


Análisis fitoquímico de *Crataegus spp.* y *Punica granatum* para su uso potencial en la síntesis de nanopartículas metálicas

Lara Suarez Armando Arath¹, Segundo Gonzalez Adolfo¹, Trujillo-Hernández Antonia², Mandujano Piña Manuel³
Molina González María Graciela^{1*}

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Profesionales Iztacala, Laboratorio de Colección de Cultivos Bacterianos, ²Laboratorio de Conservación de Semillas, ³Laboratorio de Fisiología Poscosecha. Av. De Los Barrios #1, Los reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México, C. P. 54090, México.

*Autor para correspondencia: marias@unam.mx

ORCID : 0000-0003-0876-7428

Recibido:

14/mayo/2023

Aceptado:

30/octubre /2023

Palabras clave:

Nanopartículas,
análisis fitoquímico,
Crataegus spp.,
Punica granatum

Keywords:

Nanoparticles,
phytochemical analysis,
Crataegus mexicana,
Punica granatum

RESUMEN

La presencia de diversos metabolitos en extractos vegetales, tienen la facultad de reducir cationes metálicas para la formación de nanopartículas híbridas. La información sobre el uso del mesocarpio de frutas es reducida. En este trabajo se analizó el contenido de biomoléculas con capacidad reductora en granada y cuatro fenotipos de tejocote para su posible uso en la síntesis de nanopartículas metálicas. El análisis se realizó a frutos almacenados a -20 °C. Los resultados enfocados en los mayores contenidos fueron para: fenotipo Rojo, azúcares reductores 63.7 mg /g, granada 8.52 mg GAE/g de fenoles y 22 mg /10 g de vitamina C, fenotipo naranja 1.6 g/100g de pectinas y fenotipo Amarillo g capacidad antioxidante 328.76 mg/g de ácido ascórbico. Ambos frutos presentan en cantidad suficiente las biomoléculas reductoras, para su potencial uso en la síntesis de nanopartículas, la condición de almacenamiento disminuye el contenido de carbohidratos y vitamina C.

ABSTRACT

The presence of various metabolites in plant extracts have the ability to reduce metal cations for the formation of hybrid nanoparticles. Information on the use of fruit mesocarp is limited. In this work, the content of biomolecules with reducing capacity in pomegranate and four phenotypes of hawthorn was analyzed for their possible use in the synthesis of metallic nanoparticles. The analysis was carried out on fruits stored at -20 °C. The results focused on the highest contents were for: Red phenotype, reducing sugars 63.7 mg/g, pomegranate 8.52 mg GAE/g of phenols and 22 mg/10 g of vitamin C, orange phenotype 1.6 g/100g of pectins and Yellow phenotype g antioxidant capacity 328.76 mg/g of ascorbic acid. Both fruits present in sufficient quantity the reducing biomolecules, for their potential use in the synthesis of nanoparticles, the storage condition decreases the content of carbohydrates and vitamin C.

Introducción

En Las nanopartículas (NP's) metálicas son partículas que se encuentran en la escala nanométrica (1 a 100 nm), que presentan propiedades ópticas, magnéticas, catalíticas y electrónicas únicas, lo cual permite interactuar en procesos intracelulares y biomoleculares, lo que ha permitido revolucionar diversos sectores en la industria incluyendo la alimentaria, farmacéutica e incluso los maquillajes (Hernández-Celis, 2021). La síntesis de nanopartículas metálicas mediante técnicas químicas utiliza agentes reductores y estabilizantes químicos, los cuales tiene un impacto negativo en el ambiente y para la salud humana, debido a la generación de residuos tóxicos (Vera *et al.*, 2017; Cardoso, 2016). Por tener una alta relación área superficie/volumen son consideradas eficientes, ya que se ha demostrado su actividad biomédica en diversos campos.

La síntesis verde o biológica se ha propuesto como una alternativa con gran potencial para obtener nanopartículas, lo que reduciría significativamente el impacto ambiental y los costos en su producción, ya que se utilizan extractos de plantas.

