



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo

Síntesis y caracterización de nanocompositos de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) y nanopartículas de plata bio-reducidas con extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

Autor: Sangotuña Gonzalez, Danilo Javier

Director: Msc. Izquierdo Romero, Andrés Ricardo Ph.D.



Contenido



INTRODUCCIÓN



OBJETIVOS



HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



AGRADECIMIENTOS



Lamiáceas



Rosmarinus officinalis L.

Propiedades

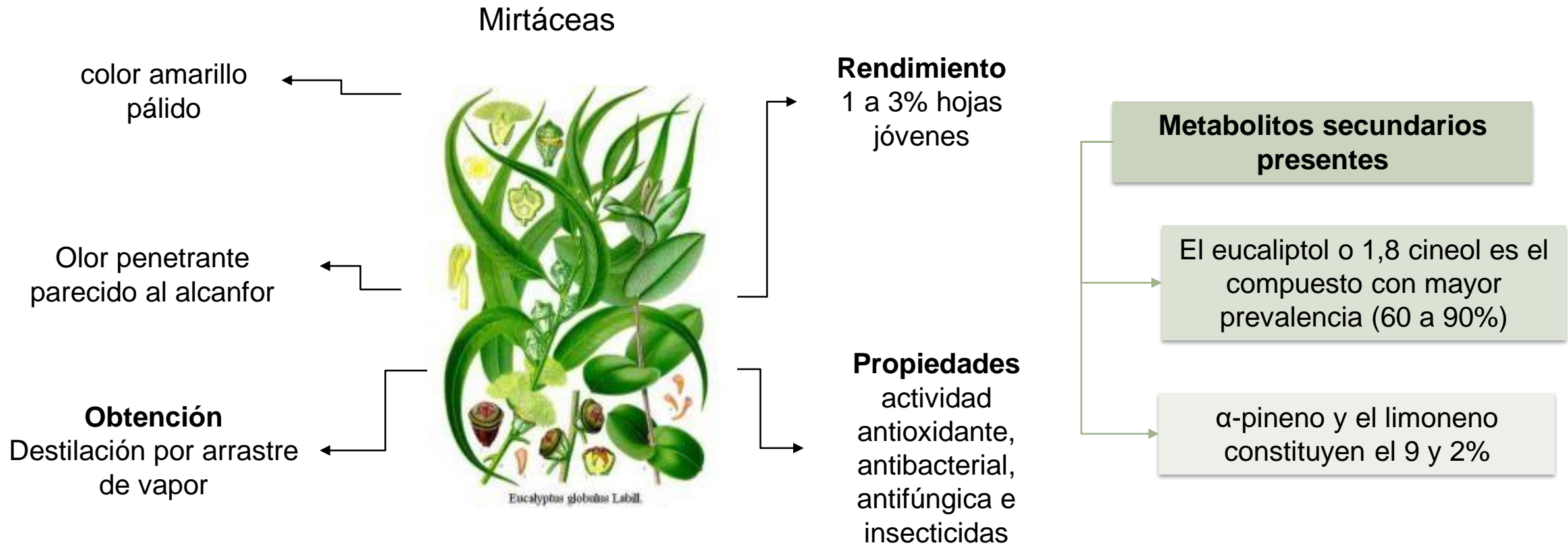
Antioxidante natural

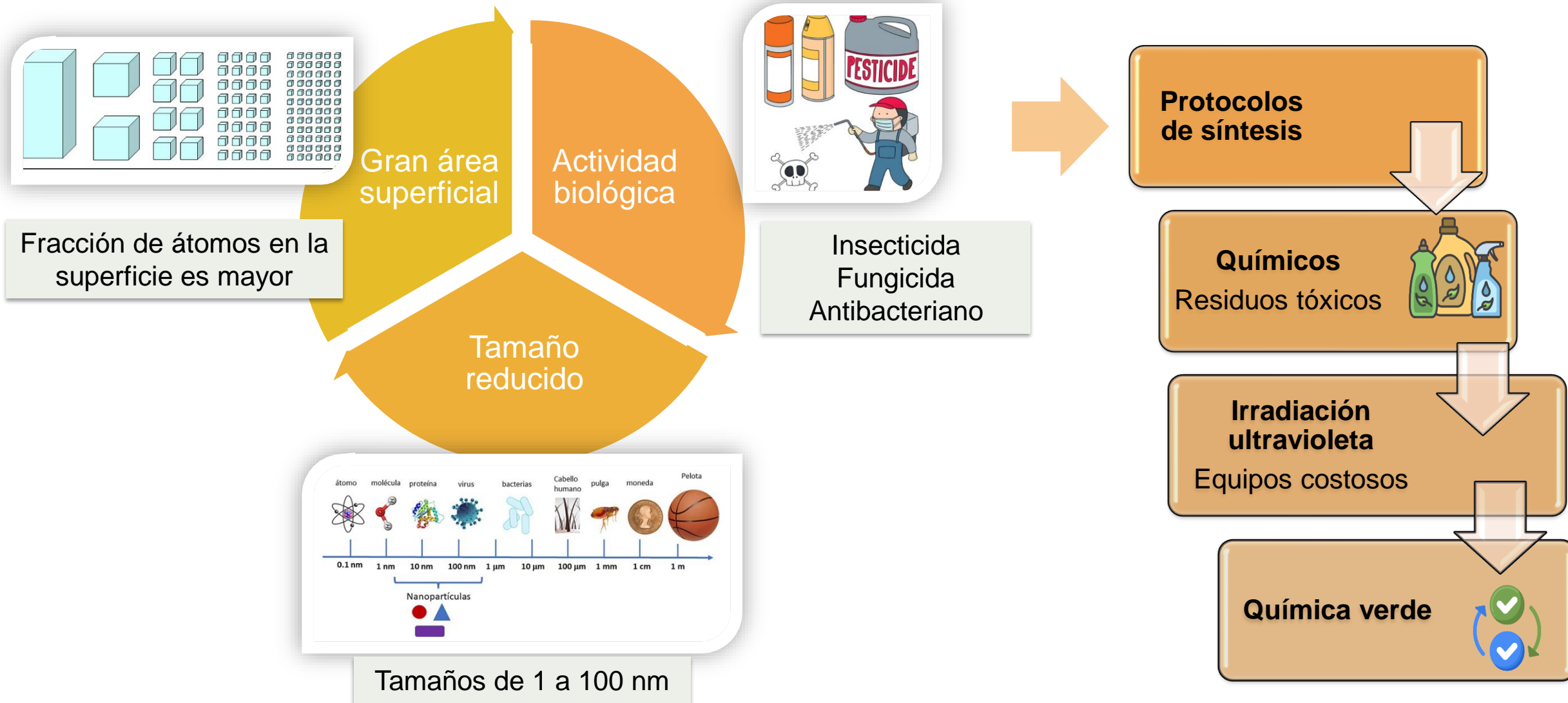
Poder reductor

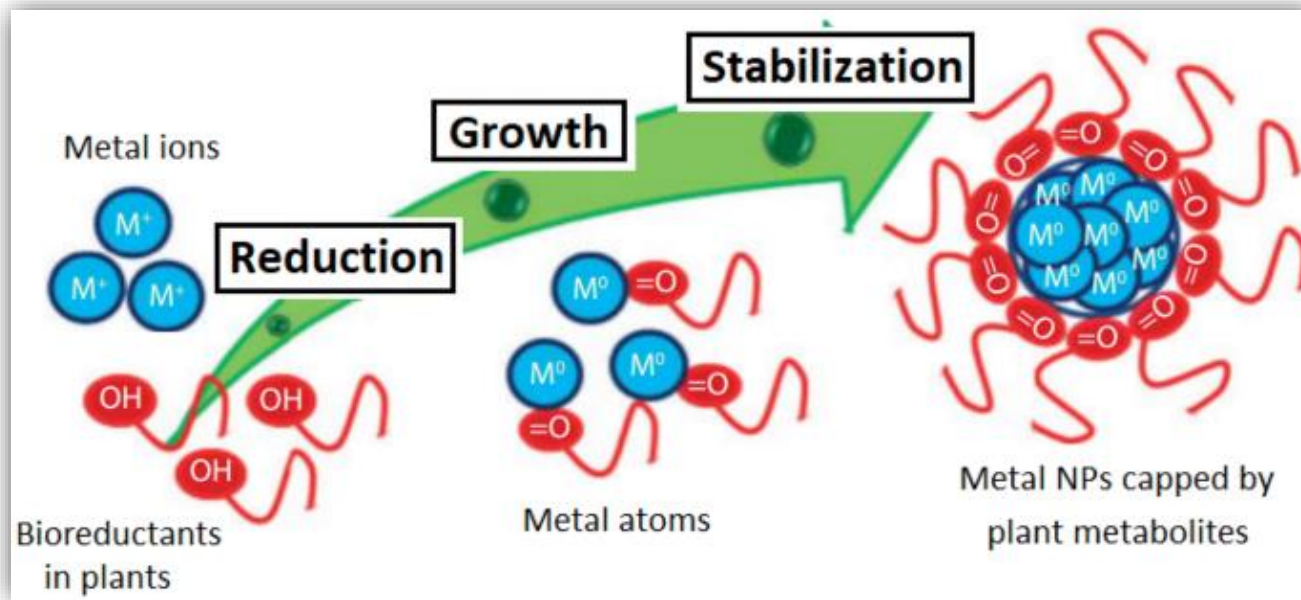
Propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antimicrobianas

Principales compuestos

- Ácido carnósico
- Ácido rosmarínico
- Epirosmanol
- Rosmanol
- Metilcarnosato
- Isorosmanol







Separación de los iones metálicos de sus precursores salinos

Formación de las nanopartículas metálicas

Adoptan su morfología más favorable y constante

No se producen desechos tóxicos

Tamaños entre 10 y 35 nm

Forma esférica

El agente reductor es el extracto de romero

Material de matriz

Material de refuerzo

Ventajas

Desventajas

Conservar características de sus rellenos

Al menos una de sus fases está en escala nano

Se caracterizan por:

