ionizada en el tejido vegetal (Salisbury y Ross, 1994), entonces es posible decir que la aplicación Cs-PVA solo y con nCu modifica la concentración de estos ácidos orgánicos.

Tabla 5. Comportamiento del pH durante el tiempo de almacenamiento en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente ( $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y refrigeración ( $10^{\circ}\text{C}$  y 80% HR).

Tratamiento	Temperatura ambiente			Refrigerado		
	Inicial	15 días	30 días	Inicial	15 días	30 días
Testigo absoluto	5.72 a <sup>z</sup>	5.49 a	5.22 a	5.72 a	5.51 a	5.21 a
Cs-PVA	5.53 a	5.15 b	5.45 a	5.53 a	5.31 b	5.23 a
Cs-PVA+0.02 mg nCu	5.50 a	5.08 bc	5.67 a	5.50 a	5.26 b	5.32 a
Cs-PVA+0.2 mg nCu	5.72 a	5.16 b	4.57 b	5.72 a	5.21 b	5.32 a
Cs-PVA+2.0 mg nCu	5.70 a	5.08 c	5.35 a	5.70 a	5.20 b	5.19 a
Cs-PVA+10 mg nCu	5.88 a	5.17 b	5.46 a	5.88 a	5.26 b	5.30 a
CV (%)	4.52	1.23	4.77	4.52	1.62	1.52

<sup>z</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher ( $P\leq 0.05$ ). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de tres repeticiones.

Los resultados de la capacidad antioxidante, fenoles totales y flavonoides se presentan en la Tabla 6. Se observa que en todas las variables hay diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre tratamientos, independientemente si los frutos de chile fueron almacenados a temperatura ambiente o en refrigeración.

La capacidad antioxidante ABTS en frutos almacenados a temperatura ambiente fue mayor en el tratamiento de Cs-PVA + 0.02 mg nCu (121.79 mg

EAA 100 g<sup>-1</sup> PS) 4% más que el testigo, mientras que en los frutos refrigerados el mayor contenido se observó en el testigo absoluto (120.22 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS).

Por su parte, la capacidad antioxidante DPPH de los frutos almacenados a temperatura ambiente fue mayor en el tratamiento Cs-PVA + 10 mg nCu (114.35 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS) seguido por Cs-PVA + 2.0 mg nCu (109.90 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS) ambos superiores al testigo por 6.6 y 2.5% respectivamente. En los frutos refrigerados el mayor valor se obtuvo con Cs-PVA + 0.02 mg nCu (108.69 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS) seguido por Cs-PVA + 10 mg nCu (103.74 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS) ambos superiores al testigo absoluto por 23 y 18% respectivamente, y menores a los obtenidos por Kim *et al.* (2006) en *Capsicum annum* cultivar Da-Bok (280.5 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> PS).

Se cree que los efectos estimulantes de las nCu están relacionadas con la inducción de actividad antioxidante (Fu *et al.*, 2014), ya que estas pueden atravesar fácilmente las paredes celulares e interactuar con las estructuras intracelulares (Shobha *et al.*, 2014) disparando la formación de ROS lo que a su vez activa el sistema de defensa antioxidante de las plantas el cual combina la generación de compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Rizwan *et al.*, 2017), lo que puede resultar en última instancia en un incremento de este tipo de compuestos tal y como se observa en este estudio. El efecto positivo mencionado puede observarse bajo condiciones ligeras de estrés por NP's, sin embargo, esto puede cambiar bajo condiciones de estrés elevado donde la actividad de las enzimas antioxidantes disminuye debido la explosión oxidativa (Rizwan *et al.*, 2017). Debido a esto es posible encontrar efectos diversos en la capacidad antioxidante dependiendo de la dosis de NP's usada tal y como se observa en los resultados del presente estudio (Tabla 6).

