



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
DEPARTAMENTO CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

“Síntesis de nanopartículas, utilizando extractos polifenólicos de plantas de Ecuador: Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf), Llantén (*Plantago major* L.), Ruda (*Ruta graveolens* L.), Santa María (*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.) y Toronjil (*Melissa officinalis* L.) y caracterizarlas posteriormente”

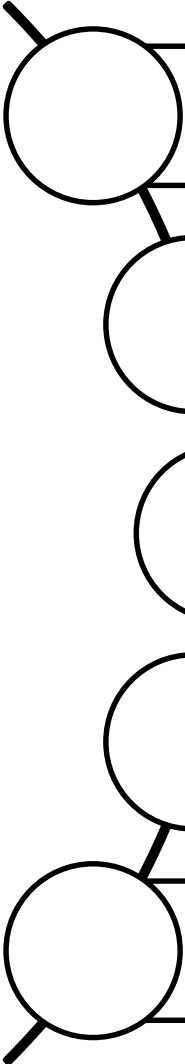
Autor: Pérez Rosales, Mikaela

Director: Izquierdo, Andrés Ph. D.

Investigadora Asociada: Murgueitio, Erika Ph. D.

Sangolquí, 06 de marzo 2023





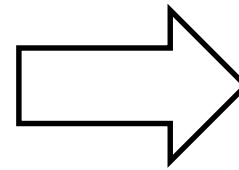
INTRODUCCIÓN
OBJETIVOS
MATERIALES Y MÉTODOS
RESULTADOS Y DISCUSIÓN
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



Plantas medicinales en Ecuador

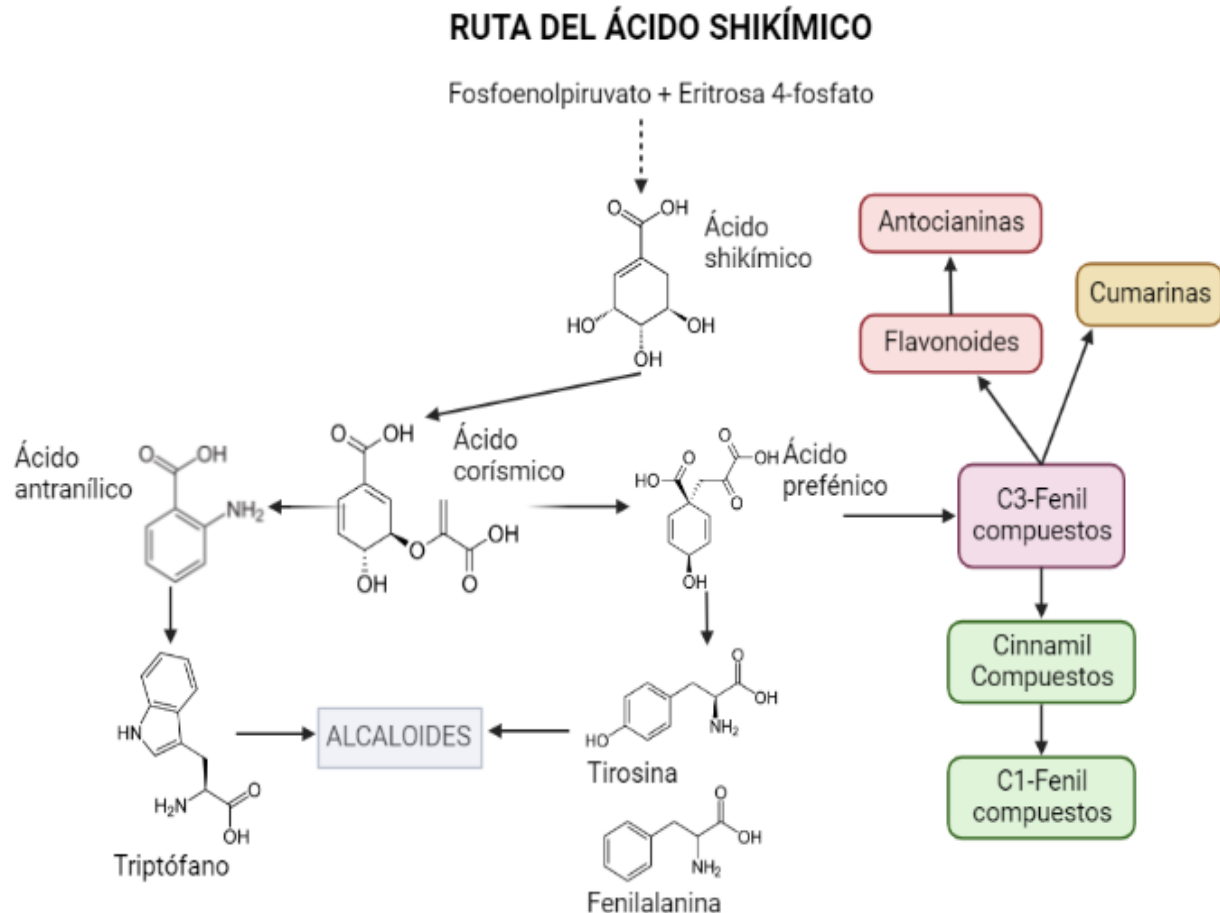


Medicina Ancestral



Acceso a plantas medicinales en los mercados de la ciudad

Compuestos polifenólicos en plantas medicinales







Metabolitos Secundarios

- Antiinflamatorio
- Antibacterial
- Antifúngico
- Antioxidante

Actividad Antioxidante

- Aminora radicales libres
- Alternativa para síntesis de nanopartículas

Síntesis verde de nanopartículas

Clasificación según NCH382 / NCH2190		Clasificación según GHS	
4.3 Materias que, al contacto con el agua, desprenden gases inflamables			
		Clasificación específica Código Almacenaje Winkler Rojo: Inflamable 	
Señal de seguridad según NCh1411/4  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> CLASIFICACIÓN DE RIESGOS 0 = No especial 1 = Ligero 2 = Moderado 3 = Severo 4 = Extremo NORMA NFPA 3-2-1-W </div>			
Descripción de peligros y sus efectos			
Inhalación	Irritaciones en las membranas mucosas y en el tracto respiratorio superior (nariz y garganta). Respiración dificultosa. Edema pulmonar.		
Contacto con la piel	Severas irritaciones y quemaduras		
Contacto con los ojos	Efecto corrosivo, importantes quemaduras, enrojecimiento y dolor. Visión Borrosa.		
Ingestión	Efecto corrosivo. Severas quemaduras en la boca, tracto digestivo y estómago. Nocivo por acción del Boro. Reacción violenta con ácidos del estómago. Vómitos y diarrea.		

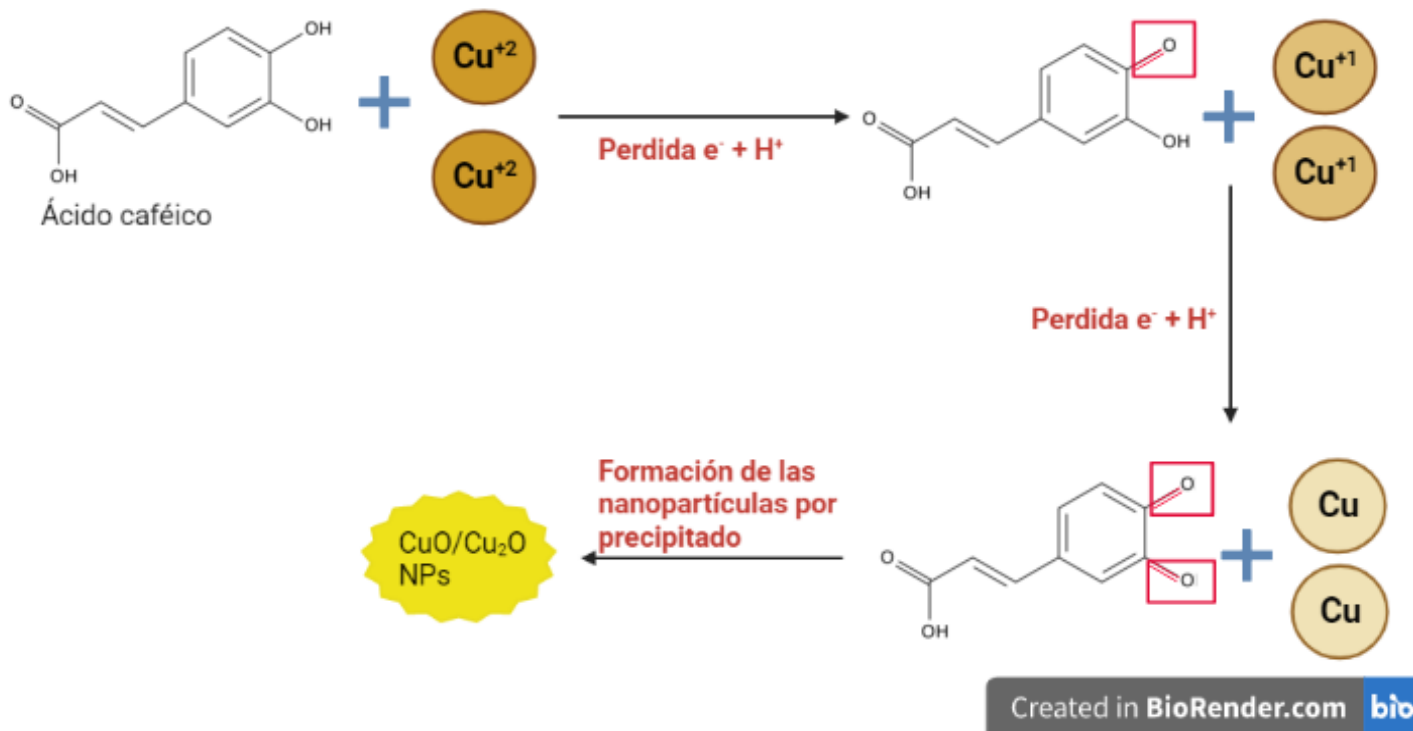
Menor costo

Fácil acceso

Poco mantenimiento

Síntesis tradicional usa borohidruro de sodio

Nanopartículas de Cobre



Propiedades específicas

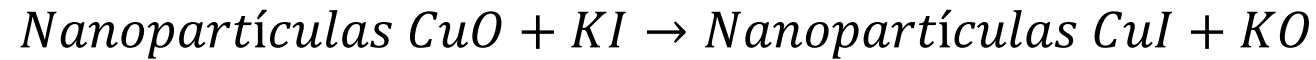
Menor precio

Tienden a la oxidación

Aplicaciones: antimicrobiano, fotocatalizador, etc.



