



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INGENIERÍA EN  
BIOTECNOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

## Crioconservación de ovocitos bovinos usando nanopartículas como antioxidante

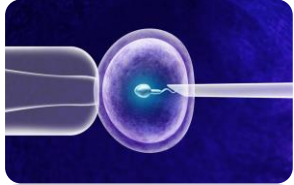
**Autor:** Máximo Adán Jiménez Artos

**Director:** Ing. Christian Orlando Camacho López Msc



# Introducción

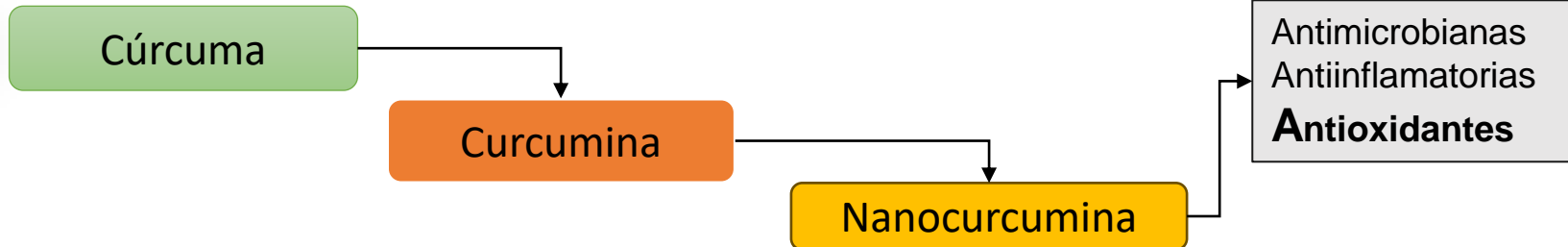
Las Técnicas de Reproducción Asistida (TRAs) han aportado significativamente al campo de la reproducción animal (Mata-Miranda & Vázquez-Zapién, 2019).



La crioconservación de ovocitos (CO) bovinos es un proceso que permite mantener las células en estado de congelación para su posterior aplicación en procesos de reproducción asistida, estudios clínicos e investigación (Tharasanit & Thuwanut, 2021).



Hasta el año 2017, las técnicas de reproducción asistida en Santo Domingo de los Tsáchilas eran relativamente bajas.



# Objetivos

## Objetivo general

- Crioconservar ovocitos usando nanopartículas como antioxidante.

## Objetivos Específicos

- Generar nanopartículas con propiedades antioxidantes.
- Extraer ovocitos de ganado bovino.
- Evaluar la efectividad de las nanopartículas como antioxidante en la crioconservación de ovocitos.

# Diseño Experimental

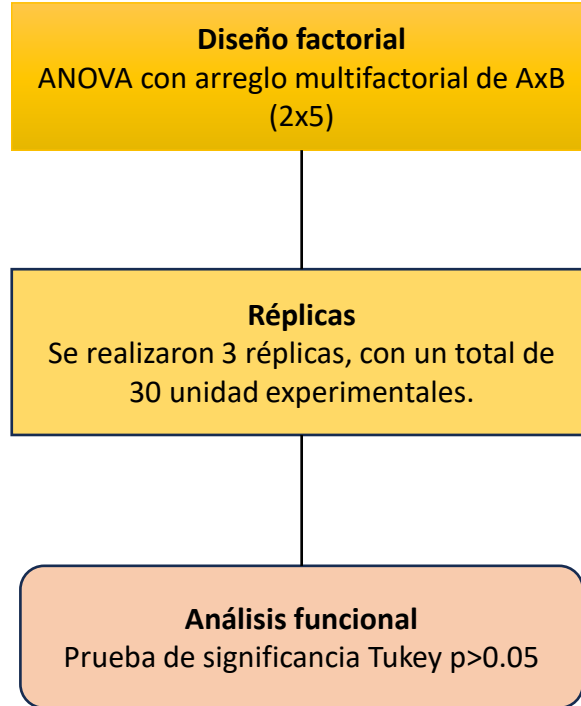
Factores	Niveles
Medio de maduración	TCM 199 1x
	MEM 10x
Nanopartículas de curcumina "NC"	Control
	5 $\mu\text{M}$
	10 $\mu\text{M}$
	20 $\mu\text{M}$
	40 $\mu\text{M}$