En la síntesis biológica se sintetizan NP's a partir de extractos de diferentes partes de plantas como las hojas, tallos, cortezas raíces, semillas, cáscaras de frutos y frutas debido a que contienen diferentes compuestos fitoquímicos como azúcares reductores, fenoles, vitaminas y antioxidantes que actúan como agentes reductores y estabilizantes (Timoszyk, 2018; Saucedo, 2011). El mesocarpio de muchas frutas como *Vaccinium sp* (arándanos y moras), *Cornus mas L.* (cornejo), *Citrullus lanatus* (sandía), *Vitis sp* (uvas), *Terminalia arjuna* (arjunta) y *Punica granatum L.* (granada), contienen cantidades importantes de agentes reductores como: antocianinas, ácido ascórbico, compuestos fenólicos, flavonoides, sacáridos y otras vitaminas (Arenas-Ramos, 2017; Timoszyk, 2018; Ticllacuri-Perales y Travezaño-Neyra, 2019). Con base a su contenido de moléculas reductoras, son candidatos potenciales para sintetizar nanopartículas metálicas.

En relación a lo anterior, las plantas responden a factores físicos y químicos que son conocidos como "elicitores". La elicitación es un proceso de inducción o potencializador de la síntesis de metabolitos secundarios de las plantas para asegurar su supervivencia, persistencia y competitividad. Las poblaciones de plantas de diferentes regiones geográficas pueden presentar variación, en la producción de metabolitos secundarios, aunado a las variaciones genéticas contribuyen a las diferencias entre las poblaciones.

Estas variaciones en la composición química pueden afectar la presencia y contenido de moléculas útiles para la síntesis de nanopartículas metálicas y su uso en los diferentes campos de la medicina e industria.

En México hay alrededor de 4 000 especies (aproximadamente 15% de la flora total) tienen atributos medicinales, se estima que la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo sólo en 5% de estas especies (Ocegueda *et al.*, 2005). Aunado a esto, en los últimos cinco años, los reportes de investigación se han enfocado en el estudio de extractos de cáscaras, hojas, tallos e inflorescencias (Qayyum *et al.*, 2017; Ronquillo de Jesús *et al.*, 2013), sin embargo para la síntesis de NP's metálicas, son pocas las investigaciones en las que utilizan el mesocarpio de los frutos comestibles, en dichos reportes destacan el uso de frutas como: manzana (*Malus pumila*), albaricoque (*Prunus armeniaca*), guanábana (*Annona muricata*) y granada (*Punica granatum*) (Ali *et al.*, 2016; Ajmal *et al.*, 2016; González-Pedroza, 2021; Aguirre-Labastida *et al.*, 2020). Sabiendo que México cuenta con una gran variedad de frutos endémicos y tolerados y que su escrutinio ha sido reducido a la composición fitoquímica enfocado a la nutrición humana o medicinal, el presente trabajo aborda el estudio de dos frutos: el tejocote y la granada roja, que se cultivan en México y cuentan con componentes fitoquímicos que potencialmente pueden ser utilizados para la síntesis de NP's.

El tejocote (*Crateagus spp.*) es un árbol pequeño, perteneciente a la familia Rosaceae. De las 280 especies de tejocote registradas, 13 son originarias de México, pero solo dos son para consumo como fruta fresca (Servicio Nacional de Inspección y certificación de Semillas, 2017, Robles-Botero *et al.* 2020). El tejocote es usado en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la presión, afecciones respiratorias, tos y malestar estomacal. La pulpa del tejocote está compuesta en mayor proporción de azúcares, ácidos orgánicos y pectina, de igual manera se encontró fenoles, ácido ascórbico y ácido clorogénico en las semillas y cascara del fruto (Nieto, 2007, Robles-Botero *et al.*, 2020).

La granada (*Punica granatum L.*) pertenece a la familia Lythraceae, el árbol alcanza entre 2 y 6 m de altura, con tallos muy ramificados, hojas alargadas y flores repletas de estambres. El fruto contiene una gran cantidad de vitaminas, minerales, azúcares y fenoles que funcionan como antioxidantes con propiedades anticancerígenas y antiinflamatorias.

Fue traída a México por misioneros españoles y actualmente se cultiva desde Estados Unidos hasta México, destacando por su producción los estados de Chiapas, Oaxaca, Hidalgo, Guanajuato, Puebla y Morelos (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de México, 2020).

El objetivo del presente estudio fue analizar en los frutos de tejocote y granada (arilos), la presencia y contenido de agentes reductores y estabilizantes como: fenoles, azúcares reductores, vitamina C y pectina, para su potencial uso en la síntesis de nanopartículas metálicas.