Formar aglomerados

Tamaños entre 20 a 300 nm

Compuesto de varias fases

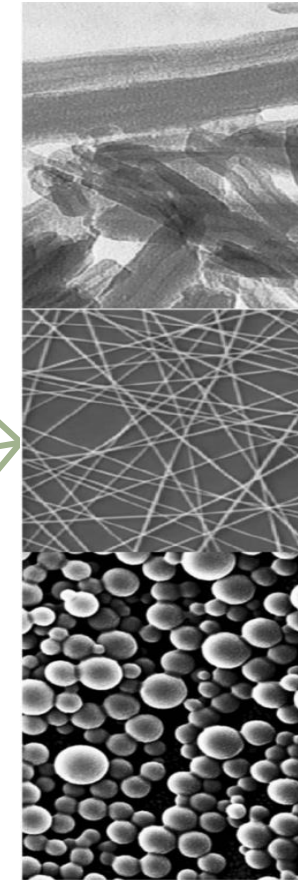
Propiedades combinadas

Relación superficie/volumen

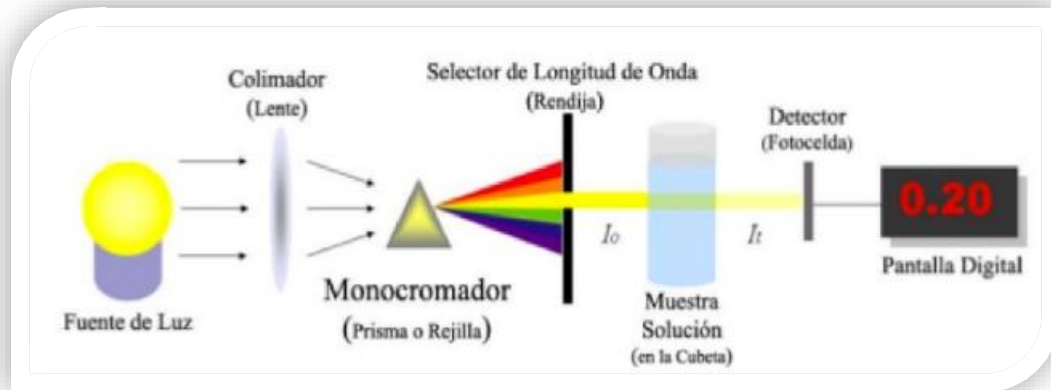
Comprensión insuficiente

Estabilidad reducida

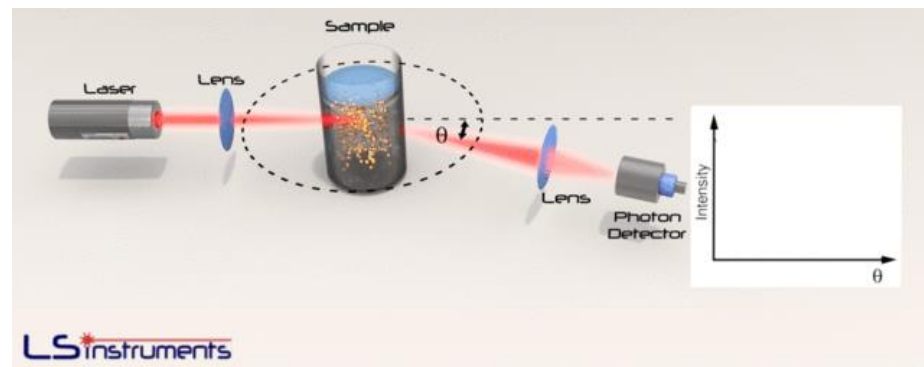
Rentabilidad



Espectroscopía UV-VIS



Dispersión de luz dinámica DLS



Microscopía electrónica de transmisión



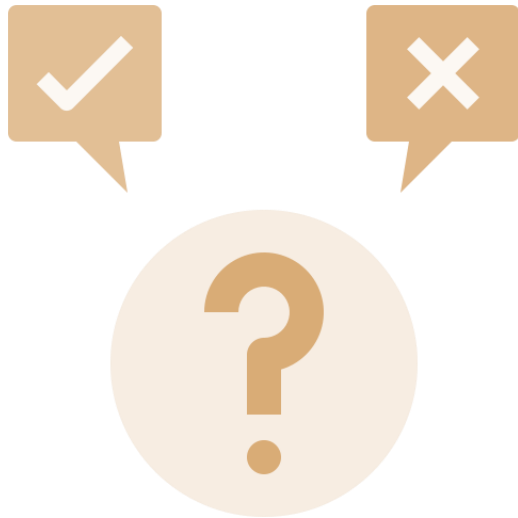
Objetivo General

Sintetizar y caracterizar nanocompositos de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) y nanopartículas de plata bio-reducidas con extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

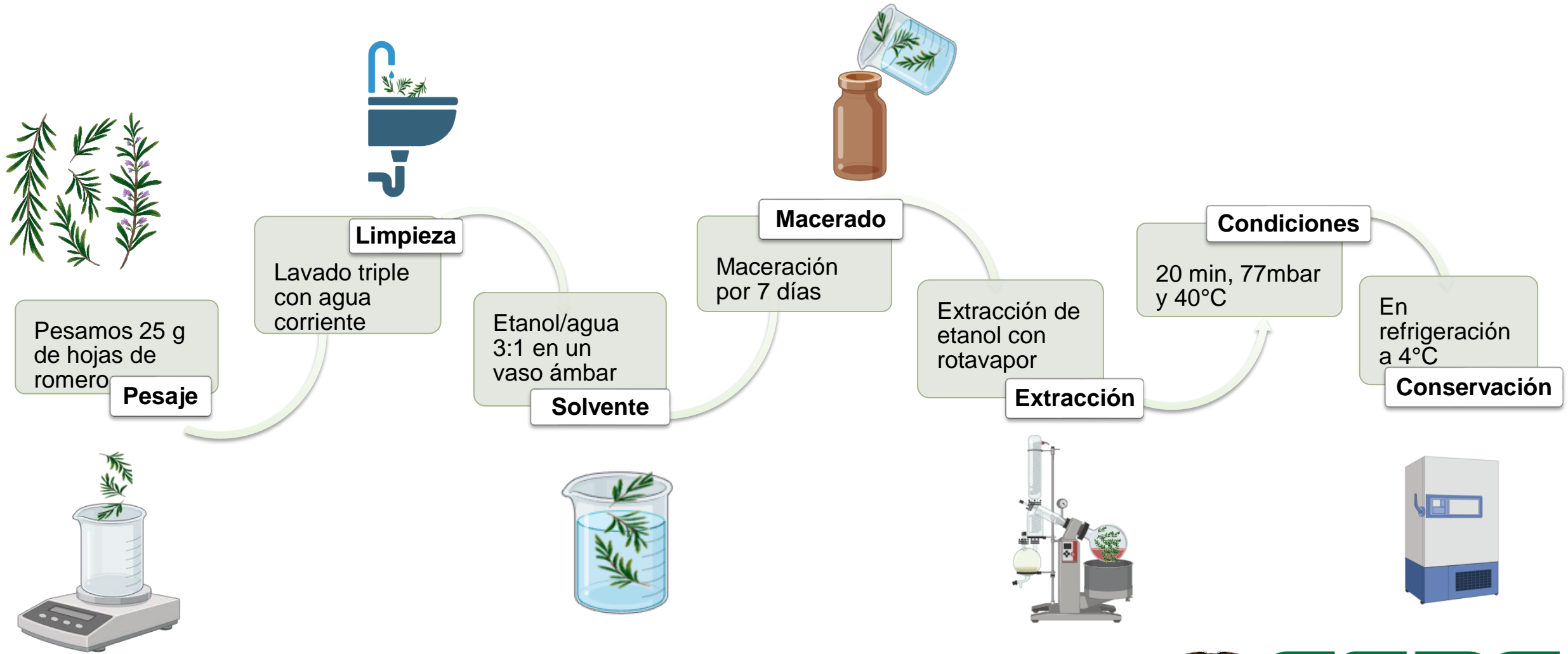
Objetivos específicos

- Obtener extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) mediante los métodos de maceración y por arrastre de vapor respectivamente.
- Sintetizar nanopartículas de plata utilizando extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) obtenido por maceración para su posterior caracterización.
- Caracterizar nanopartículas de plata mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS) para determinar el tamaño y distribución de partícula.
- Sintetizar nanocompositos utilizando las nanopartículas de plata y aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) mediante precipitación para su posterior caracterización.
- Caracterizar nanocompositos de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) y nanopartículas de plata mediante Dispersión de luz dinámica (DLS) y espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS) para verificar el tamaño y la distribución del nanocomposito.





La concentración de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como agente reductor de las nanopartículas de plata y, la concentración de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) influyen en el tamaño de partícula de los nanocompositos.



Destilación por arrastre de vapor



Pesaje

Pesamos
200 g de
hojas de
eucalipto



Lavado

Lavado
triple con
agua
corriente



Montaje del equipo

Alambique
de vidrio



Destilación

3 horas

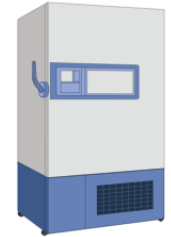
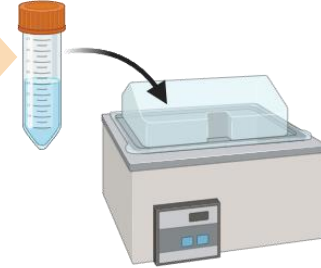


