



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Tema: Caracterización de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de las plantas
Begonia semperflorens y *Begonia x hiemalis*.

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Over David Reyes Zambrano

Tutor: PhD. Santiago Casado Rojo

Ambato-Ecuador

Septiembre - 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Santiago Casado Rojo

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la Modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 29 de junio de 2023.

PhD. Santiago Casado Rojo

C.I. 1759126954

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Reyes Zambrano Over David, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Over David Reyes Zambrano

C.I. 1722249693

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, a que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de éste, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Over David Reyes Zambrano

C.I. 1722249693

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el cual ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente de Tribunal

Ing. Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

C.I. 1802726628

PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria

C.I. 1802142461

Ambato, 25 de julio de 2023

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a mi madre, se lo mucho que se ha esforzado para que yo pueda cumplir este logro, de igual forma a mi abuela que ha sido como mi segunda madre desde un inicio y es de las personas que más quiero en este mundo y a mi padre que siempre me ha impulsado para mejorar.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a cada una de las personas que he conocido hasta este punto, a mi familia que siempre estuvo cuando más los necesité, a mis amigos que estuvieron presentes en los momentos que más difíciles y a mi tutor de tesis que sin su visión no hubiera logrado trabajar en esta investigación.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	x
RESUMEN EJECUTIVO	xi
ABSTRACT	xii
CAPITULO I	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Introducción	1
1.2 Antecedentes	2
1.3 Begonias	3
1.3.1 Begonia semperflorens y Begonia x hiemalis	3
1.4 Nanotecnología.....	4
1.5 Caracterización nanoscópica de los pétalos de las Begonias mediante Microscopia de Fuerza Atómica.....	5
1.5.1 Modo Contacto.....	6
1.5.2 Modo PinPoint.....	6
1.5.2.1Fuerza de Adhesión.....	7

1.6	Ángulo de Contacto.....	7
1.7	Objetivos	8
1.7.1	Objetivo General	8
1.7.2	Objetivos Específicos.....	8
CAPÍTULO II		9
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
2.1	Materiales	9
2.1.1	Materiales de laboratorio	9
2.1.2	Equipos.....	9
2.2	Métodos	10
2.2.1	Recolección de la muestra.....	10
2.2.2	Preparación de la muestra.....	10
2.2.3	Observación de las muestras con el microscopio óptico	10
2.2.4	Microscopio de fuerza atómica	11
2.2.4	Medición del ángulo estático de contacto	11
CAPÍTULO III.....		12
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
3.1	Análisis de la superficie de los pétalos de las plantas Begonia semperflorens y Begonia x hiemalis mediante la microscopía óptica.	12
3.2	Análisis nanoscópico de la superficie de los pétalos de las plantas Begonia x hiemalis y Begonia semperflorens mediante microscopía de fuerza atómica.....	13
3.3	Análisis del ángulo estático de contacto de los pétalos de las plantas Begonia semperflorens y Begonia x hiemalis.	17
3.4	Análisis de la fuerza de adhesión de los pétalos de las plantas Begonia semperflorens y Begonia x hiemalis mediante el modo PinPoint.	19
CAPITULO IV.....		23

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	23
4.1 Conclusiones	23
4.2 Recomendaciones.....	24
Bibliografía	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ángulo de contacto estático de los pétalos de plantas <i>Begonia semperflorens</i> y <i>Begonia x hiemalis</i>	29
Tabla 2. Fuerza de adhesión de los pétalos de plantas <i>Begonia semperflorens</i>	31
Tabla 3. Fuerza de adhesión de los pétalos de plantas <i>Begonia x hiemalis</i>	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los pétalos de <i>Begonia x hiemalis</i> (a) y <i>Begonia semperflorens</i> (b); mediante microscopia óptica Lente 4x.....	25
Figura 2. Imagen 2D de la nanoestructura y de las líneas de perfil a lo largo de las líneas superpuestas en las micrografías, de los pétalos de <i>Begonia x hiemalis</i> Zona A, Zona B, Zona C y Zona D.....	27
Figura 3. Imagen 2D de la nanoestructura y de las líneas de perfil a lo largo de las líneas superpuestas en las micrografías, de los pétalos de <i>Begonia semperflorens</i> Zona A, Zona B, Zona C y Zona D.....	28
Figura 4. Imagen 2D de la nanoestructura de los pétalos de <i>Begonia semperflorens</i> (1) y <i>Begonia x hiemalis</i> (2), A (topografía), B (fuerza de adhesión).	34

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparación de los ángulos de contacto de agua en pétalos de <i>Begonia semperflorens</i> y <i>Begonia x hiemalis</i> mediante un gráfico de cajas y bigotes.	30
--	----

RESUMEN EJECUTIVO

Este estudio se centra en la caracterización de las propiedades a nanoescala de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*, con el objetivo de comprender su relevancia en la biomimética y el desarrollo de soluciones innovadoras.

Se utilizó el microscopio de fuerza atómica (AFM) para analizar la topografía de las nanoestructuras presentes en los pétalos. Además, se realizaron análisis ópticos y mediciones del ángulo de contacto para investigar las propiedades hidrofóbicas de los pétalos.

Se observaron diferencias estructurales significativas entre las especies estudiadas. Los pétalos de *Begonia x hiemalis* presentaron surcos alargados, mientras que los de *Begonia semperflorens* mostraron una estructura densa con bordes sinuosos y de menor tamaño. Estas diferencias se reflejaron en las mediciones del ángulo de contacto, con los pétalos de *Begonia x hiemalis* siendo altamente hidrofóbicos (ángulo de contacto promedio de 124.622) y los de *Begonia semperflorens* más hidrofílicos (ángulo de contacto promedio de 86.473). Estos hallazgos resaltan la diversidad y complejidad de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de *Begonia*, lo cual tiene implicaciones en la biomimética y el desarrollo de materiales y tecnologías inspiradas en la naturaleza. Este estudio proporciona una base sólida para futuras investigaciones en la caracterización de nanoestructuras en plantas, con potencial aplicación en diversos campos científicos y tecnológicos.

Palabras clave: Nanotecnología aplicada, Nanomateriales, Biomimética, Plantas Ornamentales, *Begonia x hiemalis*, *Begonia semperflorens*.

ABSTRACT

This study focuses on the characterization of nano-scale properties of the petals of *Begonia semperflorens* and *Begonia x hiemalis* plants, aiming to understand their relevance in biomimetics and the development of innovative solutions.

Atomic Force Microscopy (AFM) was employed to analyze the topography of nanostructures present on the petals. Additionally, optical analyses and contact angle measurements were conducted to investigate the petals' hydrophobic properties.

Significant structural differences were observed between the studied species. *Begonia x hiemalis* petals displayed elongated grooves, while *Begonia semperflorens* petals exhibited a denser structure with smaller and sinuous edges. These differences were reflected in the contact angle measurements, with *Begonia x hiemalis* petals being highly hydrophobic (average contact angle of 124.622) and *Begonia semperflorens* petals being more hydrophilic (average contact angle of 86.473). These findings highlight the diversity and complexity of nanoscale properties in *Begonia* petals, with implications in biomimetics and the development of nature-inspired materials and technologies. This study provides a solid foundation for future research in the characterization of nanostructures in plants, with potential applications in various scientific and technological fields.

Keywords: Applied Nanotechnology, Nanomaterials, Biomimetics, Ornamental Plants, *Begonia x hiemalis*, *Begonia semperflorens*.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción

Las plantas han sido una fuente de inspiración para muchos avances científicos y tecnológicos en el mundo actual. La caracterización de sus propiedades nanoscópicas es una de las áreas de investigación con un elevado potencial, pues permite dar una posible explicación a muchas de las propiedades macroscópicas que experimentan estas plantas. En particular, probablemente uno de los fenómenos de mayor interés consistiría en la interacción de la superficie con la adherencia del agua líquida (hidrofobicidad o hidrofiliidad), lo cual puede estar correlacionado con la nanoestructura superficial de la planta (**Almote, y otros, 2021**). En este estudio, se investigarán las propiedades nanoscópicas de las hojas de los pétalos de dos especies de Begonia: *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*. A pesar de que estas dos especies pertenecen al mismo género, se ha observado que presentan diferencias en su interacción con el agua, lo que sugiere que sus propiedades nanoscópicas también podrían ser diferentes. Por lo tanto, se ha explorado la posibilidad de que estas diferencias en la interacción con el agua estén relacionadas con las propiedades nanoscópicas de sus pétalos.

