



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Caracterización nanoscópica de la estructura superficial de los pétalos de Begonia consobrina y Begonia micranthera.

Trabajo de titulación, Modalidad de proyecto de investigación, previo a la obtención de título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Nitzy Justin Proaño Borja 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 Proyecto de Investigación, el mismo que responde 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, Nitzy Justin Proaño Borja, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.

Tylnoar

Proaño Borja Nitzy Justin C.I. 0503965238

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, como 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.

ncon

Proaño Borja Nitzy Justin C.I. 0503965238 **AUTORA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Las suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que 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

Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria

C.I. 1802142461

Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

C.I. 1802726628

Ambato, 25 de julio del 2023

DEDICATORIA

A mi mami

A mi pareja Alvaro

A mis bebés oso, vaquita y suri

AGRADECIMIENTO

A gradezco a mi mami por ser mi apoyo fundamental en cada momento de mi vida, por el apoyo que me ha brindado para cumplir cada una de mis metas.

A mi pareja por toda la paciencia, apoyo y amor, que me ha brindado y ha hecho que me motive a cumplir todo lo que me proponga, esperando que juntos podamos cumplir las metas que nos proponemos y mejorar cada día juntos.

A mi tutor de tesis PhD. Santiago Casado, por confiar en mí para brindarme sus conocimientos y guía que me permitieron desarrollar este trabajo de titulación, gracias por su tiempo, dedicación y paciencia.

A Liz Pico por brindarme su ayuda, tiempo, conocimientos y ánimo en este proceso.

A mis amigas Karen, Adri y Dani por todo el apoyo, cariño, malos y buenos días, aventuras y tanto que hemos compartido juntas, gracias por hacer de mis días en la universidad más amenos.

A la Ing. Patricia Avendaño por ser mi apoyo y consejera en mis primeros y difíciles semestres, por ese impulso y ánimo para poder culminar esta meta.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL TUTOR ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓNiii
DERECHOS DE AUTOR iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADOv
DEDICATORIA vi
AGRADECIMIENTO vii
ÍNDICE GENERAL viii
ÍNDICE DE FIGURASx
RESUMEN EJECUTIVO xi
ABSTRACT xii
CAPÍTULO I1
1. MARCO TEÓRICO1
1.1 Antecedentes de la investigación1
Begoniaceae1
Microscopio de Fuerza Atómica1
Modo de operación <i>tapping</i>
Topografía nanoscópica superficial 3
Rugosidad nanoscópica superficial
Ángulo de contacto
Periodicidad
Begoniaceae y la Biomimética5
1.2 Objetivos
Objetivo General
Objetivos Específicos 6
CAPÍTULO II
2.1 Materiales7

	2.1.1. Materiales de laboratorio										
	2.1.2. Equipos										
	2.2 Mé	2.2 Métodos									
	2.2.1	Obtención de la muestra									
	2.2.2	Observación de la superficie de los pétalos con microscopia óptica 8									
	2.2.3	Preparación de la muestra									
	2.2.4	Medición de la nanoestructura de los pétalos mediante AFM 8									
	2.2.5	Análisis de rugosidad y periodicidad9									
	2.2.6	Identificación del ángulo de contacto de los pétalos de Begonias9									
CAPÍ	FULO III.										
3.	RESULT	TADOS Y DISCUSIÓN10									
	3.1 Ana	álisis de la caracterización de la superficie de los pétalos de Begonia									
	consobi	rina y Begonia micranthera mediante microscopia óptica 10									
	3.2 Ana	álisis de la caracterización nanoscópica bidimensional de la superficie de									
los pétalos de B. consobrina y B. micranthera mediante microscopia de											
	atómica	ı 10									
	3.3 Ana	álisis de la caracterización nanoscópica de los pétalos de <i>B. consobrina</i> y									
	B. micr	anthera en representación tridimensional									
3.4 Análisis de la rugosidad de <i>B. consobrina</i> y <i>B. micranthera</i> medianimágenes topográficas obtenidas de la AFM3.5 Análisis de la periodicidad de <i>B. consobrina</i> y <i>B. micranthera</i>											
							3.6 Análisis de ángulo de contacto de <i>B. consobrina</i> y <i>B. micranthera</i>				
							3.7 Rel	ación entre las medidas de los ángulos de contacto del agua líquida con la			
	topogra	Ina nanoscopica de las superficies de los petalos de Begonia									
CAPI	rulo IV.										
4.	Conclusi	ones y Recomendaciones									
	4.1 Coi	nclusiones									
	4.2 Rec	comendaciones									
BIBLI	OGRAFĹ	A23									