Metodología

Obtención de frutos

La recolección de los frutos de tejocote se realizó en un campo experimental en la Universidad Autónoma de Chapingo, en diciembre del 2021. Los frutos se almacenaron en congelación -20°C , hasta su uso. Los frutos de granada se adquirieron en un mercado local de la Ciudad de México y se almacenaron en un congelador a -20°C por cuatro meses. Para el procesamiento de los frutos de tejocote, estos fueron agrupados de acuerdo a su color y tamaño (Tabla 1), denominándolos: Rojo, Naranja, Amarillo ch (chico) y Amarillo g (grande).

Tabla 1. Fenotipos de tejocote utilizados para el análisis químico.

	Rojo	Naranja
Fenotipos de tejocote		
	Amarillo ch	Amarillo g
		

Procesamiento de las frutas

Los frutos se lavaron con agua destilada y se les retiró el epicarpio, utilizando solo el mesocarpio. Para la granada se extrajeron los arilos

Determinación de azúcares reductores por el método Nelson-Somogyi

Un gramo de mesocarpio se homogenizó en 10 ml de agua destilada en un mortero, posteriormente se filtró con una gasa y posteriormente con papel filtro Whatman #41.

Una vez obtenido el extracto se determinó el contenido de azúcares, con la técnica de Nelson-Somogyi, utilizando un patrón de glucosa de 100 $\mu\text{g/ml}$ con un rango de concentración de 5-25 μg y para su lectura a 660 nm con un espectrofotómetro UV-Vis.

Contenido de vitamina C con el reactivo de Folin.

El extracto de los frutos se preparó con 1g del mesocarpio del tejocote y los arilos de la granada, respectivamente, homogenizados con 10 ml de agua destilada, una vez filtrada la muestra, se estimó la vitamina C utilizando 0.2 ml de extracto y el reactivo de Folin-Ciocalteu 2.0 M, marca SIGMA, diluido 1:10. Se preparó una solución estándar de ácido ascórbico de 100 $\mu\text{g/ml}$ y del sobrenadante de los frutales se tomó una alícuota de 100 μl siguiendo la metodología de Jagota y Dani (1982), las absorbancias se midieron a 760 nm.

Fenoles totales

Para realizar la extracción de compuestos fenólicos totales se trituraron 2 g de las frutas en proporción con 1ml de etanol al 80% por cada 0.5g de pulpa. Para la estimación de fenoles se realizó una curva estándar con ácido gálico 425.3 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados se expresaron como la cantidad equivalente en miligramos de ácido gálico por gramo de tejido (mg EAG/g).

Actividad antioxidante con ABTs

La capacidad antioxidante se determinó, con el reactivo de ABTs (Acido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) utilizando una solución estándar 7 mM preparada con persulfato de potasio 2.45 mM que se dejó reposar 24 hrs en oscuridad, a partir de esta se elaboró la solución de trabajo; diluyendo con buffer de acetatos pH 4.5 hasta obtener una absorbancia de 0.700 ± 0.01 . La curva patrón se preparó con ácido ascórbico de 5 a 100 $\mu\text{g/mL}$, utilizando 100 μL de cada concentración y 3.9 mL de la solución de trabajo para registrar su absorbancia a 734 nm después de 2 hrs de reposo en oscuridad. Los resultados se reportan como mg de ácido ascórbico /mg de tejido (Rice-Evans *et al.*, 1997)

Determinación de Pectina

La determinación de Pectina se llevó a cabo siguiendo la metodología de la NOM-F-347-S-1980, Frutas y Derivados. - Determinación de Pectina, utilizando 50 grs de muestra pasado por un procesador de alimentos, se hirvió durante 1 hora manteniendo constante el volumen en 400 ml, posteriormente se aforó a 500 ml y se filtró en papel Whatman #41 a 100 ml del filtrado se le agregaron 100 ml de solución de Hidróxido de sodio 1 N y se dejó reposar durante la noche.