Conservación

Tubos ámbar de
5 ml



Preparación de soluciones



Nitrato de plata 0.01 M
Hidróxido de sodio 0.1 M



Extracto de romero
25% M1
100% M2



Nitrato de plata
5 ml



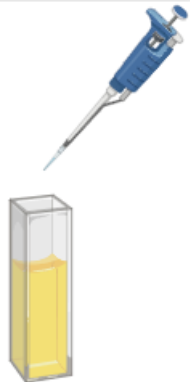
Hidróxido de sodio
Ajustar el pH a 10.5



Incubación
3 horas, 40°C



Conservación
En tubos protegidos de la luz a 4°C



Estabilizante
1 ml Citrato de sodio 1%



A.E. eucalipto (µl/ml)
1.5: NC1
3: NC2

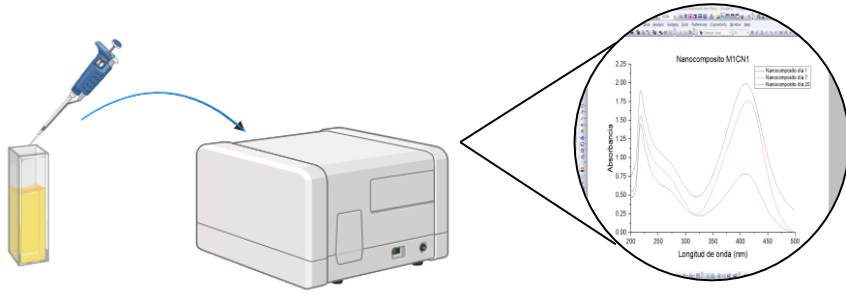


AgNPs
100 µl en 2 ml de agua tipo 1