En el contenido de fenoles totales se observaron diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) en los frutos almacenados tanto a temperatura ambiente como en refrigeración. Cuando los frutos se almacenaron a temperatura ambiente el tratamiento Cs-PVA + 2.0 mg nCu generó el valor más alto (64.71 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS) 5.9%

más que el testigo. Por su parte, en los frutos bajo refrigeración el mayor contenido se observó en el tratamiento Cs-PVA + 0.2 mg nCu (63.18 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS) 1.5% mayor que el testigo. Los valores en ambos casos son mucho menores a los reportados por Vega-Gálvez *et al.* (2009) reportaron 1359 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS en *Capsicum annuum* L. var. Hungarian. Sin embargo, en comparación con lo reportado por Juárez-Maldonado *et al.* (2016) en frutos de tomate tratados con nCu + quitosán (5.8 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS) los valores observados en chile jalapeño fueron mayores (aproximadamente 11 veces). Ghasemnezhad *et al.* (2011) reportaron 120 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS para *Capsicum annuum* genotipo Zorro y 95 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS para el genotipo Arian, siendo mayores a los encontrados en el presente trabajo. Deepa *et al.* (2007) también reportaron valores más altos en pimiento genotipo Tanvi 186 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS y en genotipo Flamingo 1122 mg 100 g<sup>-1</sup> PS, al igual que Lee *et al.* (1995) en jalapeño var. Mitla (179.1 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> PS)

El contenido de flavonoides mostró diferencias ( $\alpha \leq 0.05$ ) en frutos almacenados bajo condiciones de temperatura ambiente como en refrigeración. En ambos casos el mejor tratamiento fue el de Cs-PVA+0.02 mg nCu superando al testigo absoluto por 13% y 17% respectivamente. La respuesta observada puede ser debido al efecto de inducción de la actividad antioxidante que presentan las nCu a bajas concentraciones (Fu *et al.*, 2014). Se observó además que el mayor contenido de flavonoides se obtuvo en los frutos refrigerados de prácticamente todos los tratamientos. Esto se explica debido a que el contenido de flavonoides totales disminuye durante la maduración (Howard *et al.*, 2000), entonces al refrigerar los frutos esta se retrasa por lo que el contenido de flavonoides se mantiene en comparación con los frutos almacenados a temperatura ambiente. El mayor contenido de flavonoides fue de 277.29 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS en el tratamiento Cs-PVA+0.02 mg nCu bajo condiciones de temperatura ambiente, siendo un 10% más que el testigo. En refrigeración fue de 343.26 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS con el mismo tratamiento, superando al testigo absoluto por un 17%. Estos valores son mucho más altos a los reportados por Ghasemnezhad *et al.* (2011) en *Capsicum annuum* genotipo



Zorro (11.7 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS) y Arian (4.2 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS); y Lee *et al.* (1995) en jalapeño var. Mitla (5.32 mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS).

Tabla 6. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH, Fenoles Totales y Flavonoides en frutos de chile jalapeño tratados con Cs-PVA y distintas concentraciones de nCu almacenados a temperatura ambiente (20±1°C) y refrigeración (10°C y 80% HR) por 15 días.

Tratamiento	Temperatura ambiente				Refrigerado			
	ABTS (mg EAA 100 g <sup>-1</sup> PS)	DPPH (mg EAA 100 g <sup>-1</sup> )	Fenoles Totales (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> PS)	Flavonoides (mg EQ 100 g <sup>-1</sup> PS)	ABTS (mg EAA 100 g <sup>-1</sup> PS)	DPPH (mg EAA 100 g <sup>-1</sup> PS)	Fenoles Totales (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> PS)	Flavonoides (mg EQ 100 g <sup>-1</sup> PS)
Testigo absoluto	117.1 0 bc <sup>2</sup>	107.2 7 c	61.07 b	245.92 d	120. 22 a	87.68 d	62.22 b	292.85 c
Cs-PVA	115.9 4 cd	105.1 5 c	61.85 b	248.74 d	103. 08 c	96.16 c	31.93 e	300.54 b
Cs-PVA+0.02 mg nCu	121.7 9 a	78.03 e	54.29 c	277.20 a	102. 27 c	108.6 9 a	56.44 d	343.23 a
Cs-PVA+0.2 mg nCu	118.9 3 b	94.34 d	61.67 b	270.80 b	104. 72 bc	82.93 e	63.18 a	262.59 e
Cs-PVA+2.0 mg nCu	113.4 9 d	109.9 0 b	64.71 a	184.90 e	95.9 4 d	94.85 c	29.93 f	299.51 b
Cs-PVA+10 mg nCu	114.1 0 d	114.3 5 a	55.44 c	261.31 c	108. 66 b	103.7 4 b	59.93 c	276.95 d
CV (%)	1.25	1.25	1.32	0.66	2.19	1.63	1.01	0.55

<sup>2</sup>Valores con las mismas letras dentro de la columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de LSD Fisher (P≤0.05). CV (%): Coeficiente de variación. Cada dato es la media de tres repeticiones.