Nanopartículas de Yoduro de Cobre



Propiedades ópticas inusuales

Síntesis tradicional= agentes químicos y sustancias tóxicas

Aplicaciones: antiviral y antibacterial

Objetivo General

Sintetizar nanopartículas, utilizando extractos polifenólicos de plantas de Ecuador: Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf), Llantén (*Plantago major* L.), Ruda (*Ruta graveolens* L.), Santa María (*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.) y Toronjil (*Melissa officinalis* L.) y caracterizarlas posteriormente.



Objetivos Específicos

- Extraer polifenoles de plantas de Ecuador: Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf), Llantén (*Plantago major* L.), Ruda (*Ruta graveolens* L.), Santa María (*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.) y Toronjil (*Melissa officinalis* L.), obtenidas del mercado de Conocoto, utilizando 4 diferentes concentraciones de etanol (0%, 20%, 40% y 80%) y dos métodos de agitación (rotacional y orbital); para medir su concentración posteriormente.
- Medir la concentración de polifenoles con la técnica de reactivo de Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio por medio de absorbancia en el UV-VIS y capacidad antioxidante de los polifenoles con el reactivo DPPH y midiendo la absorbancia en el UV-VIS, en los laboratorios del CENCINAT y comparar estadísticamente los datos obtenidos entre las plantas seleccionadas para seleccionar los 3 extractos con mejores características conjuntas.



Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas dentro de los laboratorios del CENCINAT, por el método de precipitación a partir de sales de cobre y de yodo, con los 3 extractos de plantas con mayor concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante seleccionados.
- Caracterizar y analizar la estabilidad de las nanopartículas sintetizadas, mediante DLS y UV-VIS, dentro de los laboratorios del CENCINAT, para corroborar que los extractos polifenólicos de plantas funcionan para una correcta síntesis de nanopartículas.



Hipótesis del Proyecto de Integración Curricular

Los extractos polifenólicos con alta concentración de fenoles, obtenidos de plantas de Ecuador, funcionan como agentes estabilizantes y reductores en la síntesis de nanopartículas.

Hipótesis del Diseño Experimental

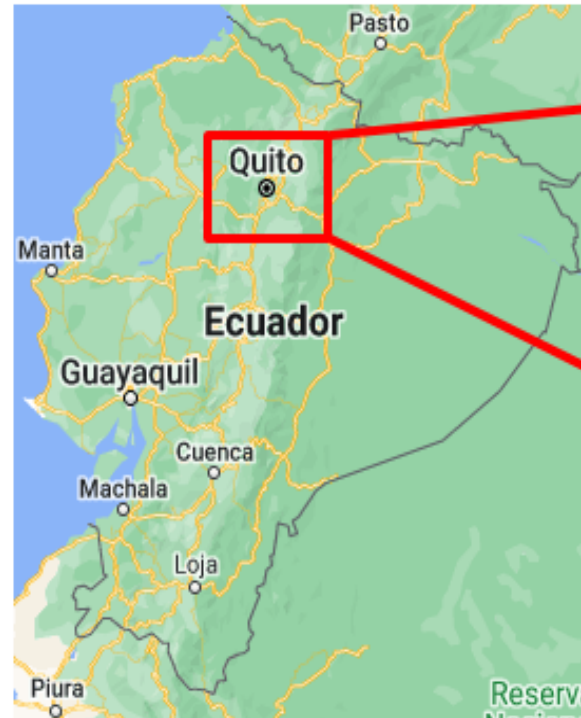
Ho: Los promedios de concentración de polifenoles y de capacidad antioxidante van a ser iguales sin importar los factores de: tipo de planta, porcentaje de etanol para la extracción y tipo de agitación

H1: Los promedios de concentración de polifenoles y de capacidad antioxidante van a ser diferentes dependiendo de los factores de: tipo de planta, porcentaje de etanol para la extracción y tipo de agitación



MATERIALES Y MÉTODOS

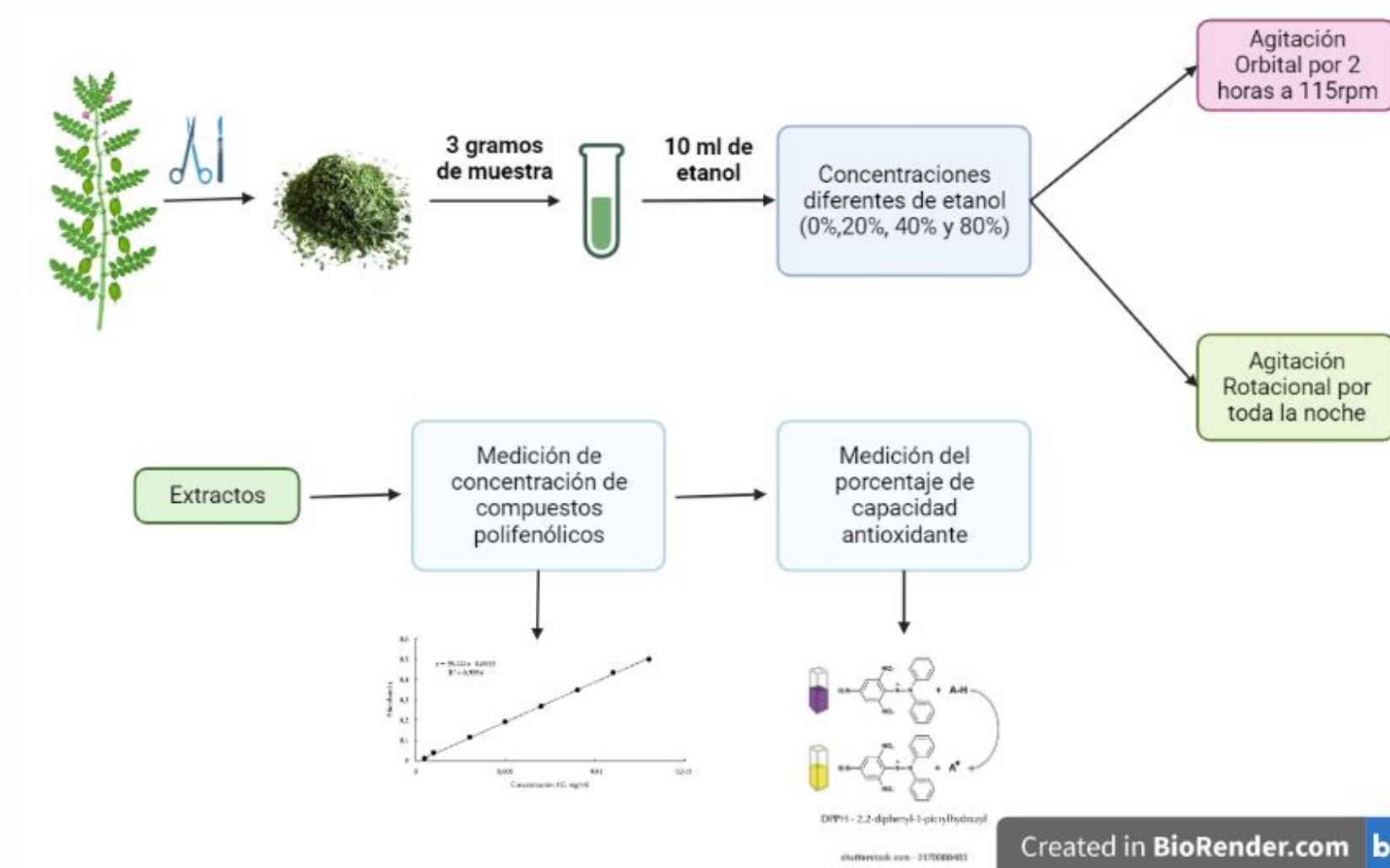
Obtención de las plantas



Plantas traídas y cosechadas en Amaguña

MATERIALES Y MÉTODOS

Fase 1: Extracción y medición de los compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante



Diseño experimental



SIGMAPLOT

ANOVA 3 VÍAS

ANOVA 1 VÍA

Tipo de Agitación	Concentración de Etanol	Concentración de polifenoles en la muestra				
		1	2	3	4	5
		ORBITAL	0%			
20%						
40%						
80%						
ROTACIONAL	0%					
	20%					
	40%					
	80%					

Mediciones	Porcentaje de Capacidad Antioxidante				
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 5
1					
2					
3					
4					
5					

*Todas las mediciones se realizaron por triplicado



Fase 2: Síntesis y Caracterización de Nanopartículas



$CuSO_4$



$CuSO_4 + Extracto$



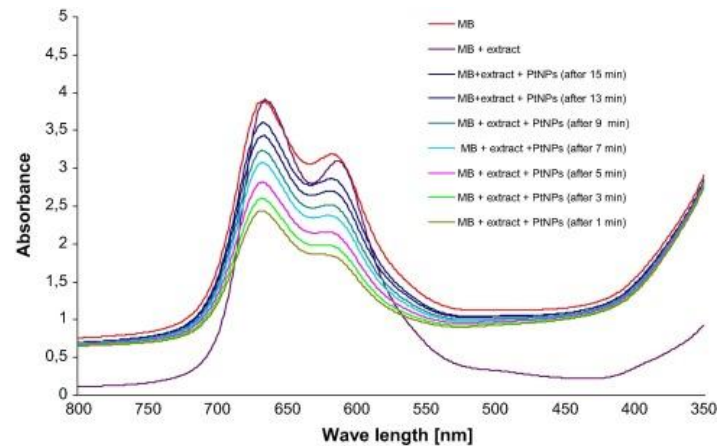
Por línea de gas
(nitrógeno)