Síntesis Nanocompositos

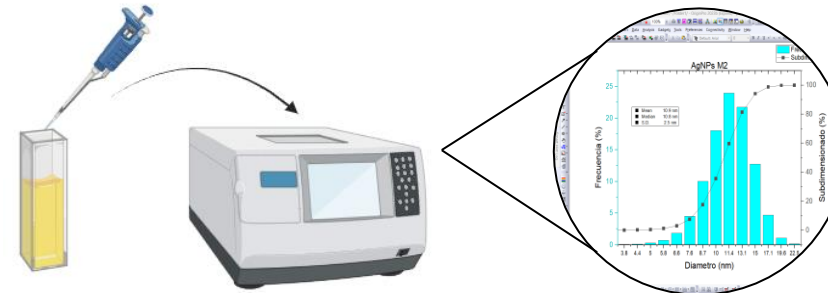
Espectroscopía UV-VIS



Las lecturas se realizaron a una dilución de 1:350 AgNPs/agua

Equipo Genesys 10 scanning y software OriginPRO

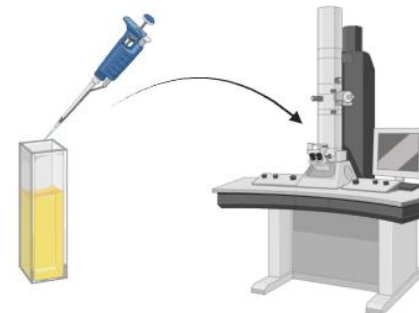
Dispersión de luz dinámica DLS



Las lecturas son directas

Equipo HORIBA DLS 550 y software OriginPRO

Microscopía electrónica de transmisión TEM



Laboratorio de microscopía y software FIJI, imageJ

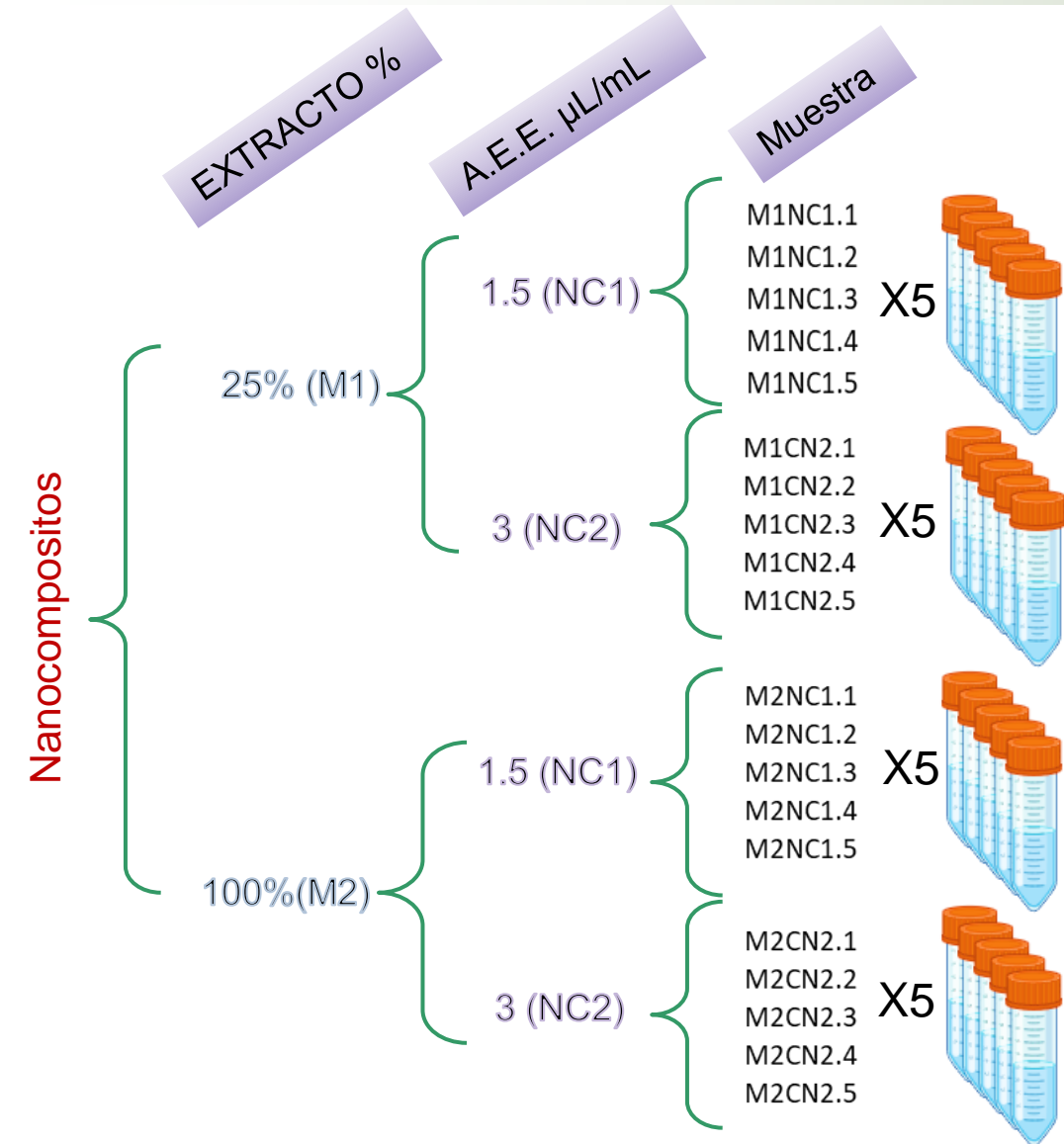
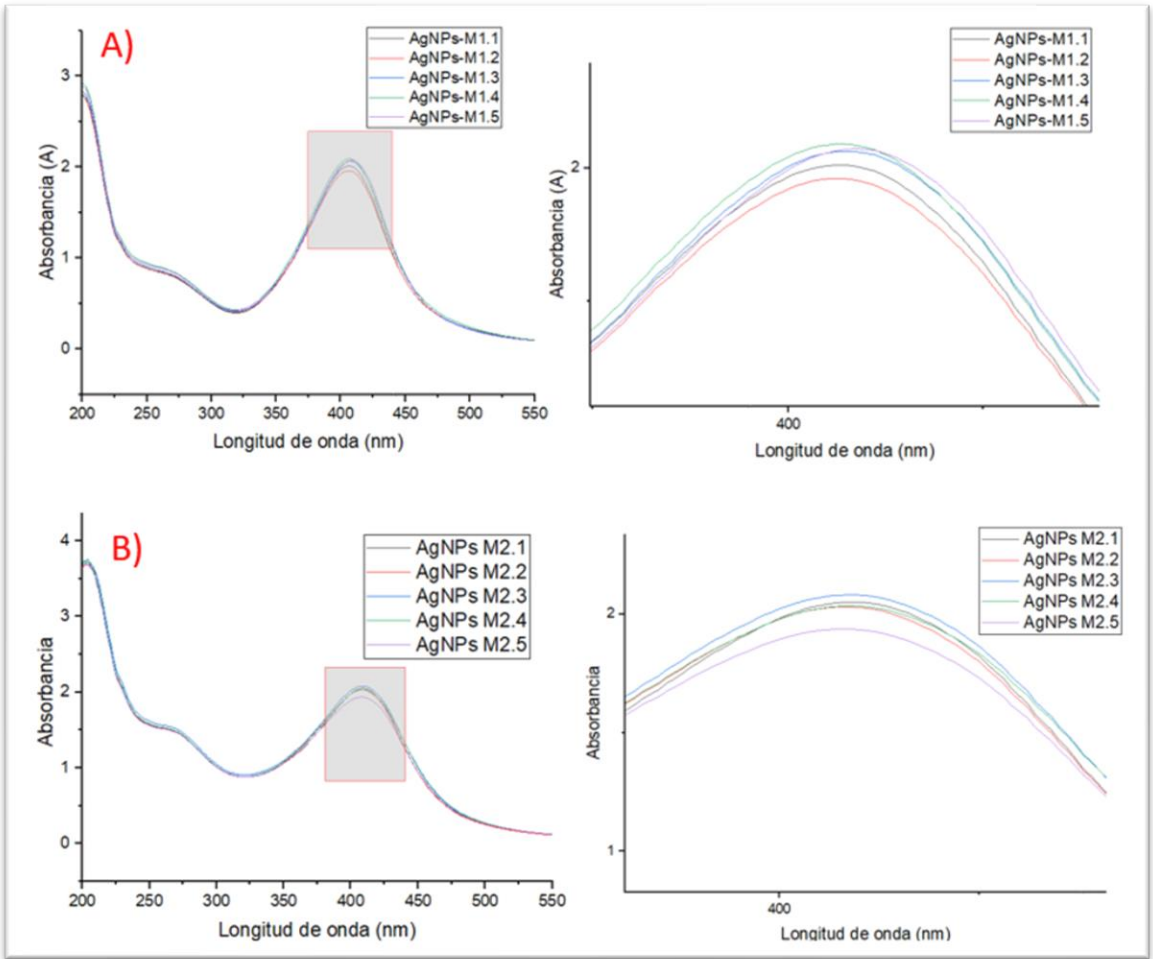


