**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TORREÓN**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

# NANOPARTÍCULAS DE COBRE EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD NUTRACEÚTICA EN EL CULTIVO DE LECHUGA

Tesis que presenta:

**ING. ADRIEL ORTIZ CAMPOS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE SUELOS**

**Director de Tesis:**

**DR. PABLO PRECIADO RANGEL**

**TORREÓN, COAHUILA MÉXICO**

**FEBRERO, 2022**

La presente tesis titulada: **“NANOPARTÍCULAS DE COBRE EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD NUTRACEÚTICA EN EL CULTIVO DE LECHUGA”** realizada por el alumno **Adriel Ortiz Campos**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE SUELOS**

**CONSEJO PARTICULAR**

**Director:** _____

Dr. Pablo Preciado Rangel

**Co – Director:** _____

Dra. Jazmín Montserrat Gaucin Delgado

**Asesor:** _____

Dr. Manuel Fortis Hernández

**Asesor:** _____

Dr. Héctor Zermeño González

## DEDICATORIA

A mis padres Ma. Luisa Campos Guereca y Arcadio Ortiz Carrasco, mis hermanos por estar a mi lado apoyándome en esta etapa de mi vida, por ser parte de este sueño y una meta más superada.

**AGRADECIMIENTOS**

Principalmente a Dios por permitirme culminar con éxito esta etapa de mi formación profesional.

A mi familia por todos sus consejos, además por todo el apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de mi formación, les estaré eternamente agradecido.

Al Dr. Pablo Preciado Rangel por ser mi asesor y compartir sus enseñanzas, a lo largo de mi formación como profesionista.

A la M.C Jazmín Monserrat Gaucin Delgado por su confianza al brindarme sus conocimientos a lo largo de mi estadía en el Instituto Tecnológico de Torreón.

Al Instituto Tecnológico de Torreón por darme la oportunidad de realizar mí formación y poder concluir la Maestría en Suelos de manera exitosa.

Agradezco el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) para los estudios de Maestria en Ciencias.

A mis amigos y a la familia Lira que siempre estuvieron al pendiente en todo momento de mi formación.

# INDICE

**Página**

DEDICATORIA ..... i
AGRADECIMIENTOS ..... ii
INDICE ..... iii
ÍNDICE DE FIGURAS ..... vi
INDICE DE CUADROS ..... vii
RESUMEN ..... viii
SUMMARY ..... ix
I. INTRODUCCIÓN ..... 1
1.1. OBJETIVOS ..... 3
1.1.1. Objetivo General ..... 3
1.1.2. Objetivo especifico ..... 3
1.1.3. Hipótesis ..... 4
II. REVISIÓN DE LITERATURA ..... 5
2.1 Cultivo de Lechuga ..... 5
2.1.1. Importancia ..... 5
2.1.2. Valor nutricional ..... 6
2.2 Hidroponía ..... 7
2.2.1. Cultivo en sustrato ..... 7
2.2.2 Solución nutritiva ..... 7
2.3. Nanobiofortificación de los cultivos ..... 8
2.3.1 Nanopartículas ..... 8
2.3.2 Nanopartículas de cobre ..... 9

2.3.3 Nanopartículas de cobre en las plantas ..... 10
2.3.4 Nanopartículas de cobre en las personas ..... 11
2.4 Compuestos bioactivos ..... 12
2.4.1. Radicales libre ..... 13
2.4.2 Antioxidantes ..... 14
2.4.3 Compuestos Fenilpropanoides ..... 15
2.4.4. Vitamina C ..... 15
2.4.5. Actividad enzimática importancia ..... 15
III. MATERIALES Y METODOS ..... 17
3.1 Localización del sitio experimental ..... 17
3.2 Material vegetal ..... 17
3.3 Trasplante y sustrato ..... 18
3.4 Tratamientos evaluados ..... 18
3.5. Diseño experimental ..... 19
3.6. Nutrición del cultivo ..... 19
3.7. Nanopartículas de cobre ..... 20
3.8. Variables evaluadas ..... 21
3.8.1 Rendimiento ..... 21
3.8.2. Materia seca ..... 21
3.8.3. Calidad nutraceútica ..... 21
3.8.4. Contenido de fenoles totales ..... 22
3.8.5. Flavonoides totales ..... 22
3.8.6. Capacidad antioxidante total ..... 23
3.8.7. Vitamina C ..... 23
3.8.8 Actividad enzimática ..... 23

3.8.9 Glutatión peroxidasa (GPX) ..... 23

3.8.10. Catalasa (CAT) ..... 24

3.8.11. Superóxido dismutasa (SOD)..... 25

3.8.12. Acumulación de cobre en hojas de las lechugas ..... 25

3.9. Análisis estadístico..... 26

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 27

4.1 Rendimiento ..... 27

4.2 Calidad nutraceútica..... 28

4.3 Actividad enzimática ..... 31

4.4 Contenido de cobre en lechuga ..... 33

V. CONCLUSIONES ..... 36

VI. LITERATURA CITADA..... 37

# ÍNDICE DE FIGURAS

**Página**

**Figura 1.** Localización del invernadero del ITT……..... 16

**Figura 2.** Los patrones de difracción de DRX de NPs Cu..... 19

**Figura 3.** Micrografías correspondientes a la muestra de NPs Cu ..... 19

**Figura 4.** Contenido de cobre en la lechuga. ..... 36

# INDICE DE CUADROS

**Página**

**Cuadro 1.** Umbral recomendado de Cu por etapa de vida. ..... 11

**Cuadro 2.** Umbral de toxicidad de Cu en la etapa de vida. ..... 12

**Cuadro 3.** Principales compuestos fenólicos presentes en el cultivo de Lactuca sativa L…….13

**Cuadro 4.** Máximos y mínimos por SSA norma oficial mexicana: NOM-127-SSA 1994*……..……...18

**Cuadro 5.** Efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre el rendimiento del cultivo de lechuga..... 29

**Cuadro 6.** Efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre la calidad nutraceútica en lechuga…… …… 31

**Cuadro 7.** Efecto de las dosis de NPs Cu sobre la actividad enzimática en lechuga. …….……...34

# RESUMEN

El uso de nanopartículas metálicas mejora el rendimiento y el contenido de compuestos bioactivos en los alimentos de origen vegetal, compuestos muy deseables debido a los beneficios para la salud humana. El objetivo de esta investigación fue determinar si la aplicación foliar de nanopartículas de Cobre (NPs Cu) incrementa el rendimiento, el contenido de compuestos bioactivos y la concentración de cobre en las hojas de lechuga. Nuestro estudio consideró seis tratamientos con diferentes concentraciones de NPs Cu:(0, 0.5, 1, 2, 4 y 6 mg $mL^{-1}$). Se determinaron los efectos sobre el rendimiento, calidad nutraceútica y la concentración de cobre. La aspersión foliar de NPs Cu indujo un aumento en la biosíntesis de compuesto bioactivos y mayor bioacumulacion de Cu en plantas de lechuga, además las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) mostraron un aumento significativo, sin efectos en el rendimiento. Por lo tanto, con la aplicación de NPs Cu, producen lechugas de mejor calidad para la dieta humana debido a la acumulación de compuestos bioactivos.

**Palabras clave*:*** *Lactuca sativa L,* nanobiofortificación, compuestos enzimáticos y no enzimáticos.

# SUMMARY

The use of metallic nanoparticles improves the yield and the content of bioactive compounds in plant-based foods, compounds that are highly desirable due to their benefits for human health. The objective of this research was to determine whether foliar application of copper nanoparticles (Cu NPs) increases yield, bioactive compound content and copper concentration in lettuce leaves. Our study considered six treatments with different concentrations of Cu NPs:(0, 0.5, 1, 2, 4 and 6 mg $mL^{-1}$). The effects on yield, nutraceutical quality and copper concentration were determined. Foliar spraying of Cu NPs induced an increase in the biosynthesis of bioactive compounds and increased bioaccumulation of Cu in lettuce plants, and the enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) showed a significant increase, with no effect on yield. Therefore, with the application of Cu NPs, lettuce plants produce better quality for human diet due to the accumulation of bioactive compounds.

**Key words:** *Lactuca sativa* L, nanobiofortification, enzymatic and non-enzymatic compounds.

# I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la nanotecnología puede generar agroproductos que permiten aumentar la calidad y productividad de los cultivos y para aumentar la absorción de los nutrientes de las plantas (Al-Hakkani, 2020). Entre esos nano-agroproductos están las nanopartículas metálicas que pueden bioestimular a los cultivos e incrementar la concentración del elemento en cuestión de la parte comestible de los cultivos, (Younes *et al.*, 2020). El Cu es un micronutriente esencial para los seres vivos y desempeña un papel importante en las plantas ya que regula diversos procesos fisiológicos y bioquímicos como la fotosíntesis, respiración, metabolismo del carbono y nitrógeno y la protección contra el estrés oxidativo (Bakshi y Kumar, 2021). Las NPs de Cu presentan características antimicrobianas y antivirales, además de ser una excelente fuente de este micronutriente (Mali *et al.*, 2019) permitiéndole interrelacionar a nivel molecular, impactando positivamente en la productividad y calidad de los cultivos (Kumar *et al*., 2020), al aumentar el contenido de compuestos fitoquímicos y bioactivos, además de brindar tolerancia al estrés biótico y abiótico (Lopez-Lima *et al.*, 2020).