TCM 199 1x

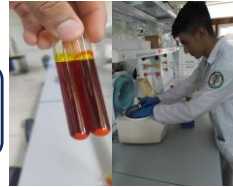
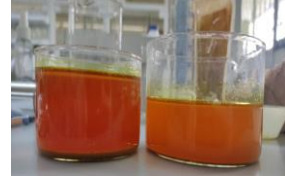
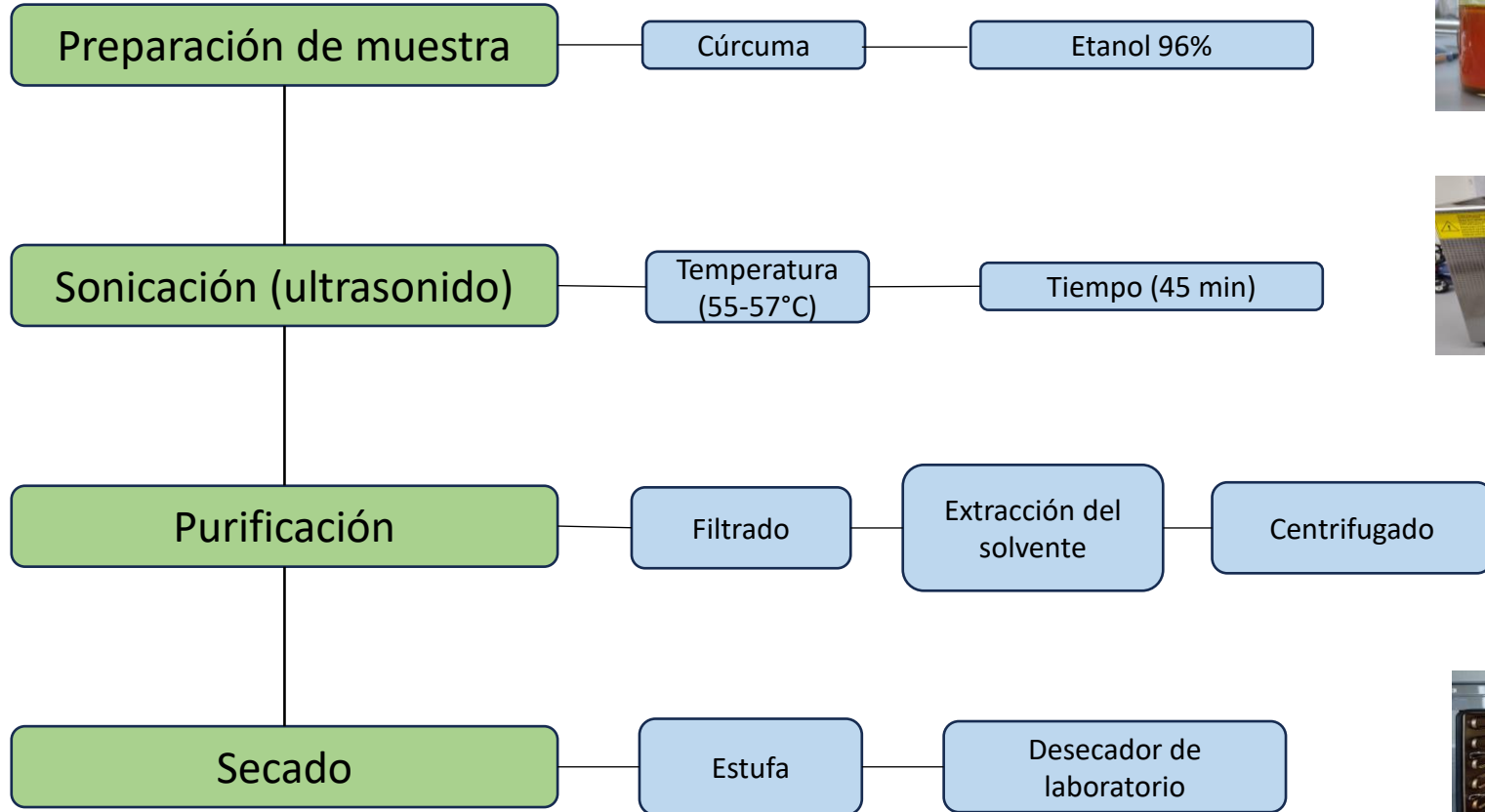