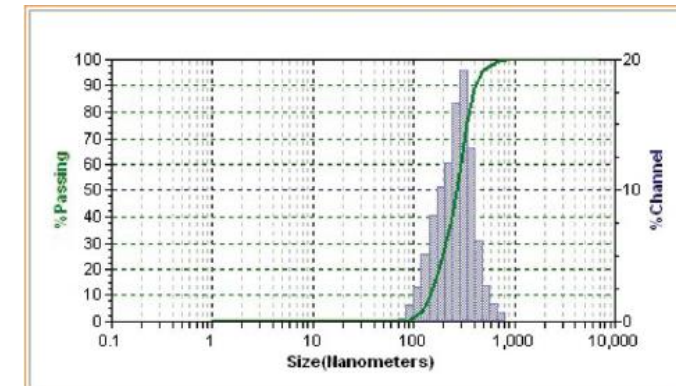
NPs CuI

Fase 2: Síntesis y Caracterización de Nanopartículas

Espectro UV-VISIBLE

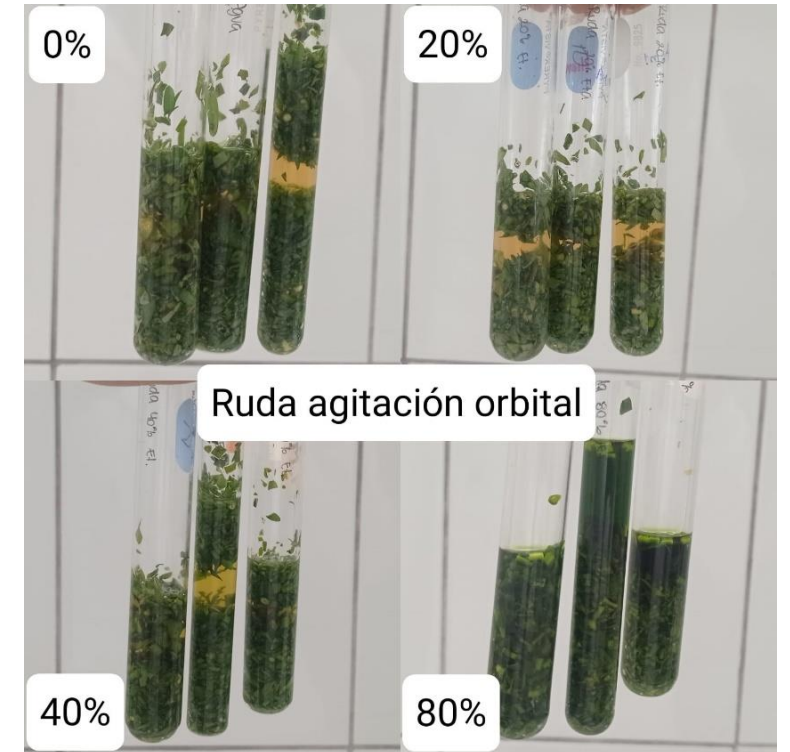
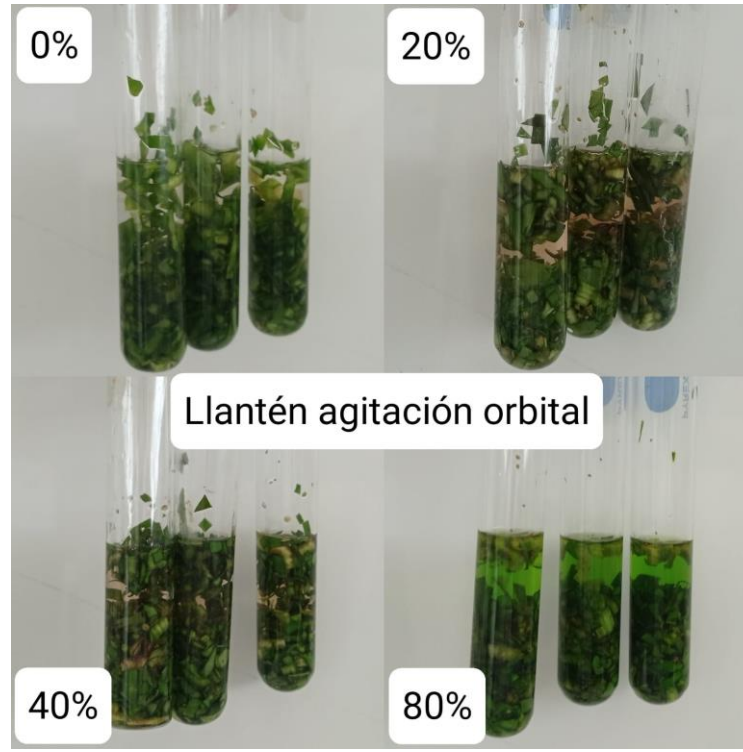
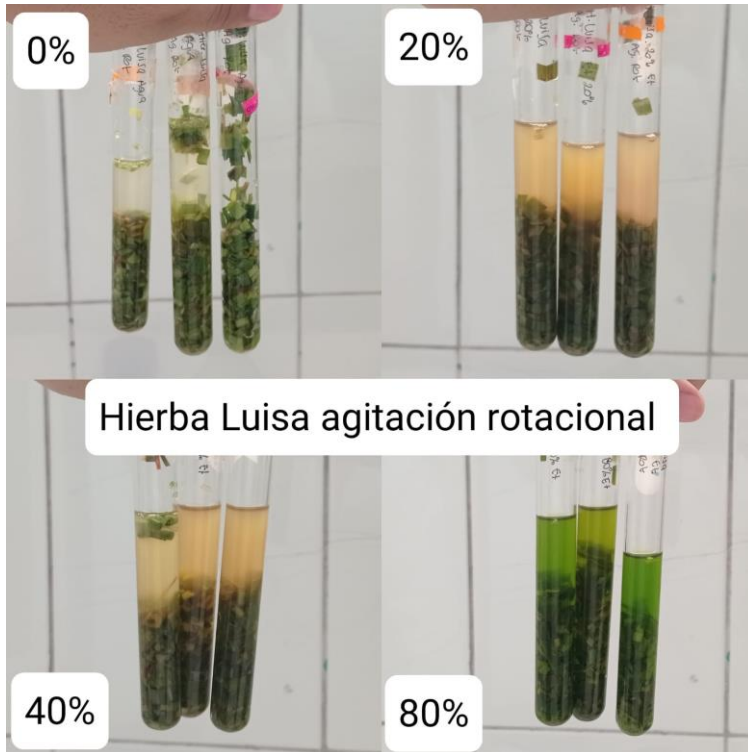


Dispersión de luz dinámica (DLS)

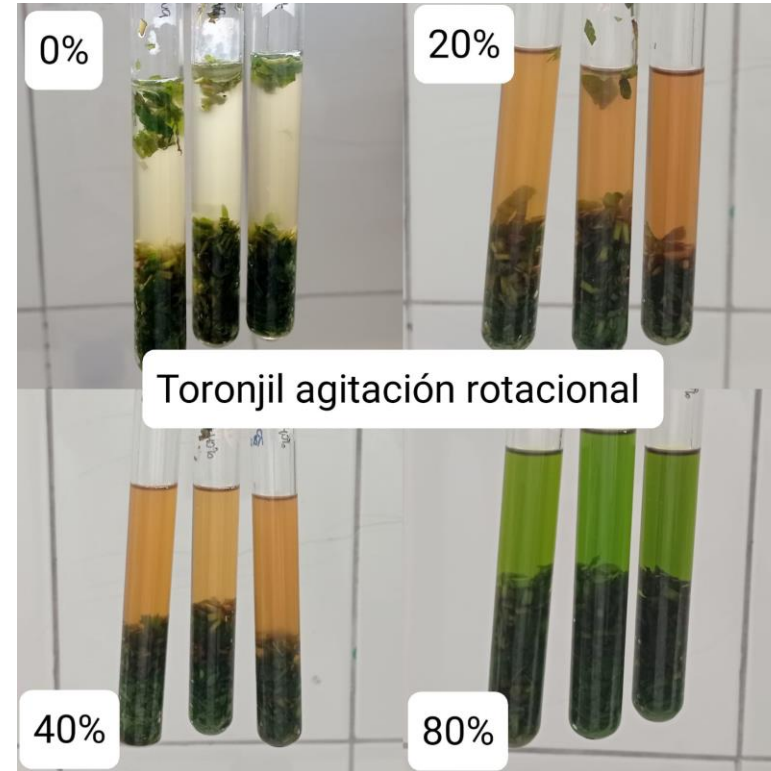
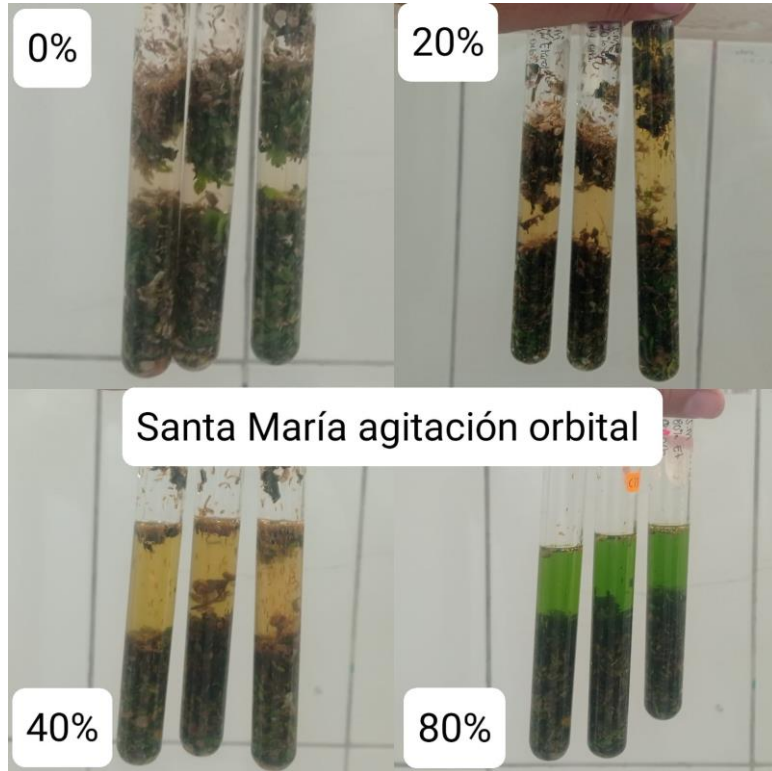