Tabla 2. Detalle de nomenclatura usada en los tubos de centrifuga Falcon

		[A.E. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill]										
		Réplicas	NC1					NC2				
			NC1.1	NC1.2	NC1.3	NC1.4	NC1.5	NC2.1	NC2.2	NC2.3	NC2.4	NC2.5
[Extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.]	M1	M1.1										
		M1.2										
		M1.3										
		M1.4										
		M1.5										
	M2	M2.1										
		M2.2										
		M2.3										
		M2.4										
		M2.5										

El análisis estadístico se analizó con el promedio de las réplicas de M1 y M2, empleando el modelo de rangos múltiples de Duncan

Figura 4. Espectro de absorción UV-Vis de AgNPs , Reproducibilidad



Las curvas muestran un pico de plasmón de resonancia en 409 nm.

La amplitud de la curva es mayor en M2, suponiendo mayor agrupación de AgNPs.

A) Extracto diluido 1:3 B) Extracto sin diluir

Figura 1. Distribución de tamaño de AgNPs, muestra M1

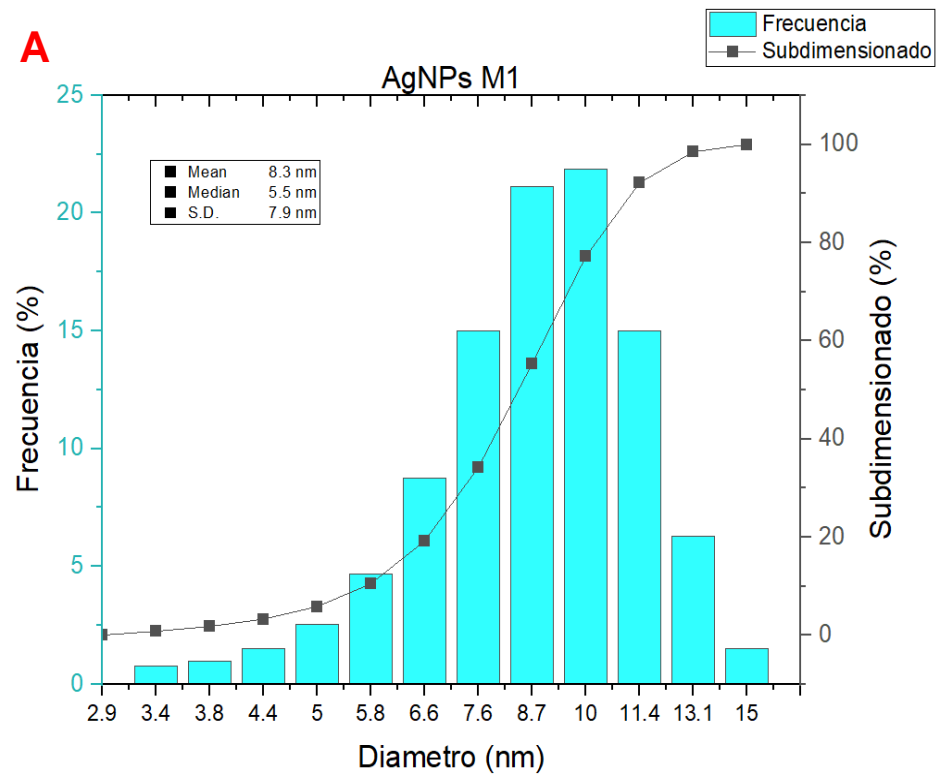


Figura 2. Distribución de tamaño de AgNPs, muestra M2

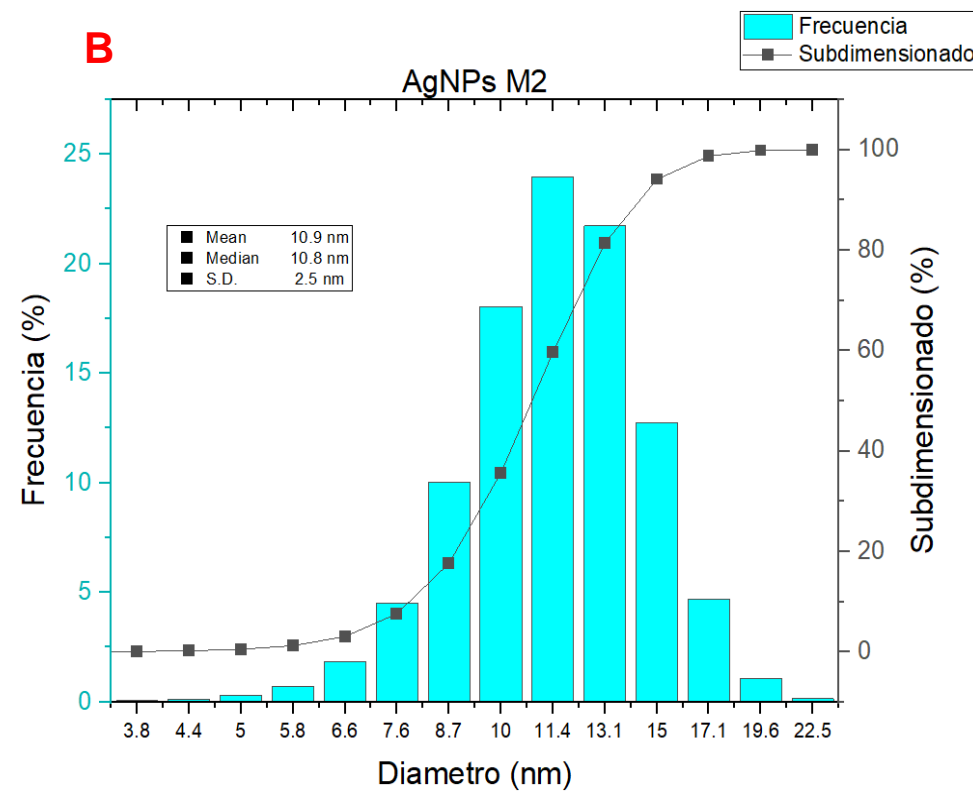
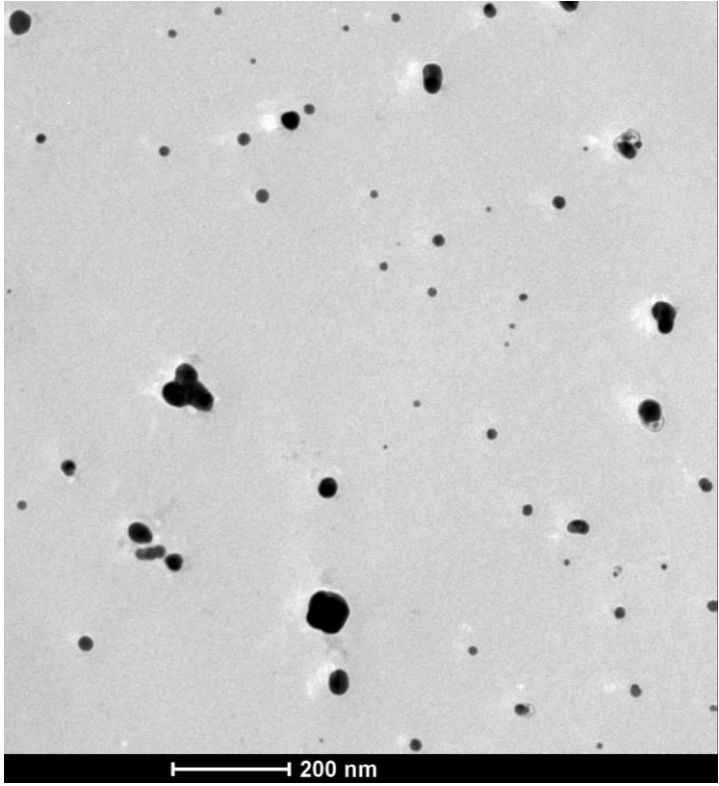


Figura 2. Nanopartículas de plata observadas en TEM



Para síntesis verde de AgNPs, el rango de tamaño oscila entre 10 a 35 nm, forma esférica

Tabla 1. tamaños de AgNPs, software FIJI

Diámetro				
14.32	13.6	11.18	7.81	11.18
18.03	19.85	19.7	14.42	17
6.4	11.4	21.02	7.28	21.1
10.3	6.71	8.06	20.81	13.34
3.61	2.83	19.42	10.3	18.38
9.49	8.94	11.4	14.14	3.61
17.26	2.24	10.82	13.04	17.8
22.02	18.44	4.47	2.24	13.04