## CONCLUSIONES

La aplicación de nCu afecta el crecimiento de la planta sobre todo en concentraciones altas, pero aumenta el número de frutos y el peso promedio de estos. Esto indica que la aplicación de nCu genera efectos tanto positivos como negativos en el crecimiento y desarrollo del cultivo de chile dependiendo de la dosis que se aplique.

En relación a las características de postcosecha disminuye la pérdida de peso de los frutos almacenados durante 30 días tanto en refrigeración como a temperatura ambiente. Incrementa también la cantidad de sólidos solubles totales en frutos almacenados a temperatura ambiente durante 15 días.

En general la aplicación de nano partículas de Cu en hidrogeles que quitosán-PVA aumenta el contenido de antioxidantes ABTS y DPPH, fenoles totales y flavonoides (4, 6.6, 5.9 y 12.71% respectivamente) en los frutos de chile jalapeño almacenado por 15 días a temperatura ambiente. Mientras que en refrigeración aumenta antioxidantes DPPH, fenoles totales y flavonoides (23.9, 1.54 y 17.2% respectivamente).

La aplicación de nanopartículas de Cu en hidrogeles de quitosán-PVA aún y cuando se aplican al sustrato no solo tiene efecto en el desarrollo del cultivo de chile, sino que también modifican las características de postcosecha de los frutos de chile jalapeño.

## REFERENCIAS

- Aguilar P. M., Mayorga, A. A., Tapia, P.I. 2004: "Quitina y Quitosano: Obtención Caracterización y Aplicaciones", Lima, Fondo Editorial de la PUCP.
- AOAC., 2000. Vitamin and other nutrient. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. (17 ed). Gaithersburg, USA: Hoerwitz, W. Ed.
- Arts, I. C. W. y Hollman, P. CH. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J Clin Nutr*; 317
- Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P., 1994. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants= Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *J. de pharmacie de Belgique*, 49(6): 462-468.
- Báez-Sañudo M., Siller-Cepeda J., Muy rangel D., Contreras-Martínez R., L. Contreras- Angulo., 2005. Deshidratación y pérdida de firmeza en chiles morrones de colores almacenados bajo simulación de mercadeo. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Sinaloa México. Second World pepper Convention.
- Beecher, G. R. 2003. Overview of dietary flavonoidss: nomenclature, occurrences and intake. *American Society for Nutrition and Sciencies*. 3248, 3254.
- Benavides-Mendoza, A., Romero-García, J., Ledesma-Pérez, A.S., and Raygoza-Castro, J.M., 2001. La aplicación foliar de quitosano en ácido acético aumenta la biomasa de la lechuga. *BIOTAM Nueva Serie* 12,1-6.
- Bernard-Mantel, A., Bouzehouane, K., Seneor, P., Fusil, S., Deranlot, C., Brenac, A., Notin, L., Morel, R., Petroff, F., Fert, A.:2010 A versatile nanotechnology to connect individual nanoobjects for the fabrication of hybrid single-electron devices. *Nanotechnology* 21.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology* 1995; 28:25-30.
- Chávez-Franco, S. y Saucedo- Veloz, C. 1985. Conservación en refrigeración de dos variedades de tunas. *Horticult. Mex.* 1(1): 6- 13 pp.
- Curtis, J. M., Hahn, We. S., Long, E. K., Burrill, J. S. Arriaga, E. A., Bernlohr, D. A. 2012. Protein carbonylation and metabolic control systems. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 23(8):399-406.

- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 43(4): 348–361
- Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 40. 121-129.
- Dimkpa, C.O., McLean, J.E., Latta, D.E., Manangón, E., Britt, D.W., Johnson, W.P., Boyanov, M.I., Anderson, A.J. 2012. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *J Nanopart Res* 14:1125-1129.
- Espinosa-Torres, L.E., Pérez-Grajales, M., Martínez-Damián, M.T., Castro-Brindis, R., Barrios-Puente G. 2010. Effect of packaging and postharvest storage temperatures on manzano hot peppers (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pavón) *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16(2), 115-121.
- FAOSTAT, D. (2013). Food and agriculture organization of the United Nations. Statistical database.
- Fu, P.P., Xia, O., Hwang, H.M., Ray, P.C., U, H., 2014: Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *J. Food Drug Anal.* 22, 64-75.
- Gendron, M.E., Théorêt, J.F., Mamarbachi, A.M., Drouin, A., Nguyen, A., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Merhi, Y., and Thorin, E. 2010. Late chronic catechin antioxidant treatment is deleterious to the endothelial function in aging mice with established atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298: H2062–H2070.
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Payvast, G. A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annuum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*, 3(1), 44–49.
- Giriwono, P.E., Hashimoto, T., Ohsaki, Y., Shirakawa, H., Hokazono, H. and Komai, M. 2010. Extract of fermented barley attenuates chronic alcohol induced liver damage by increasing antioxidative activities. *Food Research International*. 43:118–124.
- Gonchar, O and Mankovska I. 2010. Antioxidant system in adaptation to intermittent hypoxia. *Journal of Biological Sciences*. 10(6):545-554.