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 8. Transformada rápida bidimensional de Fourier de B. consobrina (A, B)
y B. micranthera (C, D) de imágenes de 10x10 μm² (A, C) y de 5x5 μm² (B, D).
17

RESUMEN EJECUTIVO

La naturaleza ha creado nanoestructuras fruto de la evolución para conseguir resultados que se pueden potencialmente utilizar por mimetización mediante la nanotecnología. La microscopía de fuerza atómica (AFM) permite comprender de mejor manera las funciones biológicas, las estructuras y el comportamiento de algunos sistemas por medio de la caracterización de la nanoestructura de su superficie.

En el presente estudio se planteó explorar la topografía superficial nanoscópica de la *Begonia consobrina* y de la *Begonia micranthera* mediante la AFM en modo "*tapping*". Además, se analizó la periodicidad y la rugosidad de las imágenes topográficas obtenidas con la AFM. Finalmente, se midieron los ángulos de contacto de una gota de agua líquida sobre la superficie de los pétalos de los distintos tipos de Begonia y se relacionaron las medidas de los ángulos de contacto del agua líquida con la topografía nanoscópica de las superficies de los pétalos de Begonia.

Ambas, *B. consobrina y B. micranthera*, presentaron un rango de ángulos de contacto entre 77,8 y 86,12 grados, y entre 53,26 y 88,05 grados, respectivamente. Los ángulos medidos corresponden a superficies hidrofílicas. Al relacionar la topografía de las superficies de los pétalos con los ángulos de contacto, se identificó que la propiedad hidrofílica presente en los dos tipos de begonias podría relacionarse con las estructuras nanoscópicas observadas, superficies asimétricas, picos y valles bajos y una mayor periodicidad en *B. consobrina*.

Palabras clave: topografía superficial, rugosidad, periodicidad, ángulo de contacto, microscopia de fuerza atómica, begonia, micranthera, consobrina, biomimética

ABSTRACT

Evolution in nature has created nanostructures to achieve results that can potentially be copied through nanotechnology. Atomic force microscopy (AFM) provides a better understanding of biological functions, structures and macroscopic phenomena of some samples by characterising their surface nanostructure.

In the present study, it was explored the nanoscopic surface topography of *Begonia consobrina* and *Begonia micranthera* by means of the AFM in tapping mode. Periodicity and roughness of the topographic images obtained with the AFM were analysed. Finally, the contact angles of a drop of liquid water on the surface of Begonia measurements were correlated to the nanoscopic topography of their surfaces.

Both, *B. consobrina* and *B. micranthera*, presented a range of contact angles from 77.8 to 86.12 degrees, and from 53.26 to 88.05 degrees, respectively. The measured angles correspond to hydrophilic surfaces. Measured contact angles could be related to the nanoscopic topography of the petal surfaces recorded, asymmetric surfaces, indicating a flat structure with small peaks and valleys, and higher periodicity were observed in *B. consobrina*.

Keywords: surface topography, roughness, periodicity, angle of contact, atomic force microscopy, begonia, micranthera, consobrina, biomimetics

CAPÍTULO I 1. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes de la investigación

Begoniaceae

La familia *Begoniaceae* presenta más de 1800 especies, y dos géneros: *Begonia* e *Hillebrandia*. El género Begonia generalmente se distribuye en hábitats templados y tropicales de África, Asia, Centroamérica y Sudamérica. A diferencia, del género *Hillebrandia* que se encuentra sólo en Hawaii, y es considerada una especie endémica con una sola especie, conocida como *H. sandwicensis Oliv* (Iwashinaa, Saito, Kokubugata, & Peng, 2020).

Las especies de Begonia en Ecuador son utilizadas como plantas ornamentales, por la diversidad de colores que presentan. Se encuentran distribuidas en hábitats tropicales y subtropicales, en gran parte en la región sierra, seguidamente en la región amazónica y por último en las regiones costa e insular. En Ecuador existen 60 especies identificadas, de las cuales 29 son endémicas y se encuentran en regiones con una altitud entre 150 m y 3535 m sobre el nivel del mar (León, y otros, 2011).