Por otro lado, el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) es un alimento producido y consumidos a nivel mundial, debido a su alta importancia en la nutrición humana (Pertierra Lazo y Quispe Gonzabay, 2020), al representar una fuente importante de bioactivos incluidos loa compuestos fenolicos, vitaminas A, B, C y minerales con propiedades antioxidantes (Natividad-Torres *et al.,* 2021). La aplicación de nanopartículas a través de la biofortificación de cultivos es una herramienta útil no solo para incrementar la cantidad de los micronutrientes esenciales sino, además

mejorar la biosíntesis de compuestos bioactivos (Gaucin-Delgado *et al.,* 2020). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre el rendimiento, la calidad nutracéutica y la capacidad antioxidante en el cultivo de lechuga.

## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs Cu en la calidad nutraceútica en el cultivo de lechuga.

### 1.1.2. Objetivo especifico

Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre el rendimiento del cultivo de lechuga.

Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre los antioxidantes no enzimáticos (fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidantes y vitamina C) y enzimáticos (catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa) en lechuga.

### 1.1.3. Hipótesis

La aspersión foliar de las NPs Cu, aumentara el rendimiento, la calidad nutraceútica, los antixidantes, la actividad de compuestos enzimáticos y no enzimaticos y su bioacumulación en lechuga.

# II. REVISIÓN DE LITERATURA

## 2.1 Cultivo de Lechuga

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una especie vegetal que pertenece a la familia de las asteráceas, es uno de los principales cultivos en México, en el 2017, tuvo una superficie cultivada de 21,149 $ha^{-1}$, con un rendimiento promedio de 22.9 t $ha^{-1}$ y con valor económico de 1,843 millones de pesos mexicanos (Lara, 2019).

La lechuga está constituida por un 96 % de agua, 1.1 g de fibra, 2.2 g de carbohidratos, 1.4 g proteína, y una mínima cantidad de grasa, también es fuente de minerales, vitaminas y compuestos bioactivos como carotenoides y compuestos fenólicos por lo que este alimento posee actividad antimicrobiana, antioxidante, neuroprotectora y antiinflamatoria (Silva, 2016).

### 2.1.1. Importancia

La importancia del cultivo de lechuga ha incrementándo en los últimos años, debido tanto a la diversificación de tipos varietales, como al aumento de la cuarta gama. La incorporación de técnicas intensivas de producción responde a la necesidad de obtener un producto de mayor calidad, incrementando su precio en el mercado (Saavedra *et al*., 2017).

Las hortalizas frescas son ampliamente consumidas en todo el mundo, entre ellas la lechuga, siendo una rica fuente de fItoquímicos, aportan principalmente agua y otros compuestos benéficos a la salud humana con un escaso aporte calórico, rica fuente de compuestos fenólicos, vitamina A, B, C, E y folatos, así como minerales

de hierro (Fe) y potasio (K). El creciente interés por este alimento saludable se relaciona con el contenido de compuestos bioactivos. (Silva, 2016).

### 2.1.2. Valor nutricional

La lechuga (*Lactuca sativa* L.*)* es una hortaliza importante en la dieta del ser humano y su producción ha ido en aumento en los últimos años. Esto es debido principalmente a su contenido nutricional, que aporta al consumidor un alto contenido de agua y muy pocas calorías. Esta última característica se explica a que tiene bajas concentraciones de hidratos de carbono, lípidos, proteínas, etc. Sin embargo, el valor nutricional de la lechuga puede variar según la variedad de lechuga y las condiciones ambientales de cultivo (Bastías, 2020).

La concentración nutrimental óptima en hojas en base a biomasa seca para el cultivo de lechuga (criterio para el diagnóstico del estado nutrimental) es de 4.7 a 5.5 % para Nitrógeno (N), 0.5 a 1.0 % para Fosforo (P), 7.5 a 9.0 % para Potasio (K), 2.0 a 3.0 % para Calcio (Ca), 0.5 a 0.8 % para Magnesio (Mg), 23 a 50 $mg \cdot kg^{-1}$ para Bario (B), 8.0 a 25 $mg \cdot kg^{-1}$ para Cobre (Cu), 50 a 100 $mg \cdot kg^{-1}$ para Hierro (Fe), 15 a 250 $mg \cdot kg^{-1}$ para Manganeso (Mn) y 20 a 250 $mg \cdot kg^{-1}$ para Zinc (Zn) y una absorción total por planta (parte aérea raíz) ($mg \cdot planta^{-1}$) de 550 mg de N, 185 mg de P, 858 mg de K, 280 mg de Ca, 72 mg de Mg, 421 mg de S, 6 mg Cu, 13 mg de Fe, 14 mg de Mn, 5 mg de Zn y 5 mg de B (Avendaño, 2019).

Por sus propiedades antioxidantes, el consumo de estos compuestos bioactivos como por ejemplo carotenoides, compuestos fenólicos, vitamina E, vitamina C, entre otros se encuentran asociados con la reducción de riesgos de

enfermedades crónicas, debido a que, el deterioro renal progresivo se asocia con un aumento del estrés oxidativo (Avendaño, 2019).

## 2.2 Hidroponía

La hidroponía HIDRO (agua) y PONOS (labor o trabajo) lo cual significa literalmente trabajo en agua, es una técnica que permite al cultivo desarrollarse en un medio libre de suelo, mediante sustratos o sistemas donde aportes soluciones de nutrientes estáticos o circulantes (Sariñana-Aldaco *et al.,* 2020)

### 2.2.1. Cultivo en sustrato

El término “sustrato” se usa para definir cualquier material, de origen natural o sintético, que reemplaza al suelo y cumplen una función de sostén de la planta. El sustrato puede ser fuente de algún nutriente (generalmente sustratos orgánicos como compost, turba, etc.) o no (perlita, espumas agrícolas, lana de roca, etc.). En el primer caso se habla de “cultivo sin suelo”, mientras que en el segundo caso es “hidroponía”, ya que el 100% de los nutrientes son aportados por la solución nutritiva (Castañares, 2020).

### 2.2.2 Solución nutritiva

El aporte de la solución nutritiva se realiza con el riego, el cual generalmente es por goteo, aunque en sistemas caseros puede aplicarse con una regadera. El exceso de solución puede recolectarse, pudiendo ser reutilizado. Se recomienda una vez por semana regar únicamente con agua, a fin de lavar el sustrato reduciendo la acumulación excesiva de sales (Guerrero-Guerrero *et al.,* 2021).

## 2.3. Nanobiofortificación de los cultivos

La nanaobiofortificación de cultivos básicos es una estrategia reciente, basada en alimentos que se suma a otras como lo es la fortificación industrial de alimentos. No obstante, la biofortificación convencional requiere aditivos artificiales, en cambio la biofortificación implica la síntesis o acumulación de nutrientes por parte de las plantas en los frutos (Bakshi y Kumar, 2021).

La mejora de los niveles de micronutrientes en los cultivos alimentarios mediante tecnologías agrícolas, es un medio fundamental para reducir la desnutrición por micronutrientes ya que es importante reconocer que no todos los alimentos fortificados ofrecen una buena biodisponibilidad de sus micronutrientes (Das Jana *et al.,* 2020).

### 2.3.1 Nanopartículas

Las nanopartículas son, como su propio nombre indica, partículas microscópicas con un tamaño entre 1 y 100 nanómetros. Los nanomateriales representan un nuevo y reciente campo de estudio, su aplicación en la medicina, agricultura, salud da origen a una alternativa para aplicaciones que les permite su uso en humanos (Nazar *et al.,* 2018).

El principal objetivo del uso de nanopartículas es innovar y desarrollar nuevas herramientas y materiales en distintas áreas, como la medicina, la electrónica, la cosmética y la agricultura. Las nanopartículas se pueden dividir según sus materiales como las nanopartículas metálica, que a su vez se pueden dividir en puntos cuánticos y en nanopartículas de metales reactivos (Pradhan *et al.,* 2019).

### 2.3.2 Nanopartículas de cobre

El cobre se distribuye ampliamente en los tejidos vegetales y es un micronutriente esencial para el crecimiento involucrado en muchos procesos fisiológicos. Es ampliamente utilizado en industrias agrícolas, cosméticos, recubrimientos, remediación ambiental, fungicidas, industria alimentaria, industria química, aditivos para combustibles, industrias textiles, industria médica, pinturas, plásticos, tratamiento de aguas residuales, y electrónica (Hernández- Hernández *et al*., 2019).

El cobre se convierte en tóxico por encima de un nivel umbral, que depende del tipo de cultivo. Se informa que en promedio 1 kg de materia seca, contiene aproximadamente 10 mg de Cu. El cobre está disponible en dos formas $Cu^{1+}$ y $Cu^{2+}$. Esto permite que el Cu funcione como un reductor o agente oxidante en reacciones bioquímicas. Pero al mismo tiempo, esta propiedad hace que el Cu también sea potencialmente tóxico como iones de Cu que puede catalizar la producción de radicales libres, inducen estrés oxidativo y se convierten en sustancias genotóxicas (Hong *et al.,* 2015).

Los NPs de cobre aparecen como un polvo negro pardusco y reducido cuando se expone a hidrógeno o monóxido de carbono que es nocivo para los seres humanos y peligroso para la vida acuática (Kolesnikov *et al.,* 2019).

### 2.3.3 Nanopartículas de cobre en las plantas

Los efectos de las nanopartículas (NPs) en las plantas son contrastantes; éstos dependen de la planta modelo, la síntesis de las nanopartículas (concentración, tamaño, forma) y las formas de aplicación (foliar, sustrato, semillas) (Hernández-Hernández *et al.,* 2019).