- Grace C. 2005. Phenolics as antioxidants. En: antioxidants and reactive oxygen species in plants. Nicholas S. Blackwell Publishing. United Kingdom. 141-159.
- Grimes, M., Kobrin, B.: 2008 Surface engineering for microfabrication. *Solid State Technol.* 51, 28–31.
- Haque, R., Chun, E., Howell, J. C. Sengupta, T., Chen, D., Kim, H. 2012. MicroRNA-30b-mediated regulation of catalase expression in human ARPE-19 cells. *PLoS One.* 7(8):e 425-42.
- Hernandez I., 2004. Revisión bibliográfica La quitosana: un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales* Vol. 25 no. 3 p-97-110.
- Hernández-Fuentes, Alma Delia; Campos Montiel, R.; Pinedo-Espinoza, J. M. 2010 Comportamiento poscosecha de pimiento morrón (*Capsicum annum* L.) var. california por efecto de la fertilización química y aplicación de lombrihumus. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1): 82-91.
- Howard, L. R., Talcott, S.T., Brenes, C.H., Villalon, B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48, 1713-1720.
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.* 53:1841-1856.
- Juárez-Maldonado, A. Ortega-Ortiz, H., Pérez-Labrada, F., Cadenas-Pliego, G., Benavidez-Mendoza, A. 2016: Cu nanoparticle absorbed on chitosan hydrides positively alter morphological production and quality characteristics of tomato. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 89, 183-189.
- Kim, S., Lee, K. W., Park, J., Lee, H. J. and Hwang, I. K. (2006), Effect of drying in antioxidant activity and changes of ascorbic acid and colour by different drying and storage in Korean red pepper (*Capsicum annum*, L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 41: 90–95
- Klejdus, B., Vacek, J., Benešová, L., Kopecký, J., Lapčík, O., & Kuban, V. 2007. Rapid resolution HPLC with spectrometric detection for the determination and identification of isoflavones in soy preparations and plant extracts. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 389:2277–2285.

- Laguerre, M., Lecomte, J., Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*. 46:244–282.
- Lee, Y., Howard, L.R. and Villalon. B., 1995. Flavonoids and Antioxidant Activity of Fresh Pepper (*Capsicum annuum*) Cultivars. *Journal of Food Science*, 60: 473–476.
- Leonard, S. S., Harris, G. K., and Shi, X. 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic. Biol. Med.* 37:1921–1942.
- Leonarduzzi, G., Sottero, B., Poli, G. 2010. Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: The antioxidant concept revisited. *Pharmacology & Therapeutics* 128: 336–374.
- Lin D, Xing B., 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environ Pollut* 150:243–250.
- Liu, Q., Cai, W. and Shao, X. 2008. Determination of seven polyphenols in water by high performance liquid chromatography combined with preconcentration. *Talanta*. 77:679–683.
- Loizzo M. R., Pugliese A., Bonesi A., Menichini F., Tundis R., 2015 Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chacoense* and *Capsicum chinense*: A comparison between fresh and processed peppers. *Food Science and Technology* 64. 623-631.
- Navarrete, L. P., Pérez, P., Morales, I., Maccioni, R., Novel, B. 2011. Drugs affecting tau behavior in the treatment of Alzheimer's disease and tauopathies. *Current Alzheimer Research*.8 (6):678- 685.
- Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann NB, Filser J, Miao AJ, Quigg A, Santschi PH, Sigg L (2008) Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants and fungi. *Ecotoxicol* 17:372–386.
- Ornelas-Paz, J., Martinez-Burrola, J.M., Ruiz-Cruz, S., Santana-Rodriguez, V., Ibarra-Junquera, V., Olivas, H.I., 2010. Effect of cooking on capsaicinoids and phenolics contents of mexican peppers. *Food Chemistry*. 119. 1619.1625.