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de compuestos polifenólicos

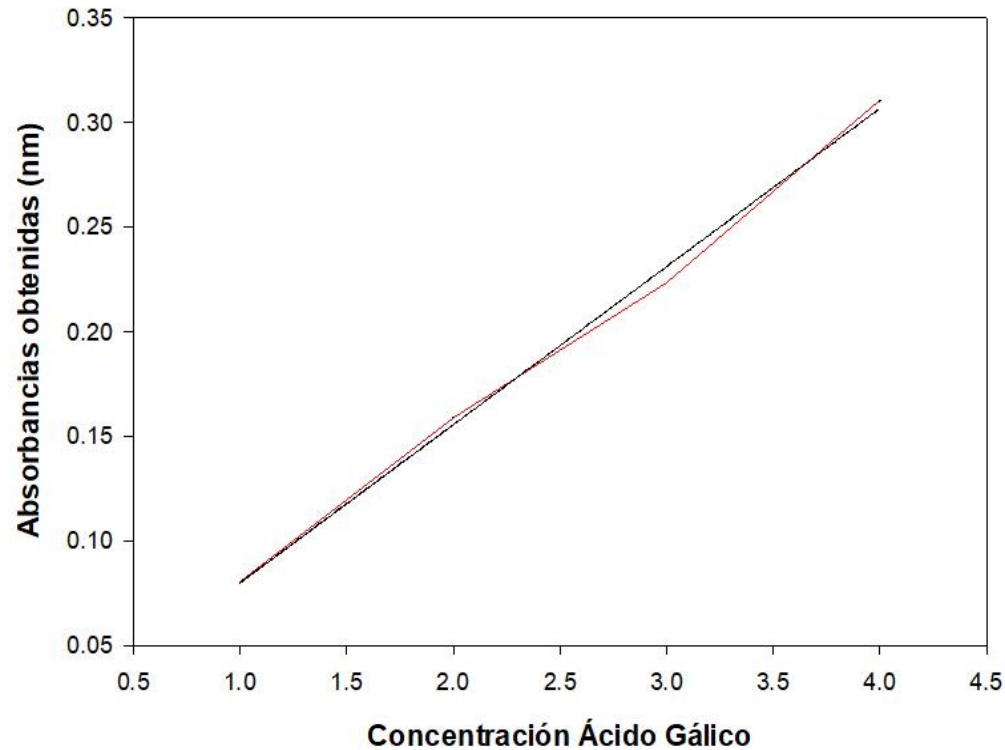


Extracción de compuestos polifenólicos



Medición de la concentración de compuestos polifenólicos

Curva de Calibración para la Cuantificación de la Concentración de Polifenoles



$$y=0.0764x - 0.0746$$

$$R=0.9984$$

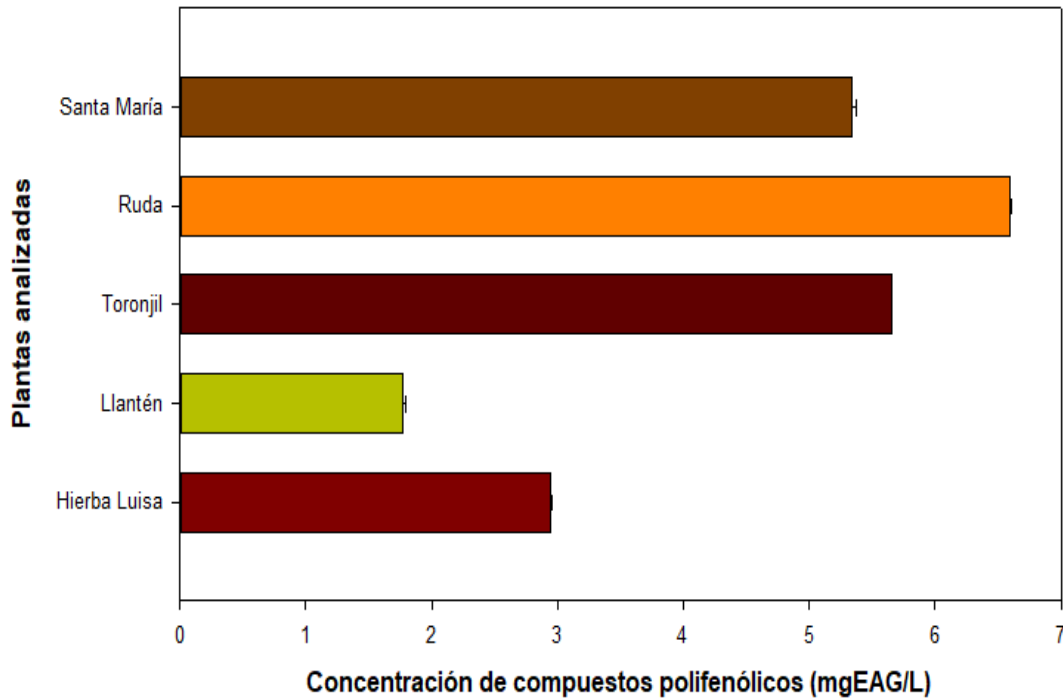
Concentraciones: mg EAG/L



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de compuestos polifenólicos

Concentración de compuestos polifenólicos en plantas medicinales



Comparación de resultados con datos de otras investigaciones

Conc. Polifenóles

Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf)

2.94 mg EAG/L

Llantén (*Plantago major* L.)

1.77 mg EAG/L

Ruda (*Ruta graveolens* L.)

5.66 mg EAG/L

Santa María (*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.)

6.6 mg EAG/L

Toronjil (*Melissa officinalis* L.)

5.34 mg EAG/L

Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.)

2.54 mg EAG/L

Lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.)

2.21 mg EAG/L

Buganvillas (*Bougainvillea glabra* Choisy)

1.61 mg EAG/L

Cola de caballo (*Equisetum bogotense* Kunth)

11.76 mg EAG/L

Ortiga de árbol (*Urera carasaca* (Jacq.) Gaudich. ex.

Griseb.)

3.27 mg EAG/L

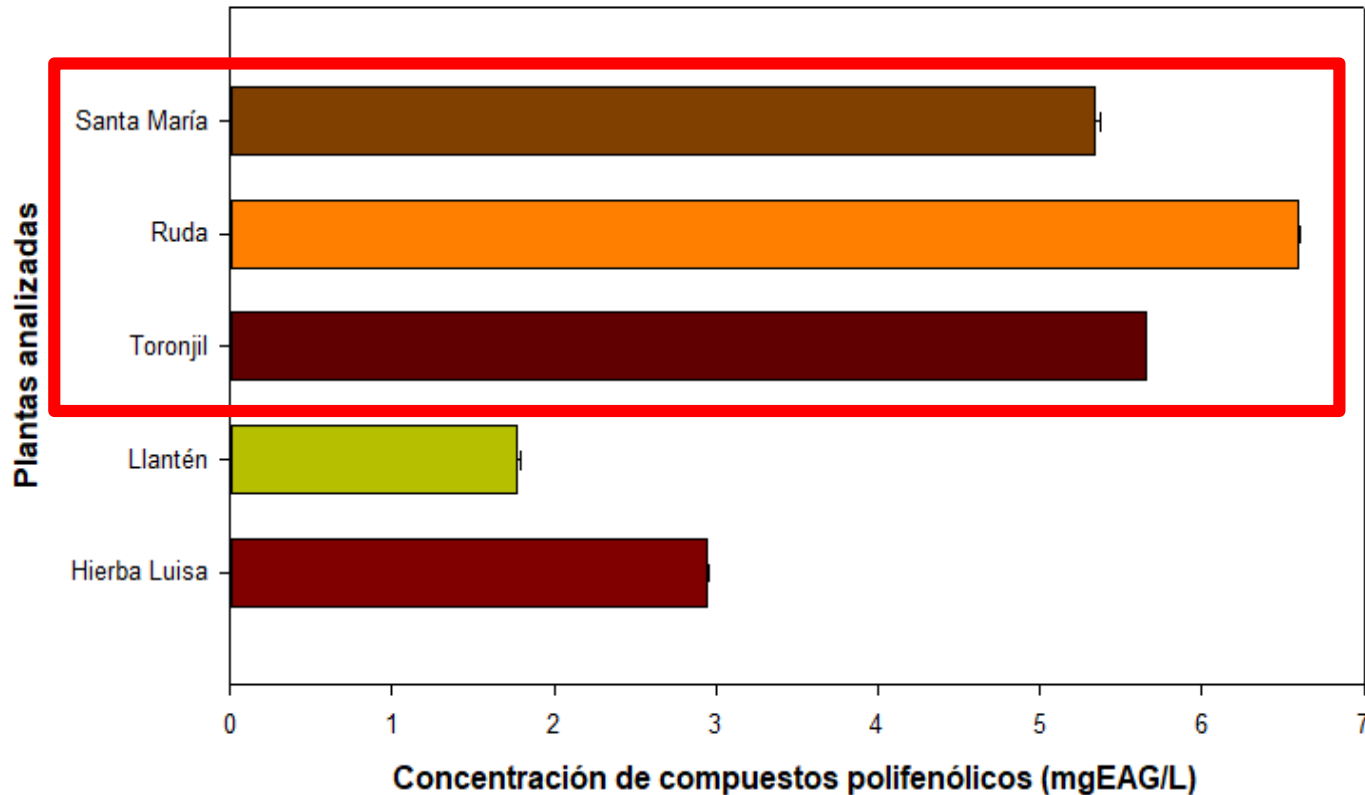


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de compuestos polifenólicos (Mejores extractos)

Concentración de compuestos polifenólicos en plantas medicinales



Los tres extractos con la mayor concentración de compuestos polifenólicos son:

- ❖ Ruda con 6.6 mg EAG/L
- ❖ Toronjil con 5.66 mg EAG/L
- ❖ Santa María 5.34 mg EAG/L



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis estadístico de Concentración de compuestos polifenólicos

Fuente de variación	GL	SS	MS	F	Valor p
Planta Medicinal	4	140.71	35.18	57075.31	<0.001
Tipo de Agitación	1	6.68	6.68	10829.31	<0.001
Porcentaje de Etanol	3	37.54	12.51	20300.73	<0.001
Planta vs. Agitación	4	18.64	4.66	7560.37	<0.001
Planta vs. Etanol	12	31.69	2.63	4272.20	<0.001
Agitación vs. Etanol	3	14.96	4.99	8090.54	<0.001
Planta vs. Agitación vs. Etanol	12	20.45	1.70	2765.42	<0.001
Residual	80	0.049	0.000616		
Total	119	270.62	2.274		