Las NPs de Cu aumentan los compuestos antioxidantes en los frutos de hortalizas. De manera similar, mostramos que los NPs Cu aumentaron el contenido de vitamina C, glutatión y flavonoides en frutos de hortalizas (León-Silva *et al.,* 2018). Las NPs Cu aumentan el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos, lo que podría modificar los mecanismos de señalización y respuesta de las hortalizas. Estos compuestos antioxidantes son importantes en la dieta humana, de ahí la importancia de incrementar la concentración de compuestos antioxidantes en frutos procedentes del manejo precosecha (Lv *et al.*, 2018).

Así mismo, las NPs Cu podrían ser una buena alternativa para mejorar la productividad de los cultivos hortícolas, especialmente para la producción de cultivos de mayor calidad. Sin embargo, se necesita más investigación para aclarar los efectos de los NPs Cu en las plantas de cultivo (Méndez-Argüello *et al.,* 2016).

Las NPs pueden penetrar los tejidos vegetales cuando se aplican sobre las hojas de las plantas en forma de aerosol o aspersión (Xiong *et al.,* 2017), penetrando por los estomas y desplazándose luego por el floema hacia diferentes tejidos de las plantas (Yue *et al.,* 2018).

### 2.3.4 Nanopartículas de cobre en las personas

Lara *et al*., (2019) señala que las personas requieren una ingesta diaria recomendada de Cu ya que es un oligoelemento esencial que está presente en todos los tejidos del cuerpo. Se necesita una pequeña cantidad para que el cuerpo funcione (Cuadro 1).

La deficiencia de cobre puede causar cansancio extremo, parches claros en la piel, altas concentraciones de colesterol en la sangre y trastornos del tejido conectivo que afectan los ligamentos y la piel. Otros efectos de la deficiencia de cobre son huesos débiles y quebradizos, pérdida de equilibrio y coordinación, y un mayor riesgo de infección (Hernández Ugalde *et al.,* 2019).

**Cuadro 1.** Umbral recomendado de Cu por etapa de vida.

| Etapa de vida | Cantidad recomendada |
|---|---|
| Del nacimiento a los 6 meses | 200 mcg |
| Bebés de 7 a 12 meses | 200mcg |
| Niños de 4 a 8 años | 440 mcg |
| Niños de 9 a 13 años | 700 mcg |
| Adolescentes de 14 a 18 años | 890 mcg |
| Adultos mayores de 19 años de edad | 900 mcg |
| Mujeres y adolescentes embarazadas | 1000 mcg |
| Mujeres y adolescentes en período de lactancia | 1300 mcg |

*Microgramos (mcg) de Cu. (Betz, 2019).

El cobre puede ser nocivo si se ingiere en concentraciones altas. Obtener demasiado cobre de forma regular puede causar lesión hepática, dolor abdominal, calambres, náuseas, diarrea y vómito.

**Cuadro 2.** Umbral de toxicidad de Cu en la etapa de vida.

| Etapa de vida | Cantidad recomendada |
|---|---|
| Del nacimiento a los 12 meses | No establecido |
| Niños de 1 a 3 años | 1000 mcg |
| Niños de 4 a 8 años | 3000 mcg |
| Niños de 9 a 13 años | 5000 mcg |
| Adolecentes de 14 a 15 años | 8000 mcg |
| Adultos | 10000 mcg |

*****Microgramos (mcg) de Cu. (Betz, 2019)

## 2.4 Compuestos bioactivos

Los alimentos de origen vegetal, además de aportar macro y micronutrientes, contienen sustancias que no poseen función nutricional, sin embargo, proporcionan beneficios a la salud y estos compuestos son denominados como bioactivos o fitoquímicos (Ushiña Simbaña, 2020).

Los compuestos bioactivos proporcionan algunos beneficios fisiológicos prometedores para la salud, que dirigen a la industria alimentaria a centrar su investigación en productos de esta naturaleza. Los compuestos bioactivos como los polifenoles, los carotenoides, los lípidos poliinsaturados, sustancias azufradas y los péptidos son los compuestos más estudiados. La importancia de los compuestos bioactivos en la agroindustria y su potencial uso como ingredientes y aditivos alimentarios funcionales, las propiedades químicas, nutraceúticos y antioxidantes de estos compuestos (Gámez, 2020).

La aplicación de productos bioactivos a los cultivos va teniendo cada vez más importancia, desde el punto de vista económico y ecológico. Los reguladores del crecimiento en pequeñas cantidades aumentan, inhiben o modifican de una forma u otro cualquier proceso fisiológico del vegetal, considerándose a los bioactivos como productos activadores del crecimiento y desarrollo de las plantas, aportando compuestos directamente utilizables (Hijaz *et al.,* 2020).

Los compuestos fenólicos de mayor presencia en el cultivo de lechuga (Cuadro 3.), son los ácidos fenólicos, flavonoides, flavononas y antocianos (Avendaño, 2019).

**Cuadro 2.** Principales compuestos fenólicos presentes en el cultivo de *Lactuca sativa* L.

| Ácidos Fenólicos | Flavonoides | Flavononas |
|---|---|---|
| Ac. Cafeoyltartarico | Quercetin-3-*O*-glucoronido | Luteolin-7-*O*-glicuronido |
| Ac. Clorogenico | Quercetin-3-*O*-glucosido | |
| Ac. Cafeoylmalico | Quercetin-3-*O*- rutinosido | |
| Ac. Chicorico | Quercetin-3-*O*-(6''-*O*-manolyl)-glucosido | |
| Ac.Meso-di-*O*-Cadeoiltartarico | | |
| Ac. Isoclorogenico | | |

Fuente: Avendaño (2019).

### 2.4.1. Radicales libre

Los radicales libres (RL), son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón ($e^-$) libre o desapareado en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren el organismo intentando robar un electrón de las

moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Guerra, 2020).

Los radicales libres están asociados con el envejecimiento y enfermedades degenerativas, por lo cual, generar plantas como un alimento funcional fresco con posibles beneficios para la salud humana se vuelve indispensable. La luz es un factor esencial para el desarrollo de las plantas y su variación provoca respuestas bioquímicas como la síntesis de antioxidantes (Cerrillo, 2018).

### 2.4.2 Antioxidantes

Los compuestos antioxidantes son un grupo de vitaminas, minerales y enzimas que protegen nuestro cuerpo de la formación de estos radicales. Hay antioxidantes naturales (fisiológicos), presentes en nuestro organismo y sintéticos. Dentro de cada grupo, los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres, o previenen la participación de iones de metales de transición en la generación de radicales libres y los inactivadores o barredores y de esa manera protegerían de las infecciones, del deterioro celular, del envejecimiento prematuro y, probablemente, del cáncer (Hosseini *et al.*, 2020).

La importancia de estos últimos radica en que son considerados como compuestos bioactivos que benefician la salud humana debido a que reducen la incidencia de algunas enfermedades degenerativas como la diabetes, el cáncer y los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, así como los procesos de apariencia, el color, el sabor y el aroma de las plantas (Avendaño, 2019).

### 2.4.3 Compuestos Fenilpropanoides

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas. Los tres grupos más importantes son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles, siendo el primero uno de los más estudiados. Los fenoles son también antioxidantes y como tales atrapan radicales libres, previniendo que éstos se unan y dañen las moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA), un paso crítico en la iniciación de los procesos carcinogénicos (Hosseini *et al.*, 2020).

### 2.4.4. Vitamina C

La vitamina C actúa como antioxidante, participa en la biosíntesis de colágeno, noradrenalina y carnitina y tiene el potencial de mejorar la absorción de hierro no hemo y alterar el metabolismo del hierro de las reservas de tejido. A su vez, los pacientes en diálisis exhiben un bajo nivel de vitamina C en plasma, que está relacionado en gran medida con un aumento de la inflamación, anemia refractaria, estrés oxidativo e hiperparatiroidismo secundario, y puede generar anemia, esto se puede remediar con la administración de vitamina C suplementaria contribuyendo al suministro necesario de hierro (Ushiña Simbaña, 2020).

### 2.4.5. Actividad enzimática importancia

Las enzimas son específicas para un tipo determinado de enlace, por lo tanto, no es frecuente la aparición de productos de degradación que pueden llegar a ser tóxicos (Xiong *et al.,* 2017). Otro mecanismo de control para prevenir el estrés oxidativo en las células debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) es la acción de enzimas tales como la catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) la CAT convierte al $H_2O_2$ potencialmente peligroso en oxígeno molecular y

agua, mientras que la SOD cataliza la conversión de los superóxidos a $H_2O_2$ y $O_2$ (Lopez-Lima *et al.,* 2020). Las enzimas están presentes en toda la escala filogenética, desde macroorganismos, plantas y animales. Estas enzimas juegan un rol fundamental en la reducción de la toxicidad en la célula producida por peróxido de hidrógeno (Mehdizadeh *et al.,* 2020).

# III. MATERIALES Y METODOS

## 3.1 Localización del sitio experimental

El presente trabajo se realizó durante el ciclo otoño invierno del 2020, durante los meses de diciembre febrero 2021, en un invernadero del Instituto Tecnológico de Torreón (ITT), localizado entre las coordenadas 25°36´37´´Norte y 103°22´33´´ Oeste, a una altitud de 1120 msnm. Ubicado en el km. 7.5 de la antigua Carretera Torreón-San Pedro, Municipio de Torreón, Coahuila, México (Figura 1).

**Figura 1**. Localización del invernadero del ITT donde se realizó el experimento

## 3.2 Material vegetal

Se utilizo lechuga Orejona Variedad Parris Island (Huertas®). Las semillas de lechuga se germinaron en charolas de germinación (Render®), que contenían Peat Most (Pro-Mix®) y a los 20 días se trasplantaron.