La comprensión de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de estas plantas puede tener implicaciones significativas en la investigación de materiales biomiméticos y la creación de superficies auto-limpiantes y antiadherentes (**Jiménez Chavarría, Rodríguez Arrieta, Salas Fumero, & Renata Salazar, 2016**). Según esta investigación, las hojas de ciertas especies de plantas tienen propiedades nano-estructurales únicas que les permiten repeler líquidos y partículas, lo que podría tener aplicaciones en la industria alimentaria, médica y de materiales (**Cheng, Rodak, Wong, & Hayden, 2006**). Por lo tanto, el estudio de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x*

hiemalis podría contribuir a la investigación de nuevos materiales biomiméticos con propiedades de autolimpieza o de anti-adherencia.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo principal la caracterización de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*. Para ello, se emplearán, entre otras, las técnicas de microscopía de fuerza atómica (AFM) y de microscopía óptica para obtener información detallada sobre la topografía y la estructura de la superficie de los pétalos de estas plantas. Además, se utilizará una técnica de ángulo de contacto para evaluar su comportamiento y afinidad con el agua. Se espera que los resultados de este estudio contribuyan a la comprensión de la relación entre la estructura nanoscópica y las propiedades hidrofóbicas de los pétalos de estas plantas, y que puedan ser utilizados en el diseño de superficies biomiméticas y en la creación de materiales avanzados de utilidad en el campo de la Bioquímica.

1.2 Antecedentes

Los estudios de nanotecnología aplicados a la biología han permitido avanzar en la comprensión de la estructura y función de diversos sistemas biológicos, incluyendo las plantas (**Armendaris-Barragán & Galindo-Rodríguez, 2018**). En particular, la caracterización de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de las plantas ha sido objeto de interés en los últimos años debido a su relevancia en la comprensión de la relación entre la estructura y las propiedades de las plantas, así como en la identificación de posibles aplicaciones en la industria farmacéutica y de materiales (**Chen, y otros, 2019**).

La estructura nanoscópica de los pétalos de rosa roja, compuesta por micropapilas y nanopliegues, otorga una alta hidrofobicidad y fuerza adhesiva con el agua (**Feng, y otros, 2008**) (**Almote, y otros, 2021**). Este efecto, conocido como el efecto “pétalo de rosa”, ha inspirado la creación de materiales biomiméticos con nanoestructuras similares. Por ejemplo, en un estudio se fabricaron dos tipos de estructuras artificiales, mallas de fibrillas y microcolinas de fibrillas, que imitan la estructura del pétalo de rosa, y se compararon

con la superficie real del pétalo. Los resultados mostraron que la superficie artificial imita el comportamiento de humectación del pétalo de rosa, siendo hidrofóbico y pegajoso a la vez a las gotas de agua (Tsai & Shih, 2012).

Sin embargo, aún se requiere investigar más en relación con la caracterización de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de las plantas, y en particular de las *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*. La diversidad en la forma y color de los pétalos de estas plantas sugiere que podrían presentar diferentes comportamientos hidrofóbicos. Por tanto, resulta relevante realizar una caracterización detallada de estas propiedades en estas especies de plantas, lo que podría contribuir a la comprensión de la relación entre la estructura y las propiedades de las plantas, así como a la identificación de nuevas aplicaciones en la industria farmacéutica y de materiales.

1.3 Begonias

Las begonias son un género de plantas angiospermas pertenecientes a la familia *Begoniaceae*, que se caracterizan por presentar una gran diversidad morfológica y cromática, Las begonias son muy apreciadas como plantas ornamentales debido a su atractiva apariencia y su facilidad de cultivo en interiores y exteriores (Mlcek, y otros, 2021). Las begonias tienen una gran importancia en la industria de la floricultura y en la producción de flores cortadas, siendo consideradas una de las plantas más populares y comerciales en el mercado global de flores (Demasi, Falla, Caser, & Scariot, 2020).

1.3.1 *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*

La *Begonia semperflorens* es una planta herbácea, redonda y de aspecto arbustivo, siendo la especie más común del género *Begonia* originaria de Brasil. Esta planta es conocida por sus flores rojas cobrizas que permanecen abiertas durante las cuatro estaciones del año, lo que permite un largo periodo de observación (Hirutani, y otros, 2020).

La *Begonia x Hiemalis* es un híbrido de *Begonia* que florece en invierno y se originó en 1883 a partir de cruces entre *Begonia socotrana* y *Begonia x tuberhybrida* por Vietch y Sops. Esta variedad tiene una ascendencia principalmente sudamericana y se caracteriza por presentar una amplia gama de morfologías florales muy vistosas con flores grandes de diversos colores como el blanco, amarillo, rosado y rojo claro y oscuro (**Nakajima & Goto, 2019**).

1.4 Nanotecnología

La nanotecnología es una disciplina que se enfoca en el estudio, diseño y manipulación de materiales a escala nanométrica, es decir, en el rango de tamaño de 1 a 100 nanómetros. La importancia de la nanotecnología radica en que, a esta escala, las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales son significativamente diferentes a las de los materiales a escala macroscópica, lo que les confiere propiedades y aplicaciones únicas (**Villafuerte Robles, 2009**).

En el campo de la nanotecnología, se emplean con frecuencia los llamados nanomateriales, los cuales se definen como aquellos que tienen al menos una dimensión en el rango nanométrico (**Tsotsis, 2018**). Los nanotubos de carbono, los puntos cuánticos, los nanocristales y los nanocompuestos son algunos ejemplos de nanomateriales ampliamente utilizados en la investigación y en diversas aplicaciones (**Seraphin, 2006; Barros & Villaescusa, 2011**).

La caracterización de los nanomateriales es un aspecto fundamental en la nanotecnología, ya que permite entender y controlar sus propiedades. Existen diversas técnicas de caracterización de nanomateriales, entre las que se destacan la microscopía de fuerza atómica, la microscopía electrónica y la espectroscopía de difracción de rayos X, entre otras (**Berlanga Mora, 2013**).

1.5 Caracterización nanoscópica de los pétalos de las Begonias mediante Microscopía de Fuerza Atómica

La caracterización nanoscópica de los pétalos de las Begonias es fundamental para comprender su estructura y propiedades a escala nanométrica. Las técnicas de caracterización nanoscópica permiten el análisis de la topografía, composición, morfología y propiedades mecánicas de los pétalos a nivel nanoscópico.

Una de las técnicas de caracterización nanoscópica más utilizadas es la microscopía de fuerza atómica (AFM). El AFM permite obtener imágenes de la superficie de los pétalos con una resolución en el rango de los nanómetros, así como medir la rigidez, elasticidad, fuerza de adhesión entre otras propiedades mecánicas, en la superficie en función del modo de medida que se use (**Goksu, Vanegas, Blanchette, Lin, & Longo, 2008**). La técnica consiste en escanear la superficie de la muestra con una punta que posee un radio de unos pocos nanómetros en el extremo, lo que permite explorar las superficies con una resolución nanoscópica (**Krieg, y otros, 2018**). La punta está situada en el extremo de un fleje (cantiléver), que se flexiona dependiendo de la interacción punta-muestra en cada uno de los puntos de medida. La deflexión del fleje es detectada mediante la reflexión de un láser en el extremo del fleje, cuyo camino óptico finaliza en un fotodiodo. La posición en el fotodiodo del láser y, por lo tanto, la variación de voltaje que éste ofrece está relacionada con el ángulo de flexión del fleje. Para el estudio se utilizó el AFM de Park Systems XE7. Este equipo está integrado en una cámara anti vibratoria que evita las interferencias provocadas por el ruido. Las imágenes se procesan por un controlador conectado al AFM y se analizan mediante el programa informático de evaluación de datos XEI. Además, presenta distintos modos de medida: el modo contacto, el modo *tapping*, o el modo PinPoint (force-volumen) (**Park Systems, 2023**).

1.5.1 Modo Contacto

El modo de contacto es uno de los modos de operación más comunes en la microscopía de fuerza atómica. En este modo, la punta del AFM entra en contacto físico con la muestra y la deflexión del fleje se mantiene constante durante el escaneo de la superficie.

Durante el escaneo, se aplica una fuerza vertical constante entre la punta y la muestra, lo que provoca una deformación elástica de la muestra y una deflexión invariable del fleje. Esta deflexión está relacionada con el voltaje detectado por el fotodiodo y se utiliza para generar una imagen de la topografía de la superficie de la muestra (**Park Systems, 2023**). El modo de contacto es útil para estudiar la topografía y la morfología de superficies que resistan significativas fuerzas laterales, así como para medir contrastes nanotribológicos superficiales.

1.5.2 Modo PinPoint

El modo PinPoint es una técnica de caracterización utilizada en el AFM que permite adquirir simultáneamente datos topográficos y datos de espectroscopia de fuerza (FD) en cada píxel de la muestra escaneada, lo que posibilita generar una imagen topográfica 3D de alta precisión y una información detallada sobre las propiedades mecánicas de la muestra.

En este modo, la punta de AFM se acerca y se retira repetidamente de la muestra en una trayectoria vertical controlada, mientras se mide la fuerza que se ejerce sobre la punta a cada punto de la trayectoria. De esta manera, se puede obtener información detallada sobre las propiedades mecánicas de la muestra, como la morfología de la superficie (altura), la elasticidad (rigidez) y la adhesión a escala nanométrica (**Choi, 2023**).

1.5.2.1 Fuerza de Adhesión

La fuerza de adhesión es la fuerza que evita la separación de dos materiales diferentes cuando están en contacto. Esta fuerza se debe a las fuerzas intermoleculares que actúan entre las superficies de los materiales. Diferentes factores como la rugosidad de las superficies, la humedad, la temperatura y las propiedades químicas de los materiales pueden influir en la magnitud de la fuerza de adhesión (**Feng, y otros, 2008**). En este estudio, se midió la fuerza de adhesión de los pétalos de dos tipos de Begonia utilizando el modo PinPoint. La medición de la fuerza de adhesión se realizó como parte de la caracterización nanoscópica de las propiedades físicas de los pétalos y de su morfología de superficie utilizando el AFM. La comprensión de estas propiedades es importante para el diseño de superficies con diferentes propiedades de adhesión, especialmente en aplicaciones biomiméticas.

1.6 Ángulo de Contacto

La medición del ángulo estático de contacto con el agua está relacionada con la hidrofobicidad e hidrofiliidad que presenta una muestra en su superficie. Una superficie se considera hidrofóbica cuando el ángulo estático de contacto con el agua es mayor a 90° , mientras que una superficie hidrofílica presenta un ángulo estático de contacto menor a 90° (**Löblein, Merz, Müller, Kopnarski, & Mücklich, 2022**). Para medir el ángulo estático de contacto con el agua, se utiliza una técnica conocida como gota sobre superficie, la cual consiste en colocar una pequeña cantidad de agua sobre la muestra de interés y registrar la imagen de la gota. A partir de la imagen de la gota, se mide el ángulo que forma la línea tangente a la superficie de la muestra con la línea tangente a la gota en el punto de contacto. Esta técnica es ampliamente utilizada en la caracterización de materiales y superficies y permite determinar la hidrofobicidad o hidrofiliidad de una muestra con alta precisión (**Askvik, et al., 2005**).

En este análisis se estudiará la afinidad de los pétalos de *Begonia semperflorens* y de *Begonia x hiemalis* con el agua. Este estudio podría ser de gran interés para posibles aplicaciones en la imitación de las superficies de los pétalos de begonia en equipos nanotecnológicos que presenten características similares (Tsai & Shih, 2012).

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo General

Caracterizar superficies nanoscópicas de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante microscopia de fuerza atómica.

1.7.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la topografía de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* a nivel nanoscópico por medio del modo de medida en contacto del AFM.
2. Examinar las muestras preparadas mediante microscopía óptica.
3. Estudiar la adhesión de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* a nivel nanoscópico a través del modo de medida PinPoint del AFM.
4. Investigar la hidrofiliicidad de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante la medición del ángulo de contacto.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental se desarrolló en los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA).

2.1 Materiales

2.1.1 Materiales de laboratorio

- Puntas de AFM de modo contacto.
- Portaobjetos metálicos del AFM.
- Cubreobjetos.
- Pinzas.
- Cinta adhesiva.
- Guantes asépticos.
- Tijera.
- Rollo de papel adsorbente
- Bisturí

2.1.2 Equipos

- Microscopio de Fuerza Atómica.
- Microscopio óptico de transmisión.
- Computadora.
- Programa informático para la adquisición de datos por AFM.
- Programa informático especializado para el procesamiento de datos del AFM.

2.2 Métodos

2.2.1 Recolección de la muestra

Las plantas fueron adquiridas en el vivero El Paraíso, ubicado en el cantón Santo Domingo de los Tsáchilas. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA).

2.2.2 Preparación de la muestra

Para obtener la estructura superficial de los pétalos de las plantas con el microscopio de fuerza atómica, se cortó una sección del pétalo de aproximadamente 1 cm de ancho y 5 mm de largo con un bisturí. Luego, se colocó cinta de doble faz en el portaobjetos metálico y se posicionó la muestra sobre ella. Los extremos de la muestra se fijaron con pinzas para evitar tocar la superficie, todas las muestras se analizaron en el lado adaxial de los pétalos.

Para el análisis de las muestras con el microscopio óptico en reflexión con luz blanca, se adhirió un trozo de la muestra a un portaobjetos de microscopio con una solución acuosa de polietilenglicol.

2.2.3 Observación de las muestras con el microscopio óptico

Se observó las muestras con un microscopio óptico en modo de reflexión con el objetivo colimado de 40x y 0,65 de apertura numérica utilizando iluminación blanca transmitida.

2.2.4 Microscopio de fuerza atómica

Primero, se colocó la muestra de manera plana en el portaobjeto metálico. Luego se abrió la cámara anti vibratoria y se verificó que el reflejo del láser se encuentre en el centro. Posteriormente, se colocó la muestra en el microscopio de fuerza atómica y se acercó la punta a la muestra. Se enfocó la muestra con el tornillo micrométrico. Luego, se seleccionó el modo de medida y los canales.

Finalmente, se configuraron los parámetros de medida: el tamaño, la resolución, la velocidad de escaneo, la ganancia inicial y la fuerza máxima. Se acercó la punta a la muestra. Se seleccionó el parámetro F/D, se presionó un punto y se colocó iniciar. Se mapearon varios puntos dentro de una misma zona y distintas zonas, para revisar el posicionamiento de la muestra y la idoneidad de la punta utilizada. Posteriormente, se utilizó el programa informático XEI para el procesamiento y el análisis de las imágenes obtenidas mediante AFM en distintas zonas de los pétalos de las plantas.

2.2.4 Medición del ángulo estático de contacto

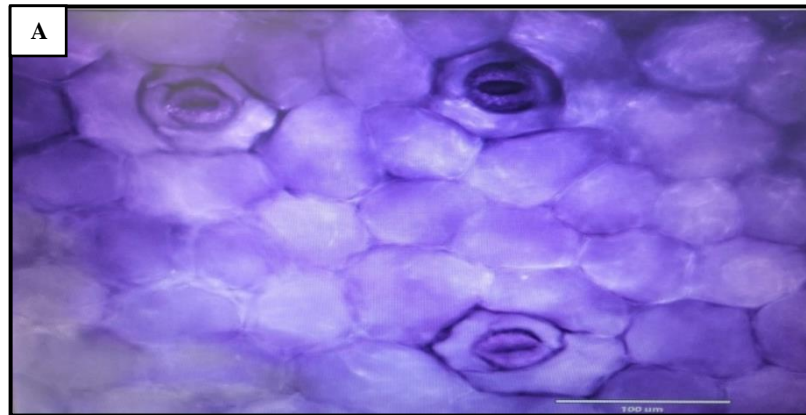
Para medir el ángulo estático de contacto, se utilizó una micropipeta para colocar una gota de agua de 40 μL en la superficie de los pétalos, esta prueba se realizó para 30 muestras diferentes para cada planta. Se tomaron fotografías de la gota de agua en distintos ángulos para cada muestra. Luego, se analizaron las imágenes obtenidas utilizando el programa informático ImageJ para medir el ángulo de contacto de las gotas en las superficies de los pétalos. Finalmente, se analizaron los ángulos de contacto en diferentes zonas del pétalo y se correlacionaron con las imágenes de topografía obtenidas mediante AFM.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de la superficie de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante la microscopia óptica.

La microscopía óptica permitió caracterizar la estructura de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* a nivel microscópico. Mediante la observación de la superficie se identificó la presencia de células epidérmicas con forma lobulada, dispuestas en una configuración similar a un rompecabezas (Fig. 1). Este patrón de células epidérmicas ha sido descrito previamente en otras especies de plantas (Strelin, Zattara, Ullrich, Schallenberg-Rüdinger, & Rensing, 2022), y se ha relacionado con el correcto espaciamiento de otras estructuras epidérmicas, como los estomas y tricomas.



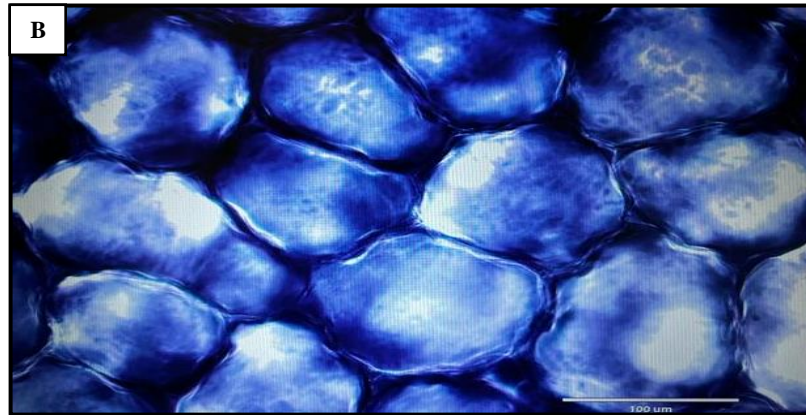
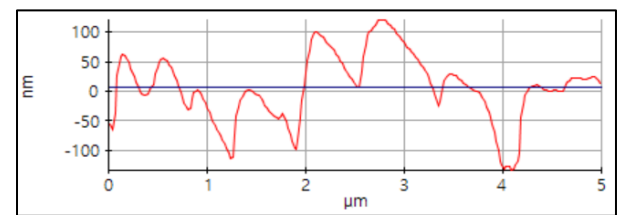
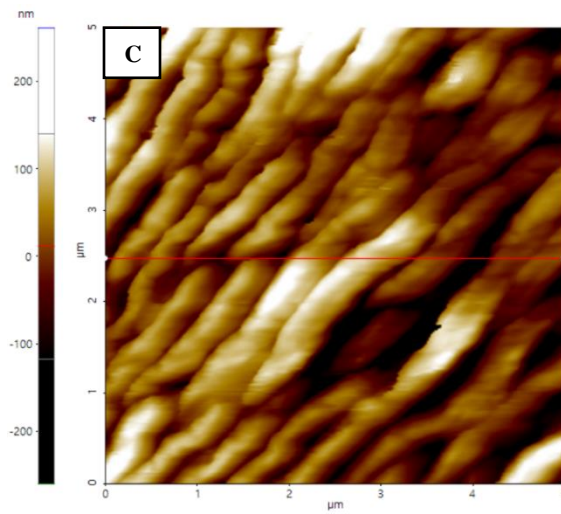
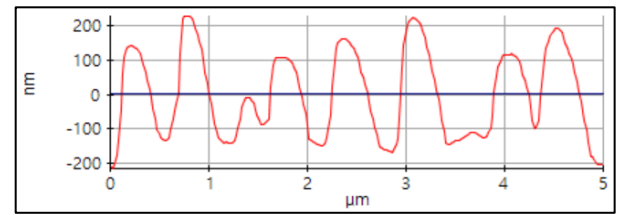
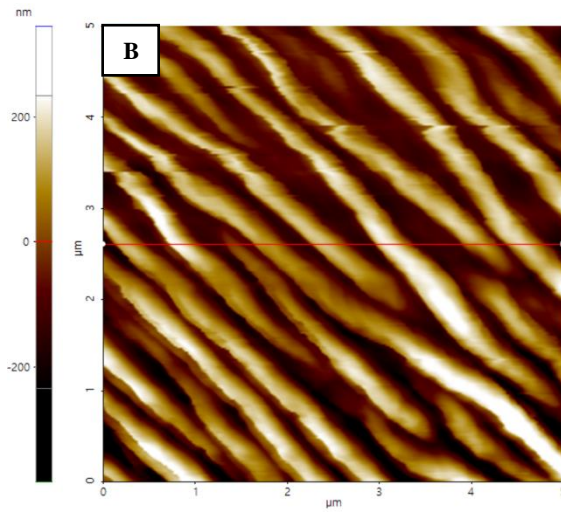
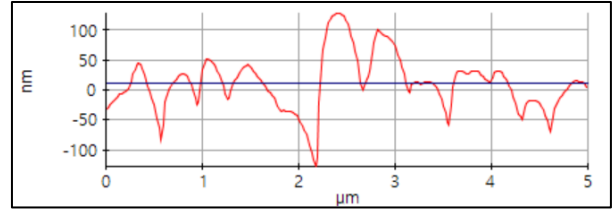
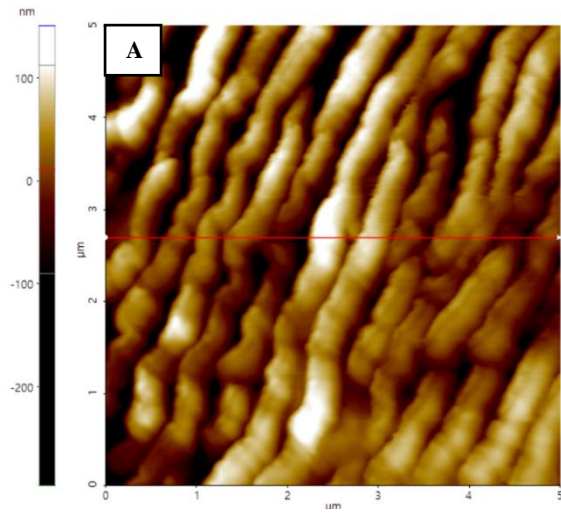


Figura 1. Estructura de los pétalos de *Begonia x hiemalis* (a) y *Begonia semperflorens* (b); mediante microscopía óptica Lente 4x.

En la microscopía óptica de los pétalos de *Begonia x hiemalis*, se observaron estomas en la epidermis de la superficie (Figura 1a), mientras que en la *Begonia semperflorens* no se encontraron. Este hallazgo es consistente con la idea de que algunas flores, al estar expuestas al mismo ambiente que las hojas, a menudo presentan estomas para el intercambio gaseoso e hídrico con la atmósfera, lo que requiere un suministro de agua constante (Strelin, Zattara, Ullrich, Schallenberg-Rüdinger, & Rensing, 2022). La presencia de estomas en la *Begonia x hiemalis* sugiere que esta especie puede estar más adaptada a condiciones ambientales variables que la *Begonia semperflorens*.

3.2 Análisis nanoscópico de la superficie de los pétalos de las plantas *Begonia x hiemalis* y *Begonia semperflorens* mediante microscopía de fuerza atómica

La caracterización nanoscópica de la estructura superficial de los pétalos de *Begonia x hiemalis* muestra la presencia de surcos en distintas zonas, tal como se observa en la Figura 2. Estos surcos están agrupados y tienen una forma alargada que se extiende por toda la imagen, y esta estructura parece ser consistente en varias zonas analizadas de diferentes pétalos. Las imágenes se obtuvieron utilizando el modo contacto del AFM.



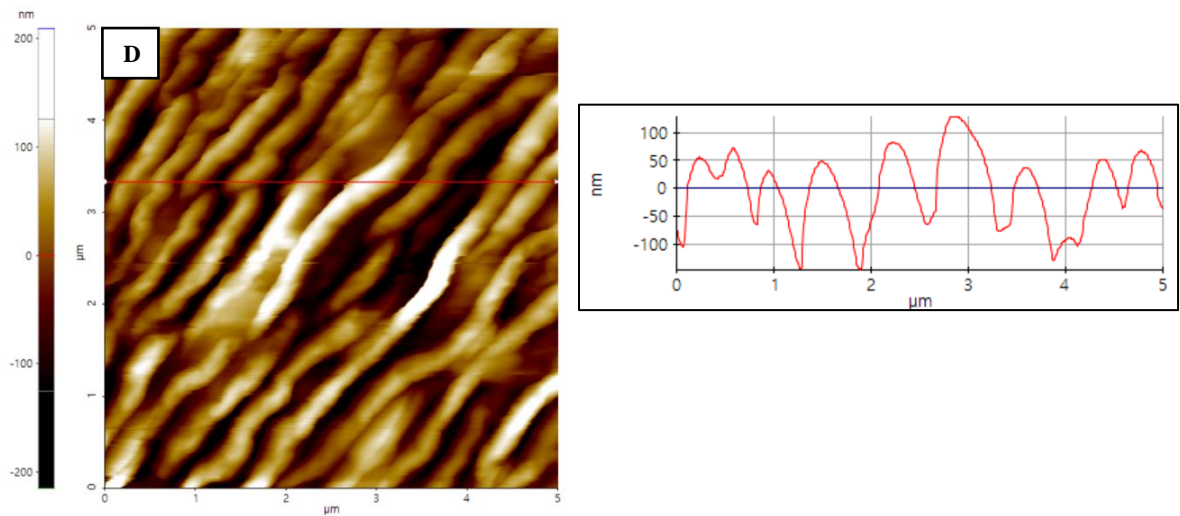
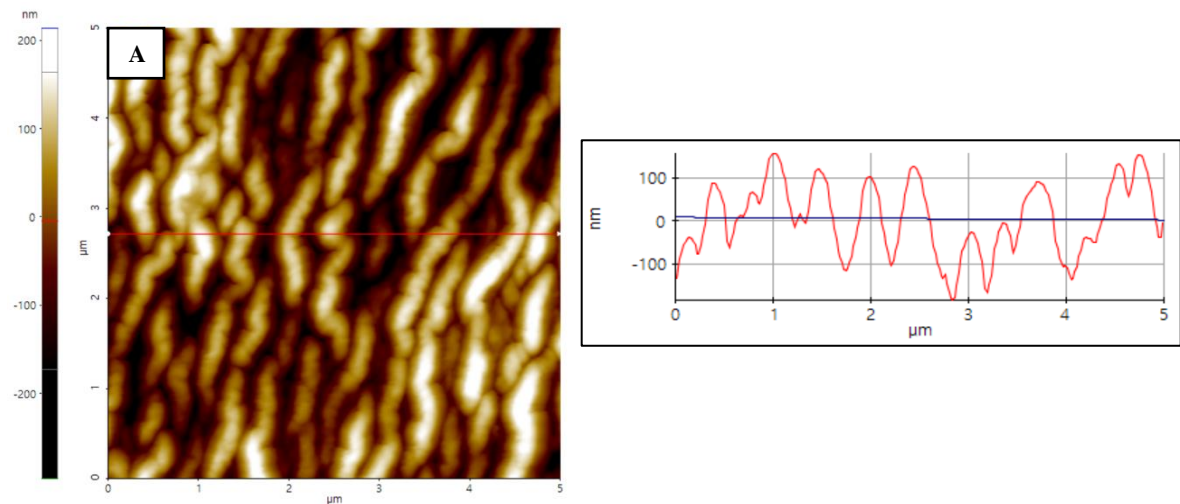


Figura 2. Imagen 2D de la nanoestructura y de las líneas de perfil a lo largo de las líneas superpuestas en las micrografías, de los pétalos de *Begonia x hiemalis* Zona A, Zona B, Zona C y Zona D.

Las líneas de perfil (Figura 2) muestran que los nanoplegues siguen una distribución uniforme en las zonas analizadas, la estructura tiene bordes definidos y rectos y la altura y grosor varía sólo en unos pocos nanómetros. La caracterización topográfica de los pétalos de *Begonia semperflorens* mediante AFM (Figura 3) reveló una estructura más densa, con bordes sinuosos y de menor tamaño en comparación con la *Begonia x hiemalis*.



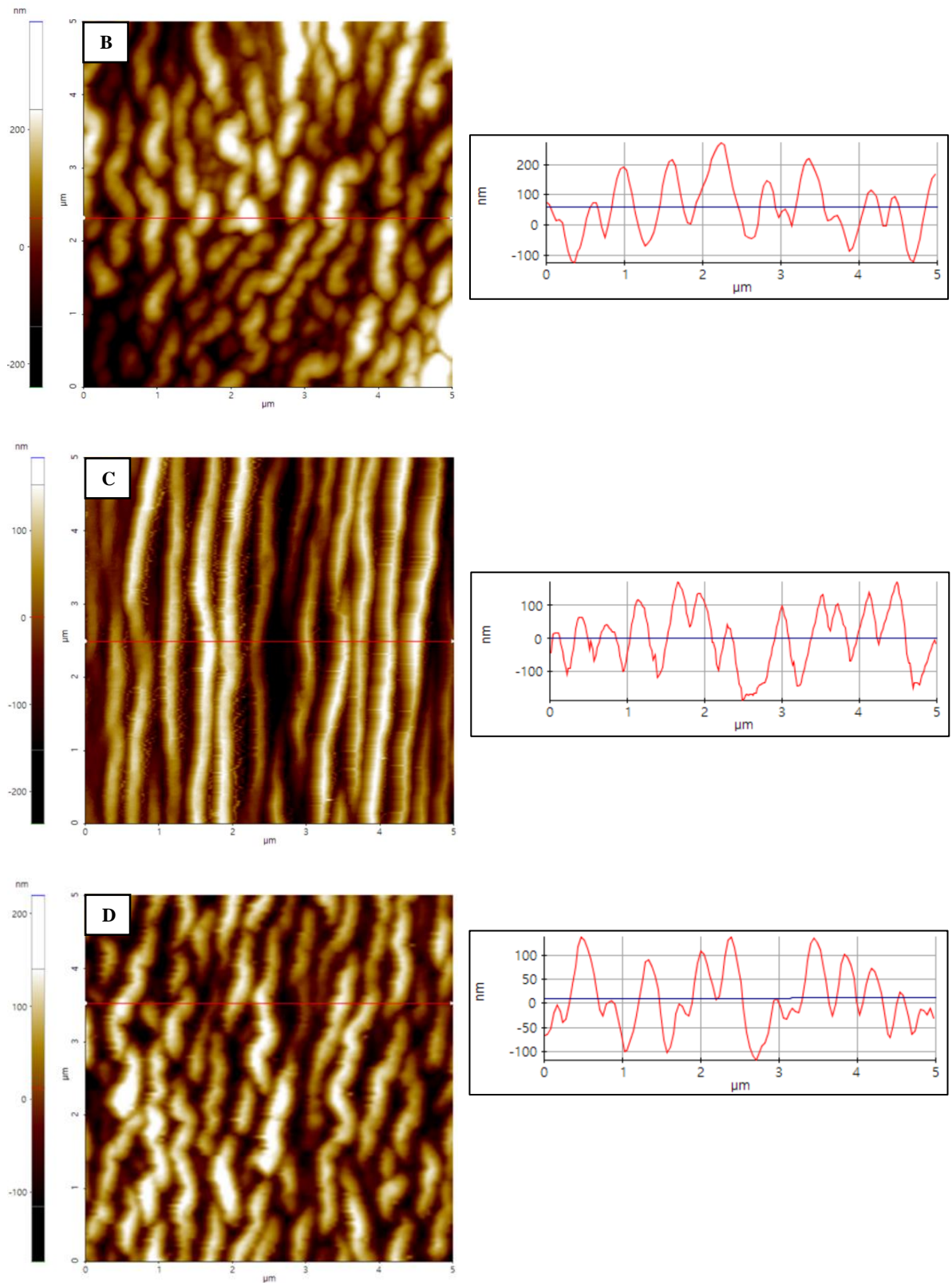
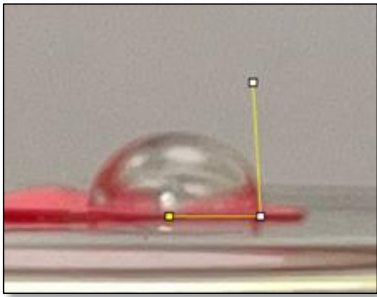
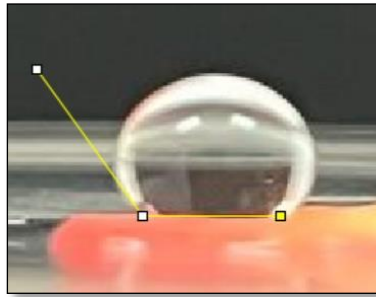


Figura 3. Imagen 2D de la nanoestructura y de las líneas de perfil a lo largo de las líneas superpuestas en las micrografías, de los pétalos de *Begonia semperflorens* Zona A, Zona B, Zona C y Zona D.