Al día siguiente se añadieron 50 ml de ácido acético 1 N y se dejó reposar durante 5 min, lentamente se añadieron 25 ml de cloruro de calcio 1 N con agitación constante dejando reposar por 1 hora. Se deseco una hora a 100° C papel Whatman #41 y se determinó su masa. Una vez pasada la hora se hirvió la solución y se filtró en caliente a través del papel filtro al que anteriormente se determinó su peso. Posteriormente se deseco el papel usado para filtrar a 105° C durante 3 horas, se enfrió y determino su masa, y se comprobó su masa después de 30 min más en el horno y se calculó el contenido de pectina.

Resultados y discusión

Contenido de azúcares reductores

Las moléculas reductoras juegan un papel muy importante en la formación de las nanopartículas ya que estas le proporcionarán estabilidad y tendrán un tamaño y forma definida. En el caso de la granada (*Punica granatum*), el jugo de los arilos tuvo un contenido de 8.6 mg/g de azúcares reductores. Los resultados para el tejocote fueron: un contenido mayor en el fenotipo Rojo con una concentración de 59.95 mg/g seguido por Amarillo grande con una concentración promedio de 51.26 mg/g 36. Por otro lado, los fenotipos Naranja y Amarillo chico presentan las concentraciones más bajas con 46.43 mg/g y 45.47 mg/g respectivamente. Los resultados muestran que el contenido de azúcares reductores varía entre los diferentes fenotipos. Al respecto Franco-Mora (2009) reporta un rango de 64 a 129 mg/g de muestra en peso fresco (PF), donde el 50% de las muestras presentaron valores superiores a 100 mg/g (PF), mientras que en este trabajo se observó una menor cantidad (59.95 a 45.47 mg/g), esto se atribuye a la reducción que ocurre tanto en frutos climatéricos como no climatéricos, cuando los frutos son almacenados en congelación por largos periodos, sucede debido al requerimiento de energía para los procesos de respiración, fermentación y síntesis de otras moléculas (Grigolo et al., 2020) Ver figura 1.

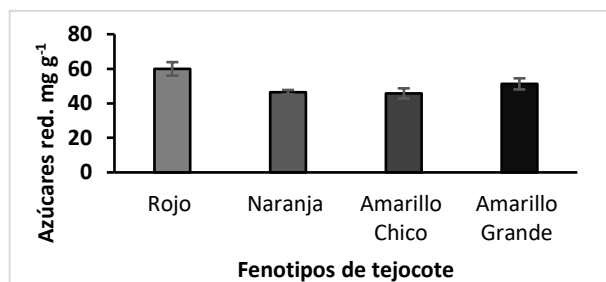


Figura 1. Contenido de azúcares reductores en mg g⁻¹ en cuatro fenotipos de tejocote. Promedio ± error estándar.

Fenoles

En la granada se obtuvo 8.52±0.49 mg GAE/g de fenoles totales, en los que según reporta Viuda-Martos et al. (2010) se encuentran en buena proporción antocianinas, taninos, ácido gálico, quercetina y flavonoides. Sin embargo, la cantidad registrada en este trabajo es menor, que lo determinado por Mena (2018) en tres variedades de granada; variedad dulce 7714 mg GAE/L, acida 6123.1 mg GAE/L y Wonderful 6783.3 mg GAE/L, donde además se destaca la presencia de antocianinas, ya que estas son las responsables del color rojo de los arilos de la granada.

En el tejocote los resultados indican (Figura 2) que la concentración media de fenoles totales varía entre los diferentes fenotipos, donde el fenotipo Rojo presenta la concentración más alta con 69.69 GAE mg/g, seguida por el Amarillo ch con 54.02 GAE mg/g. Las concentraciones más bajas se observaron en los tipos Naranja y Amarillo g con medias de 56.09 GAE mg/g y 48.78 GAE mg/g, respectivamente.

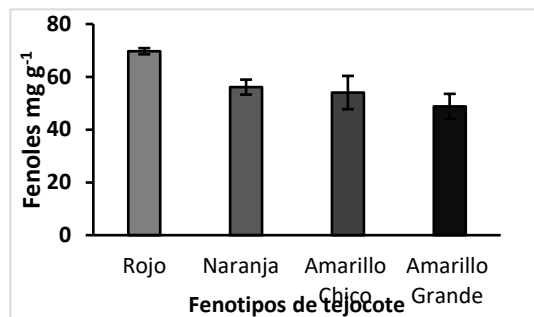


Figura 2. Contenido de Fenoles Totales en equivalentes de ácido gálico (GAE), en cuatro tipos de tejocote. Promedio ± error estándar.