### 3.3 Trasplante y sustrato

Para el trasplante se utilizaron macetas de plástico con capacidad de 5 litros, mismas que fueron rellenadas con sustrato utilizando una mezcla de arena y perlita en una proporción 80:20 (p / v). La arena fue lavada y esterilizada con una solución de hipoclorito de sodio al 5% dejándola reposar por 24 horas posterior a eso se le dio un lavado con agua. El trasplante se realizó a los 20 días después de la siembra, al presentar las plántulas 3 hojas verdaderas. Las macetas fueron distribuidas en doble hilera y disposición escalonada, donde se obtuvo una densidad de cuatro plantas por metro$^2$. Se utilizó un sistema de riego por goteo con solución nutritiva (Steiner, 1984), proporcionando tres riegos por día, cada planta recibió 0.250 mL en cada riego, desde el trasplante hasta el estado vegetativo maduro y de 1 a 1.5 L desde estado vegetativo hasta la cosecha. La temperatura mínima y máxima dentro del invernadero fluctuó entre 15.5 y 24°C, mientras que la humedad relativa mínima y máxima osciló entre 20 y 30%, respectivamente.

### 3.4 Tratamientos evaluados

Los tratamientos consistieron en la aplicación foliar de NPs Cu, cada 15 días después del trasplante en las siguientes concentraciones: 0, 0.5,1 , 2, 4 y 6 mg mL$^{-1}$ de NPs Cu (Hernández-Hernández *et al.,* 2019).

### 3.5. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, con un total de 30 unidades experimentales (cada maceta considerada como unidad experimental).

### 3.6. Nutrición del cultivo

Se realizó un análisis químico de agua en el laboratorio de análisis físicos y microbiológicos de suelo-agua y planta en Cooperativa Agropecuaria de la Comarca Lagunera para determinar las cantidades y tipos de fertilizantes que se usaron para realizar los cálculos de la preparación de la solución nutritiva. De acuerdo al análisis se hicieron los ajustes necesarios para que la solución nutritiva tuviera un adecuado pH, contenido de sales, presión osmótica y balance entre los iones y cationes como se muestra en el siguiente Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Análisis químico de agua

| | Unidades | | ppm | Parámetros (Fuera de rango **) |
|---|---|---|---|---|
| pH | | 7.54 | | 6.5-8.5 |
| Conductividad eléctrica | $dmSm^{-1}$ | 1.20 | | 5.0 |
| Calcio | me $L^{-1}$ | 6.89 | 138.08 | 200 ppm |
| Magnesio | me $L^{-1}$ | 0.82 | 9.97 | 125 ppm |
| Sodio | me $L^{-1}$ | 3.48 | 80.04 | 200 ppm |
| Potasio | me $L^{-1}$ | 0.01 | 0.39 | |
| RAS | me $L^{-1}$ | 1.77 | | |
| | | | | |
| Carbonatos | me $L^{-1}$ | | | |
| Bicarbonatos | me $L^{-1}$ | | | |
| Cloruros | me $L^{-1}$ | | 113.49 | 250 ppm |
| Sulfatos | me $L^{-1}$ | | 362.63 | 400 ppm |
| Nitratos | ppm | | | 10 ppm |
| Ras ajustado | me $L^{-1}$ | 3.44 | | |
| Clasificación | | C3S1 | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dureza total | mg/l | 385.5 | 500 ppm |
| Alcalinidad total | mg/l | 91.0 | 400 ppm |
| Solidos solubles | mg/l | 1267.0 | 1000 ppm |
| | | | |
| Fierro | ppm | | |
| Cobre | ppm | 0.01 | 0.30 ppm |
| Zinc | ppm | N.D | 2.0 ppm |
| | | N.D | 5.0 ppm |
| Manganeso | ppm | N.D | 0.15 ppm |

Máximos y mínimos por SSA norma oficial mexicana: NOM-127-SSA 1-1994 *Clasificación de acuerdo al diagrama para clasificación de aguas de riego del departamento de agricultura de los Estados Unidos ($C_3S_1$). (me $L^{-1}$, significa que el pH es una propiedad inherente de la composición química de la SN y no puede cambiar independientemente (De Rijck y Schrevens, 1997).

Se aplicó solución nutritiva Steiner (1961) en base a estos fertilizantes: fosfato monopotásico (MKP), nitrato de calcio ($CaNO_3$), nitrato de magnesio ($MgNO_3$) y nitrato de potasio ($KNO_3$) desde el momento del trasplante por un periodo de 15 días a razón de 250 mL de solución diarias por maceta a una concentración de 50 %, esto con la finalidad de que las plantas se aclimataran y emitieran raíces.

### 3.7. Nanopartículas de cobre

Las NPs Cu fueron sintetizadas por síntesis verde (Srivastava and Mukhopadhyay, 2015) donadas por el Centro de Investigación de Química Aplicada CIQA (Saltillo, Coahuila), por la Dra. Hortensia Ortega Ortiz. Las NPs Cu tuvieron una pureza del 95 %, tamaño de partícula de> 95 nm (Figura 2.).

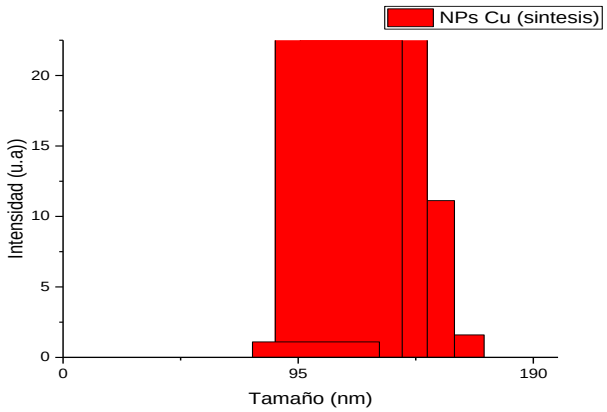


**Figura 2.** Micrografía correspondiente a la distribución del tamaño de las NPs Cu.

### 3.8. Variables evaluadas

**3.8.1 Rendimiento:** Las lechugas se cosecharon los 80 DDT, se midieron y se pesaron para determinar el crecimiento y el rendimiento totales del cultivo. Al mismo tiempo, se recolectaron muestras para cuantificar las variables bioquímicas y el contenido de Cu, obteniendo seis plantas por cada tratamiento.

**3.8.2. Materia seca:** Al final del experimento, las plantas de cada tratamiento se separaron en sus diferentes órganos (raíz, tallo y hojas) y se introdujeron en una estufa con circulación forzada de aire marca Labnet (Labnet International, Inc. Modelo 211DS) a 70 °C hasta alcanzar peso constante. El peso de cada muestra se expresó en gramos.

**3.8.3. Calidad nutraceútica**

Se mezclaron 2 g de muestra fresca en 10 mL de etanol al 80% en tubos de ensaye con tapa de rosca, los cuales fueron colocados en agitador orbital

(AAH3D1265U, OS-3000 Shaker) en la obscuridad durante 24 h a 20 rpm a una temperatura ambiente. El sobrenadante fue extraído para las pruebas analíticas de compuestos no enzimáticos (Salas Pérez *et al.,* 2018).

### 3.8.4. Contenido de fenoles totales

Se determinó mediante una modificación del método de Folin-Ciocalteau (Singleton *et al.,* 1999). Se tomaron 50 µL de extracto etanólico, se diluyeron en 3 mL de agua mQ, se añadieron 250 µL de reactivo Folin-Ciocalteau (1N), se agitó y se dejó en reacción durante 3 min. Posteriormente se añadieron 750 µL de $Na_2CO_3$ (20%) y 950 µL de agua mQ. La solución se dejó reposar durante 2 h y las muestras se cuantificaron en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 760 nm. El estándar se preparó con ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg GAE 100 $g^{-1}$ de PF.

### 3.8.5. Flavonoides totales

Se determinaron por colorimetría (Mosa *et al.,* 2018), se tomaron 250 µL de extracto etanólico, se mezclaron con 1,25 mL de agua mQ y 75 µL de NaNO2 (5%). Tras 5 min de reposo, se añadieron 150 µL de $AlCl_3$ (10%). Posteriormente, se añadieron 500 µL de NaOH (1M) y 275 µL de agua mQ. Se agitó vigorosamente y las muestras se cuantificaron en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 510 nm. (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) Los resultados se expresaron en mg QE/100 $g^{-1}$ de PF.

### 3.8.6. Capacidad antioxidante total

Se midió por el método in vitro del DPPH+ (Brand-Williams *et al.,* 1995). Se preparó una solución de $DPPH^+$ (Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) en etanol, a una concentración de 0,025 mg $mL^{-1}$. Se mezclaron 50 µL de extracto etanólico con 1,950 µL de solución de DPPH+, después de 30 min se cuantificaron las muestras en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 517 nm. Los resultados se expresaron en µM equivalente en Trolox 100 $g^{-1}$ de PF.