Valores p menores a 0.001

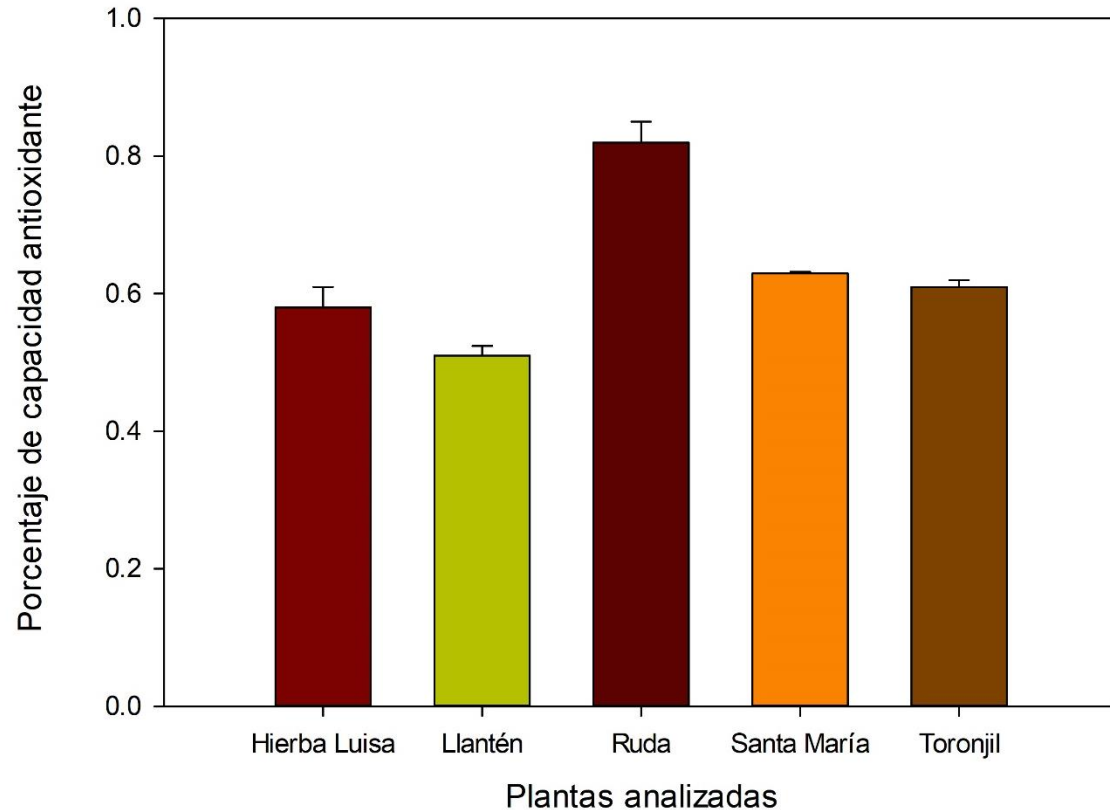
Existe interacción estadísticamente significativa entre los tres factores de análisis y la concentración de compuestos fenólicos.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de Capacidad Antioxidante

Promedios de Capacidad Antioxidante de los 5 Extractos Analizados

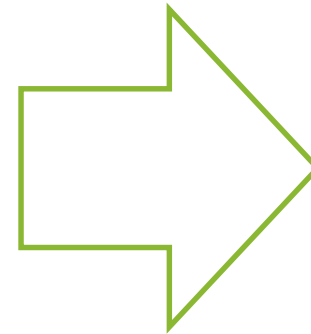
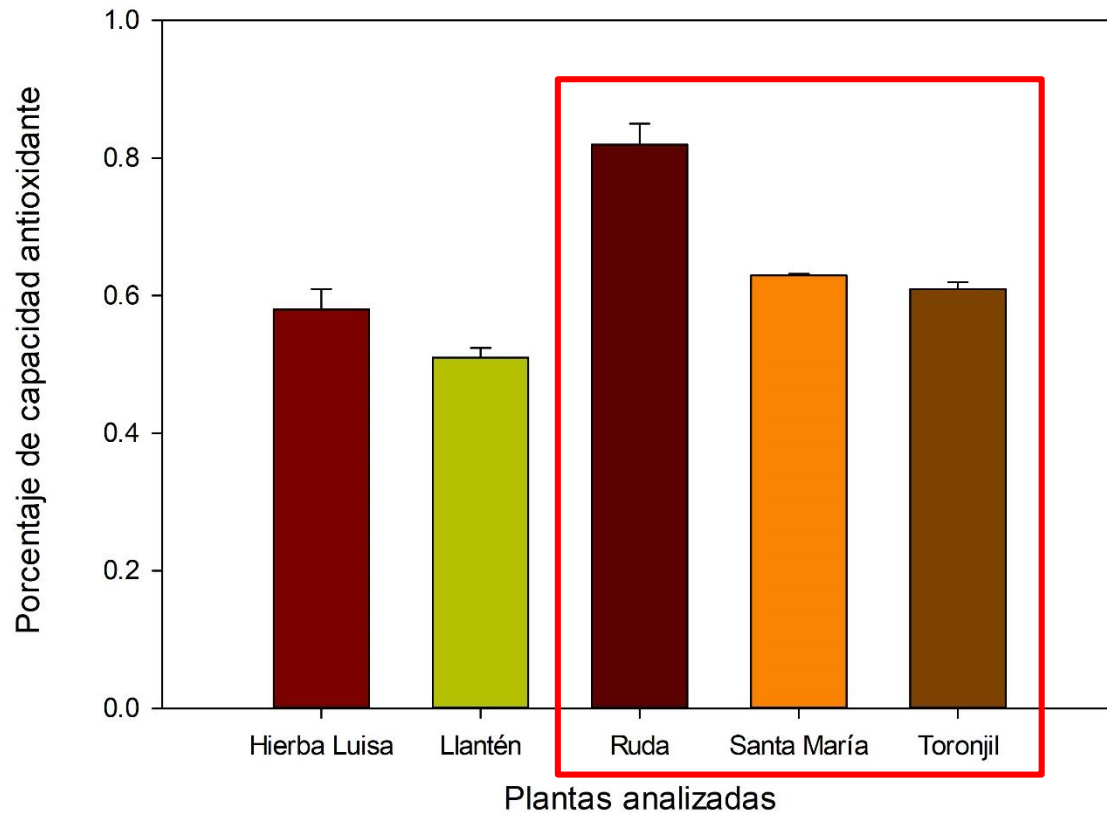


Planta	Porcentaje de capacidad antioxidante
Hierba Luisa (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf)	58%
Llantén (<i>Plantago major</i> L.)	51%
Ruda (<i>Ruta graveolens</i> L.)	82%
Santa María (<i>Tanacetum parthenium</i> L. Sch.Bip.)	63%
Toronjil (<i>Melissa officinalis</i> L.)	61%
Manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	75.4%
Lavanda (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.)	78.1%
Buganvillas (<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy)	80.2%
Cola de caballo (<i>Equisetum bogotense</i> Kunth)	56.41%
Ortiga de árbol (<i>Urera carasaca</i> (Jacq.) Gaudich. ex. Griseb.)	51.59%



Porcentaje de Capacidad Antioxidante (Mejores Extractos)

Promedios de Capacidad Antioxidante de los 5 Extractos Analizados



Los tres extractos con el mayor porcentaje de capacidad antioxidante son:

- ❖ Ruda con 82%
- ❖ Santa maría con 63%
- ❖ Toronjil con 61%

Análisis estadístico de porcentaje de capacidad antioxidante

Fuente de variación	GL	SS	MS	F	Valor p
Entre Factores	4	2721.20	680.30	160.448	<0.001
Residual	20	84.80	4.24		
Total	24	2806.00			

Al analizar la fuente de variación entre grupos se obtiene un valor de p menor a 0.001

Existe diferencia estadísticamente significativa en la capacidad antioxidante entre el tipo de planta que se está analizando.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de los tres extractos con mejores concentraciones de compuestos polifenólicos y porcentaje de capacidad antioxidante

5.66 mg EAG/L
82%



Ruda
(*Ruta graveolens* L.)

6.60 mg EAG/L
63%



Santa María
(*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.)

5.34 mg EAG/L
61%

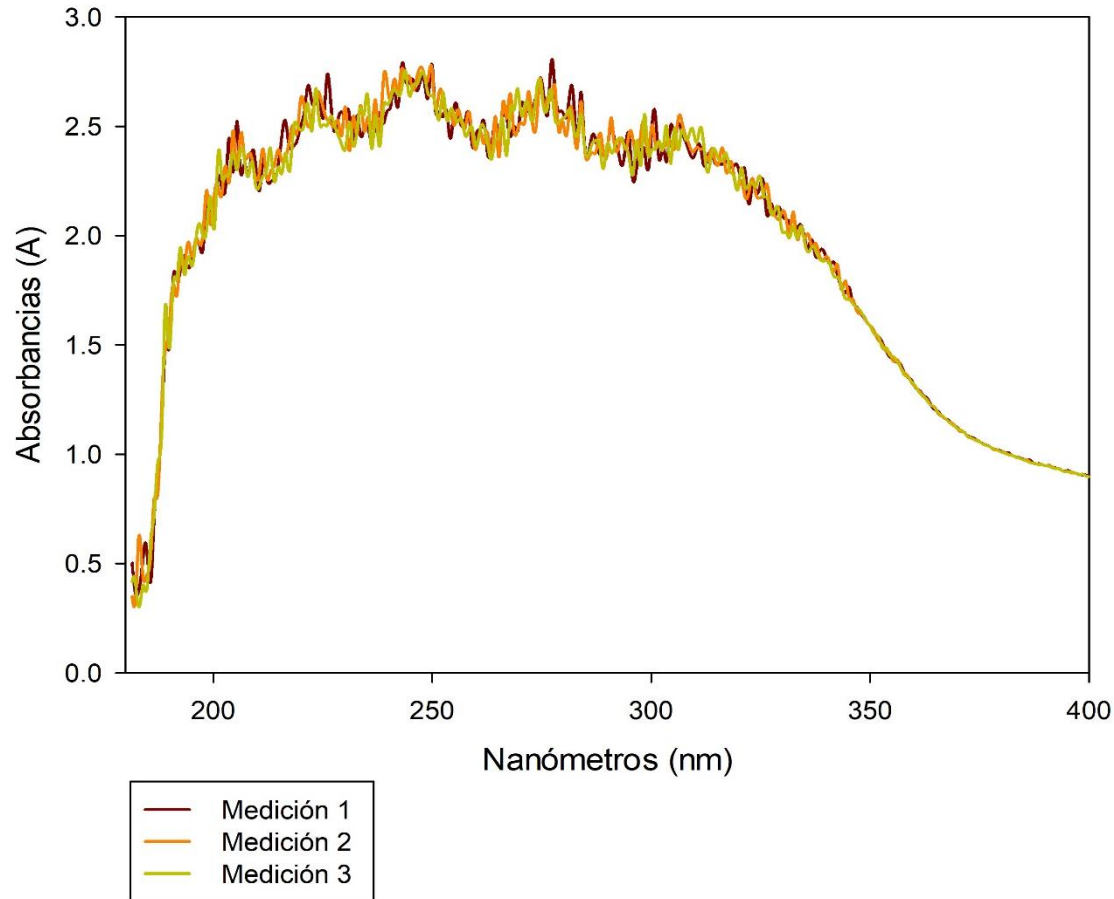


Toronjil
(*Melissa officinalis* L.)