Respecto a lo anterior Antonio et al., en 2015 realizó la cuantificación de una variedad de tejocote proveniente del estado de Puebla y Oaxaca, y encontró en la cáscara un promedio de 2.65 ± 0.23 mg /g y en el mesocarpio 8.1 a 22.3 mg GAE/g mientras que Robles-Botero (2020) reporto para un extracto de pulpa una cantidad de fenoles totales de 84.8 ± 3.0 mg GAE/g en peso fresco para *Crataegus mexicana*, estos resultados muestran la gran variación en el contenido de fenoles totales, que pueden llegar a presentarse en el fruto del tejocote.

Vitamina C

En cuanto a la Vitamina C o ácido ascórbico, su presencia en los extractos para la síntesis de NP's es de gran importancia ya que se utiliza como agente reductor tanto en la síntesis verde como en la síntesis química.

Para la granada, se cuantifico un total de 22 ± 1.65 mg/10g de arilos, mayor al reportado por Mena et al. (2011) en donde obtuvo valores de 80 a 200 mg/L en variedades españolas de granada, así mismo Herrera-Hernández et al. (2013) encontraron un valor máximo de 148 mg/L. Ver figura 3.

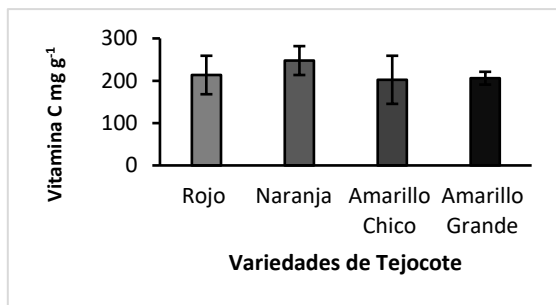


Figura 3. Contenido de Vitamina C en mg/1g, en cuatro tipos de tejocote. Promedio \pm error estándar.

La concentración de vitamina C en los diferentes fenotipos de tejocote (Figura 3) es similar, ya que esta oscila entre 2 y 2.4 mg/10 gramos de pulpa. En este caso, el fenotipo Naranja tuvo la mayor concentración con 2.4 mg/10g, mientras que los fenotipos Rojo y Amarillo ch tuvieron la mayor de vitamina C con 2.1 mg/10g, similar al reportado en el rango de 1.91 – 3.48 mg/g en pulpa (Robles-Botero et al. 2020).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante está relacionada con la cantidad de moléculas con propiedades antioxidantes presentes en los extractos como flavonoides, antocianinas, vitaminas carotenoides (León-Méndez, 2020) que serán las encargadas de darle estabilidad a las nanopartículas, ya que frena la reacción de oxidación excesiva al momento de formar las nanopartículas y así evitar su coalescencia. El contenido de biomoléculas con actividad antioxidante, presente en los arilos del fruto de granada (tabla 2) fue de 55227.407 mg/100g, siendo alto a lo presentado por los fenotipos de tejocote donde se encontraron valores de 32876.55 mg/100g para el fenotipo Amarillo G y 29367.98 mg/100g para el Naranja, 24105.13 mg/100g para el Amarillo ch y 28263.43 mg/100g para fenotipo Rojo. Entre las moléculas que presentan actividad antioxidante se mencionan a los compuestos fenólicos como el grupo principal al que se atribuye dicha actividad, esto ha sido reportado para extractos de *Crataegus mexicana* (Robles-Botero et al. 2020). Pero hay otras sustancias con actividad antioxidante como la vitamina C y las pectinas, por lo que el contenido de vitamina C, pectinas y fenoles actuaron sinérgicamente en el fenotipo Amarillo g.

Tabla 2. Capacidad antioxidante y contenido de pectina en cuatro fenotipos de tejocote y granada.