- Quandt, A., Özdoğan, C.: 2010 Biominerals and graphene—basic aspects of nanoscience. *Commun. Nonlinear Sci. Numer. Simul.* 15, 1575–1582.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yanga, M., Rice-Evans, CA. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med*, 26,1231-1237.
- Rizwan, M., S. Ali, M. Farooq Q., Y. Sik O., M. Adrees, M. Ibrahim, M. Zia-ur-Rehman, M. Farid, F. Abbas. 2017. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of Hazardous Materials* 322: 2–16.
- SAGARPA. 2015. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Salisbury, F.B; Ross, C. W. 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana S.A. de C. V. México pp 71- 441.
- Shetty, K., 2004. Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: a review. *Process Biochemistry*. 39. 789-803.
- Shi, J., Peng, C., Yang, Y., Yang, J., Zhang, H., Yuan, X., Chen, Y., Hu, T., 2014: Phytotoxicity and accumulation of copper oxide nanoparticles to the Cu-tolerant plant *Elsholtzia splendens*. *Nanotoxicology* 8, 179- 188.
- SIAP. 2015. Un panorama del cultivo del chile.
- Singleton, V.L., Orthfer, R., Lamuela-Raventos, RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152-78.
- Stampoulis D, Sinha SK, White JC (2009) Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environ Sci Technol* 43:9473–9479.
- Van-Aken, B. 2015. Gene expression changes in plants and microorganisms exposed to nanomaterials. *Current Opinion in Biotechnology* 33: 206-219.
- Vega-gálvez, A., Di, K., Rodríguez, K., Lemus-mondaca, R., Miranda, M., ... Perez-won, M., 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties , antioxidant capacity , colour and total phenolic content of red pepper. *Food Chemistry*, 117(4), 647–653.
- Venereo G.J.R. 2002. Oxidative damage, free radicals and antioxidants. *Rev. Cub. Med. Mil.* 31(2)126-133.
- Wang, M. Y., Dhingra, K., Hittelman, W. N., Liehr, J. G., deAndrade, M.,&Li, D. H. 1996. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde–DNA

- adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol. Biomark Prev.* 5: 705–710.
- White, P.J., and Brown, P.H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot.* 105, 1073-1080.
- Wickson, F., Grieger, K., Baun, A.: 2010 Nature and nanotechnology: science, ideology and policy. *Aust. J. Emerg. Technol. Soc.* 8, 5–23.
- Williamson G., Plumb G.W., García-Conesa M.T. 1999. Glycosylation, esterification, and polymerization of flavonoids and hydroxycinnamates: Effects on antioxidant properties. En: *Plant polyphenols 2: Chemistry, biology, pharmacology, ecology.* Gross et al. Editores. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. 926pp.
- Wills R.; B. Mc Glasson; D. Graham y D. Jo. 1998. *Postharvest. An introduction to the physiology & handling of fruit, vegetable and ornamentals.* 4th edition. CAB International. 262 p.
- Xiophong, P., 2007. Evaluación de tres bioestimulantes en el cultivo del tomate. Trabajo de Diploma, Universidad de Granma (UDG), Bayamo, Cuba, 2007, 65p.
- Zamora-Ros, R., Rabassa, M., Llorach, R., González, C.A., and Andres-Lacueva, C. 2012. Application of dietary phenolic biomarkers in epidemiology: past, present, and future. [dx.doi.org/10.1021/jf204742e](https://doi.org/10.1021/jf204742e) | *J. Agric. Food Chem.* 60:6648–6657.
- Zuverza-Mena, N., Medina-Veto, I. A., Barrios, A. C., Wenjuan, T., Peralta-Virea, J. R., Garcia-Torresdey, J. L., 2015: Copper nanoparticles/compounds impact agronomic and physiological parameters in cilantro (*Coriandrum sativum*). *Environ. Sci. Processes Impacts.* 17. 1783-1793.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D. and Ninfali, P. 2010. Fruit and vegetable antioxidants in health. En: Watson, R. R., Preedy, V.R. *Bioactive Foods in Promoting Health.* 37-58.
- Cruz-Rus, E., Amaya, I., and Valpuesta, V. 2012. The challenge of increasing vitamin C content in plant foods. *Biotechnol. J.* 2012, 7, 1110–1121.
- García-Parrilla. M.C., 2008. Antioxidantes en la dieta Mediterránea. *Nutrición Clínica en Medicina.* 2(3):129-140.