3.3 Análisis del ángulo estático de contacto de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*.

Se determinó el ángulo de contacto estático con agua en los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*, obteniéndose valores inferiores y superiores a 90°C, respectivamente, como se muestra en la Tabla 1. El ángulo de contacto estático es una medida de la hidrofiliicidad de una superficie y está relacionado con las fuerzas de adhesión y cohesión de esta. En este sentido, la superficie de los pétalos de *Begonia semperflorens*, con un ángulo de contacto menor a 90°C, presenta una alta afinidad por el agua y, por tanto, se considera hidrofílica. En cambio, la superficie de los pétalos de *Begonia x hiemalis*, con un ángulo de contacto superior a 90°C, muestra una baja afinidad por el agua y, por tanto, se considera hidrófoba (Löblein, Merz, Müller, Kopnarski, & Mücklich, 2022). Cabe destacar que la hidrofiliicidad o hidrofobicidad de la superficie de los pétalos de las plantas puede influir en la interacción con otros organismos, la captación de nutrientes, la polinización, entre otros procesos ecológicos.

Tabla 1. Ángulo de contacto estático de los pétalos de plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*.

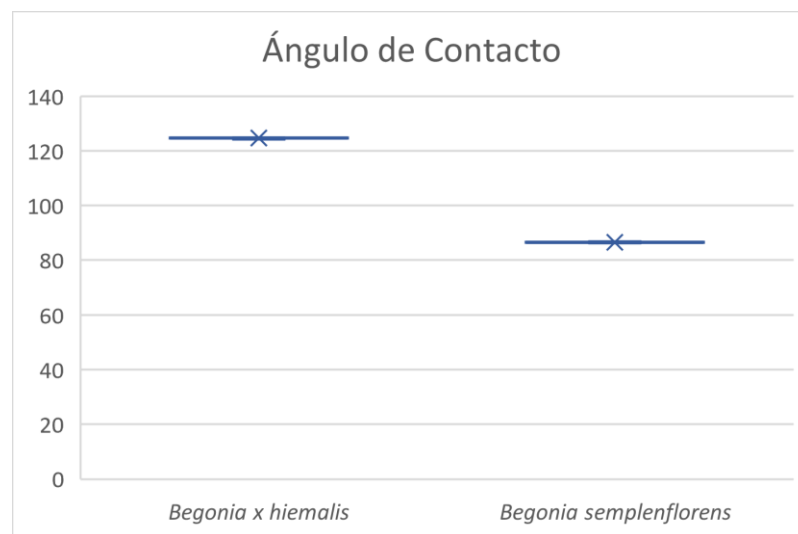
Muestra	<i>Begonia semperflorens</i>	<i>Begonia x hiemalis</i>
Ilustración		
Ángulo	$86,82^{\circ} \pm 0,23^{\circ}$	$124,62^{\circ} \pm 0,25^{\circ}$

Para determinar si existía una diferencia estadísticamente significativa en la capacidad de mojado entre dos tipos de plantas (*Begonia x hiemalis* y *Begonia semperflorens*) se utilizó la prueba de t de Student. La hipótesis nula estableció que no había diferencia entre los dos grupos, mientras que la hipótesis alternativa estableció que había una diferencia entre las medias de los dos grupos de datos. Se recolectaron 30 muestras independientes para cada planta y se realizó un análisis de dos colas utilizando el programa informático Excel.

Los resultados de la prueba t indicaron un valor-p extremadamente bajo ($p < 0.0001$), lo que sugiere que la probabilidad de obtener esta diferencia entre las medias de los dos grupos de datos si la hipótesis nula es verdadera es prácticamente nula. En otras palabras, la diferencia en la capacidad de mojado entre las plantas *Begonia x hiemalis* y *Begonia semperflorens* es estadísticamente significativa.

Estos resultados son coherentes con las observaciones del Gráfico 1, donde se puede apreciar claramente la diferencia entre los dos grupos de plantas. Estos hallazgos podrían tener implicaciones significativas en futuras investigaciones relacionadas con las propiedades nanoscópicas de estas plantas.

Gráfico 1. Comparación de los ángulos de contacto de agua en pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante un gráfico de cajas y bigotes.

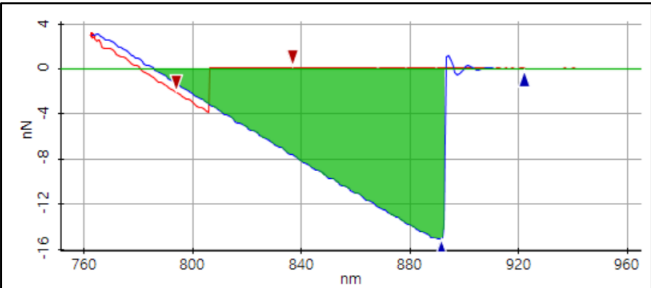


Pese a ser de la misma especie, *Begonia x hiemalis* presenta un comportamiento hidrofóbico. **Jiménez et al., 2016** describen una estructura binaria a nivel foliar en tres plantas que presentan características hidrofóbicas similares. Esto puede tener relación con la diferencia que presenta en su nanoestructura.

3.4 Análisis de la fuerza de adhesión de los pétalos de las plantas *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante el modo PinPoint.

La medición de la fuerza de adhesión se obtuvo mediante las curvas fuerza-distancia en modo PinPoint, ya que es el valor de Y del punto mínimo de la curva de retracción (**Choi, 2023**), como se observa en las Tablas 2 y 3. La *Begonia semperflorens* presenta valores de fuerza de adhesión mayores que la *Begonia x hiemalis*. Esto se traduce en una mayor afinidad por el agua en los pétalos de *Begonia semperflorens*, en comparación con los de *Begonia x hiemalis*.

Tabla 2. Fuerza de adhesión de los pétalos de plantas *Begonia semperflorens*.

Zona	Gráfica	Fuerza de Adhesión (nN)
A		-15.075

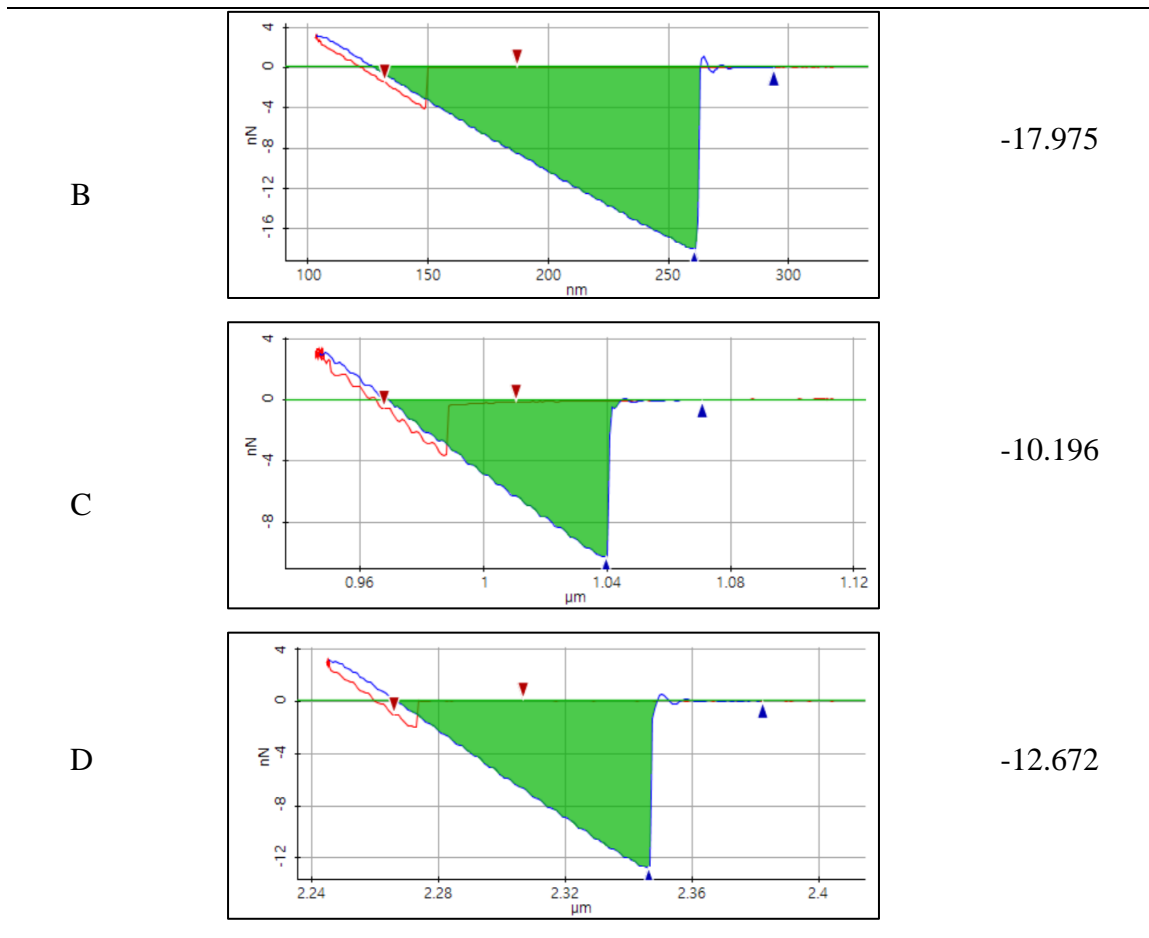
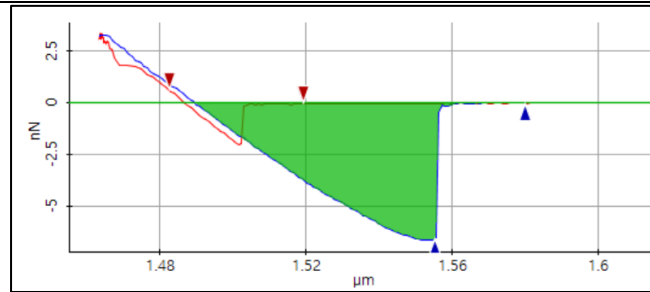


Tabla 3. Fuerza de adhesión de los pétalos de plantas *Begonia x hiemalis*.

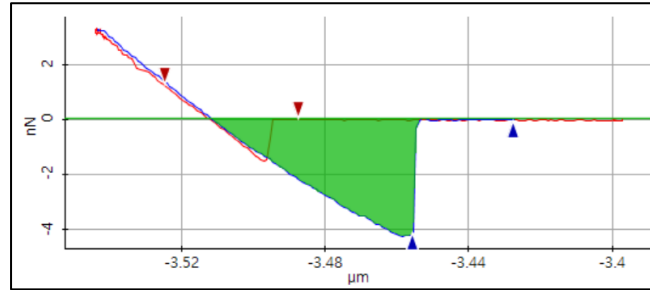
Zona	Gráfica	Fuerza de Adhesión (nN)
A		-7.931

B



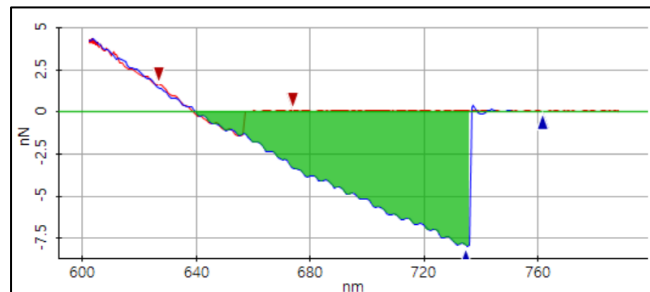
-6.545

C



-4.113

D



-8.013

Las imágenes obtenidas mediante el modo de medida PinPoint del AFM para las especies de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* revelaron información significativa acerca de la topografía y la fuerza de adhesión en los pétalos de estas plantas. En las imágenes de adhesión (Figura 4, 1B y 2B), las zonas más claras o blancas indican una mayor intensidad de señal en el AFM, lo que sugiere que estas áreas resaltadas presentan una mayor fuerza de adhesión. Por el contrario, las zonas más oscuras en la imagen reflejan una interacción de baja intensidad entre la punta del AFM y la muestra. La intensidad de la señal capturada en las imágenes se correlaciona con la interacción entre la punta del AFM y la muestra, y puede tomarse como una indicación de la fuerza de adhesión entre la punta y la muestra en esas áreas.

En la imagen de topografía correspondiente a *Begonia semperflorens* (Figura 4, 1A), se observó una correlación entre las zonas de relieve y las áreas con una fuerte señal de

adhesión en el AFM. Las zonas de mayor adherencia punta-muestra parecen encontrarse en las regiones más deprimidas cerca de los picos (Figura 4, 1B).

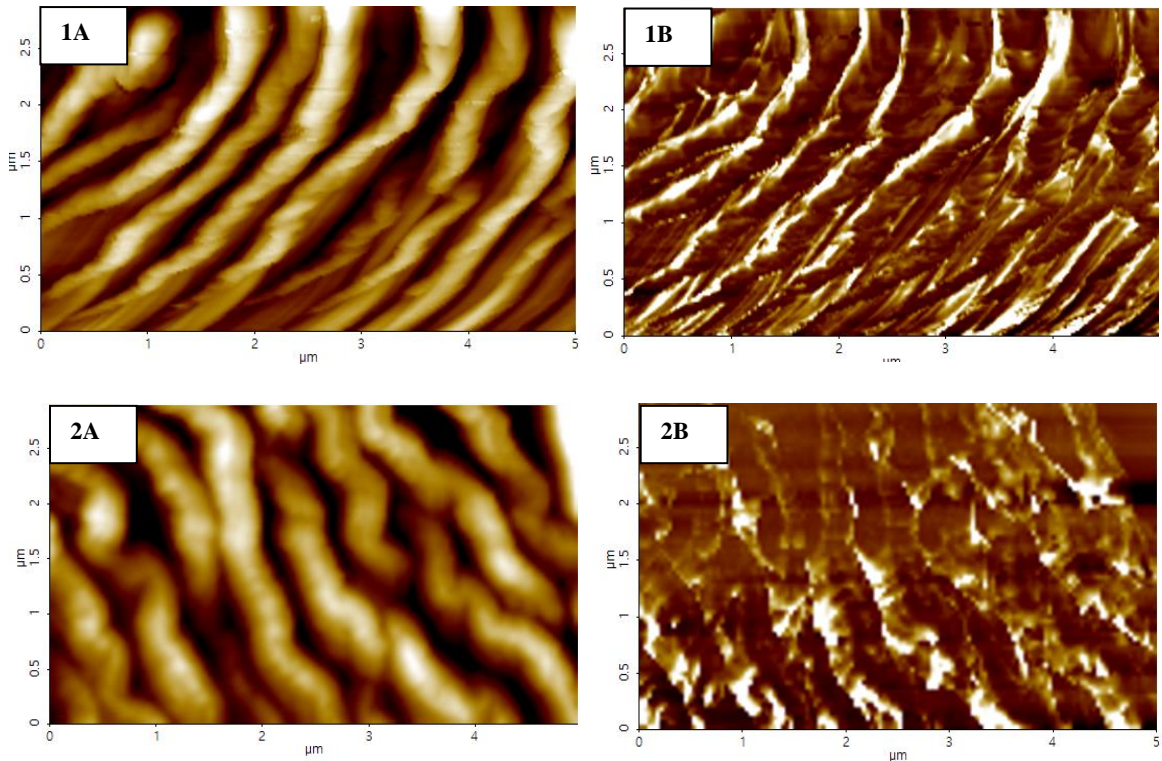


Figura 4. Imagen 2D de la nanoestructura de los pétalos de *Begonia semperflorens* (1) y *Begonia x hiemalis* (2), A (topografía), B (fuerza de adhesión).

Sin embargo, en el caso de la *Begonia x hiemalis* (Figura 4, 2A y 2B) no se observó una correlación tan evidente entre las zonas marcadas que presentan una mayor fuerza de adhesión y las crestas y los valles de la topografía. Es importante destacar que la medición en modo PinPoint permitió obtener imágenes de alta resolución y sensibilidad en ambas medidas, lo cual demuestra la utilidad de esta técnica para estudiar la topografía y la adhesión punta-muestra de las superficies de las plantas.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

La caracterización de las superficies nanoscópicas de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* mediante microscopía de fuerza atómica reveló la presencia de nanoestructuras complejas que están estrechamente relacionadas con el ángulo estático de contacto. Estos resultados resaltan la importancia de la caracterización nanoscópica de las superficies biológicas para comprender su comportamiento ambiental y su potencial en el desarrollo de materiales inspirados en la naturaleza. Además, se determinó que los pétalos de *Begonia x hiemalis* presentan surcos alargados, mientras que los de *Begonia semperflorens* exhiben una estructura más densa con bordes sinuosos y de menor tamaño. La nanoestructura de los pétalos puede estar relacionada con su afinidad y comportamiento en relación con el agua y el ambiente. La microscopía óptica reveló una estructura sencilla en los pétalos de ambas especies, así como la presencia de células epidérmicas lobuladas que podrían contribuir a su estabilidad y resistencia mecánica. Además, los estomas encontrados en la epidermis de *Begonia x hiemalis* sugieren una mayor adaptabilidad a condiciones ambientales variables en comparación con *Begonia semperflorens*. El estudio de la adhesión a nivel nanoscópico mediante el AFM indicó que *Begonia semperflorens* presenta una mayor correlación entre la fuerza de adhesión y su topografía, en comparación con *Begonia x hiemalis*. Estos hallazgos son relevantes para el diseño de superficies con propiedades de adhesión en aplicaciones biomiméticas. La medición del ángulo de contacto estático reveló que los pétalos de *Begonia semperflorens* son más hidrofílicos que los de *Begonia x hiemalis*. Estas diferencias en la hidrofiliidad pueden estar relacionadas con la nanoestructura de las superficies de los pétalos y con la adhesión punta-muestra observada. Estos resultados tienen implicaciones importantes en la comprensión de las propiedades bioquímicas nanoscópicas de estas plantas y su influencia en procesos ecológicos como la interacción con otros organismos, la captación de nutrientes y la polinización.

4.2 Recomendaciones

Complementar los datos obtenidos con otros modos de medida en el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM), como por ejemplo el contraste de fase en el modo dinámico, para obtener una visión más completa de las propiedades nanoscópicas de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis*. Este modo proporciona información detallada sobre la capacidad de difusión energética de la superficie de la muestra, lo que contribuirá de manera significativa a la investigación y a la exploración de posibles aplicaciones en el diseño de materiales inspirados en la naturaleza.

Enfocar futuras investigaciones en el estudio de otras especies de begonias para complementar los resultados obtenidos hasta ahora. La selección de diferentes especies de begonias permitirá analizar y comparar sus propiedades hidrofílicas en términos de la estructura y composición de sus pétalos. Al examinar una gama más amplia de especies, se podrían identificar patrones o tendencias en el comportamiento hidrofílico de los pétalos, lo que proporcionará una comprensión más completa de las adaptaciones biológicas relacionadas con las propiedades de la superficie. Estos hallazgos podrían ser relevantes para aplicaciones futuras en el diseño de materiales y la inspiración biomimética.

Explorar la influencia de factores ambientales en las propiedades nanoscópicas de los pétalos de *Begonia semperflorens* y *Begonia x hiemalis* para obtener una comprensión más completa de su comportamiento y adaptabilidad. Se sugiere llevar a cabo estudios que analicen cómo diferentes condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad y la intensidad de la luz, afectan las características nanoscópicas de los pétalos. Esto podría revelar patrones y respuestas adaptativas relevantes para comprender cómo estas plantas se adaptan a diferentes entornos, y podría tener implicaciones en aplicaciones relacionadas con la biomimética y el diseño de materiales inspirados en la naturaleza.

Bibliografía

- Almote, L., Pimentel, C., Rodríguez Cañas, E., Abad, J., Fernández, V., & Colchero, J. (27 de September de 2021). Rose Petal Effect: a subtle combination of nano-scale roughness and chemical variability. *Nano-Select 3, no 5*, 977-989.
- Armendaris-Barragán, B., & Galindo-Rodríguez, S. (2018). La Nanotecnología en las Ciencias Biológicas. *Biología y Sociedad*, 108-125.
- Askvik, K., Høiland, S., Fotland, P., Barth, T., Grønn, T., & Fadnes, F. (2005). Calculation of wetting angles in crude oil/water/quartz systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 657-663.
- Barros, P., & Villaescusa, G. (2011). PUNTOS CUÁNTICOS: NUEVA APORTACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA EN INVESTIGACIÓN Y MEDICINA. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 69-102.
- Berlanga Mora, I. (2013). Síntesis y caracterización de nanomateriales 0D, 1D Y 2D. *UAM. Departamento de Química Inorgánica*, 117-121.
- Chen, C., Liu, M., Zhang, L., Hou, Y., Yu, M., & Fu, S. (2019). Mimicking from Rose Petal to Lotus Leaf: Biomimetic Multiscale Hierarchical Particles with Tunable Water Adhesion. *American Chemical Society applied materials & interfaces*, 7431-7440.
- Cheng, Y., Rodak, D., Wong, C., & Hayden, C. (2006). Effects of micro- and nano-structures on the self-cleaning behaviour of lotus leaves. *Nanotechnology*, 17(5), 1359-1362.
- Choi, B. (2023). *Park PinPoint Mode For Cell Biology*. Obtenido de Park Systems: <https://www.parksystems.com/applications/life-science/cell-biology/12-park-pinpoint-mode-for-cell-biology?highlight=WyJwaW5wb2ludCJd>
- Demasi, S., Falla, N. M., Caser, M., & Scariot, V. (2020). Postharvest aptitude of *Begonia semperflorens* and *Viola cornuta*. *Adv. Hort. Sci 34(1S)*, 13-20.

- Feng, L., Zhang, Y., Xi, J., Zhu, Y., Wang, N., Xia, F., & Jiang, L. (2008). Petal Effect: A Superhydrophobic State with High Adhesive Force. *American Chemical Society*, 4114-4119.
- Goksu, E. I., Vanegas, J. M., Blanchette, C. D., Lin, W.-C., & Longo, M. L. (2008). AFM for structure and dynamics of biomembranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 254-266.
- Hirutani, S., Shimomae, K., Yaguchi, A., Chin, D. P., Mii, M., & Igawa, T. (2020). Efficient plant regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of *Begonia semperflorens-cultorum*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 142, 435-440.
- Jiménez Chavarría, M., Rodríguez Arrieta, J. A., Salas Fumero, J. F., & Renata Salazar, A. P. (2016). DESCRIPCIÓN ULTRAESTRUCTURAL DE LA HOJA DE TRES ESPECIES DE ARÁCEAS (ARACEAE) CON CARACTERÍSTICAS HIDROFÓBICAS. *Acta Microscopica*, 25(2), 90-97.
- Krieg, M., Flaschner, G., Alsteens, D., Gaub, B., Roos, W., Wuite, G., . . . Muller, D. (2018). Atomic force microscopy-based mechanobiology. *Nature Reviews Physics*, 41-57.
- Lößlein, S. M., Merz, R., Müller, D. W., Kopnarski, M., & Mücklich, F. (2022). An in-depth evaluation of sample and measurement induced influences on static contact angle measurements. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14.
- Mlcek, J., Plaskova, A., Jurikova, T., Sochor, J., Baron, M., & Ercisli, S. (2021). Chemical, Nutritional and Sensory Characteristics of Six Ornamental Edible Flowers Species. *Foods* 10, no 9, 2-3.
- Nakajima, T., & Goto, T. (2019). Comparison Between the Effects of Intermittent Low Temperature Storage and Short Day Treatment on Growth, Flowering and Plant Form of *Begonia X hiemalis* Fotsch. 'Netja'. *Journal of Science and High Technology in Agriculture*, 210-215.

- Park Systems. (2023). *Contact Mode*. Obtenido de Park Systems: <https://www.parksystems.com/index.php/park-spm-modes/standard-imaging-mode/223-basic-contact-afm-dynamic-force-microscope-dfm>
- Park Systems. (23 de abril de 2023). *Park XE7*. Obtenido de Park Systems: https://www.parksystems.com/75-products/images/media/brochures/xe7/Park_XE7150520C16A.pdf
- Seraphin, S. (2006). Brief Review: Basic Properties and Applications of Carbon Nanotubes. *Microscopy TODAY*, 22-29.
- Strelin, M., Zattara, E., Ullrich, K., Schallenberg-Rüdinger, M., & Rensing, S. (2022). Delayed differentiation of epidermal cells walls can underlie pedomorphosis in plants: the case of pedomorphic petals in the hummingbird-pollinated *Caiophora hibiscifolia* (Loasaceae, subfam. Loasoideae) species. *EvoDevo*, 8-9.
- Tsai, Y. C., & Shih, W. P. (2012). Artificial Petal Effect on Nanofibrillar Parylene (TM) Surface. *The Journal of Adhesion*, 32-54.
- Tsotsis, G. (2018). APLICACIONES DE LA NANOTECNOLOGIA EN LOS MATERIALES DE LA CONSTRUCCIÓN. *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUNYA*, 3.
- Villafuerte Robles, L. (2009). Nanotecnología farmacéutica. *Razón y Palabra*, 3-4.