Fruto	Fenotipo	Capacidad antioxidante (mg/100g ⁻¹ de ácido ascórbico)	Contenido de pectinas (%)
Tejocote	Rojo	28263.4377	1.41
	Naranja	29367.9858	1.6
	Amarillo chico	24105.1388	0.8
	Amarillo grande	32876.5505	1.3
Granada		55227.407	--

Pectina

La concentración de pectina en mg/100g en los cuatro fenotipos de tejocote (Tabla 2) varía entre los diferentes frutos, esto ha sido reportado atribuyendo tanto a las características genéticas propias de cada organismo hasta las condiciones donde se desarrolla, afectando desde la composición y cantidad de los diferentes compuestos secundarios, que pueden presentar. De ahí que en tejocote se observan porcentajes desde 1. a 37.1 porcentajes más altos comparado con lo indicado para cítricos /15.3 a 7.8 %). Aunado a esto una de las características de la pectina extraída del tejocote es que dependiendo de su grado de metoxilación forma geles con los iones calcio en ausencia de azúcares, lo cual es considerado importante para su uso en algunos alimentos.

En cuanto a la síntesis de NP's y presencia de agentes reductores y estabilizantes, Ticlacuri-Perales y Travezaño-Neyra (2019) obtuvieron NP's Ag de forma esférica con extracto de *Coffea arabica* que contenían 127.5 mg GAE/100g de fenoles totales. Mientras que Arenas-Ramos (2017) consiguió el mismo tipo de nanopartículas partir de raspo de uva, con una concentración de fenoles totales de 537.6 mg/L lo que indica un amplio rango en el contenido de estos elementos con lo cual se pueden sintetizar NP's de Ag.

Por otra parte, para el contenido de azúcares reductores, Robles-Ardila et al. (2019) reporta 28.14 mg/L en el extracto de cascara de papaya con el que sintetizaron NP's de magnetita, este valor en comparación con los encontrados para fenotipo rojo (66.7 mg/g), Amarillo g (58.1mg/g), Amarillo ch (34.3) y Naranja (29.4 mg/g) es menor por lo que los fenotipos de tejocote resultan potencialmente adecuados para la obtención de NP's (figura 1).

En el caso de la granada ocurre lo contrario ya que su contenido en azúcares es menor (8.59 mg/g) al reportado por Robles-Ardila y colaboradores (2019).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en comparación con lo reportado por diversos autores indica que la congelación durante tiempo prolongado puede ocasionar una disminución en las concentraciones de moléculas reductoras contenidas en las frutas estudiadas de la granada y las distintas variedades de tejocote.

El mesocarpio del tejocote y los arilos de la granada presentaron moléculas reductoras, las cuales pueden actuar como agentes reductores y estabilizantes en la síntesis verde de nanopartículas metálicas, siendo una opción para la sustitución de los agentes reductores químicos, dichos reactivos una vez desechados pueden generar un afecto negativo en el ambiente o implicaciones en la salud humana.

El uso de frutos frescos o congelados podría influir en los resultados obtenidos en la síntesis de nanopartículas y análisis fitoquímicos, por lo que se abren las posibilidades de ensayos con diferentes factores de estudio, tiempos de congelación, variedades del fruto, y partes que componen al fruto, mesocarpio, endocarpio o la semilla.

Agradecimientos

Al laboratorio de Colección de Cultivos Bacterianos (CCB), de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, a la Dra. María Graciela Molina González y al Dr. Juan Ayala Areola por permitir la recolección de los fenotipos de tejocote en el campo experimental en la Universidad Autónoma de Chapingo,

Referencias

Aguirre-Labastida, A. A., Molina-González, M. G., Cruz-Monsalvo, R. A., Martínez-García, M., & Aguilar-Ayala, I. (2020). Nanopartículas de plata de *Punica granatum* cultivada en San Lucas, Atotonilco el Grande, Hidalgo. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 6, 2448-6663.

Ajmal, N., Saraswat, K., Sharma, V. y Zafar, M. E. (2016). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles from *Prunus armeniaca* (Apricot) fruit peel extrac. *Bull. Environ. Phamacol. Life Sci*, 5, 91-94.

Ali, Z. A., Yahya, R., Sekaran, S. D., y Puteh, R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016.

Antonio, B. T. J., Margarita, C. R., & Daniel, M. I. (2015). Biological properties and antioxidant activity of hawthorn *Crataegus mexicana*. *Journal of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*, 6(4), 1.

Arenas-Ramos, C. (2017). Síntesis de nanopartículas metálicas a partir de extractos de raspo de uva (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya). <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/118065>

Cardoso, P. C. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños (B. Aires)*, 58(260), 19-28.