Media: 12.4 ± 5.8

Figura 3. Análisis de la distribución de los tamaños de AgNPs

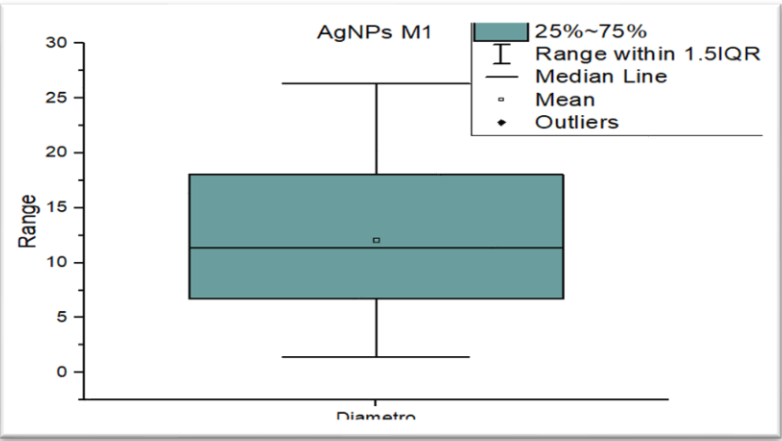
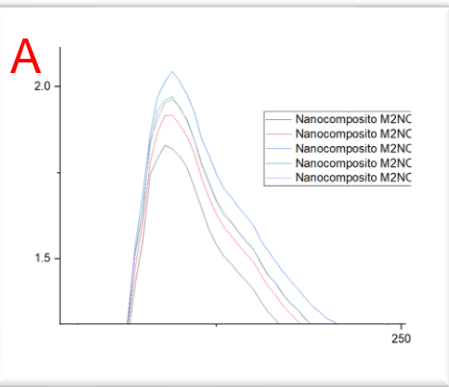
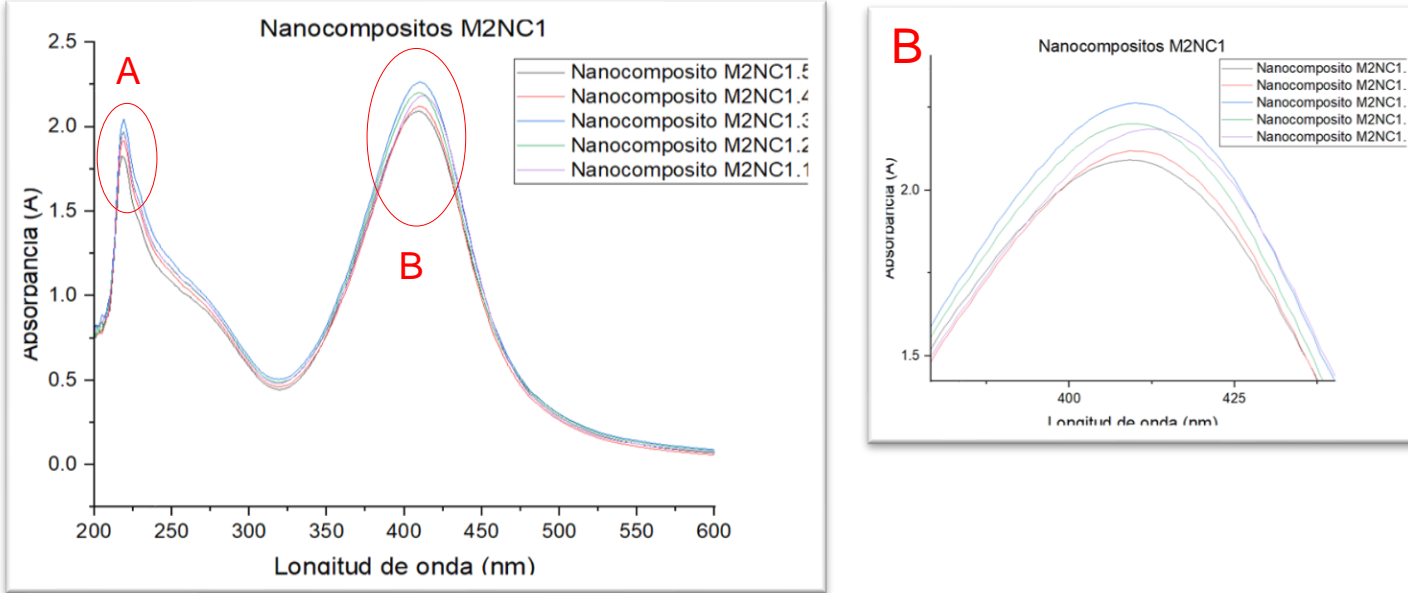
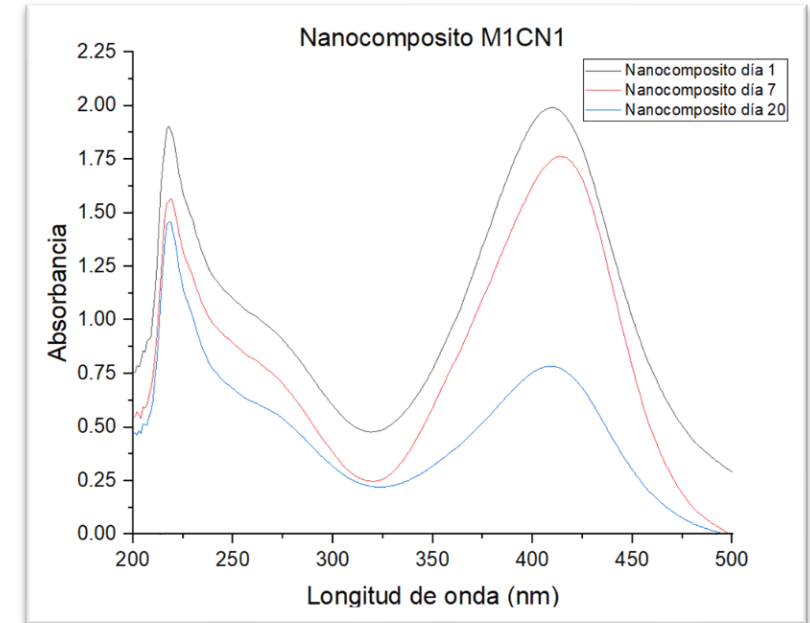


Figura 7. Espectro de absorción UV-Vis de nanocompositos, reproducibilidad



Picos en 219 y 409 nm para el A.E. eucalipto y la plata cerivalente respectivamente.