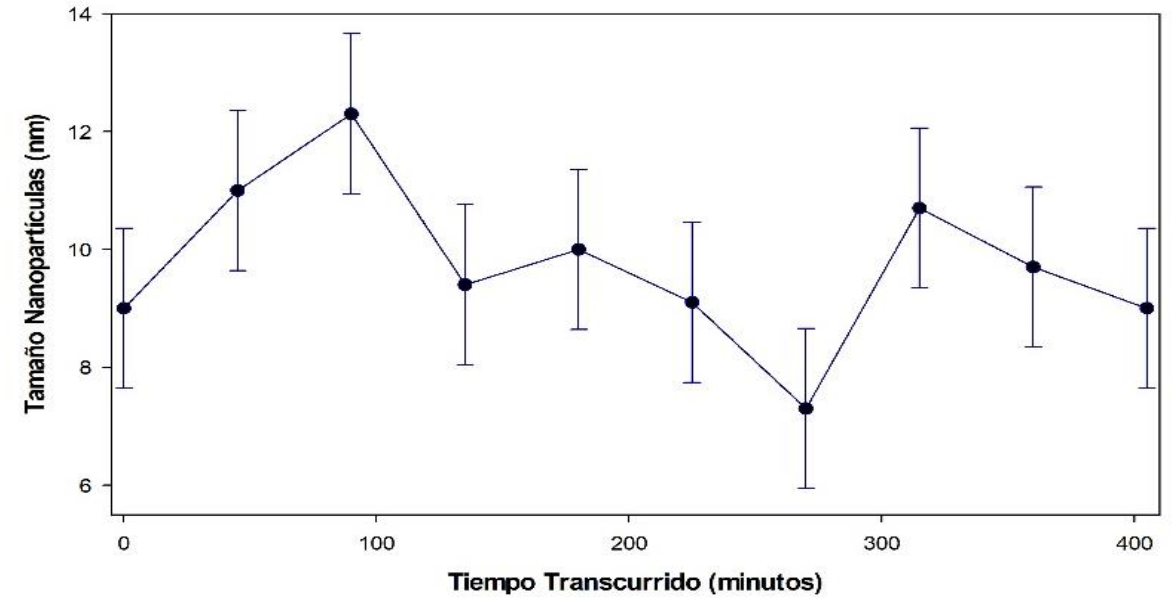
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de óxido de cobre con extracto de ruda

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de cobre con extracto de ruda



Tamaño promedio de 10nm

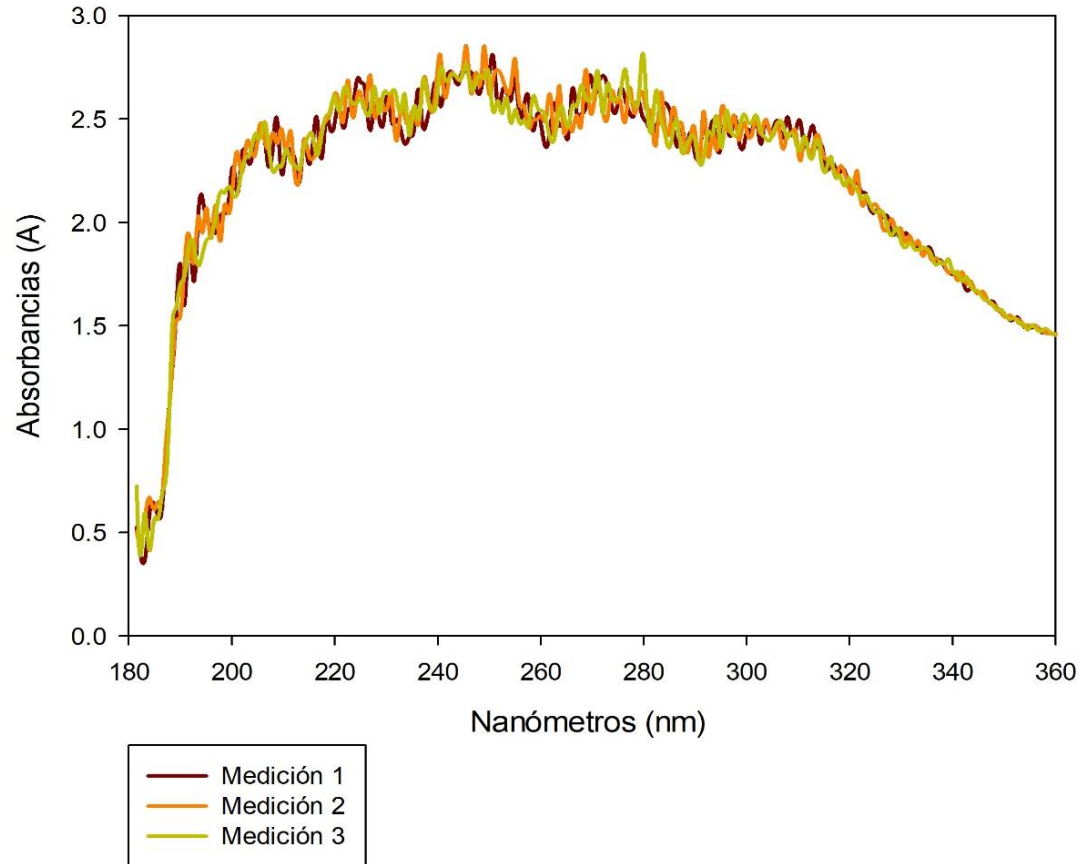
Rango de medida entre 7.3 nm y 12.3nm



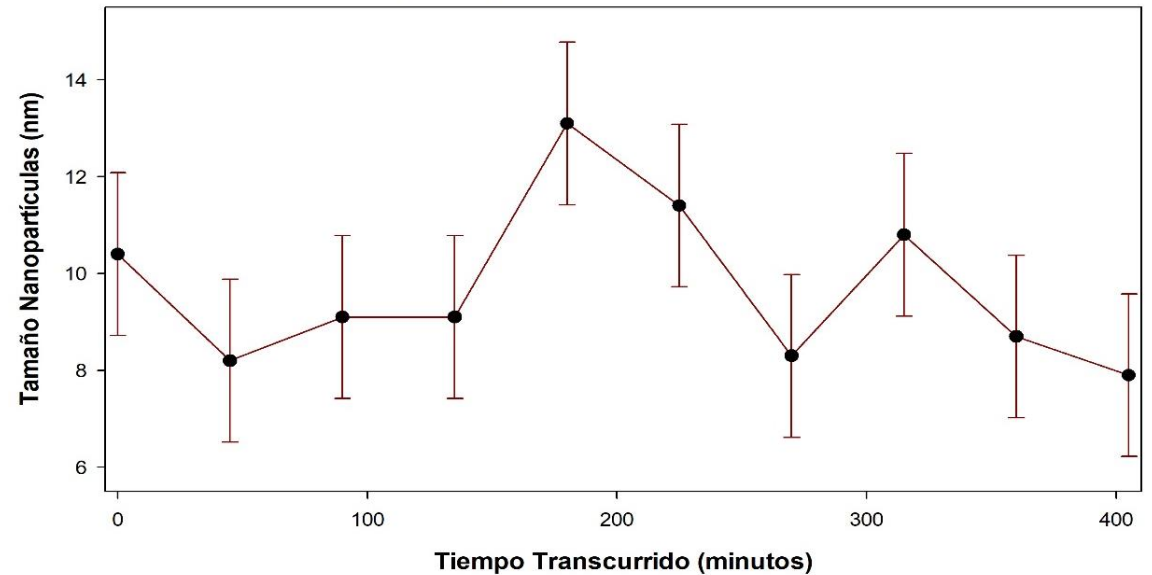
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de óxido de cobre con extracto de santa maría

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de cobre con extracto de santa maría