MEM 10x

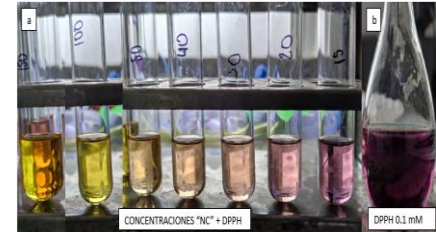
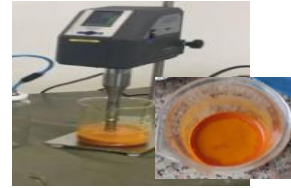
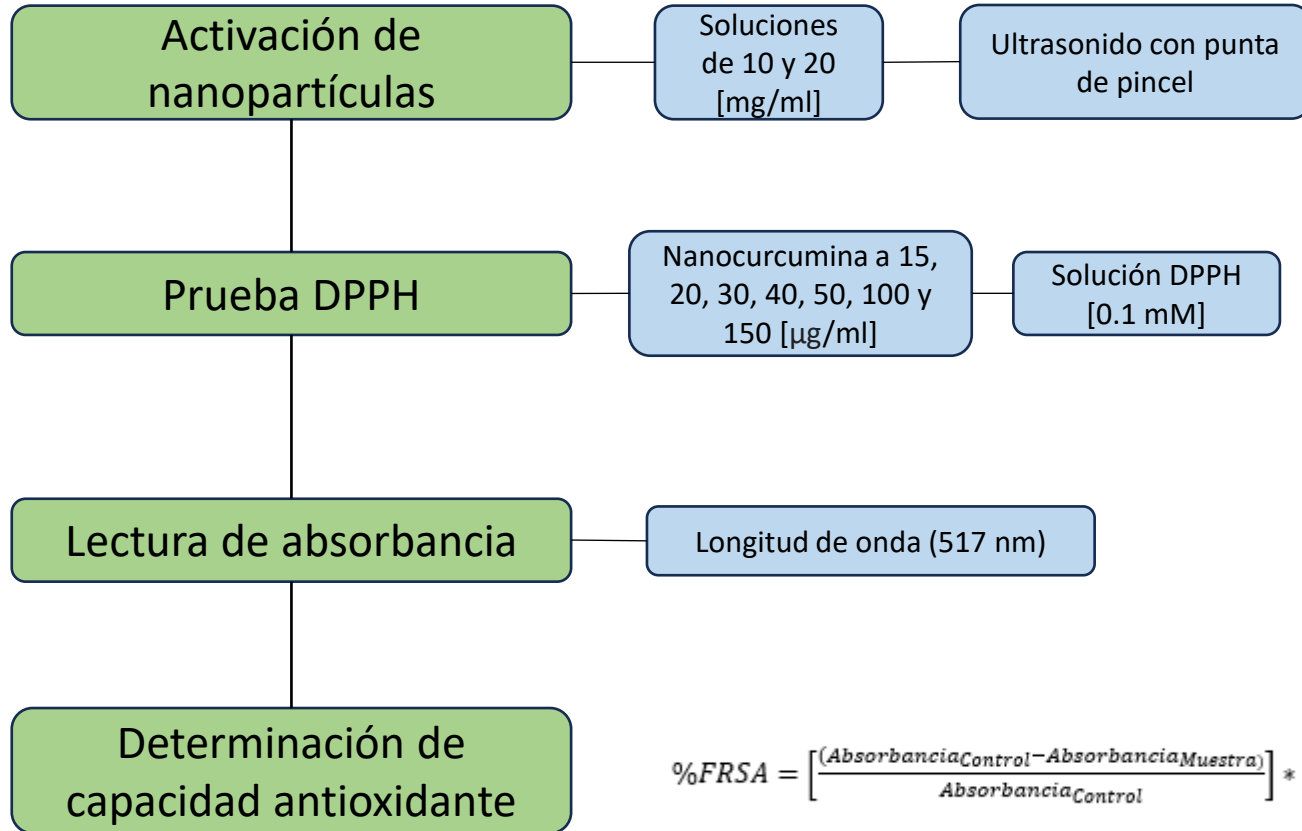


# Metodología

## Síntesis de nanocurcumina a partir de (*Curcuma longa*)



## Prueba de capacidad antioxidante de nanocurcumina mediante DPPH

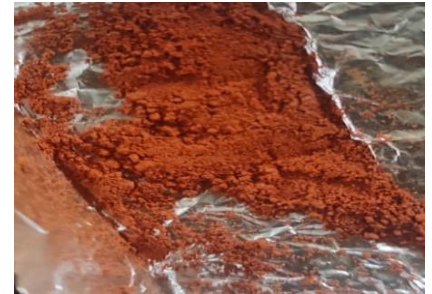
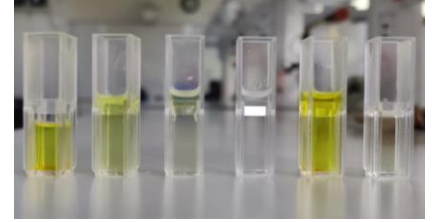
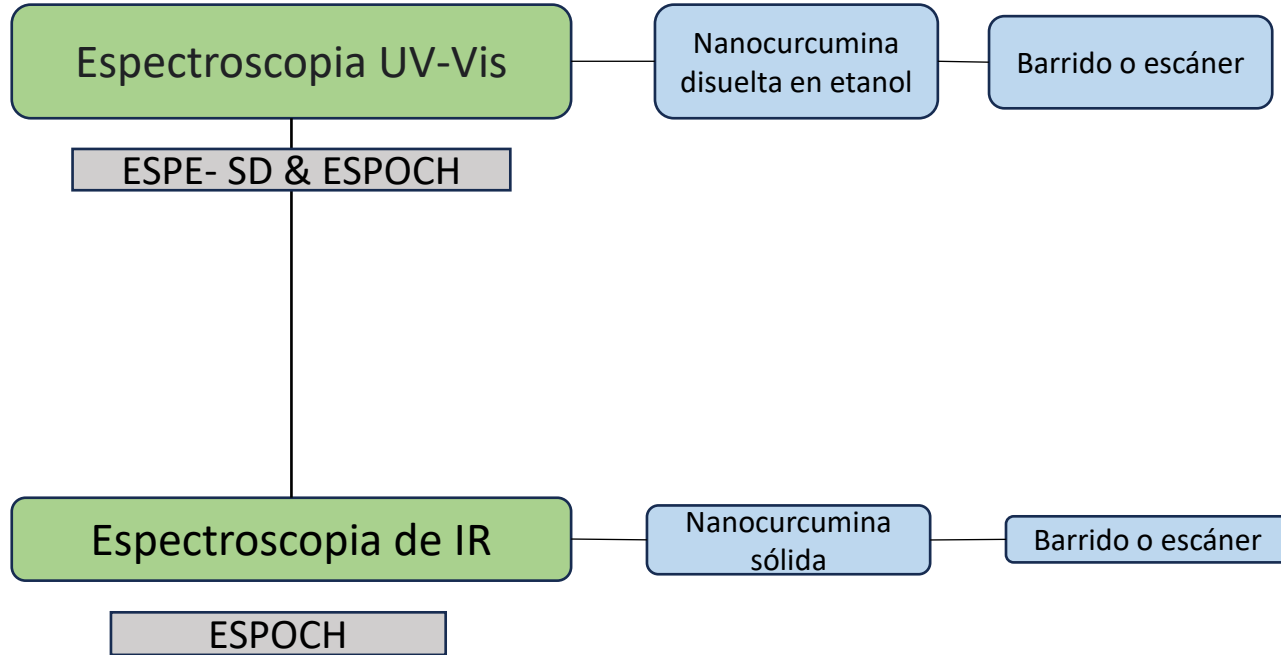


$$\%FRSA = \left[ \frac{Absorbancia_{Control} - Absorbancia_{Muestra}}{Absorbancia_{Control}} \right] * 100$$

Actividad eliminadora de radicales libres (FRSA)

# Metodología

## Caracterización de nanocurcumina



Aspiración de ovocitos

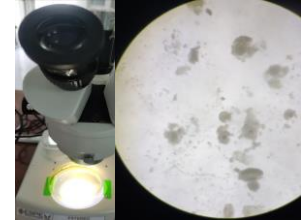
Aspiración folicular  
(5-10mm)



Lavado de ovocitos

Selección de  
ovocitos

Solución Dulbecco



Maduración

TCM 199 1x

MEM 10x

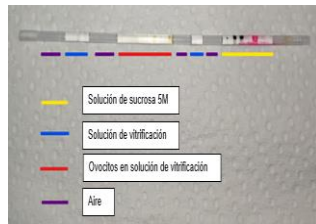
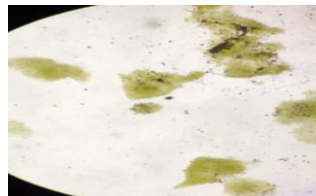
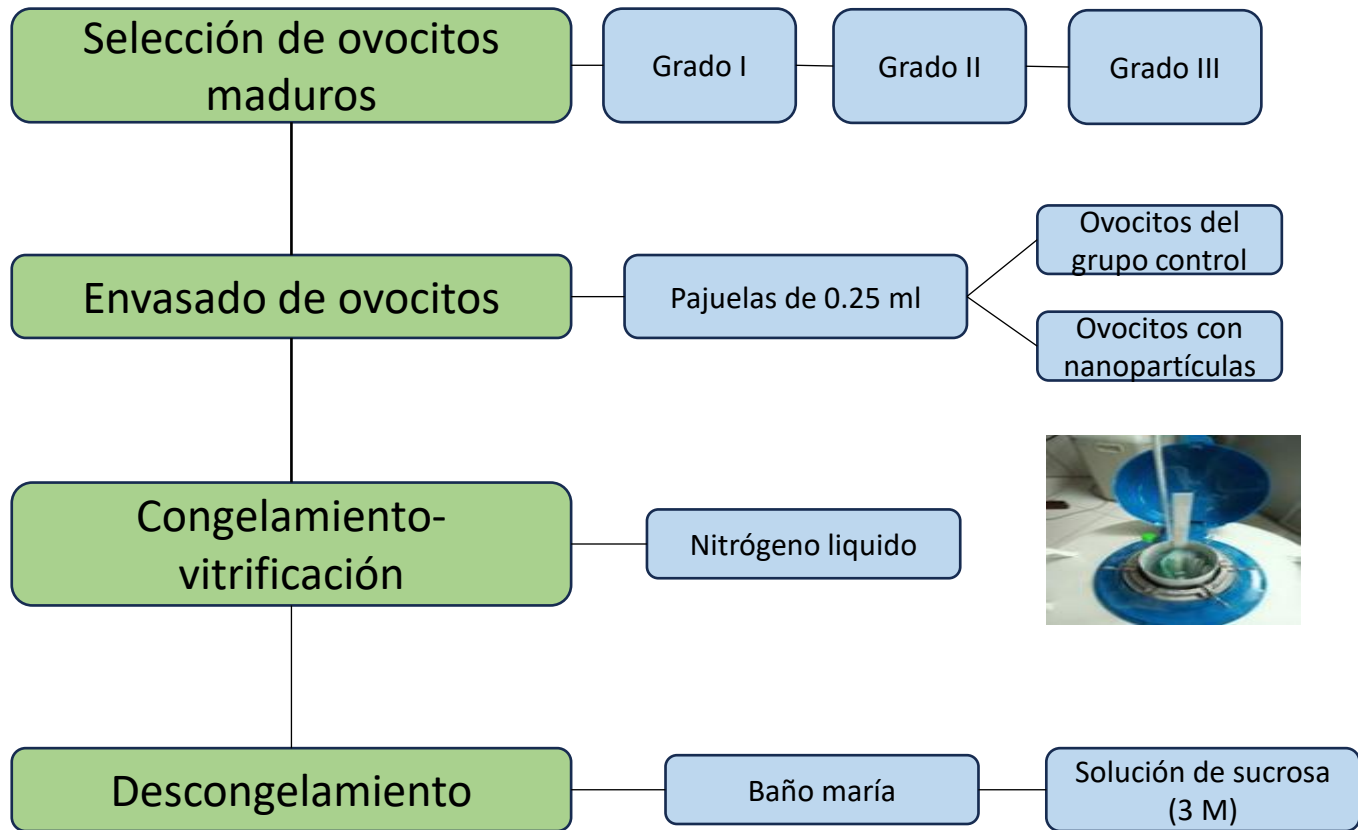
Control  
5, 10, 20, 40 [μM]





# Metodología

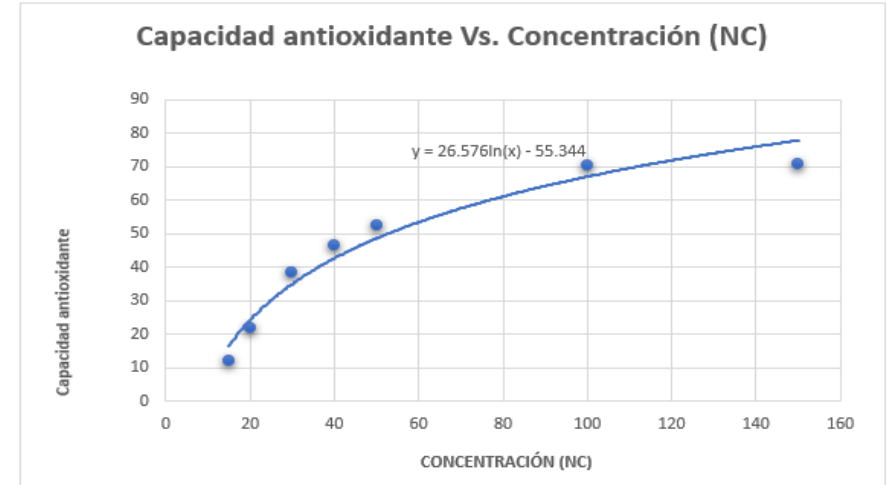
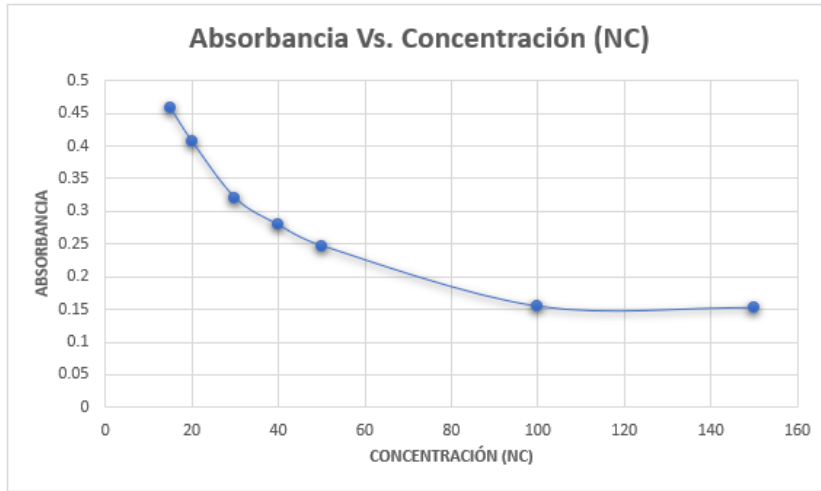
## Crioconservación de ovocitos maduros



(Guerra et al., 2012)



## Prueba DPPH



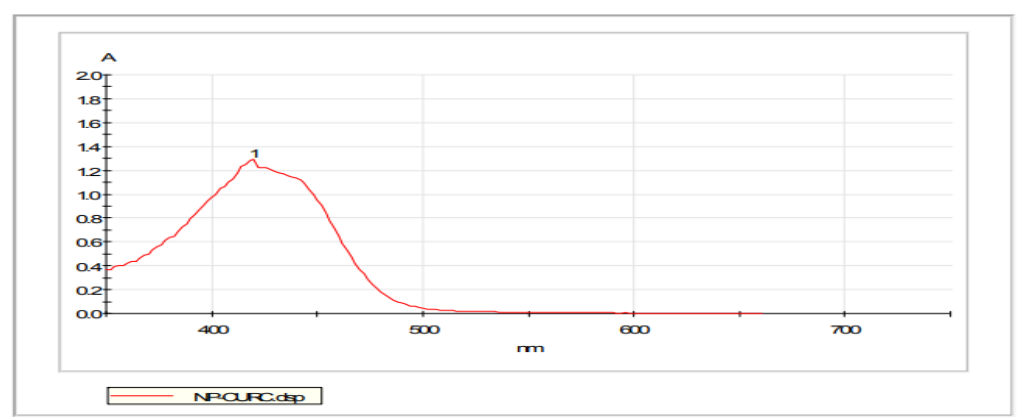
100 µg/ml = 70.38 %  
150 µg/ml = 70.77%

Saturación de los sitios de unión (Torrengre, 2014) y/o interferencia de la nanocúrcuma (López, 2020).

### Caracterización UV-Vis

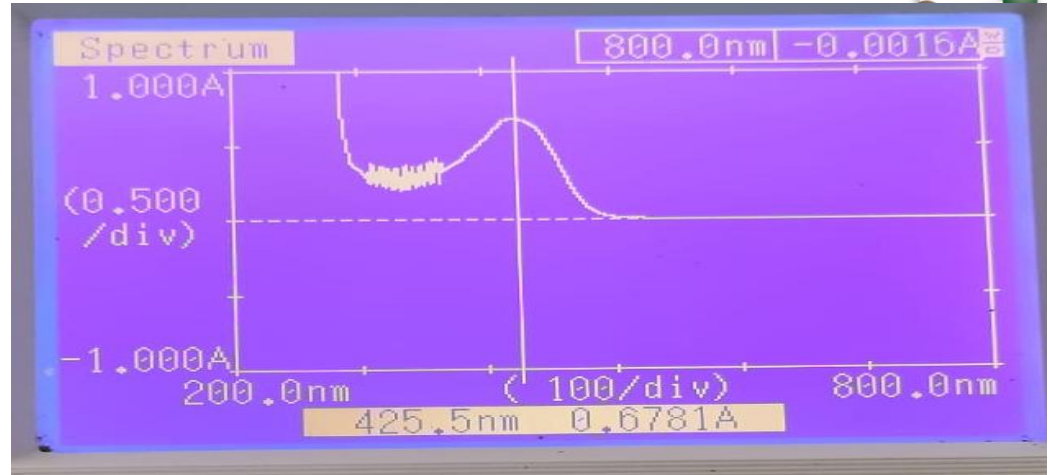
420 nm = 1.296 A  
425.5 nm = 0.681 A

De acuerdo con (Pandit et al., 2015) determina que las nanopartículas de curcumina tienen un pico de absorbancia a 419 nm. Kumar et al. (2021) demostró que el pico de absorbancia más alto de nanocurcumina se da a 435 nm.



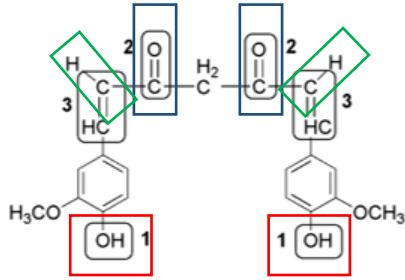
NP-CURC.dsp

Picos Umbral: 0,01 A  
1 420 nm; 1,296 A

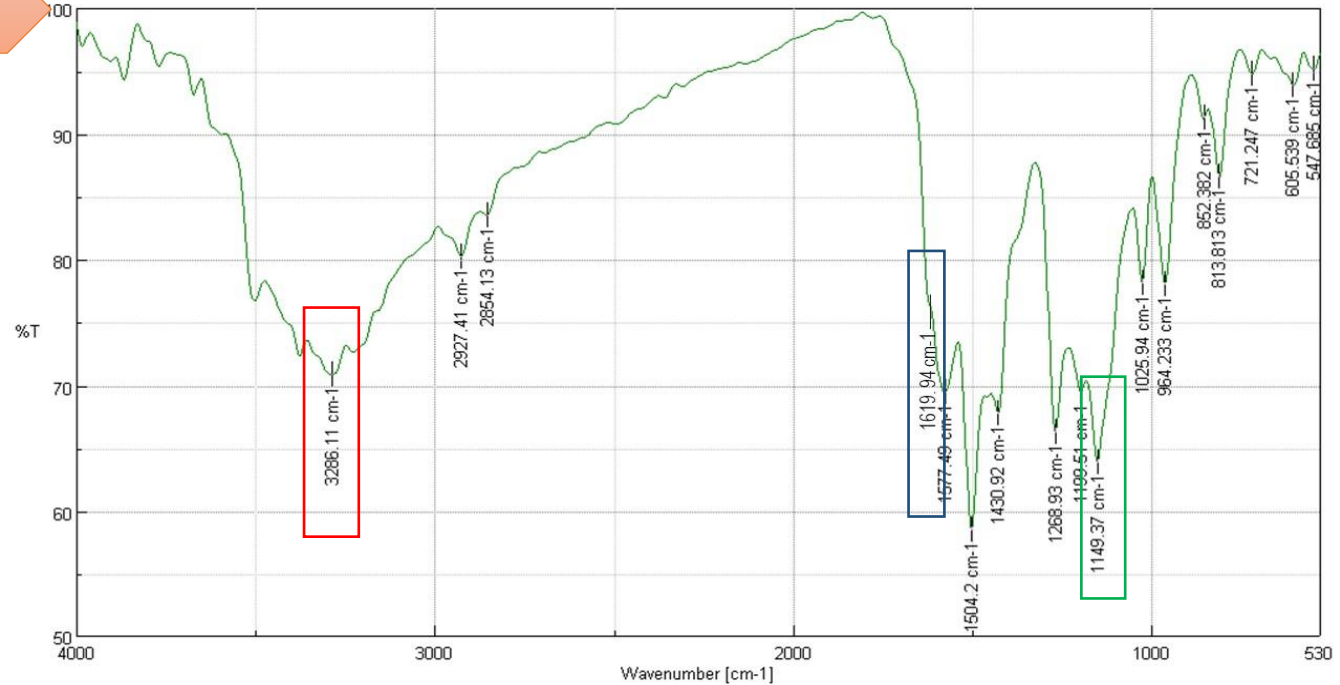


## Resultados y discusión

### Caracterización Espectroscopia IR



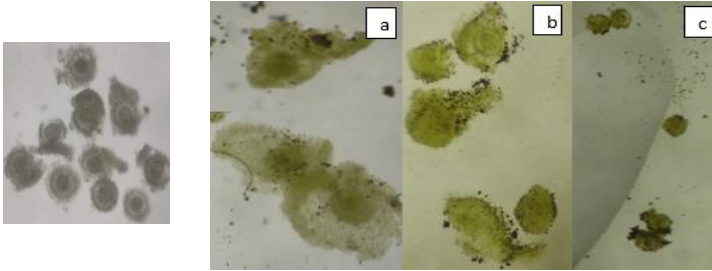
Estructura química de la curcumina  
González-Albadalejo et al. (2015)



En el análisis de infrarrojo para nanopartículas de curcumina se determinaron vibraciones de los siguientes grupos funcionales: (O-H) (hidroxilo) una vibración de **3266.11 cm<sup>-1</sup>**, enlaces (C=O) (carbonilo) una vibración en **1619.94 cm<sup>-1</sup>**, para enlace (C-H) (metilo) se muestra una vibración en **1149.37 cm<sup>-1</sup>**.

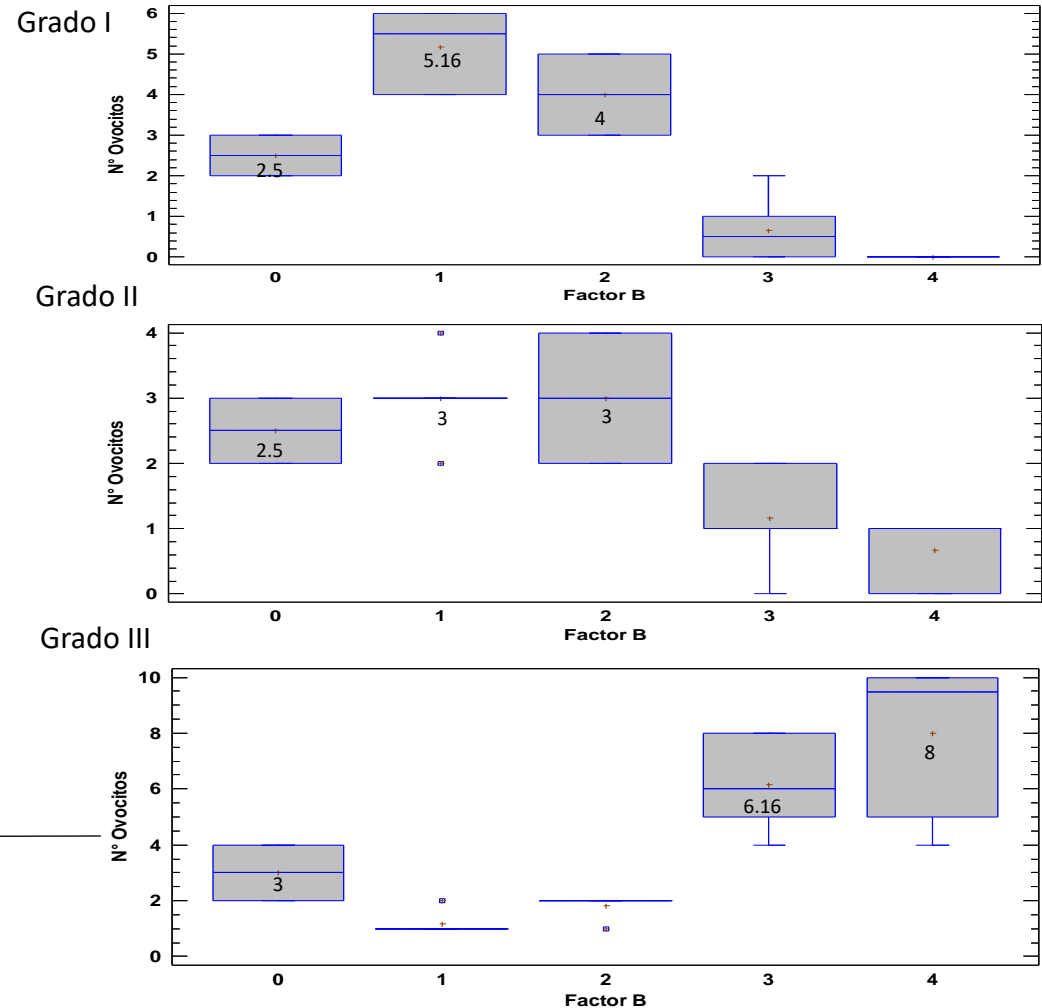
# Resultados y discusión

## Maduración de ovocitos



Grado I (a), Grado II (b), Grado III (c)

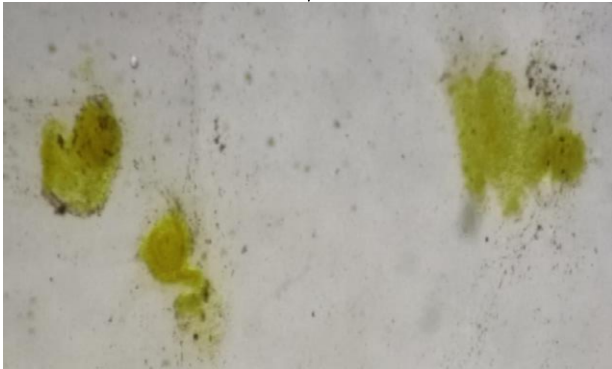
Un exceso de antioxidante en el medio de maduración de ovocitos desencadena en un desequilibrio en el ambiente redox celular, causando un efecto de estrés reductor (García-Díaz et al., 2013).



### Crioconservación de ovocitos

Se logró determinar un 90% de éxito en la crioconservación de ovocitos con nanopartículas, y un 70 % en el grupo control “sin antioxidante”, análisis de viabilidad y/o supervivencia ovocitaria basado por la integridad de las células del cumulus oophorus y la completitud nuclear.

Daños en ovocitos post descongelación



Nanopartículas



Control

## Conclusiones

- En base al análisis y experimentación se concluye que el método de ultrasonido para la obtención de nanopartículas de curcumina (NC) fue exitoso, y con la prueba de DPPH se demostró su capacidad antioxidante.
- La aspiración folicular de ovocitos bovinos se observó con éxito en los folículos de 5 a 10 mm, teniendo en cuenta que el promedio en la obtención de ovocitos por ovario es de 1.028, por lo que se concluye que la técnica y proceso fueron satisfactorios.
- En cuanto a la crioconservación de los ovocitos bovinos el uso de nanopartículas contribuyó a tener una mayor tasa de éxito (20% más) frente al grupo control, para lo cual también se analizó las diferentes concentraciones de NC en la maduración por lo que se determinó 52,92 % para ovocitos de Grado I y II, mientras un 47,08% de ovocitos de Grado III.

## Recomendaciones

- Probar más concentraciones cercanas a las indicadas con mayor tasa de maduración de ovocitos, hasta llegar a una concentración adecuada.
- Evaluar la efectividad de las nanopartículas en etapas posteriores como fecundación de ovocitos, para la producción *in vitro* de embriones.





# ¡Muchas Gracias!



EMPRESA PÚBLICA  
MANCOMUNADA DEL  
TRÓPICO HÚMEDO

EJECUCIÓN DE  
SERVICIO DE  
INSPECCIÓN SANITARIA  
EN CAMALES PRIVADOS  
DE SANTO DOMINGO



# Fuentes bibliográficas

- García-Díaz, J. R., Romero-Aguirregomezcorra, J., Astiz Blanco, S., & Ruiz López, S. (2013). Adición de sustancias antioxidantes en los medios de cultivo empleados en la producción in vitro de embriones en mamíferos. *35*(1), 10-19. <https://doi.org/http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v35n1/rsa02113.pdf>
- González- Albadalejo, J. S. (2015). Curcumin and curcuminoids: chemistry, structural studies and biological. *81*(4), 278-310.
- Guerra, R., Solís, A., Sandoya, G., & de Armas, R. (2012). Evaluación de tres protocolos de criopreservación de embriones bovinos obtenidos in vivo e in vitro. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, *13*(10), 8.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, *70*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- López, A. M. (2020). Uso de la nanotecnología para optimizar la biodisponibilidad. <https://doi.org/https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/3435/SSIT0016351.pdf?isAllowed=y&sequence=1>
- Mata-Miranda, M. M., & Vázquez-Zapién, G. J. (2019). *La fecundación in vitro: Louise Brown, a cuatro décadas de su nacimiento*. Scielo: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-696X2018000400363#:~:text=La%20historia%20de%20la%20FIV,llev%C3%B3%20a%20cabo%20con%20C3%A9xito](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-696X2018000400363#:~:text=La%20historia%20de%20la%20FIV,llev%C3%B3%20a%20cabo%20con%20C3%A9xito).
- Pandit, R. S. (2015). Curcumin nanoparticles: physico-chemical fabrication and its in vitro efficacy against human pathogens. *3 Biotech*, *5*(6), 991–997. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13205-015-0302-9>
- Tharasanit, T., & Thuwanut, P. (2021). *Criopreservación de ovocitos en animales domésticos y humanos: principios, técnicas y resultados actualizados*. MDPI: <https://doi.org/10.3390/ani11102949>
- Torrenegra, M. (2014). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL FOLIAR EXTRAÍDO DE ESPECIES DE OREGANO (*Origanum vulgare*), OREGANO “BORDE BLANCO” (*Origanum vulgare* ssp) Y OREGANITO (*Lippia alba* mill) CULTIVADO EN LA ZONA NORTE DEL DEPARTAMENTO DE BOLÍVAR (CO). <https://doi.org/https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/75164/45506760.2014.pdf?isAllowed=y&sequence=1>