- Mandl, J., Szarka, A., and Bánhegyi, G. 2009. Vitamin C: update on physiology and pharmacology. *British Journal of Pharmacology*. 157:1097–1110.
- Rodriguez-Amaya, D.V. 2010. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23:726–740.
- Tucker, G. A. 1993. *Biochemistry of fruit ripening*. Editorial Chapman and Hall USA pp 1-15.
- Cook, N. C. and Samman, S. 1996. Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*. 7:66–76.
- De Grey, A. D. N. J. 2002. HO<sub>2</sub> : The forgotten radical. *DNA Cell Biol*. 21:251–257.
- Delgado-vargas, F., y Paredes-Lopez, O. 2003. *Natural colorants for food and nutraceutical uses* pp. 257-305. Boca Raton, Fla: CRC Press.
- Falcón, A., Cabrera, D., Ravelo, E. y Menéndez, J., 2004. Productos bioactivos: una alternativa para evadir el efecto de las altas temperaturas en la germinación del tomate. *XV Forum de Ciencia y Centro Agrícola*, 40(2): 79-84.
- Roginsky V., Lissi E. A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92: 235–254.
- Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., Khanizadeh, S. 2005. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple?. *J. Agric. Food Chem*. 53, 4989–4995.
- Jin-Wei L., Shao-dong D., Xiao-Lin D. 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*. 40:3607–3613.
- Valko, M., Morris, H., and Cronin, M. T. D. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem*. 12: 1161–1208
- Nacz M., Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41:1523–1542.

- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99:191–203.
- Terrero, J., 2007. Aplicación de tres sustancias bioestimulantes a siembra directa y trasplante en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus*, C.). Forum Nacional Estudiantil Agropecuario, Universidad de Granma (UDG), Bayamo, Cuba, 2007, 56 p.
- Zhang, Q., Pi, J., Woods, C.G. and Andersen, M.E. 2010. A systems biology perspective on Nrf2- mediated antioxidant response. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 244:84–97.
- Dilis, V. and Trichopoulou, A. 2010. Antioxidant Intakes and Food Sources in Greek Adults. *The Journal of Nutrition*. 1274-1279.
- Namitha, K.K. and Negi, P.S. 2010. Chemistry and Biotechnology of Carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 50:728–760.
- Lili, H., Liu, Y., Mustapha, A., Lin, M. 2011. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, 166:Pages 207–215.
- Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 126:1821–1835.
- Kamari, A., Pulford, I.D., and Hargreaves, J.S., 2011. Chitosan as a potential amendment to remediate metal contaminated soil- a characterisation study. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 82, 71-80.
- Andrade, J. P., Assuncao, M. 2012. Protective effects of chronic Green tea consumption on age-related neurodegeneration. *Current Pharmaceutical Design* 18 (1):4-14.
- Matés, J.M., Segura, J.A., Alonso, F.J. Márquez, J. 2012. Oxidative stress in apoptosis and cancer: an update. *Arch Toxicol*. DOI 10.1007/s00204-012-0906-3.
- Bae H., Jayaprakasha G.K., Jifon J. Patil B.S. 2012. Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic

extracts from hot pepper (*Capsicum* spp.) cultivars. *Food Chemistry* 134. 1912-1918.

Chatterjee, N., H.J. Eom, J. Choi. 2014. A systems toxicology approach to the surface functionality control of graphene–cell interactions. *Biomaterials* 35(4): 1109-1127.

Iavicoli, I. Fontana, L., Leso, V., Calabrese, E.J., 2014: Hormetic dose-responses in nanotechnology studies. *Science of the Total Environment* 487, 361-374. *Plant Physiol.* 160, 859-863.

Shobha, G. Moses, V., Ananda. S., 2014: Biological synthesis of copper nanoparticle and its impact- a review. *Int. J. Farmaceut. Sci. Invent.* 3, 28-38.

Shobha, G. Moses, V., Ananda. S., 2014: Biological synthesis of copper nanoparticle and its impact- a review. *Int. J. Farmaceut. Sci. Invent.* 3, 28-38.

Nair, P. M. G., Chung, I. M., 2015. Study on the correlation between copper oxide nanoparticles induced growth suppression and enhanced lignification in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 113: 302-303.

Thakkar, S. K., Maziya-Dixon, B., Dixon, A. G. O., & Failla, M. 2007.  $\beta$ -Carotene micellarization during in vitro digestion and uptake by caco-2 cells is directly proportional to b-carotene content in different genotypes of Cassava<sup>1,2</sup>. *The Journal of Nutrition*, 137, 2229-2233.