### 3.8.7. Vitamina C

Se obtuvo mediante el método de titulación (Ordóñez-Santos *et al.,* 2013). Se utilizaron muestras de fruta fresca de 10 g, trituradas con 10 mL al 2% de ácido clorhídrico y filtradas; luego, se colocaron en matraces Erlenmeyer ajustados a 100 mL con agua destilada. Posteriormente, las muestras fueron tituladas con 10 mL de la dilución, utilizando 2,6 diclorofenolindofenol (1 x $10^{-3}$ N) para determinar el contenido de vitamina C mediante la fórmula:

$$\text{Vit C (mg} \cdot 100\text{g PF)} = \frac{\text{(mL of 2.6 dichlorophenolindophenol) (0.088)(volumen total)(100)}}{\text{(volumen alicuota)(peso de la muestra)}} \qquad (3)$$

### 3.8.8 Actividad enzimática

### 3.8.9 Glutatión peroxidasa (GPX)

El glutatión peroxidasa (GPX) (EC 1.11.1.9) [U por gramo de proteínas totales (U $TP^{-1}$), donde U es igual al equivalente mM de glutatión reducido (GSH) por mililitro por minuto] se determinó mediante el método de (Costa Da and Sharma, 2016). En un tubo de ensayo se colocó una mezcla de 200 µL de extracto, 400 µL de GSH

(0,1 mM) y 200 µL de $Na_2HPO_4$ (0,067 M). La mezcla se precalentó en un baño de agua a 25 ° C durante 5 min, luego se añadieron 200 µL de $H_2O_2$(1,3 mM) para iniciar la reacción catalítica durante 10 min a una temperatura de 26°C. La reacción se detuvo mediante la adición de 1 ml de ácido tricloroacético al 1%. La mezcla se colocó en un baño de hielo durante 30 min y luego se centrifugó a (1008 × *g)* durante 10 min a 4°C. Para evaluar el glutatión peroxidasa, se colocaron 480 µL del sobrenadante, 2.2 mL de $Na_2HPO_4$ (0.32 M) y 320 µL de colorante de ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB) de 1 mM en un tubo de ensayo. La absorbancia se midió mediante un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 412 nm con una celda de cuarzo.

### 3.8.10. Catalasa (CAT)

La catalasa (CAT) (EC 1.11.1.6) (U $TP^{-1}$), donde U es igual al equivalente mM de $H_2O_2$ consumido por mililitro por minuto, se cuantificó por el método de Luna, (2019). La medición se llevó a cabo en dos pasos [en el momento 0 (T0) y en el momento 1 (T1)]. En T0, se agregaron 100 µL de extracto, 400 µL de $H_2SO_4$ (5%) y 1 mL de $H_2O_2$ (100 mM) a un tubo Eppendorf y se agitaron durante 30 s. A continuación, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) con una celda de cuarzo a 270 nm. En T1, 100 µL de extracto y 1 mL de $H_2O_2$ (100 µL) y se agitó durante 1 min en un vórtice a 26° C. Luego, se agregaron 400 µL de $H_2SO_4$ (5%) para detener la reacción y se midió la absorbancia con un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a

340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) con una celda de cuarzo en 270 nm. La determinación de catalasa se basó en la cuantificación de la tasa de oxidación de $H_2O_2$ por diferencia de absorbancia (T0 – T1).

### 3.8.11. Superóxido dismutasa (SOD)

El superóxido dismutasa (SOD) (EC 1.15.1.1) (U $ml^{-1}$), donde U se define como la cantidad de enzima necesaria para exhibir 50% de dismutación del radical superóxido) se llevó a cabo utilizando el 706002 SOD Cayman ® kit. En una microplaca se colocó una mezcla de 20 µL de extracto, 200 µL del detector de radicales (sal de tetrazolio) y 20 µL de solución de xantina oxidasa. La microplaca se cubrió con una tapa transparente (kit), se agitó durante 10 s y luego se incubó a 26° C durante 30 min. A continuación, se midió la absorbancia a una longitud de 450 nm utilizando un lector de placas (BioTek, modelo Epoch 2, EE. UU.). El principio de la prueba se basó en el uso de una sal de tetrazolio para la detección de radicales superóxidos generados por la xantina oxidasa y la hipoxantina.

### 3.8.12. Acumulación de cobre en hojas de las lechugas

Las muestras de lechuga seca se molieron en un mortero de porcelana y se digirieron con ácido nítrico y perclórico (3: 1), utilizando un platón de calentamiento a 100 °C. La solución se filtró y se hirvió hasta obtener una solución de trabajo de 100 ml con agua desionizada. La concentración de cobre en la lechuga se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con flama de aire-acetileno (Varian-SpectrAA 3110, Palo Alto, CA), por la (AOAC, 1990). Los resultados se expresaron en µg $kg^{-1}$ de peso seco.

### 3.9. Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza de clasificación simple y de comparación múltiple de medias a través del test de Tukey con una probabilidad del 5% ($p \leq 0,05$), con la ayuda del paquete de análisis estadístico SAS v 9.0 (SAS Institute, 2004).

# IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1. Rendimiento

Las diferentes concentraciones de NPs Cu asperjadas no causaron diferencias significativas en el rendimiento (Cuadro 5). Si bien estas son estadísticamente iguales pero la concentración de 6 mg $L^{-1}$ de NPs Cu aumentó el peso promedio de la lechuga en un 34% en comparación con el control, esto probablemente sea el motivo por el cual presento mayor diámetro de la corona de la lechuga.

Diversos autores señalan que las NPs Cu promueven el crecimiento e inducen respuestas de defensa en las plantas (El-Ramady *et al.,* 2021). Ya que pueden interactuar con las células vegetales a un nivel fisicoquímico, ya que gracias a sus características superficiales (Khan *et al.*, 2019), pueden alternar su variedad de respuestas que van desde efectos negativos en cultivos (Hernández-Hernández *et al.*, 2019) hasta efectos positivos a nivel de crecimiento, rendimiento, sistemas de defensa antioxidante, biodisponibilidad entre otros (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019). Además, los NPs Cu pueden aportar elementos esenciales o beneficiosos a la planta, bajo la habilidad de donar y aceptar electrones típicas de este elemento (Wang *et al.*, 2019).

Sin embargo, se ha reportado que dosis altas de NPs Cu reducen el rendimiento de los cultivos, debido a que aumenta la producción de radicales libres causando un estrés oxidativo (Olkhovych *et al.*, 2016); en cambio en dosis bajas, mejora el rendimiento (Zhang *et al.,* 2018), al evitar la oxidación celular al aumentar

la capacidad de las plantas para resistir el estrés oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno bajo condiciones de estrés (Younes *et al.,* 2020).

La respuesta del cultivo a la aplicación de las NPs Cu depende directamente de su concentración (Rizwan *et al.,* 2017); ya que a dosis bajas se promueven el rendimiento y dosis altas reducen la calidad de los frutos (Paredes *et al.,* 2020), causando toxicidad.

**Cuadro 5.** Efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre el rendimiento (R), vástago (V), raíz (R) y corona (C) de lechugas.

| Tratamientos | R | V | R | C |
|---|---|---|---|---|
| mg $mL^{-1}$ | ---------- | g | ---------- | cm |
| 0 | 501.56 a | 145.8 a | 116.34 a | 33.5 b |
| 0.5 | 434.64 a | 137.3 a | 206.30 a | 35.8 ab |
| 1 | 421.34 a | 94.5 a | 203.78 a | 35.1 ab |
| 2 | 437.36 a | 158.8 a | 172.82 a | 34.4 ab |
| 4 | 389.04 a | 87.3 a | 170.26 a | 39.1 a |
| 6 | 453.52 a | 170.5 a | 207.52 a | 36.6 ab |

*Valores promedio en columna con diferente literal son significativamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

### 4.2. Calidad nutraceútica

La aspersión foliar de NPs Cu, modifica positivamente la biosíntesis de compuestos nutraseuticos (fenólicos, flavonoides, actividad antioxidante Cuadro 6.), obteniendo los mayores valores de estos metabolitos con 6 mg $mL^{-1}$, superando el tratamiento control en (127.88, 191.09 y 311.7 %, respectivamente). La aspersión foliar de NPsmetálicas causan una absorción de estas de manera intacta a través de los estomas, tricomas para crearse dentro de la planta una disolución en el apoplasto (Ibrahim *et al.*, 2018). Donde las NPs pueden penetrar la endocitosis, en la formación de poros o plasmodesmata donde se conecta de célula a célula, para

después internalizarse y ser transportadas vía simplástica y apoplástica (Rangel *et al*., 2020), lo que le permite a la planta generar estrés oxidativo como mecanismos de defensa al producir metabolitos secundarios que tienen efecto en equilibrar las especies reactivas de oxígeno en diferentes reacciones celulares vegetales (Lung *et al*., 2021).

Pelegrino *et al*., (2020), mencionan que las NPs Cu en concentraciones adecuadas mejora la calidad bioquímica y nutraceútica de los frutos. La producción de alimentos ricos en componentes nutraceúticos es deseable en la industria alimentaria, ya que estos compuestos retrasan la oxidación y la degradación de los lípidos que incrementan la calidad nutricional de los alimentos (Peters *et al.,* 2011; Quiterio-Gutiérrez *et al.,* 2019) y su consumo es benéfico para la salud humana (Dos Santos *et al.*, 2020), por sus características anticancerígenas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Yaqoob *et al.,* 2020), además de que tienden a combatir las enfermedades infecciosas (Kusumoputro *et al.*, 2020).

Además, el Cu es un componente esencial de las cuproenzimas, algunas de las cuales tienen funciones antioxidantes, mejorando así la calidad nutracéutica de la parte comestible del cultivo (Xu *et al.,* 2020) por la acción de Cu NPs proporciona una ruta secundaria para la tolerancia al estrés a nivel antioxidante al eliminar el $O_2$ y $H_2O_2$ (Pérez-Labrada *et al.*, 2019).