Figura 8. Estabilidad de nanocompositos, muestra M1CN1



Los nanocompositos son estables alrededor de una semana, después comienzan a degradarse.

Figura 5. Análisis de la distribución de tamaños de nanocomposito de A.E. de eucalipto, software originPRO

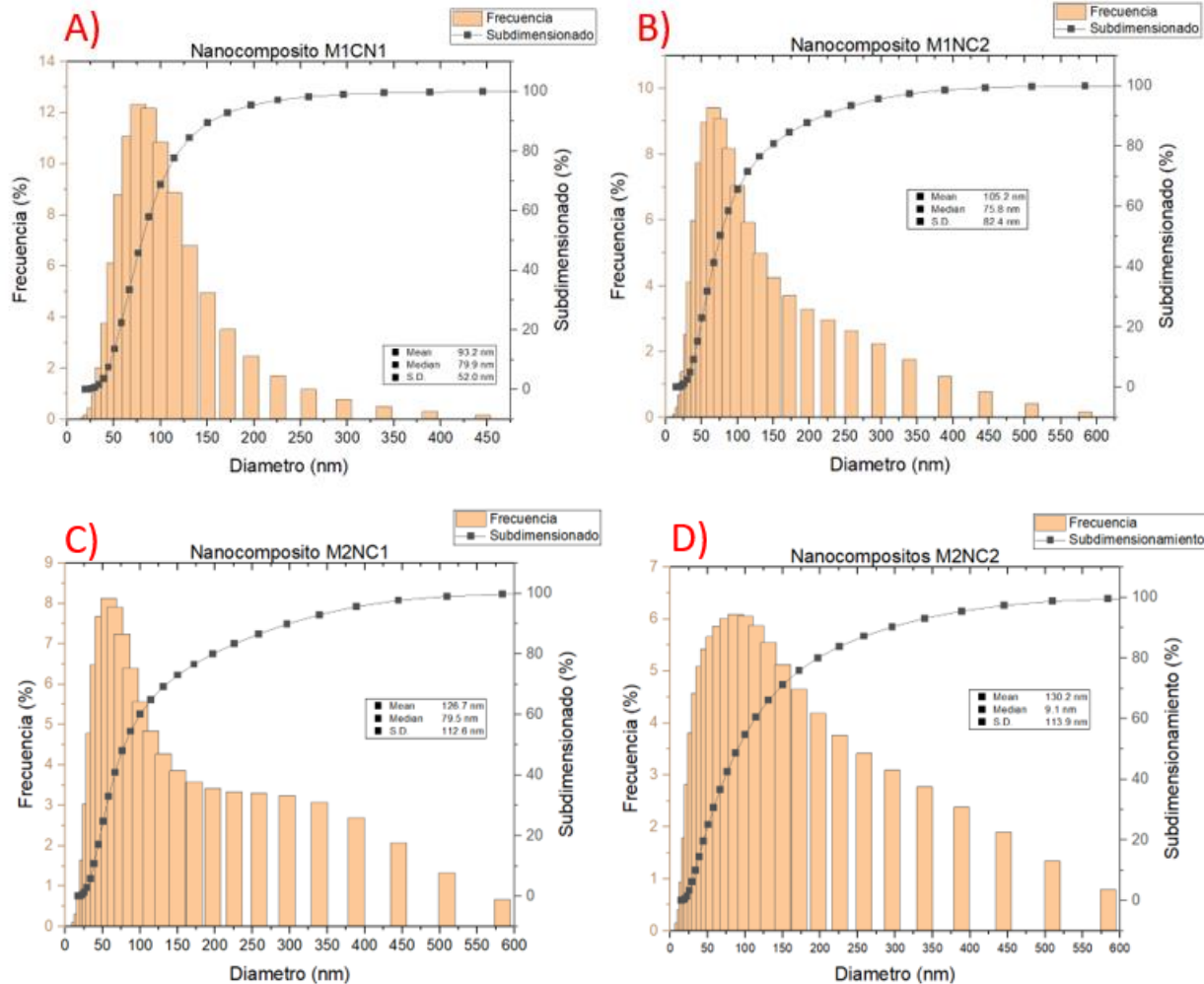
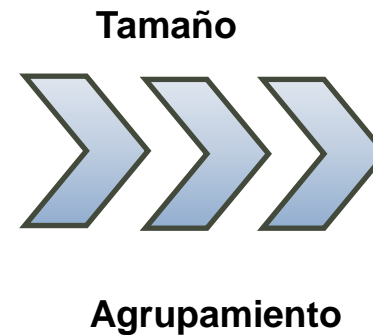