Tamaño promedio de 9.7nm

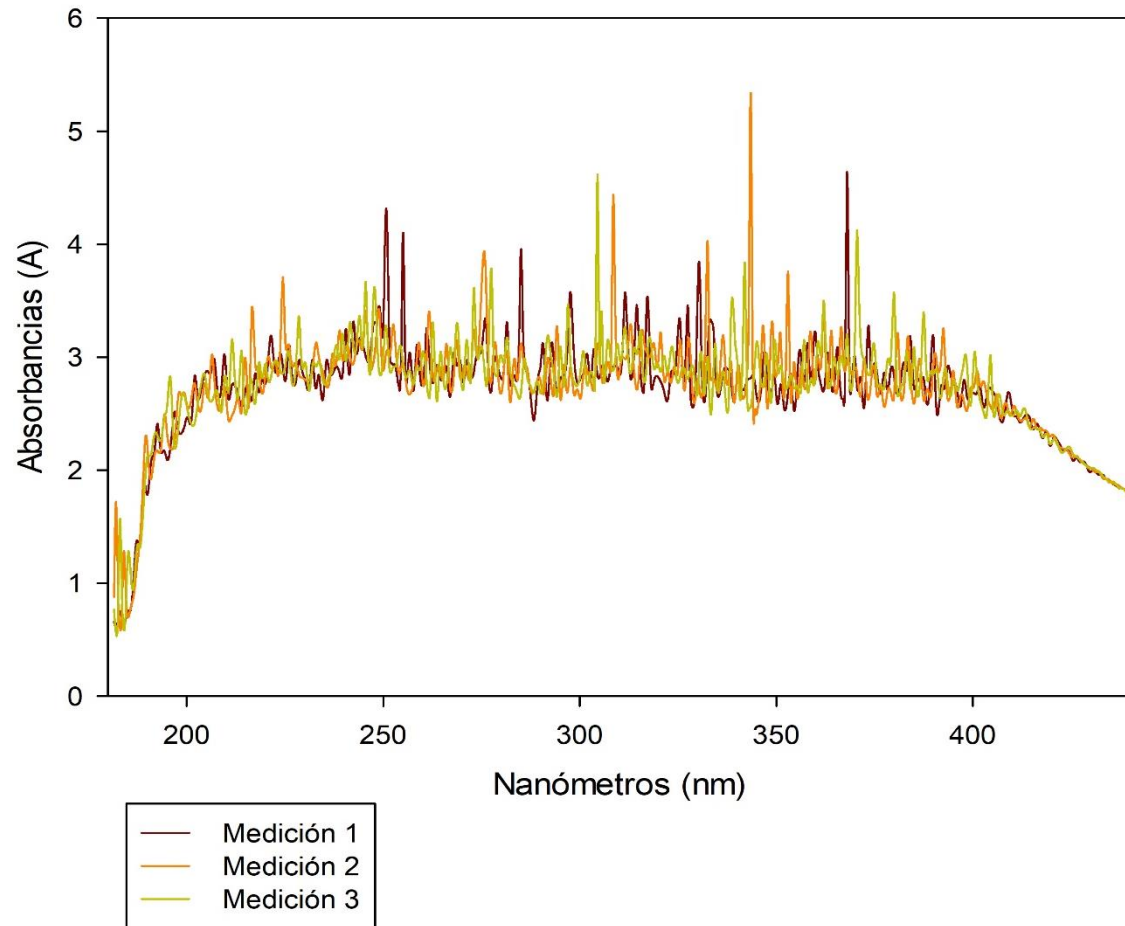
Rango de medida entre 7.9 nm y 13.1 nm



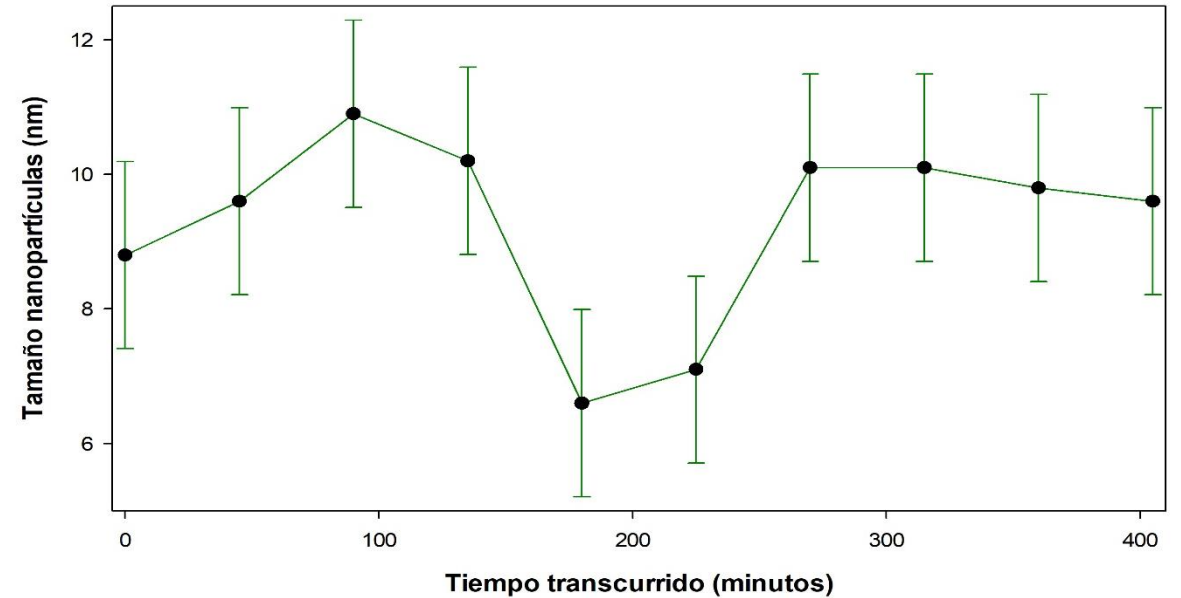
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de óxido de cobre con extracto de toronjil

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de cobre con extracto de toronjil



Tamaño promedio de 9.38nm

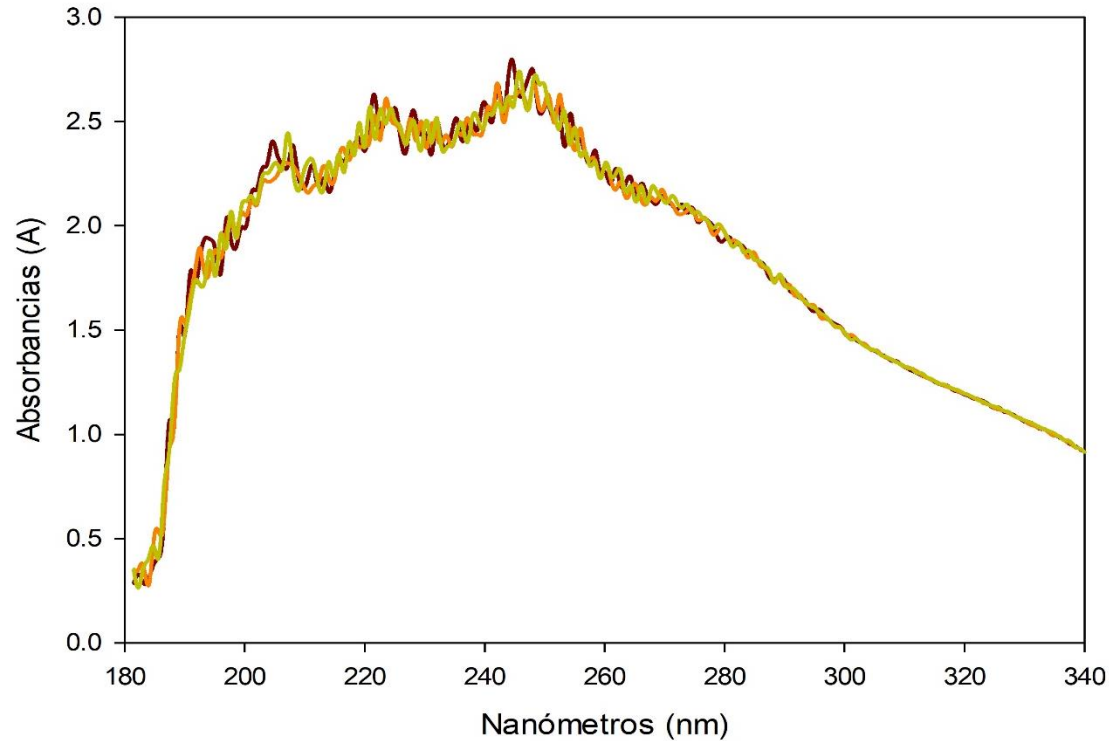
Rango de medida entre 7.1 nm y 12.1 nm



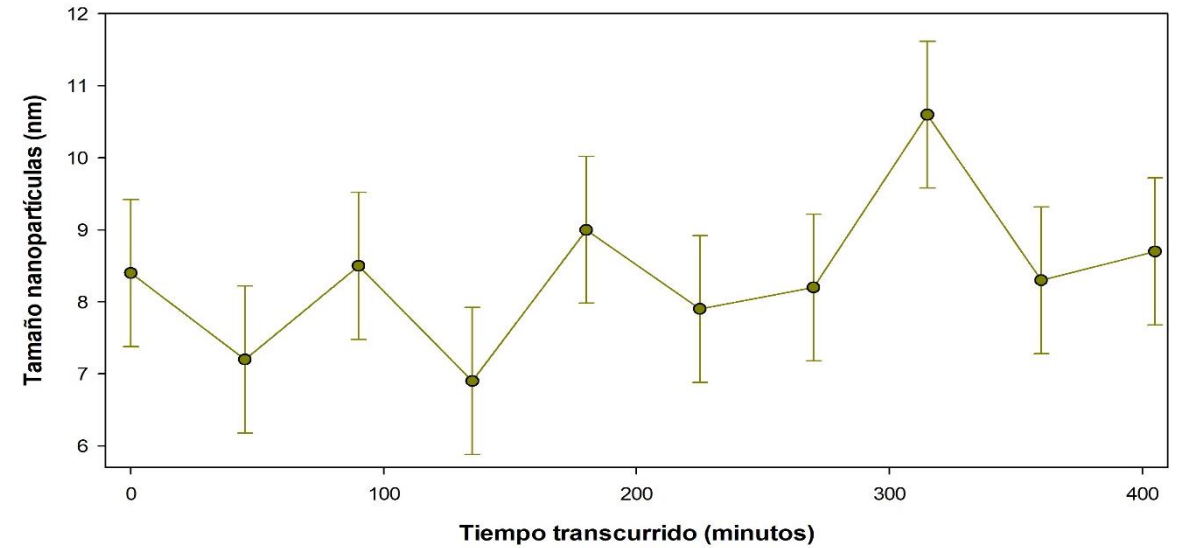
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de yoduro de cobre con extracto de ruda

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de yoduro de cobre con extracto de ruda



Tamaño promedio de
8nm

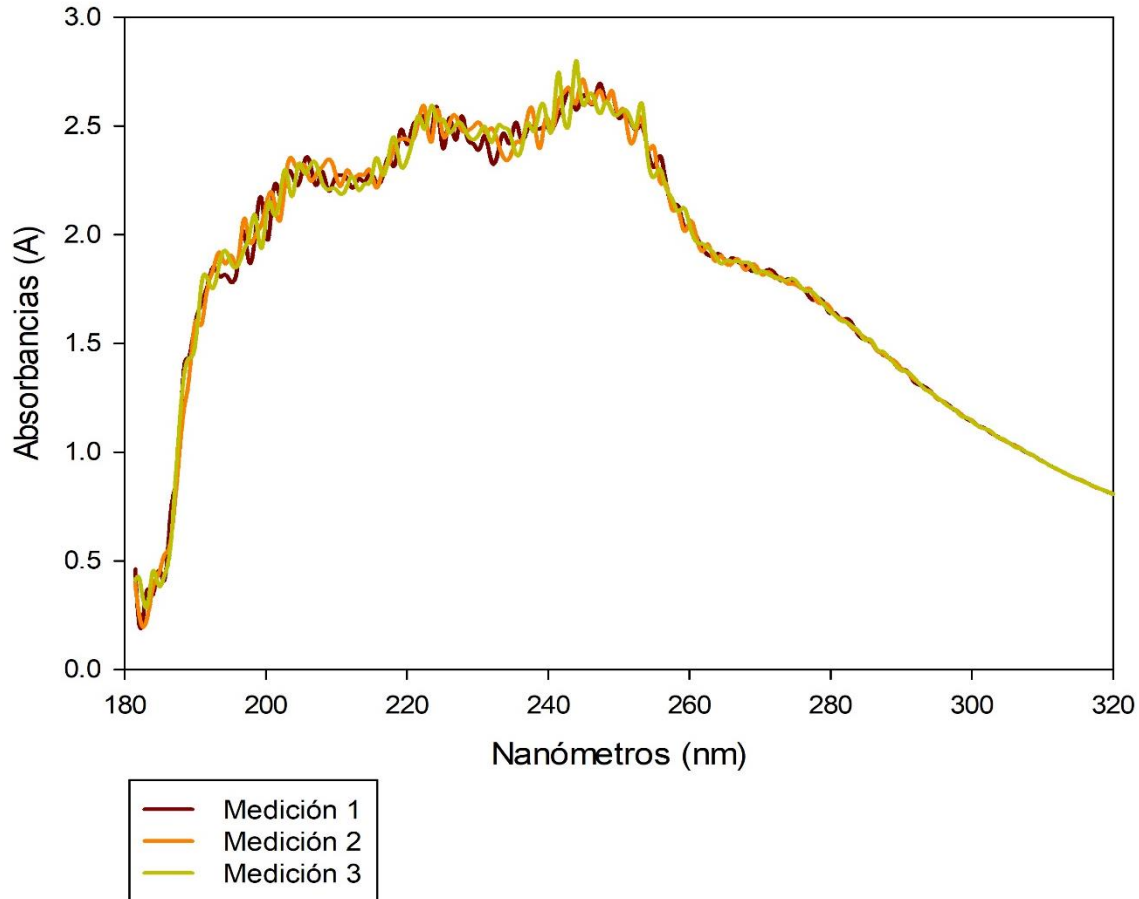
Rango de medida entre 6.9 nm
a 10.6 nm



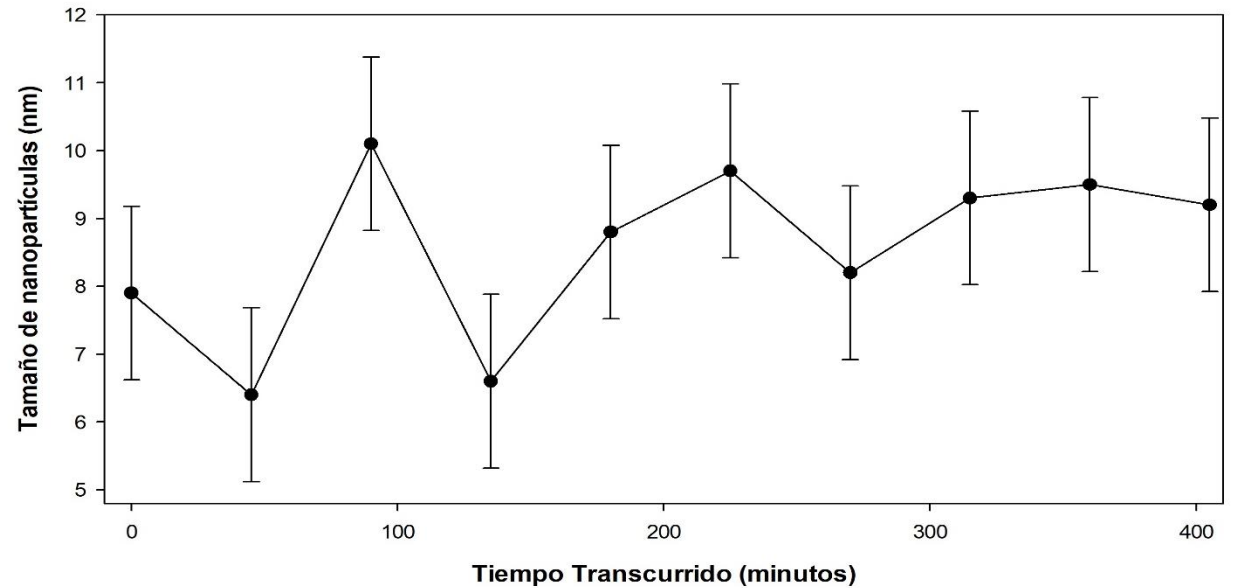
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de yoduro de cobre con extracto de santa maría

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de yoduro de cobre con extracto de santa maría



Tamaño promedio de 8.6nm

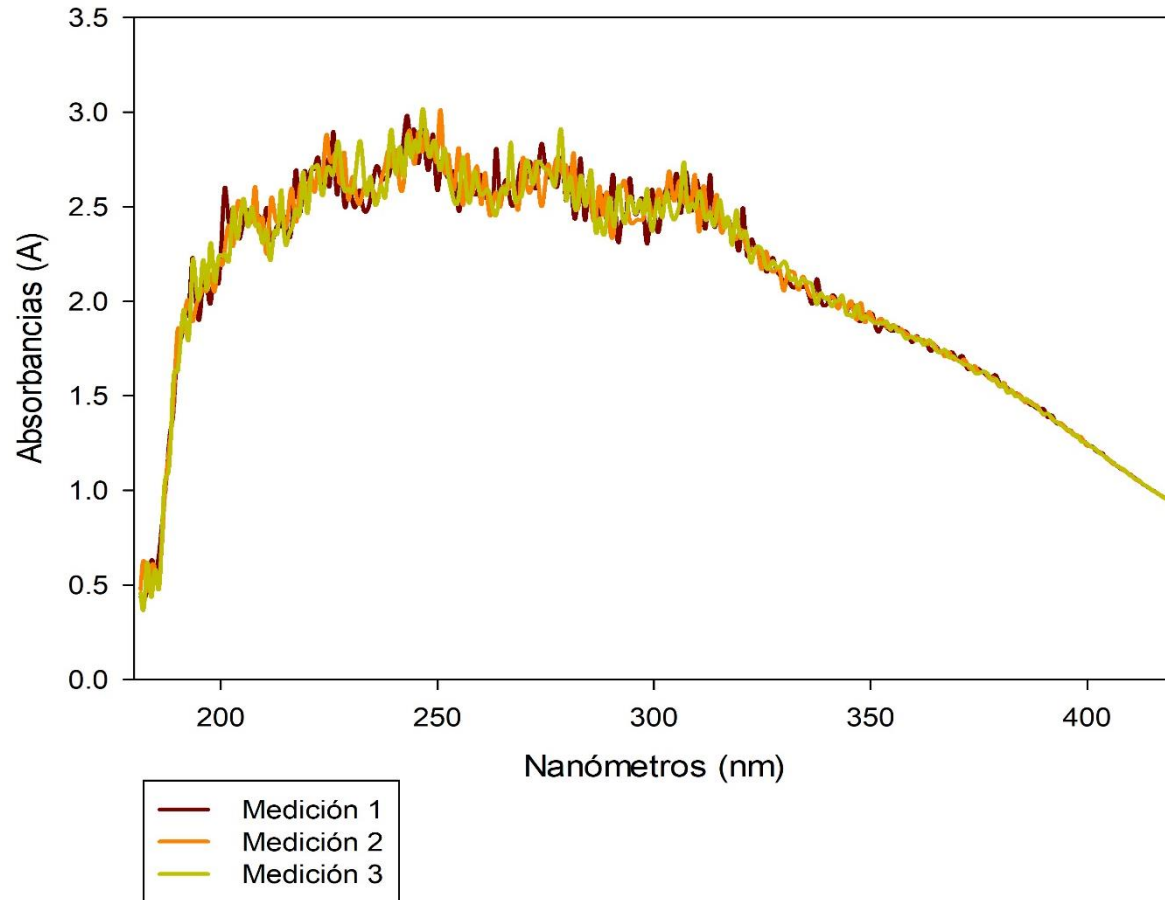
Rango de medida entre 6.4 nm a 10.1 nm



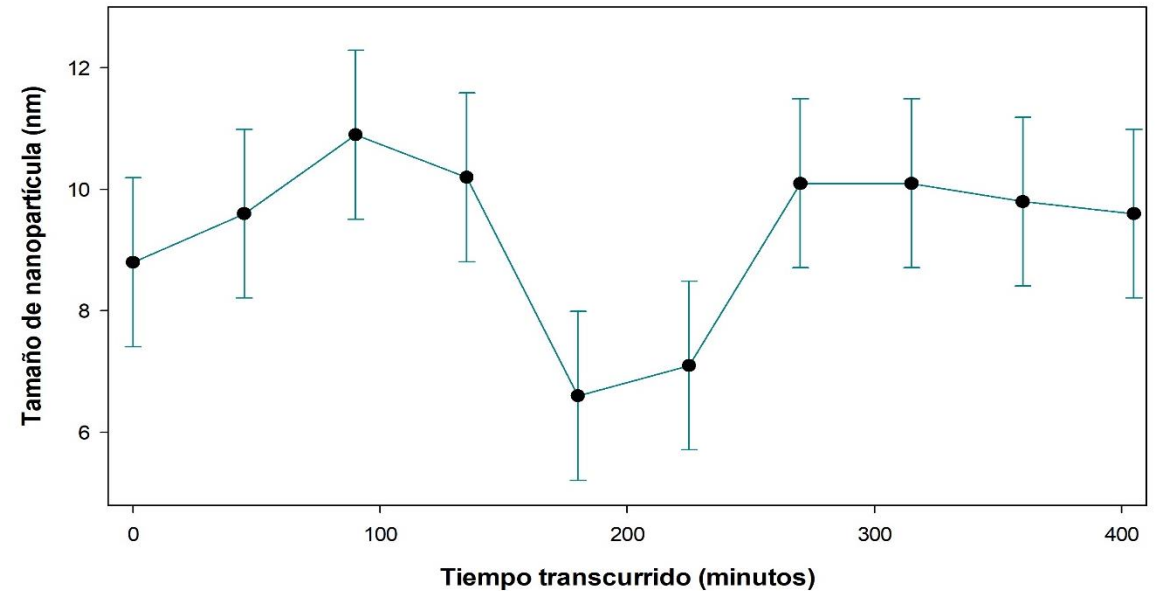
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de yoduro de cobre con extracto de toronjil

Resultados Espectro UV-VIS NPs



Cinética de estabilidad de NPs de yoduro de cobre con extracto de toronjil



Tamaño promedio
de 9 nm

Rango de medida entre 6.6 nm a
10.9 nm



CONCLUSIONES

- ❖ La extracción de compuestos polifenólicos de cada planta medicinal necesita un cierto tipo de concentración de etanol y tipo de agitación, por lo que se necesita realizar estudios previos con cada planta para seleccionar el adecuado.
- ❖ Las plantas con mayor concentración de compuestos polifenólicos fueron las mismas con mayor porcentaje de capacidad antioxidante: Ruda (*Ruta graveolens* L.), Santa María (*Tanacetum parthenium* L. Sch.Bip.) y Toronjil (*Melissa officinalis* L.).
- ❖ Todas las plantas medicinales analizadas poseen una capacidad antioxidante mayor a 50%. Lo que muchos investigadores han asociado con la razón por la cual se han usado estas plantas para la medicina ancestral.



CONCLUSIONES

- ❖ Los análisis estadísticos mostraron que existía diferencia significativa entre todos los factores de análisis, por lo que se rechaza la hipótesis nula del diseño experimental.
- ❖ Se confirmó la hipótesis del proyecto de integración curricular debido a que la síntesis de NPs de óxido de cobre y de yoduro de cobre fue posible utilizando extractos de plantas medicinales como agentes reductores y estabilizantes.



RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda que se hagan análisis estadísticos de métodos analíticos con un valor p de comparación de 0.01
- ❖ Es recomendable realizar otros análisis de las nanopartículas sintetizadas por con equipos como el Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) y el Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)
- ❖ Se recomienda la aplicación de las NPs sintetizadas en otros proyectos para probar su efectividad



AGRADECIMIENTOS



Andrés Izquierdo, Ph.D.
Director del Proyecto de Investigación

Erika Murgueitio, Ph.D.
Co-directora del Proyecto de Investigación



Carina Stael
Técnica del Laboratorio de CENCINAT



Tesistas y pasantes
Laboratorio de CENCINAT

A mis padres y hermanas

Amigas, Amigos y Sebas