**Cuadro 6.** Efecto de la aplicación foliar de NPs Cu sobre la calidad nutraceútica contenido de fenoles totales (FT), flavonoides (FL), capacidad antioxidante (CA), glutatión (GL) y vitamina C (VC) en lechugas en peso fereco.

| Tratamiento mg mL -1 | FT | FL | CA microMequiv TROLOX 100 $g^{-1}$ | GL | VC |
|---|---|---|---|---|---|
| | ----------mg100 $g^{-1}$ | ——— | | ----------mg100 $g^{-1}$ | ——— |
| 0 | 266.385e | 119.165f | 91.075f | 5.76667 f | 15a |
| 0.5 | 294.883d | 148.718e | 95.155e | 6.07333e | 15.318a |
| 1.0 | 301.112dc | 204.538d | 99.96d | 6.31667d | 15.585a |
| 2.0 | 304.465c | 210.533c | 102.973c | 6.53c | 15.595a |
| 4.0 | 317.453b | 220.48b | 112.835b | 7.25333b | 16.535a |
| 6.0 | 340.67 a | 227.718 a | 119.998 a | 7.71333a | 17.63a |

*Valores promedio en columna con diferente literal son significativamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

El contenido de vitamina C en la lechuga no mostró diferencia significativa para las distintas concentraciones de NPs Cu utilizadas. Aunque son estadísticamente iguales el valor más alto de vitamina C se encontró en las lechugas asperjadas con la concentración de 6 mg $L^{-1}$ de NPs Cu, esta concentración fue superior 17. 53% con respecto al tratamiento control (Cuadro 4.2.). El aumento de la vitamina C de las hojas de lechuga; podría deberse a la estimulación de las NPs al aparato fotosintético al protegerlo de los complejos de recolección de luz inducidos por alta radiación (ciclo de xantofila) (Hernández-Hernández e*t al.,* 2019). (López-Vargas *et al.,* 2018) indica que aplicaciones de 250 mg $L^{-1}$ NPs de Cu aumentan significativamente la concentración de vitamina C, lo cual aumento la calidad nutraceútica de frutos. (Bonilla-Bird *et al.,* 2020) afirma que el cobre participa en la activación de enzimas, en el proceso de la fotosíntesis, respiración de las plantas y coadyuvante de estas en el metabolismo de carbohidratos y proteínas. La vitamina C al ser el antioxidante más abundante en las plantas es utilizada como cofactor de las enzimas redox por su donación de electrones que participan en la disminución

de estrés oxidativo en las enfermedades humanas como el cáncer (Mozaffarian *et al.,* 2016)

### 4.3. Actividad enzimática

La aspersión foliar de 6 mg $mL^{-1}$ de NPs Cu Incrementó la actividad enzimática glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa en hojas de lechuga (Cuadro 7, en un 125,135 y 109%, respectivamente), comparado con el tratamiento control. Se ha demostrado que los NPs Cu producen estrés positivo en las plantas al activar su mecanismo de defensa (El-Ramady *et al.,* 2021). Además, las NPs Cu agregadas a las plantas en condiciones de estrés abiótico aumentan la actividad de enzimas antioxidantes como la ascorbato peroxidasa (APX), la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX) (Quiterio-Gutiérrez *et al*., 2019), lo que reduce el estrés oxidativo. En un estudio previo se demostró que las NPs Cu en hidrogeles de Cs-PVA aumentan la actividad de CAT en hojas de tomate, mientras que APX, GPX y SOD no mostraron diferencias significativas (Mortezaee *et al.,* 2019). En hojas de tomate, se informó que las NPs Cu aumentaron la actividad de las enzimas CAT y SOD (Hernández-Hernández *et al.,* 2019). El Cu interactúa en el metabolismo celular las plantas como centros catalíticos de proteínas al regular las actividades enzimáticas como GXP, CAT y SOD, ya que son importantes eliminadores de radicales libres y forman parte de la primera línea de defensa contra el estrés oxidative (García-Gómez and Fernández, 2019). Se ha demostró que la aplicación de NPs Cu a bajas concentraciones (20 a 40 mg $L^{-1}$) aumentan la actividad enzimática de SOD, CAT, y GPX en las hojas de

tomate (Hernández-Hernández *et al.,* 2018), maíz (Margenot *et al.*, 2018) y espinaca (Rawat *et al.,* 2021). Por tanto, las NPs Cu podrían mejorar el mecanismo de defensa antioxidante enzimático de las plantas de lechuga. Además, los NPs Cu también se consideran como un importante activador de la enzima PAL en las plantas las cuales son el principal precursor de la síntesis de fenilpropanoides en plantas que actúan como inhibidores de la formación de oxígeno singlete, captadores de radicales libres y agentes reductores contra el estrés abiótico y biótico (Hernández-Hernández *et al.,* 2019; Rajput *et al.*, 2018).

**Cuadro 7.** Efecto de aplicación foliar de NPs Cu sobre el contenido de glutatión peroxidase GSP, catalasa CAT y superóxido dismutasa SOD en lechuga.

| Tratamientos | GSP | CAT | SOD |
|---|---|---|---|
| mg mL $^{-1}$ | ---------- | (U Tp $^{-1}$) | ---------- |
| 0 | 80.29 d | 821.48 c | 76.873 e |
| 0.5 | 105.56 d | 1055.57 a | 98.253 d |
| 1 | 175.77 c | 1057.7 a | 107.06 c |
| 2 | 206.22 c | 977.2 b | 132.26 b |
| 4 | 391.2 b | 1003 b | 143.153 a |
| 6 | 564.21 a | 980.15 b | 146.467 a |

*Valores promedio en columna con diferente literal son significativamente diferentes (Tukey p≤0.05).

### 4.4 Contenido de cobre en lechuga

La adición de 6 mg $mL^{-1}$ de NPs Cu aplicada foliar mente incremento el contenido de cobre en hojas de las lechugas aumentando de acuerdo a su disponibilidad, con relación al tratamiento tratado (Figura 3.). Lo anterior probablemente sea debido a que la acumulación del Cu en la planta se incremente por el transporte a través de la membrana plasmática por medio de canales o transportadores que participan en el metabolismo de la parte celular, ya que es un constituyente de numerosas proteínas COPT (cooper transporters), implicadas en los procesos de transporte de electrones y en otras reacciones de óxido reducción (Kolesnikov *et al.,* 2019).

Sin embargo, el efecto de las nanopartículas metálicas depende de la especie vegetal (Bakshi and Kumar, 2021), no obstante, las plantas han desarrollado mecanismos específicos para absorber nutrientes, metales y metaloides que son acumulados en las plantas debido a que presentan un comportamiento electroquímico similar a los elementos nutritivos requeridos. Se han reportado resultados similares en tomate (Bhuvaneshwari *et al.,* 2018), al encontrarse un mayor contenido de Cu en los frutos de tomate al añadirlas foliarmente. Según la Organización Mundial de la Salud, se requieren entre 1 y 3 miligramos de cobre al día para prevenir cualquier síntoma de déficit (Choudhary *et al*., 2020), por lo que el tratamiento 6 mg $mL^{-1}$ es recomendable para biofortificar lechugas y atender la demanda de ingesta diaria recomendada en las personas.

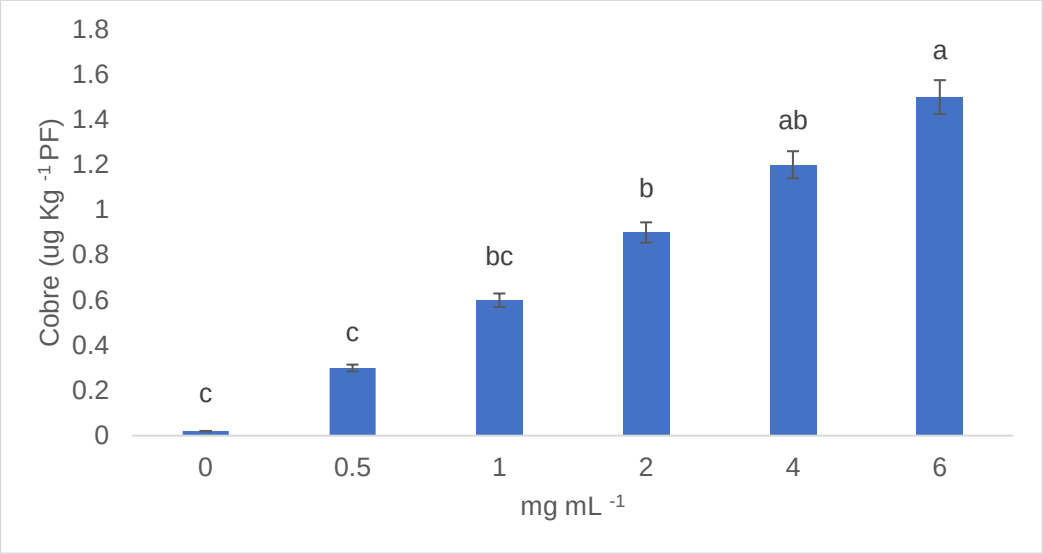


**Figura 3.** Efecto de las dosis de NPs Cu en el contenido de cobre en la lechuga. Las letras diferentes difieren estadísticamente entre ellas (Tukey, $p \leq 0.05$)

# IV. RESULTADOS Y DISCUCIÓN

## V. CONCLUSIONES

La Nanobiofortificación con NPs Cu afecto positivamente la biosíntesis de compuestos nutracéuticos, sin tener efectos en el rendimiento de lechuga.

Los NPs Cu modifican significativamente la actividad enzimática glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) en hojas de lechuga

La adición de 6 mg $mL^{-1}$ de NPs Cu aplicada foliarmente incremento el contenido de cobre en los en las hojas de las lechugas.

La aspersión foliar de 6 mg $mL^{-1}$ de NPs Cu es una buena alternativa para mejorar la calidad de compuestos bioactivos en lechuga orejona, mejorando la salud de las personas tras su ingesta.

## VI. LITERATURA CITADA

Al-Hakkani, M. F. (2020). Biogenic copper nanoparticles and their applications: A review. SN Applied Sciences. 2(1): 1-20.

Alinezhad, H., and Pakzad, K. (2019). C-S cross-coupling reaction using novel and green synthesized CuO nanoparticles assisted by Euphorbia maculata extract. Applied Organometallic Chemistry. 33 (3): e5144-e5158.

AOAC (1990). "Official methods of analysis Oficial metod 2015.11 copper." Association of official analytical chemists. 1(9):12-14.

Avendaño Abarca, V. H. (2019). Influencia de la intensidad y calidad de luz en el crecimiento y propiedades antioxidantes en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa L*.) bajo sistema fábrica de plantas., 105-125; (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Nuevo León) (Consulta: 15 septiembre 2021).

Bakshi, M., and Kumar, A. (2021). Copper based nanoparticles in the soil-plant environment: Assessing their applications, interactions, fate, and toxicity. Chemosphere., 14(1):130940-130952.

Bastías Álamo, A. (2020). Estudi del contingut nutricional de varietats tradicionals i millorades d'enciam (*Lactuca sativa L*.). Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya. (Consulta: 18 de agosto 2021).

Betz, J. M. (2019). " The NIH Office Of Dietary Supplements: A Twenty-Five Year Retrospective". Oxford ISCB., (Consultado 15 noviembre 2021).

Bhuvaneshwari, V., Vaidehi, D., and Logpriya, S. (2018). Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biological applications. Microbiol Curr Res . 2(1): 9-10.

Bonilla-Bird, N., Ye, Y., Akter, T., Valdes-Bracamontes, C., Darrouzet-Nardi, A., Saupe, G., Flores-Marges, J., Ma, L., Hernandez-Viezcas, J., and Peralta-Videa, J. (2020). Effect of copper oxide nanoparticles on two varieties of sweetpotato plants. Plant Physiology Biochemistry. 154(4): 277-286.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C., and Technology (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science. 28(5): 25-30.

Cerrillo, A. G. G., Nieto, J. E. R., Arriaga, A. I. M., Gómez, D. S., & González, J. U. S. (2018). Síntesis de antioxidantes y modificaciones morfológicas en función de la luz en lechuga. Jóvenes en la Ciencia., 4(1): 600-604

Choudhary, A., Kumar, A., and Kaur, N. (2020). ROS and oxidative burst: Roots in plant development. Plant diversity. 42 (2): 33-43.

Costa Da, M., and Sharma, P. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in Oryza sativa. Photosynthetica. 54 (4):110-119.

Dos Santos, C. A., Ingle, A. P., and Rai, M. (2020). The emerging role of metallic nanoparticles in food. Applied Microbiolog Biotechnology Research. 104 (1): 2373-2383.

De Rijck, G. y Eddie Schrevens. "pH influenciado por la composición elemental de las soluciones nutritivas". Revista de nutrición vegetal 20.7-8 (1997): 911-923.

El-Ramady, H., Abdalla, N., Elbasiouny, H., Elbehiry, F., Elsakhawy, T., Omara, A. E.-D., Amer, M., Bayoumi, Y., Shalaby, T. A., and Eid, Y. (2021). Nano-

biofortification of different crops to immune against COVID-19: A review. Ecotoxicology Environmental Safety., 47 (1):112500- 112500.

Escobedo Paredes, C. R., Rodríguez Soto, J. C., Contreras Quiñones, M., Aspajo Villalaz, C., Calderón Peña, A., León Alcántara, E., Cornejo Roque, B. E., Aldama Reyna, C. W., Agreda Delgado, J., and Valverde Alva, M. (2020). Citotoxicidad y genotoxicidad de nanopartículas de cobre sobre Allium cepa L.(*Amaryllidaceae*). Arnaldoa. 27 (1): 181-190.

Fardood, S. T., Ramazani, A., and Moradi, S. (2017). Green synthesis of Ni–Cu–Mg ferrite nanoparticles using tragacanth gum and their use as an efficient catalyst for the synthesis of polyhydroquinoline derivatives. Journal of Sol-Gel Science Technology. 82 (2): 432-439.

Gámez-Villazana, J. (2020). Avances en la determinación de compuestos bioactivos en alimentos. Revista Agrollania de Ciencia y Tecnología. 19 (1): 7-17.

García-Gómez, C., and Fernández, M. D. (2019). Impacts of metal oxide nanoparticles on seed germination, plant growth and development. Analysis, Fate, Toxicity of Engineered Nanomaterials in Plants. 84 (1): 75-124.

Gaucin-Delgado, J. M., Hernandez-Montiel, L. G., Sanchez-Chavez, E., Ortega-Ortiz, H., Fortis-Hernandez, M., Reyes-PéRez, J. J., and Preciado-Rangel, P. (2020). Agronomic biofortification with selenium improves the yield and nutraceutical quality in tomato under soilless conditions. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 48 (2): 1221-1232.

Guerra, Y. H., Gómez, A. R., Reinante, J. V., Silva, I. M., & Hernández, C. M. M. (2020). Influencia de los radicales libres en la génesis de la

ateroesclerosis. Revista de Enfermedades no Transmisibles Finlay. *10* (2): 170-178.

Golubkina, N., Zamana, S., Seredin, T., Poluboyarinov, P., Sokolov, S., Baranova, H., Krivenkov, L., Pietrantonio, L., and Caruso, G. (2019). Effect of Selenium Biofortification and Beneficial Microorganism Inoculation on Yield, Quality and Antioxidant Properties of Shallot Bulbs. Plants (Basel). 8 (1):12-34

Hassanien, R., Husein, D. Z., and Al-Hakkani, M. F. (2018). Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous Tilia extract: antimicrobial and anticancer activities. Heliyon 4 (1), e01077- e010786.

Hernández-Hernández, H., González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., and Juárez-Maldonado, A. (2018). Effects of chitosan–PVA and Cu nanoparticles on the growth and antioxidant capacity of tomato under saline stress. Molecules. 23 (1), 178-186.

Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., Valdés-Reyna, J., and Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. Plants. 8 (1): 355-368.

Hernández Ugalde, F., Martínez Leyva, G., Rodríguez Acosta, Y., Hernández Suárez, D., Pérez García, A., & Almeida Campos, S. (2019). Ácido fólico y embarazo,¿ beneficio o riesgo?. Revista Médica Electrónica. *41* (1):142-155.

Hijaz, F., Al-Rimawi, F., Manthey, J. A., & Killiny, N. (2020). Phenolics, flavonoids and antioxidant capacities in Citrus species with different degree of tolerance to Huanglongbing. Plant signaling & behavior. *15* (5): 1752447.

Ibrahim, A. M., Munshi, G. H., and Al-Harbi, L. M. (2018). Copper (II) oxide nanocatalyst preparation and characterization: green chemistry route. Bulletin of the National Research Centre. 42 (1): 1-4.

Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, H., Morales-Díaz, A. B., González-Morales, S., Morelos-Moreno, Á., Sandoval-Rangel, A., Cadenas-Pliego, G., and Benavides-Mendoza, A. (2019). Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. International Journal of Molecular Sciences. 20 (1): 162-174.

Khan, I., Saeed, K., and Khan, I.(2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. Plant Physiology Biochemistry. 12(1): 908-931.

Kolesnikov, S., Timoshenko, A., Kazeev, K. S., Akimenko, Y. V., and Myasnikova, M. (2019). Ecotoxicity of Copper, Nickel, and Zinc Nanoparticles Assessment on the Basis of Biological Indicators of Chernozems. Eurasian Soil Science. 52 (2): 982-987.

Kumar, V. K., Muthukrishnan, S., and Rajalakshmi, R. J. (2020). Phytostimulatory effect of phytochemical fabricated nanosilver (Ag NPs) on Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC. seed germination: An insight from antioxidative enzyme activities and genetic similarity studies. Current Plant Biology. 23(5): 100158-100171.

Kusumoputro, S., Tseng, S., Tse, J., Au, C., Lau, C., Wang, X., and Xia, T. (2020). Potential nanoparticle applications for prevention, diagnosis, and treatment of COVID-19. View. 1(5): 105-116.

Lara-Izaguirre, A. Y., Rojas-Velázquez, A. N., Romero-Méndez, M. J., Ramírez-Tobías, H. M., Cruz-Crespo, E., Alcalá-Jáuregui, J. A., & Loredo-Ostí, C. (2019). Crecimiento y acumulación de NO-3 en lechuga hidropónica con relaciones nitrato/amonio en dos estaciones de cultivo. Revista Fitotecnia Mexicana 42(1): 21-29

Lopez-Lima, D., Mtz-Enriquez, A. I., Carrión, G., Basurto-Cereceda, S., and Pariona, N. (2020). The bifunctional role of copper nanoparticles in tomato. Scientia Horticulturae. 277 (7)., 810-819.

López-Vargas, E. R., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., de Alba Romenus, K., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., and Juárez-Maldonado, A. (2018). Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. Applied Sciences. 8(1): 1020-1031.

Luna, C. V. (2019). Establecimiento de un método eficiente de estandarización de la germinación in vitro de Moringa oleifera (*Moringaceae*). Acta Botánica Mexicana. 1(2):10-16.

Lung, I., Opriş, O., Soran, M.-L., Culicov, O., Ciorîță, A., Stegarescu, A., Zinicovscaia, I., Yushin, N., Vergel, K., and Kacso, I. J. (2021). The Impact Assessment of CuO Nanoparticles on the Composition and Ultrastructure of

Triticum aestivum L. International Journal of Environmental Research Public Health. 18 (1): 6739-6748.

Mali, S. C., Raj, S., and Trivedi, R. J. (2019). Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using Enicostemma axillare (*Lam*.) leaf extract. Biochemistry Biophysics Reports. 20 (2): 699-712.

Margenot, A. J., Rippner, D. A., Dumlao, M. R., Nezami, S., Green, P. G., Parikh, S. J., and Mc Elrone, A. J. (2018). Copper oxide nanoparticle effects on root growth and hydraulic conductivity of two vegetable crops. Plant Soil. 431 (1): 333-345.

Mehdizadeh, T., Zamani, A., & Froushani, S. M. A. (2020). Preparation of Cu nanoparticles fixed on cellulosic walnut shell material and investigation of its antibacterial, antioxidant and anticancer effects. *Heliyon*. *6* (3). e03528.

Morales-Díaz, A. B., Juárez-Maldonado, A., Morelos-Moreno, Á., González-Morales, S., y Benavides-Mendoza, A. (2016). Biofabricación de nanopartículas de metales usando células vegetales o extractos de plantas. Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas. 7 (1): 1211-1224.

Mortezaee, K., Najafi, M., Samadian, H., Barabadi, H., Azarnezhad, A., and Ahmadi, A. J. (2019). Redox interactions and .genotoxicity of metal-based nanoparticles: A comprehensive review. Chemico-Biological Interactions 312(1): 108814-108824.

Mosa, K. A., El-Naggar, M., Ramamoorthy, K., Alawadhi, H., Elnaggar, A., Wartanian, S., Ibrahim, E., and Hani, H. (2018). Copper nanoparticles induced genotoxicty, oxidative stress, and changes in Superoxide Dismutase

(SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus*) plants. Frontiers in Plant Science 9 (2): 872-882.

Mozaffarian, Dariush. (2016). "Prioridades dietéticas y políticas para las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y la obesidad: una revisión exhaustiva". Circulación. 133 (2):187-225.

Natividad-Torres, E. A., Guevara-Aguilar, A., Sánchez, E., Sida-Arreola, J. P., Muñoz-Márquez, E., and C.hávez-Mendoza, C. J. (2021). Effect of the processing on the antioxidant capacity and bioactive compounds content of jalapeno pepper for chipotle and commercial sauces. Acta Agrícola y Pecuaria. 7 (1): E00710007- E00710009.

Olkhovych, O., Volkogon, M., Taran, N., Batsmanova, L., and Kravchenko, I. J. (2016). The effect of copper and zinc nanoparticles on the growth parameters, contents of ascorbic acid, and qualitative composition of amino acids and acylcarnitines in Pistia stratiotes L.(*Araceae*). Nanoscale Research Letters. 11 (2):218-229.

Ordóñez-Santos, L. E., Portilla, M. A. O., and Rodríguez, D. X. R. (2013). Cinética de degradación térmica de vitamina C en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). Revista Lasallista de Investigación. 10 (2): 44-51.

Paredes, C. R. E., Soto, J. C. R., Quiñones, M. C., Villalaz, C. A., Peña, A. C., Alcántara, E. L., Roque, B. E. C., Reyna, C. W. A., Delgado, J. A., and Alva, M. V. (2020). Citotoxicidad y genotoxicidad de nanopartículas de cobre sobre Allium cepa L.(*Amaryllidaceae*). Arnaldoa. 27 (3): e108-e112.

Pelegrino, M. T., Kohatsu, M. Y., Seabra, A. B., Monteiro, L. R., Gomes, D. G., Oliveira, H. C., Rolim, W. R., de Jesus, T. A., Batista, B. L., and Lange, C. N. (2020). Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa L*.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. Environmental Monitoring Assessment. 192 (3):1-14.

Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., and Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. Plants. 8 (2): 151-164.

Pertierra Lazo, R., and Quispe Gonzabay, J. J. (2020). Análisis económico de lechugas hidropónicas bajo sistema raíz flotante en clima semiárido. La granja. Revista de Ciencias de la Vida. 31 (3): 118-130.

Peters, R., ten Dam, G., Bouwmeester, H., Helsper, H., Allmaier, G., vd Kammer, F., Ramsch, R., Solans, C., Tomaniová, M., and Hajslova, J. (2011). Identification and characterization of organic nanoparticles in food. Trends in Analytical Chemistry. 30 (6): 100-112.

Quiterio-Gutiérrez, T., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Hernández-Fuentes, A. D., Sandoval-Rangel, A., Benavides-Mendoza, A., Cabrera-de la Fuente, M., and Juárez-Maldonado, A. (2019). The application of selenium and copper nanoparticles modifies the biochemical responses of tomato plants under stress by Alternaria solani. International Journal Of Molecular Sciences. 20 (5): 1950-162.

Rafique, M., Shaikh, A. J., Rasheed, R., Tahir, M. B., Bakhat, H. F., Rafique, M. S., and Rabbani, F. (2017). A review on synthesis, characterization and applications of copper nanoparticles using green method. Nano Energy. 12 (3): 1750043 - 1750058.

Rajput, V., Minkina, T., Suskova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chapligin, V., and Fedorenko, A. (2018). Effects of copper nanoparticles (CuO NPs) on crop plants: a mini review. BioNanoScience 8 (3): 36-42.

Rangel, W. M., Santa, R. A. A. B., and Riella, H. G. (2020). A facile method for synthesis of nanostructured Copper (II) oxide by coprecipitation. Journal of Materials Research Technology. 9 (3): 994-1004.

Rawat, S., Cota-Ruiz, K., Dou, H., Pullagurala, V. L., Zuverza-Mena, N., White, J. C., Niu, G., Sharma, N., Hernandez-Viezcas, J. A., and Peralta-Videa, J. R. (2021). Soil-Weathered CuO Nanoparticles Compromise Foliar Health and Pigment Production in Spinach (Spinacia oleracea). Environmental Science Technology. 14 (1):23-35.

Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., and Abbas, F. (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 (1)., 2-16.

Rohlf, F. J., and Sokal, R. R. (1995). "Statistical tables," Macmillan 1(1):4-9.

Salas Pérez, L., Borroel-García, VJ, Ramírez-Aragón, MG, & Moncayo Luján, MDR (2018). Efecto de la adición de ácido ascórbico y té de composta en la

producción y capacidad antioxidante de forraje hidropónico de maíz. Nova scientia , 10 (20), 47-63.

Saavedra, G., F. Corradini and A. Antúnez (2017). "Manual de producción de lechuga". Boletín INIA. (Consulta: 13 febrero 2021).

Santos Filho, R. d., Vicari, T., Santos, S. A., Felisbino, K., Mattoso, N., Sant'Anna-Santos, B. F., Cestari, M. M., and Leme, D. M. (2019). Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in Allium cepa. Genetics Molecular Biology. 42 (6):425-435.

Santos, F. A. S., Rezende, R., Wenneck, G. S., Santi, D. C., and Saath, R. (2021). Frequentist and Bayesian inference for gas exchanges of drip-irrigated bell pepper. Pesquisa Agropecuária Tropical. 51 (1): 1-20.

Silva, G. A. C., & Sandoval Briones, C. (2016). Manual práctico del cultivo de la lechuga. Ediciones Mundi-Prensa, imprenta grafica Eujoa (Meres, Asturias) Libros. (Consulta: 13 de febrero de 2021).

Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Elsevier 299 (1):152-178.

Srivastava, N., and Mukhopadhyay, M. (2015). Green synthesis and structural characterization of selenium nanoparticles and assessment of their antimicrobial property. Bioprocess Biosystems Engineering. 38 (1): 1723-1730.

Ushiña Simbaña, C. F. (2020). Evaluación del contenido de minerales en lechuga (*Lactuca sativa* var. Crispa) crecidas en diferentes soluciones nutritivas de un cultivo hidropónico (Bachelor's thesis). (Consulta: 20 de mayo de 2021).

Wang, Y., Jiang, F., Ma, C., Rui, Y., Tsang, D. C., and Xing, B. (2019). Effect of metal oxide nanoparticles on amino acids in wheat grains (*Triticum aestivum L*) in a life cycle study. Journal Of Environmental Management. 241 (1): 319-327.

Xiong, T., Dumat, C., Dappe, V., Vezin, H., Schreck, E., Shahid, M., Pierart, A., Sobanska, S., and Technology (2017). Copper oxide nanoparticle foliar uptake, phytotoxicity, and consequences for sustainable urban agriculture. Environmental Science. 51 (1): 5242-5251.

Xu, W., Xiang, P., Liu, X., and Ma, L. Q. J. C. (2020). Closely-related species of hyperaccumulating plants and their ability in accumulation of As, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn. Chemosphere 52 (1):126334- 136346.

Yaqoob, A. A., Ahmad, H., Parveen, T., Ahmad, A., Oves, M., Ismail, I. M., Qari, H. A., Umar, K., and Mohamad Ibrahim, M. N. (2020). Recent advances in metal decorated nanomaterials and their various biological applications: A review. Frontiers in Chemistry. 8 (1): 341-353.

Younes, N., Hassan, H. S., Elkady, M. F., Hamed, A., and Dawood, M. F. (2020). Impact of synthesized metal oxide nanomaterials on seedlings production of three Solanaceae crops. Heliyon. 6 (3): e03188 - e03195.

Zhang, Z., Ke, M., Qu, Q., Peijnenburg, W., Lu, T., Zhang, Q., Ye, Y., Xu, P., Du, B., and Sun, L. (2018). Impact of copper nanoparticles and ionic copper exposure

on wheat (*Triticum aestivum L.)* root morphology and antioxidant response. Environmental Pollution. 239 (8):689-697.