Tabla 2. Descripción de resultados

Parámetro	M1CN1	M1CN2	M2CN1	M2CN2
[Extracto de romero]	25%	100%	25%	100%
[A.E. eucalipto] $\mu\text{l/ml}$	1.5	3	1.5	3
Tamaños medios (nm)	93.2	105.2	126.7	130.2
Frecuencia mayor %	12	9	8	6
Distribución (agrupamiento)		+	++	+++



El tamaño y la distribución se ven influenciados por el incremento de las concentraciones.

Tabla 5. Media de tamaños de nanocompositos a diferentes concentraciones de aceite esencial y extracto, equipo HORIBA DLS 550

Promedios de muestras										
	CN1					CN2				
M1	M1NC 1.1	M1NC 1.2	M1NC 1.3	M1NC 1.4	M1NC 1.5	M1CN 2.1	M1CN 2.2	M1CN 2.3	M1CN 2.4	M1CN 2.5
	108.6	105.8	107.3	107.6	109.2	123.1	122.4	116	126.1	124.3
M2	M2NC 1.1	M2NC 1.2	M2NC 1.3	M2NC 1.4	M2NC 1.5	M2CN 2.1	M2CN 2.2	M2CN 2.3	M2CN 2.4	M2CN 2.5
	114.7	114.3	115.6	118.4	118.3	134.5	133.3	135.7	129.7	135



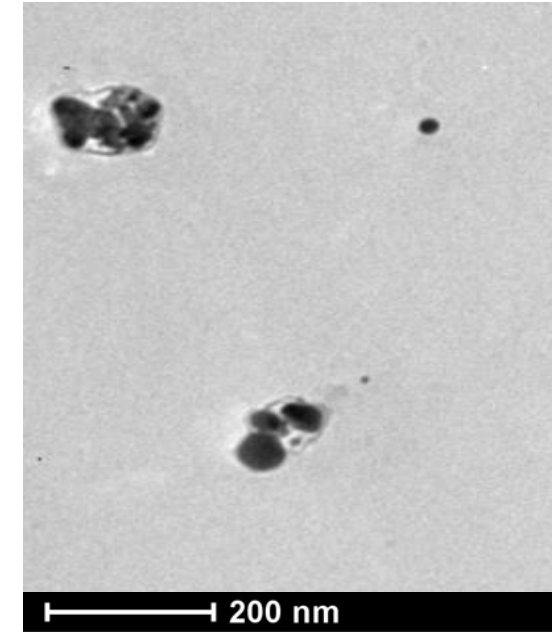
El ensayo M1CN1 posee los menores tamaños



El ensayo **M2CN2** muestran un aumento del tamaño mayor a 30 nm



Figura 4. Nanocompositos observados en TEM



Se observan estructuras micelares formadas de AgNPs recubiertas por A.E. de eucalipto

CONCLUSIONES

- El rendimiento del aceite esencial de eucalipto varía dependiendo de las condiciones que se aplican en la destilación por arrastre de vapor, siendo este de aproximadamente un 1.5% de aceite esencial, este rendimiento es dado por el uso de hojas jóvenes de la planta.
- El aumento de la concentración de extracto, influye negativamente sobre las nanopartículas de plata. Dando tamaños promedio de 8.3 y 10.9 para M1 (extracto diluido) y M2 (extracto sin diluir) respectivamente manteniendo una forma esférica en ambos ensayos.
- Los nanocompositos son materiales recubiertos por sustancias que por lo general presentan diferentes fases de agregación, el uso de aceite esencial cumple este objetivo promoviendo la formación de estructuras micelares, este efecto puede incrementar su tamaño y disminuir drásticamente su estabilidad, por ello, es necesario el uso de estabilizantes como el citrato de sodio.
- El análisis estadístico demuestra que los tamaños de los nanocompositos presentan diferencias significativas respecto de las medias de las réplicas ensayadas, dando como mejor tratamiento (menor tamaño e índice de agrupamiento) el ensayo M1NC1 el que cuenta con una menor concentración de extracto y aceite esencial, además se pudo observar que, a mayor concentración de estas, la inestabilidad del nanocomposito es mayor pero el aumento del tamaño es moderado.



Agradecimientos

Agradezco primero a mis padres Jaime y Lucila, por haberme apoyado en todo momento, sepan que su entrega y endereza al educarme han hecho que pueda tomar decisiones con sabiduría y no derrumbarme en los momentos difíciles.

A mis amigos Dani, Ali, Roger, Mishu, Leidy, Glenda, Giss y Yadii por formar parte de mi experiencia universitaria y permitirme compartir momentos que ahora forman parte de mis mejores años de vida.

Mi gratitud también a las técnicas de laboratorio Cari Stael y Geovi Arroyo por compartir su conocimiento de manera desinteresada, gracias por el apoyo y por crear un ambiente agradable en mi estancia en el laboratorio de materiales avanzados.

Agradezco a Gaby Ayala por haberme apoyado de forma incondicional cuando más lo necesité, estaré en deuda contigo para toda la vida.



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA