

NANOCÁPSULAS DE UREA EN QUITOSANO Y ÁCIDO POLIMETACRÍLICO Y SU APLICACIÓN EN CULTIVO HIDROPÓNICO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L)

NANOCAPSULES OF UREA IN CHITOSAN AND POLYMETHACRYLIC ACID AND THEIR APPLICATION TO HYDROPONIC CULTURE OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L)

A. Ledezma-Delgadillo¹, R. Carrillo-González², E. San Martín-Martínez^{1*}, M.R. Jaime-Fonseca¹, M.A. Chacón-López³

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional. Legaria 694, Irrigación, Miguel Hidalgo, 11500 Ciudad de México, México.

²Colegio de postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillos Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, estado de México.

³Tecnológico de Tepic. Av. Tecnológico # 2595, Col. Lagos del Country, Tepic, Nayarit, 63175, México

Recibido 7 de diciembre de 2015; Aceptado 25 de febrero de 2016

Resumen

Se nanoencapsuló urea en Quitosano (QS) y Ácido polimetacrílico (APM), buscando reducir la cantidad de urea utilizada durante el cultivo hidropónico de lechuga. Las nanocápsulas sin y con urea fueron caracterizadas por FTIR, TEM y DLS, la carga de las nanocápsulas fue determinada por potencial zeta. Los resultados de TEM indicaron que las esferas sin urea tenían un tamaño de 50 nm y con urea de 80-100 nm. El tamaño hidrodinámico obtenido por DLS fue de 110 ± 10 nm. Los espectros de FTIR presentan un pico a 1539 cm^{-1} en las nanocápsulas de QS-APM, indicando la interacción iónica entre los grupos COO^- y el grupo NH_2^+ . Se observaron nuevos picos en las nanocápsulas que contienen urea a 1618 y 1458 cm^{-1} por la interacción con los polímeros. Las diferencias físicas de los cultivos de lechuga, control (C1) y experimental (C2) fueron: peso del follaje de C2 fue inferior comparado con C1. El peso de raíz de C2 fue 0.5 veces mayor que C1. El porcentaje de nitrógeno determinado en las hojas fue similar en ambos casos. Sin embargo la cantidad de urea utilizada como fertilizante en C2 fue solo el 16%.

Palabras clave: nanocapsulas, quitosano, ácido polimetacrílico, urea, cultivo hidropónico, *Lactuca sativa* L.

Abstract

Urea was nanoencapsulated in nanospheres of chitosan (QS) and polymethacrylic acid (MPA), seeking for a reduction of urea during the hydroponic culture of lettuce. Nanocapsules with and without urea were characterized by FTIR, TEM and DLS, nanocapsules' charge was determined by zeta potential. The results of TEM indicated that nanocapsules without urea had a size of 50 nm and with urea 80-100 nm. The hydrodynamic size obtained by DLS was 110 ± 10 nm. The FTIR spectra exhibit a peak at 1539 cm^{-1} in QS-APM nanocapsules, indicating the ionic interaction between the COO^- groups and NH_2^+ . New peaks were observed in the nanocapsules containing urea at 1618 and 1458 cm^{-1} by interaction with the polymers. The physical differences of lettuce crops, control (C1) and experimental (C2), were: foliage weight of C2 was lower compared to C1. The root weight of C2 was 0.5 times greater than C1. The percentage of nitrogen determined in the leaves was similar in both cases. However the amount of urea used as fertilizer in C2 nanocapsules was only 16% of the control.

Keywords: nanocapsules, chitosan, polymethacrylic acid, urea, hydroponic culture, *Lactuca sativa* L.

1 Introducción

La sobrepoblación a nivel mundial está provocando la demanda de un mayor rendimiento agrícola requiriendo de estrategias efectivas para optimizar la producción de cultivos y minimizar las pérdidas

de fertilizantes durante y después de su aplicación (Gogos y col., 2012; Jin y col., 2011). Los fertilizantes nitrogenados son los principales nutrimentos que contribuyen significativamente en las funciones metabólicas fisiológicas y químicas en el crecimiento de los cultivos hasta su cosecha. Sin

* Autor para la correspondencia. E-mail: sannartinedu@hotmail.com

embargo, diferentes factores ambientales y procesos fisicoquímicos en el suelo provocan la volatilización, lixiviación o la absorción permanente de estos agroquímicos en las arcillas, causando pérdidas significativas de los nutrientes nitrogenados (Xie y col., 2013; Zhou y col., 2015).

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura tiene por objetivo reducir la cantidad de fertilizante empleado, minimizando la pérdida de nutrientes y mejorando el rendimiento de los campos agrícolas a través de la optimización del manejo de nutrientes minerales (Liu and Lal, 2015). Los materiales más adecuados como material de protección de fertilizantes pueden ser las nanopartículas poliméricas, derivados de polisacáridos y diversos polímeros naturales biodegradables (Ghormade y col., 2011), que no erosionan el suelo. La interacción entre polímeros biodegradables catiónicos y aniónicos, puede producir hidrogeles o nanopartículas, ofreciendo condiciones favorables para la incorporación de sustancias químicas, incluyendo productos agroquímicos y farmacéuticos. El quitosano (QS) es un aminopolisacárido derivado de la quitina que se ha utilizado en estudios de liberación de materiales como vacunas, proteínas y fármacos (Dos Santos Silva y col 2011). Asimismo, tiene un gran potencial en el área agrícola para el mejoramiento de cultivos (Kashyap y col., 2015), debido a la bioactividad en la planta tal como: estimulación en el crecimiento y germinación (Kananont y col., 2010; Nge y col., 2006), incremento en el contenido de clorofila, fotosíntesis ampliación de cloroplastos en las hojas de las plantas (Limpanavech y col., 2008), incremento en la absorción de nutrientes y reducción del estrés de las plantas, así como el aumento en la producción de cultivos (Dzung y col., 2011).

Los trabajos científicos que se han realizado para la encapsulación de urea con quitosano, no se han aplicado en sistemas de cultivo reales, se ha realizado la caracterización física de las nanocápsulas y no existe información sobre su efectividad a nivel nano en el área agrícola.

Esta investigación tiene como finalidad evaluar el efecto de nanocápsulas de quitosano y ácido metacrílico que contienen urea, en un cultivo hidropónico para la producción de lechuga, comparado con un cultivo hidropónico con nutrientes convencionales. Buscando la reducción del tiempo de cultivo e incremento de rendimiento del producto, empleando las nanocápsulas con una concentración de nutrientes menor a la

convencional.

2 Materiales y métodos

2.1 Materiales

Todos los reactivos empleados en el trabajo de investigación fueron de grado analítico. Quitosano (QS) (grado de desacetilación de 96.1% y bajo peso molecular, Mw 141 kDa), ácido Polimetacrílico (APM), urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), Fosfato de Calcio monobásico ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), Sulfato de Manganese monohidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Molibdato de Amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y Sulfato de Cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) fueron adquiridos de Sigma Aldrich Química. Fosfato de Potasio monobásico (KH_2PO_4) (cristal) J.T. Baker, Sulfato Férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) y Sulfato de Zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) se compraron en Analytyka, y el Ácido Bórico H_3BO_3 en Productos Químicos Monterrey.

2.2 Materia prima

Se utilizó el tipo de lechuga francesa (*Lactuca sativa* L.; *var.capitata* L.) por ser de rápido crecimiento y hojas abiertas para un mejor análisis. La semilla se compró de la empresa “GRUPO TREVIÑO” D.F. México. La comparación fue realizada utilizando lechuga comercial de la marca EVA, cultivada en el estado de Querétaro por la técnica de Raíz Flotante.

2.3 Métodos

2.3.1 Síntesis de nanocápsulas de quitosano con ácido polimetacrílico

Las nanocápsulas de Quitosano y Ácido Polimetacrílico se elaboraron de acuerdo con la metodología propuesta por de Moura y col., (2008), estudiando los factores de concentración de Quitosano, ácido Polimetacrílico y la temperatura, de acuerdo al diseño central compuesto (DCC). Los niveles que se emplearon fueron de 0.27 a 1.0% en los dos polímeros y la temperatura entre 65 a 80°C (tabla 1).

Se diluyeron 10 mg de Urea en 25 mL de agua desionizada y se agitó durante una hora, después se adicionó la solución de nanocápsulas y se agitó durante 6 horas, posteriormente se centrifugo a 4500 rpm durante 30 minutos (Corradini y col 2010) y se procedió a la caracterización de la muestra.

2.3.2 Caracterización de las nanocápsulas

Para estudiar la interacción química de los polímeros con la Urea, previamente se liofilizaron 10 ml de muestra durante 6 horas a 40 °C en el equipo Vickers USA. Posteriormente, se analizó la interacción entre los polímeros y la urea por FTIR espectroscopia infrarroja (Sotelo-Boyas y col, 2015), en un intervalo de operación de 4000-400 cm⁻¹(Spectrum One de Perkin Elmer, USA).

El estudio de la estructura de los polímeros y nanocápsulas fue determinado a través de los patrones de difracción de Rayos X. Los patrones de Difracción de Rayos X (Difratómetro de rayos X de amplio ángulo D8 Advance Brucker Alemania) se obtuvieron empleando una radiación de Cu K α ($\alpha = 1.5418\text{\AA}$) con una diferencia de potencial de 40 kV y una densidad de corriente de 30 mA. Las muestras se midieron entre 4 y 40 grados (2θ) con un paso angular de 0.02° y un tiempo de conteo por paso angular de 2 segundos. El material fue colocado en una platina de aluminio de área 900 mm² (dimensiones 30x30 mm).

Se calculó el índice de cristalinidad según el método de la intensidad de los picos propuesta por Llorente & Horta (1991). El método consiste en medir la máxima intensidad de los picos de difracción de la fase cristalina (I_{110}) y la máxima intensidad de los picos en la fase amorfa (I_{am}) de acuerdo a la ecuación 1:

$$IC = \frac{I_{110} - I_{am}}{I_{110}} \times 100 \quad (1)$$

Tamaño de las nanocápsulas y morfología. La morfología y tamaño de las nanocápsulas se determinó en un Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) Marca: JEOL-JEM Modelo: 1010, Japón (100KV).

El tamaño hidrodinámico de las nanocápsulas en solución fue medido en el Zetasizer Nanoseries ZS90 (Malvern Instruments, Worcestershire, UK). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado (Sotelo-Boyas y col, 2015).

2.3.3 Cultivo hidropónico de la lechuga con el sistema de película nutritiva (NFT)

El estudio se realizó en el Centro de Investigación de Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional (CICATA-IPN) localizado en México D.F. La altitud promedio es de 2240 msnm a la temperatura de 16 °C y una precipitación pluvial promedio anual de 700-800 mm (INEGI 2013) y una humedad relativa promedio anual de 67%. Las semillas se germinaron en cajas de Petri con papel filtro y agua destilada, después se trasplantaron en

vasos de polietileno que contenían 25g de vermiculita como sustrato. Cuando creció la quinta hoja verdadera de las plántulas se colocaron en canales de tubos de PVC del sistema hidropónico por la técnica de película nutritiva. Se utilizaron 2 cultivos: el control (C1) y el experimental (C2), con 20 plantas de lechugas cada uno. Se prepararon las soluciones nutritivas formuladas por Rodriguez-Delfín, (2001) sustituyendo los compuestos que contienen nitrógeno (Nitrato de Amonio y Nitrato de Potasio) por Urea (tabla 1) y el Potasio por Fosfato de Potasio monobásico. Obteniendo 3 soluciones nutritivas: solución 1 (S1) sólo con Urea, solución 2 (S2) de macronutrientes con 36 g/L de superfosfato triple y 90 g/L de Fosfato de Potasio monobásico y la solución 3 (S3) de micronutrientes con 5 g/L de Sulfato de Manganeso, 3 g/L Ácido Bórico, 1.7 g/L Sulfato de Zinc, 1 g/L Sulfato de Cobre, 0.2 g/L Molibdato de Amonio, 1 g/L Sulfato de Hierro y 220 g/L Sulfato de Magnesio. Los conductos se colocaron con una pendiente de 5° (Gunes y col., 1998), la solución nutritiva de los cultivos fue recirculado mediante un sistema de bombeo conectado a un recipiente colector de 25 L. En el cultivo control se adicionaron 100 mL de S1 al agua del recipiente colector cada tercer día. En el cultivo experimental se adicionaron 100 ml de la solución de nanocápsulas que contiene urea, cada tercer día. La solución S2 se adicionó cada tercer día 125 mL y la solución S3 50 mL una vez por semana en los dos cultivos respectivamente. Las condiciones en los cultivos NFT fueron: pH promedio del cultivo control 6.7 ± 0.7 , experimental 6.0 ± 0.8 . La conductividad en el cultivo control fue de $957.7 \pm 0.3 \mu\text{S}/\text{m}^2$ y del experimental de $1184.57 \pm 0.5 \mu\text{S}/\text{m}^2$, la temperatura para los dos cultivos fue de $21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, todas las condiciones se midieron con un conductímetro (marca HANNA HI 99301 Italy). Las lechugas se cosecharon 30 días después de su trasplante en el sistema hidropónico. En las lechugas se evaluó, altura de la planta, cantidad de hojas, peso total, peso del follaje, peso de la raíz y cantidad de nitrógeno en base seca del follaje. Para cada una de las características físicas anteriores se emplearon 8 plantas de cada cultivo. El porcentaje de nitrógeno se cuantificó, usando el método Kjeldahl 991.2 de AOAC (2005).

2.4 Análisis estadístico

Para la síntesis de nanocápsulas, se utilizó un diseño central compuesto (DCC) con tres factores ($k=3$) y cinco niveles de variación, 8 corridas factoriales ($2k$),

Tabla 1. Contenido de fertilizantes en la formulación

Fertilizantes	Cantidad (g/L)	Nitrógeno (%)	Nitrógeno (g/L)
FORMULACION ORIGINAL			
Nitrato de Potasio	110	14	15.4
Nitrato de Amonio	70	35	24.5
Nitrógeno total			39.9
MODIFICADA FORMULACION			
Urea (Cultivo Control)	86.69	46%	39.9
Urea (Cultivo Experimental)	13.33	46%	9.2

6 corridas axiales (2k) y 6 repeticiones en el punto central, con un total de 20 corridas experimentales (Villagómez-Zavala y col., 2008, Cerón-Montes y col., 2015). Los datos se analizaron con el Software Design Expert versión 7.1.6. 2008 (Stat-Ease Corporation Minneapolis MN).

Los resultados estadísticos de la evaluación de las lechugas fueron realizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) a una $P < 0.05$. La comparación de medias se realizó por la prueba de Tukey a través del software Origin versión 8.1.

3 Resultados y discusión

3.1 Morfología y tamaño de partícula por microscopía electrónica de transmisión

En la Fig. 1a se muestran las micrografías de las nanocápsulas de quitosano y ácido metacrílico sin urea, con un tamaño promedio de 75 nm. La morfología que se presenta es esférica y homogénea, con una distribución unimodal. En la Fig. 1b se presenta las nanocápsulas que contienen urea, el tamaño promedio incrementa a 100 nm, teniendo una morfología similar a las nanocápsulas sin urea. La distribución unimodal, es menos dispersa, probablemente esta diferencia se debe a la absorción del compuesto activo (urea), los resultados son similares a los obtenidos por de Moura y col., (2008).

3.2 Análisis de espectrofotometría infrarrojo

La Fig. 2a muestra las bandas características del quitosano a 3351 y 3291 cm^{-1} que corresponden a la tensión simétrica del OH^- y NH_2^- , respectivamente.

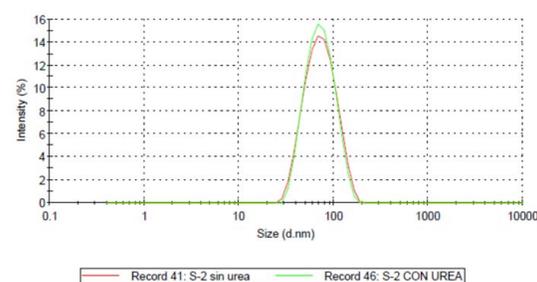
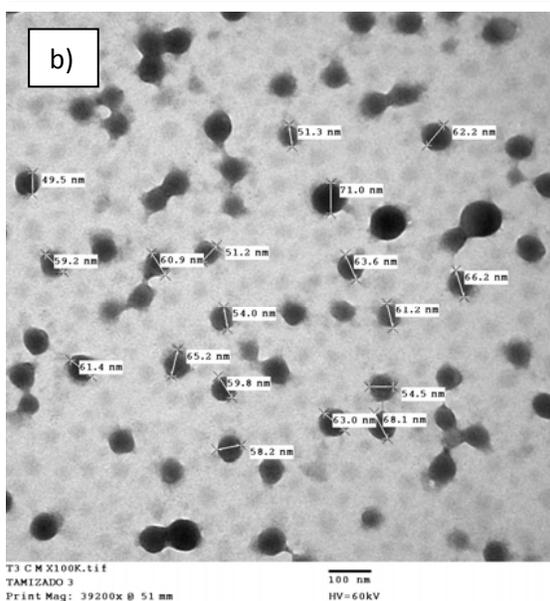
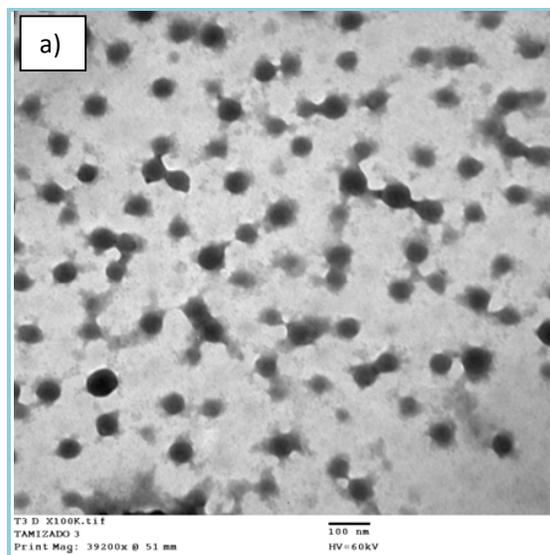


Fig. 1a. Micrografías de microscopía electrónica de transmisión (a) Nanocápsulas de quitosano y ácido polimetacrílico sin urea, resolución de 10,000X, (b) Nanocápsulas de quitosano y ácido polimetacrílico con urea, la resolución 12,000X. (c) Distribución de tamaño de nanocápsulas para S-2 con urea y sin urea.

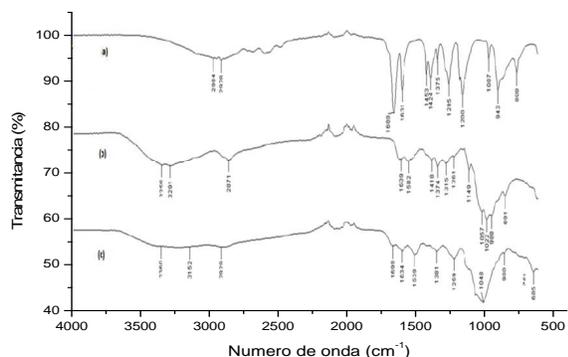


Fig. 2. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) de (a) quitosano (b) ácido polimetacrílico (c) nanocápsulas sin urea

Las bandas a 1639 y 1582 cm^{-1} corresponden a la vibración de enlace del grupo NH_2 (Pawlak and Mucha, 2003), y las 1418 y 1374 cm^{-1} representan las bandas de tensión de C-C de la molécula glucosa de quitosano (Rivero y col., 2010). El número de onda a 1149 cm^{-1} representa la unión C-O-C del anillo glucosídico (Zou y col., 2015). La tensión entre el C-O se encuentra a 1075 y 1040 cm^{-1} . El espectro de FTIR del ácido metacrílico (Fig. 2b) tiene dos bandas anchas a 2984 y 2928 cm^{-1} representando al -OH y a 1688 cm^{-1} la tensión del enlace C=O (Tajiri y col., 2009), el pico de 1631 cm^{-1} corresponde al doble enlace del monómero C=C (García y col., 2004). El espectro de FTIR donde interaccionan los dos polímeros (Fig. 2c) presenta un espectro atenuado por la interacción de los grupos funcionales de ambos polímeros, y un nuevo pico aparece a 1539 cm^{-1} pudiendo representar la interacción electrostática intermolecular entre el grupo NH_3^+ del quitosano y el grupo COO^- del ácido polimetacrílico. En la Investigación realizada por Milosavljević y col., (2010) se observa un pico similar entre el quitosano ácido metacrílico y ácido itaconico a 1539 cm^{-1} . Sarmiento y col., (2006) también obtienen resultados similares con la mezcla entre el quitosano y alginato de sodio. Las bandas de vibración a 3351 y 2871 cm^{-1} tienen un desplazamiento hacia mayores números de onda, probablemente por la interacción entre el ácido polimetacrílico, y el grupo amino del quitosano.

En la Fig. 3a, referente a la urea, se tienen 2 picos característicos correspondientes a la tensión simétrica y asimétrica de vibración del NH_2 en el pico 3447 y 3343 cm^{-1} (Xiaoyu y col., 2013). La banda a 1678 cm^{-1} representa la tensión del grupo funcional -C=O y a 1625 cm^{-1} -N-H y la banda 1468 cm^{-1} corresponde a la vibración de enlace C-N de la urea (Castro-Enríquez y col., 2012).

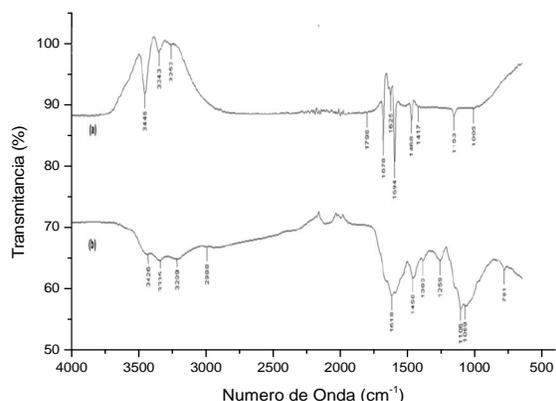


Fig. 3. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) de (a) urea en polvo (b) nanocápsulas con urea de quitosano y ácido polimetacrílico.

En la Fig. 3b, se tiene el espectro de las nanocápsulas que contienen la urea, donde la intensidad de la vibración de los grupos funcionales de la urea se atenúan por la interacción con el ácido polimetacrílico y quitosano prevaleciendo un pico a 1618 cm^{-1} que posiblemente representan la interacción iónica entre los grupos carboxilo y amino con la urea y al desplazamiento a menores valores de número de onda para -N-H (1458 cm^{-1}) resultados similares obtiene Corradini y col (2010). Las vibraciones de enlace del grupo NH_2 (3447 y 3343 cm^{-1}) de la urea se atenúan o disminuye su vibración por la interacción iónica con el ácido polimetacrílico durante la síntesis de las nanocápsulas.

3.3 Difracción de rayos X

En la Fig. 4, se observan los patrones de difracción de rayos X de quitosano, (Fig. 4a) nanocápsulas de quitosano y ácido polimetacrílico sin urea (Fig. 4b), y nanocápsulas de quitosano y ácido polimetacrílico con urea (Fig. 4c), donde se observa que el quitosano presenta un pequeño pico a 10° y otro más pronunciado a 21° con un hombro a 22.5° indicando una estructura más ordenada en las regiones donde se tiene los picos de difracción. Cuando reacciona el ácido polimetacrílico con el quitosano en la formación de las nanocápsulas solo se tiene un pico ensanchado a 17.5°, por lo que la interacción entre los polímeros modifica la estructura química del quitosano a una más amorfa. Cuando se incorpora urea dentro de las nanocápsulas se tienen dos picos muy cercanos uno a 16.5° y otro a 18°, pero al igual que las nanocápsulas sin carga de urea la estructura es amorfa.

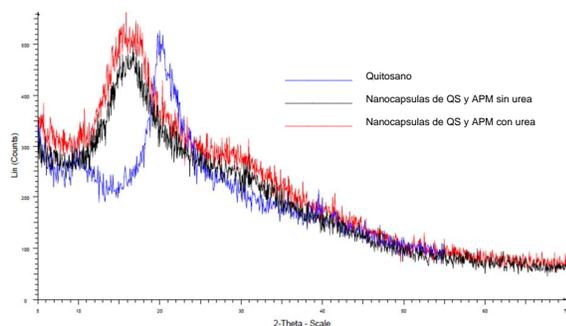


Fig. 4. Patrones de difracción de rayos X: a) Qitosano, b) Nanocápsulas sin urea de quitosano y ácido polimetacrílico, c) Nanocápsulas con urea de quitosano y ácido polimetacrílico.

Tabla 2. Tamaño de las nanocápsulas determinado para S-1 por TEM y S-2 por Nanozetazizer.

Tamaño de nanocapsulas	Nanocapsulas sin Urea (nm)	Nanocapsulas con Urea (nm)
S-1	114.1 ± 7.9	67.91 ± 0.1
S-2	65.15 ± 2.62	65.62 ± 0.23

Por lo que se puede indicar que las interacciones iónicas modifican la estructura químicas del quitosano dando como resultado una estructura amorfa.

3.4 Tamaño hidrodinámico de las nanocápsulas

El análisis de los resultados obtenidos por el diseño experimental de superficie de respuesta, permitió determinar la influencia de cada factor principal así como sus interacciones, sobre el tamaño hidrodinámico (nm). El análisis de varianza (ANOVA) mostró que la concentración de PMMA y de QS influyó significativamente en la síntesis de nanopartículas ($p \leq 0.05$). A partir de este análisis se determinaron los coeficientes de regresión para cada factor y la ecuación 2, que describe el modelo, tiene un buen ajuste a los datos experimentales ($P < 0.01$ y $R^2 = 0.82$).

$$\begin{aligned} \text{Tamaño hidrodinámico} = & 3965.577 + 8427.575A \\ & - 192.903B - 128.719C + 75.999AB - 116.921AC \\ & + 2.683BC - 7067.486A^2 + 1.039C^2 + 99.03A^2C \end{aligned} \quad (2)$$

Donde A=Concentración de quitosano (%), B=Concentración de ácido metacrílico (%) y C= Temperatura (°C).

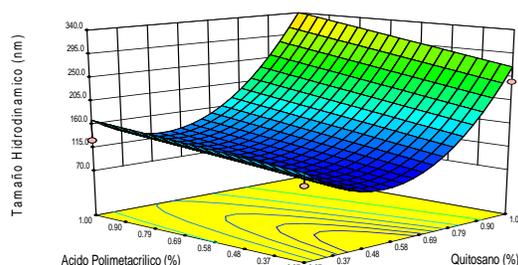
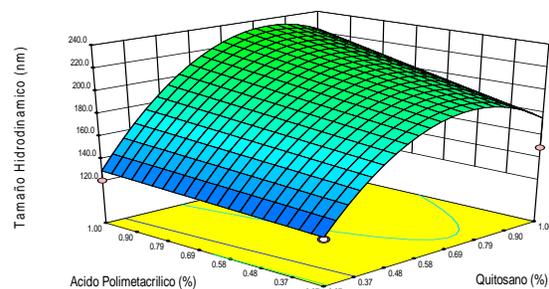


Fig. 5. Efecto de la concentración de quitosano y ácido metacrílico a temperaturas: a) 68 °C y b) a 80 °C, sobre el tamaño hidrodinámico de las nanocápsulas.

El modelo polinomial propuesto al tener una probabilidad menor al 1% y un Coeficiente de determinación de $R^2 = 0.82$, indica que los datos experimentales se ajustan muy bien al modelo matemático por lo que se puede utilizar con confianza para realizar una grafica de superficie de respuesta.

La Fig. 5a muestra el efecto de la concentración de QS y APM a una temperatura constante de 68°C y se observa que la concentración de quitosano tiene un mayor efecto sobre el tamaño hidrodinámico de las nanocápsulas comparado con la concentración de ácido polimetacrílico. A baja concentración de QS, e independiente de la concentración de ácido polimetacrílico, se obtiene el menor tamaño hidrodinámico de nanocápsulas (cerca de 120nm), probablemente se debe a que el ácido polimetacrílico contribuye a la formación de las nanocápsulas, por las interacciones iónicas entre los polímeros sin incrementar el tamaño de las mismas. Aunque se tiene un aumento del peso molecular que cada polímero aporta en la formación de las nanocápsulas (Dash y col., 2011; Hu y col 2008). En la Fig. 5b, se muestra que al incrementar la temperatura de la síntesis (80°C) y disminuir la concentración de QS manteniendo la concentración de ácido polimetacrílico el tamaño

de las partículas disminuye aproximadamente a 70 nm. El tamaño también puede depender del tipo de síntesis aplicada en las nanocápsulas. Biró y col., (2009) obtuvo nanocápsulas más pequeñas a mayores concentraciones de quitosano. El contenido de ácido polimetacrílico en las nanocápsulas de quitosano aumenta su resistencia a la degradación química o biológica y ayuda a controlar la liberación de principios activos desde la matriz formada, proporcionado hinchamiento con el agua (Ma y col., 2013) y por lo tanto, liberación de urea de las nanocápsulas por la hidratación con el agua. De acuerdo con los resultados obtenidos del diseño de superficie de respuesta se ha obtenido la síntesis de las nanocápsulas en un tiempo de a 15 min y a una concentración de APM de 0.27%, valores menores a los reportados por de Moura y col., (2008) de 60 min y 0.5% de APM.

3.5 Evaluación de las lechugas

En la tabla 3, se muestran los resultados estadísticos de los 2 cultivos de lechuga (Fig. 6). Debemos destacar que la concentración de urea colocada intencionalmente en el cultivo experimental (C2) a través de las nanocápsulas fue 84% menor que el control, con el objeto de observar su efecto en el crecimiento de la lechuga. En la altura de la roseta no se encontraron diferencias significativas entre los dos cultivos (C1= 13.50 cm, C2= 13.66 cm). Sin embargo se tienen diferencias en el peso total promedio del cultivo control C1 (85.14 g/pieza) y el experimental C2 de 52.78 g/pieza; el peso de la roseta del cultivo control fue de 73.04 g y el experimental 26.54 g, el peso de raíz del cultivo control 12.10 g y el experimental 26.24 g o bien 53% más que el control. Se contaron 16 hojas promedio en el cultivo control y en el experimental 13 hojas.

El cultivo control presentó un contenido de nitrógeno de 6.8% mg N/ pieza y el experimental 5.82% mg N/ pieza. Los resultados del desarrollo de componentes de la lechuga son alentadores debido a que con una concentración inferior de urea en las nanocápsulas 5.25 veces menor que las del control, se tiene un crecimiento similar de los constituyentes de la lechuga y la concentración de nitrógeno en las hojas no se observa una diferencia significativa, esto se debe probablemente por el efecto de la distribución, absorción y liberación de la urea de las nanocápsulas, durante el crecimiento de las lechugas en el cultivo hidropónico.

Tabla 3. Características físicas de los cultivos de lechuga y contenido de nitrógeno

Cultivo	Peso Total (g)	Peso de la Raíz (g)	Longitud de la Raíz (cm)	Total de hojas	Nitrógeno (%)
Control	85.14±19.53 ^a	12.10±3.88 ^a	13.50±1.00 ^a	16.60±1.67 ^a	6.80±1.04 ^a
Experimental	52.78±11.67 ^b	26.24±2.57 ^b	13.66±1.05 ^a	13.00±1.73 ^b	5.82±1.22 ^b

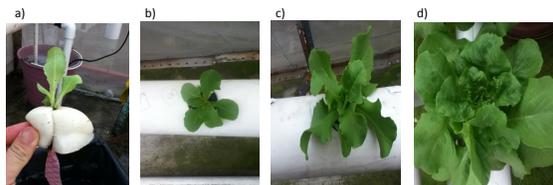


Fig. 6. (a) Plántula de lechuga antes del trasplante, (b) Plántula de lechuga nutrida con NPS-Urea después de trasplantada, (c) Lechuga nutridas con NPS-Urea, (d) Lechuga nutrida con NPS-Urea.

Conclusión

El tamaño hidrodinámico de las nanocápsulas disminuyó al incrementarse la concentración de quitosano, no teniendo mayor efecto la variación de la concentración de ácido polimetacrílico. También se disminuyó el tamaño de las nanocápsulas para una temperatura de 80°C. Las nanocápsulas presentaron una forma esférica y distribución homogénea de tamaño con y sin urea. Sin embargo, las características físicas del cultivo de lechuga nutrido con nanocápsulas de urea presentaron en general un menor crecimiento comparadas con el cultivo control. Debido a que la concentración de urea que se añadió en las nanocápsulas fue de 16%, contenido menor que el control. Indicando que cuando la concentración de urea en las nanocápsulas sea similar a la del control se podrá superar las características físicas en los componentes de la lechuga.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CONACYT por la beca otorgada, también a la SIP y COFAA del IPN por los apoyos de la beca BEIFI y asistencia a congresos.

Referencias

AOAC 991.29. True Protein Digestibility of Foods and Food Ingredients. Kjeldahl method, (2005).

Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists.

- Biró, E., Németh, A. S., Feczko, T., Tóth, J., Sisak, C., and Gyenis, J. (2009). Three-step experimental design to determine the effect of process parameters on the size of chitosan microspheres. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48, 771-779.
- Castro-Enríquez, D., Rodríguez-Félix, F., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P., Castillo-Ortega, M., Rodríguez-Félix, D., Armenta-Villegas, L., and Ledesma-Osuna, A. (2012). Preparation, Characterization and Release of Urea from Wheat Gluten Electrospun Membranes. *Materials* 5, 2903.
- Cerón-Montes G. I., San Martín-Martínez E., Yañez-Fernández J., Quezada-Cruz M. y Castro-Muñoz R. (2015). Purificación preliminar de antocianinas de maíz azul por adsorción y electroforesis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 99-108.
- Corradini E., Moura M. R. de, Matosso L. H.C. (2010). A preliminary study of the incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. *Express Polymer Letters* 4, 509-515.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., and Chiellini, E. (2011). Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 36, 981-1014.
- de Moura, M. R., Aouada, F. A., and Mattoso, L. H. C. (2008). Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. *Journal of Colloid and Interface Science* 321, 477-483.
- Dos Santos M. S., Sgarbi D. C., Grillo R., Ferreira Silva N. M., Tonello S. P., Camargo L. O., Lopes D. C., Henrique A. R., Fernandes L. F. (2011). Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. *Journal of Hazardous Materials* 190, 366-374.
- Dzung, N. A., Khanh, V. T. P., and Dzung, T. T. (2011). Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers* 84, 751-755.
- García, D. M., Escobar, J. L., Bada, N., Casquero, J., Hernández, E., and Katime, I. (2004). Synthesis and characterization of poly(methacrylic acid) hydrogels for metoclopramide delivery. *European Polymer Journal* 40, 1637-1643.
- Ghormade, V., Deshpande, M. V., and Paknikar, K. M. (2011). Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances* 29, 792-803.
- Gogos, A., Knauer, K., and Bucheli, T. D. (2012). Nanomaterials in Plant Protection and Fertilization: Current State, Foreseen Applications, and Research Priorities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 9781-9792.
- Gunes, A., Alpaslan, M., and Inal, A. (1998). Critical nutrient concentrations and antagonistic and synergistic relationships among the nutrients of NFT-grown young tomato plants. *Journal of Plant Nutrition* 21, 2035-2047.
- Hu Bing, Pan Chenliang, Sun Yi, Hou Zhiyun, Ye Hong, Bing Zeng Hu, Xiaoxiong. (2008). Optimization of fabrication parameters to produce chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for delivery of tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 7451-7458.
- Jin, S., Yue, G., Feng, L., Han, Y., Yu, X., and Zhang, Z. (2011). Preparation and properties of a coated slow-release and water-retention biuret phosphoramidate fertilizer with superabsorbent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 322-327.
- Kananont, N., Pichyangkura, R., Chanprame, S., Chadchawan, S., and Limpanavech, P. (2010). Chitosan specificity for the in vitro seed germination of two Dendrobium orchids (*Asparagales: Orchidaceae*). *Scientia Horticulturae* 124, 239-247.
- Kashyap, P. L., Xiang, X., and Heiden, P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules* 77, 36-51.
- Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A.,

- and Bangyeekhun, T. (2008). Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. *Scientia Horticulturae* 116, 65-72.
- Liu, R., and Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of The Total Environment* 514, 131-139.
- Llorente Uceta M. A. y Horta Zubiaga A. (1991). *Técnicas de Caracterización de Polímeros*. UNED, Madrid.
- Ma, Z.-y., Jia, X., Zhang, G.-x., Hu, J.-m., Zhang, X.-l., Liu, Z.-y., Wang, H.-y., and Zhou, F. (2013). pH-responsive controlled-release fertilizer with water retention via atom transfer radical polymerization of acrylic acid on mussel-inspired initiator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 5474-5482.
- Milosavljević, N. B., Ristić, M. D., Perić-Grujić, A. A., Filipović, J. M., Štrbac, S. B., Rakočević, Z. L., and Kalagasidis Krušić, M. T. (2010). Hydrogel based on chitosan, itaconic acid and methacrylic acid as adsorbent of Cd²⁺ ions from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal* 165, 554-562.
- Nge, K. L., Nwe, N., Chandkrachang, S., and Stevens, W. F. (2006). Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science* 170, 1185-1190.
- Pawlak, A., and Mucha, M. (2003). Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. *Thermochimica Acta* 396, 153-166.
- Rivero, S., García, M. A., and Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers* 82, 270-276.
- Rodriguez-Delfín A., H. M., Chang M. (2001). *Soluciones Nutritivas en Hidroponia: Formulación y preparación*, CIHNM, UNALM, Lima Perú.
- Sarmento, B., Ferreira, D., Veiga, F., and Ribeiro, A. (2006). Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydrate Polymers* 66, 1-7.
- Sotelo-Boyas M.E., Valverde-Aguilar G., Plascencia-Jatomea M., Correa-Pacheco Z.N., Jimenez-Aparicio A., Solorza-Feria J., Barrera-Necha L., Bautista-Banos S. (2015). Characterization of chitosan nanoparticles added with essential oils. *In vitro* effect on *Pectobacterium carotovorum*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 589-599
- Tajiri, T., Morita, S., and Ozaki, Y. (2009). Hydration mechanism on a poly(methacrylic acid) film studied by in situ attenuated total reflection infrared spectroscopy. *Polymer* 50, 5765-5770.
- Villagómez-Zavala, D.L., Gómez-Corona, C., San Martín Martínez, E., Peres-Orosco, J.P., Vernon-Carter, E.J. and Pedroza-Islas, R. (2008). Comparative study of the mechanical properties of edible films made from single and blended hydrophilic biopolymer matrices. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7, 263-273.
- Xiaoyu, N., Yuejin, W., Zhengyan, W., Lin, W., Guannan, Q., and Lixiang, Y. (2013). A novel slow-release urea fertilizer: Physical and chemical analysis of its structure and study of its release mechanism. *Biosystems Engineering* 115, 274-282.
- Xie, L., Lü, S., Liu, M., Gao, C., Wang, X., and Wu, L. (2013). Recovery of ammonium onto wheat straw to be reused as a slow-release fertilizer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 3382-3388.
- Zhou, L., Cai, D., He, L., Zhong, N., Yu, M., Zhang, X., and Wu, Z. (2015). Fabrication of a High-Performance Fertilizer to Control the Loss of Water and Nutrient Using Micro/Nano Networks. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 3, 645-653.
- Zou, X., Zhao, X., Ye, L., Wang, Q., and Li, H. (2015). Preparation and drug release behavior of pH-responsive bovine serum albumin-loaded chitosan microspheres. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 21, 1389-1397.