Franco-Mora, O., Aguirre-Ortega, S., Morales-Rosales, E. J., González-Huerta, A., & Gutiérrez-Rodríguez, F. (2010). Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 17(1), 61-66.

Grigolo, Ch. R., Oliveira, M. de C., Loss, E. S., Ropelato, J., Oldini, T. y Batista, C. B. (2020). Caracterización fisicoquímica y contenido antioxidante de frutas de *Physalis*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 607- 618.

González-Pedroza, M. G., Argueta-Figueroa, L., García-Contreras, R., Jiménez-Martínez, Y., Martínez-Martínez, E., Navarro-Marchal, S. A. y Boulaiz, H. (2021). Silver nanoparticles from *Annona muricata* peel and leaf extracts as a potential potent, biocompatible, and low-cost antitumor tool. *Nanomaterials*, 11(5), 1273.

Hernández-Celis, J. A. (2021). Síntesis de nanopartículas de oro con extracto vegetal de café (*Coffea arabica* L.) (Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/16053>

Herrera-Hernández, M. G., Mondragón-Jacobo, C., Soria-Lara, D. M., Guzmán-Maldonado, S. H. (2013). Comparative study of Physicochemical and Fuctional Characteristics in Juices from New Mexico Pomegranate Cultivars (*Punica granatum* L.) and Wonderful Variety. *Biochemistry and Biophysics*. 1(3): 35-42.

Jagota, S. K., y Dani, H. M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical biochemistry*, 127(1), 178-182.

León-Méndez, G., Crisostomo-Perez, T., Gonzalez-Fegali, M. C., Herrera-Barros, A., Pájaro-Castro, N., y León-Méndez, D. (2020). Frutas como fuentes de moléculas bioactivas. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 39(2), 153-163.

- Mena, A. G. D. (2018). Calidad nutracéutica de extractos de granada dulce y ácida y bioaccesibilidad de sus compuestos fenólicos en un modelo in vivo. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro). <http://ri-ng.uaq.mx/jspui/bitstream/123456789/580/1/RI001488.pdf>
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D. A., Bartual, J., Saura, D., y Martí, N. (2011). Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(10), 1893-1906.
- Nieto, A. R. (2007). Frutales nativos, un recurso fitogenético de México. Universidad Autónoma Chapingo.
- Qayyum, S., Oves, M., y Khan, A. U. (2017). Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. *PLoS one*, 12(8), e0181363.
- Robles-Ardila, D. P., Rodríguez-Pardo, N., y Pataquiva-Mateus, A. (2019). Síntesis de nanopartículas de magnetita a partir del extracto de cáscara de papaya para la degradación de colorantes azoicos en soluciones acuosas. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 27(3), 431-442.
- Robles-Botero, M. V., Ronquillo-de Jesús, E., Quiroz-Reyes, C. N., y Aguilar-Méndez, M. A. (2020). Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote (*Crataegus mexicana*). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23.
- Ronquillo de Jesús, E., Aguilar-Méndez, M. A., Guzmán-Mendoza, J. y San Martín-Martínez, E. (2013). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando extractos de plantas. *La Granja. Revista de ciencias de la vida*. 35(1). 45-58
- Rice-Evans, A. C., Miller, N. J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Tren. Plant. Scien.* 2 (4): 152-158.
- Sauceda, E. N. R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de México. (29 de abril de 2023). La granada, dulce comienzo del otoño. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-granada-dulce-comienzo-del-otono>
- Servicio Nacional de Inspección y certificación de Semillas. (1 de diciembre de 2022). SAGARPA. México. <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/tejocote-crateagus-ssp>
- Ticllacuri-Perales, V. J., y Travezaño-Neyra, E. M. (2019). Caracterización de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de *Coffea arabica* procedente de Satipo-Junín para uso antimicrobiano. [Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico Ambiental, Universidad Nacional del Centro del Perú]. http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/5396/T010_76541451_T.pdf?sequence=1
- Timoszyk, A. (2018). A review of the biological synthesis of gold nanoparticles using fruit extracts: Scientific potential and application. *Bulletin of Materials Science*, 41, 1-11.
- Vera, G., L. Farías y A. Castañeda (2017). «Síntesis de Nanopartículas Metálicas por Rutas Verdes». En: Journal of Bioprocess and Chemical Technology. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 9.19, 15-20.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., y Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(6), 635-654.