Las *Begoniaceae* se diferencian por presentar características morfológicas como un tallo suculento y articulado. Las estípulas son grandes y membranosas y tienen un rizoma grueso, fibroso o tuberoso y una asimetría foliar. Además, las flores tienen estambres con cuatro pétalos unisexuales y pistilos con ovario ínfero (Jacques & Henrique, 2005).

Microscopio de Fuerza Atómica

La microscopía de fuerza atómica (AFM) es una técnica que fue descubierta en los años 1980's (Reséndiz & Castrellón, 2005). Es un equipo que nos permite explorar la topografía de las estructuras superficiales de distintos materiales en una escala nanoscópica y analizar sus propiedades nanomecánicas (Vazquez, Fragoso, Golzarri, & Espinosa, 2007). La técnica de AFM presenta ventajas en relación a otras técnicas de caracterización nanoscópica, debido a que no requiere de un pretratamiento o recubrimiento de la muestra para su análisis, ayudando a optimizar el tiempo y a la

obtención de imágenes de las nanoestructuras directamente, sin pérdida de resolución (Piontek & Roos, 2018).

El mecanismo de funcionamiento de la AFM consiste en un escaneo mediante materiales piezoeléctricos de una punta de radio nanométrico sobre la superficie de la muestra. La punta está sujeta al extremo de un fleje (voladizo o cantiléver), el cual es flexionado por la interacción punta-muestra (Pi & Cai, 2019). La deflexión del fleje es detectada por la reflexión de un láser sobre él y su incidencia en un fotodiodo. Éste es capaz de medir diferentes variaciones de voltaje dependiendo de la región del fotodiodo en la cual impacte el láser (González & Castrellón, 2005).

El principio de la AFM se basa en la fuerza de atracción o repulsión con la que interactúa la punta y la superficie de la muestra; cuando la punta se acerca demasiado y se pone en contacto con la superficie, el voladizo se aleja por una fuerza de repulsión que se genera. El material piezoeléctrico controla la posición lateral y vertical del fleje y de la punta adherida a él, provocando desviaciones mientras se desarrolla el escaneo de las superficies (García & Kikut, 2020).

Un material piezoeléctrico típico puede expandirse 1 nm por voltio aplicado en los extremos, aproximadamente (Toledo et al., 2017). De esta manera, las modificaciones de los materiales piezoeléctricos necesarias para escanear la punta a través de la superficie son registradas por el programa informático de procesamiento de datos, generando la micrografía de la superficie en alta resolución.

Modo de operación tapping

El modo de medida *tapping* permite obtener imágenes mediante un contacto vertical de forma intermitente entre la punta y la muestra, mide los cambios en la amplitud de oscilación de la separación de la punta con la muestra, la oscilación es cercana a la resonancia del fleje, una amplitud reducida y una frecuencia constante (Main et al., 2021). El principio de funcionamiento se basa en la medida de la elongación de la oscilación del fleje que se mueve de abajo hacia arriba: si se asegura que la amplitud se fija a un valor ligeramente inferior al de la resonancia libre, la punta rastreará la superficie manteniendo aproximadamente constante la separación punta-muestra media (Pi & Cai, 2019). De esta manera, es posible seguir la morfología de la muestra sin que la punta se someta a una elevada presión lateral, reduciendo la probabilidad de que la muestra sea destruida. Por tal motivo, es posible analizar muestras poco

rígidas, como por ejemplo las biológicas, los biomateriales o las poliméricas (Korayem, Kavousi, & Ebrahimi, 2011).

Topografía nanoscópica superficial

Mediante imágenes topográficas de alta resolución de la superficie, se observan características de la superficie analizada (Chen & Huang, 2004). Las imágenes obtenidas nos permiten explorar propiedades como por ejemplo: la rugosidad nanoscópica que indica las nanoirregularidades de la superficie, el perfil y la ondulación que indica la forma y la periodicidad que permite analizar la presencia o no de estructuras periódicas (Midobuche, Zermeño, Guízar, & Carrera, 2016).

Rugosidad nanoscópica superficial

La rugosidad superficial está definida por la relación que existe entre la superficie en la que se proyecta y la superficie real, lo cual hace referencia a las irregularidades presentes en la superficie (Lin & Chen, 2015). Se puede realizar un análisis estadístico de la rugosidad como, por ejemplo, el análisis de la rugosidad media cuadrática (RMS), que nos indica la desviación estándar de las rugosidades. Otra posibilidad consiste en utilizar la rugosidad media aritmética, que representa el valor medio de la superficie con relación al plano central, o la distancia entre el pico más alto (valor de datos más alto) al valle más bajo (valor de datos más bajo). De las dos, habitualmente la RMS presenta una mayor precisión, debido a que tiene una mayor consideración por los datos con baja frecuencia, mientras que en la rugosidad aritmética se descartan (Boussu et al., 2005).

Ángulo de contacto

El ángulo de contacto nos indica la interacción entre moléculas líquidas y sólidas. En un sistema que consta de tres fases: sólido, líquido y gaseoso, nos permite analizar la humectabilidad de distintos tipos de superficies, en caso de que el líquido sea acuoso. Estos casos pueden estudiarse mediante dos modelos: la interacción sólido-líquido de Wenzel y la interacción sólido-líquido y burbujas de aire de Cassie-Baxter. La interacción nos indica la afinidad acuosa que presentan las superficies, lo cual puede observarse en los ángulos de contacto que conforman las gotas con la superficie sólida. Cuando el ángulo de contacto es menor a 90°, se dice que la superficie es hidrofílica; si es mayor a 90°, se dice que es hidrofóbica. Si el ángulo de contacto es superior a 150°, a la superficie se la denomina superhidrofóbica (Jiang & Choi, 2021).

Periodicidad

La transformada de Fourier (TF) es una operación matemática en función del tiempo, representada en el dominio de la frecuencia, la cual permite descomponer la imagen en senos y cosenos de diferentes frecuencias (Gan, 2020). Por ello, indica la relación de una determinada función periódica y extrae información acerca de la frecuencia de un ciclo; en caso de que sólo se conozca una parte del comportamiento, puede tomar cualquier función. Mediante la aproximación a las funciones trigonométricas, se muestra la predominancia de una ondulación en los datos observados, que resulta en la tendencia con la que después de un cierto intervalo de espacio en la superficie de la muestra vuelven a repetirse de los datos analizados (Percastre, 2015).

Se utiliza en este caso la Transformada Rápida Bidimensional de Fourier, de la que se puede extraer la red recíproca, donde el color más claro representa la incidencia de una determinada periodicidad y la distancia entre los picos encontrados está relacionada con la frecuencia de tal periodicidad (Chauca, 2022).

El programa de procesamiento de datos XEI, utiliza la siguiente expresión matemática para determinar los parámetros de la TF:

Transformada directa:

$$F(u,v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x,y) e^{[-i2\pi(ux+vy)]} dx dy$$

Transformada inversa:

$$f(x,y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u,v) e^{[i2\pi(ux+vy)]} du dv$$

Las componentes de las frecuencias horizontales y verticales son (u) y (v) respectivamente, e (i) es la unidad imaginaria.

En el procesamiento de imágenes, los datos topográficos de altura espacial aparecen tanto más claros cuanto más alejados del fondo oscuro se encuentren. Analizando tales imágenes por TF bidimensional, pueden obtenerse los puntos de la red recíproca, la cual representa el espectro de potencia, donde los puntos brillantes indican la predominancia de una determinada periodicidad en la imagen topográfica (Cassagnes, Lutenberg, & Zacchigna, 2016). En las imágenes puede presentarse ruido o contaminantes acústicos que alteran los valores de medición, y generar diferencias no atribuibles a la caracterización nanoscópica (Chauca, 2022).

Por lo tanto, cada uno de los puntos presentes en la imagen recíproca representa una frecuencia particular que está contenida en la imagen de dominio espacial (Friedrich, 2013). Si la imagen presenta una estructura con varias periodicidades, en el espectro de potencia se podrán visualizar varios picos, donde su ubicación y valor indican la periodicidad y direccionalidad de la estructura (Xu, 1996).

Begoniaceae y la Biomimética

La biomimética es el estudio y replicación de mecanismos o funciones de una muestra biológica para aprovechar el conocimiento adquirido por la naturaleza (Vicent, Bogatyreva, Bogatyrev, Bowyer, & Pahl, 2006). Por ejemplo, las hojas de loto presentan propiedades superhidrofóbicas que han sido replicadas con nanotecnología para diseñar telas y vidrios con esta propiedad, que permite que las gotas de agua, al caer sobre ella, resbalen y arrastren la suciedad miscible con el agua, limpiando la hoja (Spaeth & Barthlott, 2008).

De la misma manera, existen diferentes superficies con estas propiedades superhidrofóbicas con potenciales aplicaciones en electrónica, en prospecciones petrolíferas, en la marina o en la biotecnología, entre otras, debido a que permite mejorar las propiedades anticongelantes, de condensación, de recubrimiento anti reflejante o de anticorrosión (Jiang & Choi, 2021). En la actualidad, el interés comercial aumenta por su gran aplicabilidad en la industria textil y vidriera (Bhushan & Her, 2010).

1.2 Objetivos

Objetivo General

Caracterizar la estructura superficial nanoscópica de los pétalos de *Begonia consobrina* y *Begonia micranthera* a través del microscopio de fuerza atómica.

Objetivos Específicos

- 1. Medir las nanoestructuras de las superficies de los pétalos de *Begonia consobrina* y *Begonia micranthera* con el microscopio de fuerza atómica en modo *tapping* y analizar la periodicidad y la rugosidad de las imágenes topográficas obtenidas con el AFM.
- Medir los ángulos de contacto de una gota de agua líquida sobre la superficie de los pétalos de Begonia.
- Relacionar las medidas de los ángulos de contacto del agua líquida con la topografía nanoscópica de las superficies de los pétalos de Begonia.

CAPÍTULO II 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La realización de la parte experimental se ejecutó en el laboratorio 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 tapping
- Portaobjetos para AFM
- Portaobjetos de vidrio
- Caja de Petri
- Pinzas
- Bisturí
- Cinta doble faz
- Cinta adhesiva
- Guantes de nitrilo
- Rollo de papel absorbente

2.1.2. Equipos

- Microscopio óptico invertido de luz blanca en transmisión
- Microscopio de fuerza atómica
- Computadora (con Software para la adquisición de datos por AFM)

2.2 Métodos

2.2.1 Obtención de la muestra

Las muestras de *B.consobrina* y *B. micranthera* fueron obtenidas por medio de una compra en un invernadero ubicado en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, Barrio Patután.

2.2.2 Observación de la superficie de los pétalos con microscopia óptica

Para la identificación de las estructuras de las Begonias mediante microscopia óptica se utilizó un microscopio óptico invertido de luz blanca en transmisión. Se colocó cada muestra de los pétalos sobre el portaobjetos con la ayuda de pinzas y guantes sin tocar el centro, luego se fijaron con cinta adhesiva los bordes del pétalo, después se colocó la muestra en el microscopio óptico invertido boca abajo el portaobjeto y finalmente se enfocó la muestra con tres objetivos de 4x, 10x y 40x en el mismo orden y se obtuvieron las imágenes.

2.2.3 Preparación de la muestra

La planta completa de *B. consobrina* y *B. micranthera* fue trasladada en maceta al laboratorio donde se seleccionó la zona de interés, se recortó y se colocó con cinta de doble faz en el portaobjetos de la AFM con la ayuda de pinzas y guantes sin tocar la superficie de los pétalos en la zona de medida.

2.2.4 Medición de la nanoestructura de los pétalos mediante AFM

Para medir la nanoestructura, se obtuvieron imágenes de la topografía de las superficies de los pétalos en modo *tapping*, el cual realiza la medición de la topografía de la superficie de la muestra de manera intermitente (García & Kikut, 2020). Se seccionaron muestras de los pétalos de cada Begonia posicionadas en el portaobjetos de la AFM del modo descrito y se insertaron las muestras en el AFM. Tras ajustar los tornillos en los ejes x e y de la pieza solidaria al piezoeléctrico, se cerró la cámara antiacústica de la AFM para aislarlo de vibraciones exteriores, se ajustó correctamente el objetivo óptico y se focalizó la muestra. Después de calibrar los parámetros del programa informático controlador de la AFM, se realizaron los análisis.

- La resolución de la imagen se estableció en 512x512 pixeles.
- El tamaño de medida se estableció en: 5x5 μm² y 10x10 μm².

Finalmente, se seleccionó el método *tapping*, se escaneó la superficie para obtener las imágenes y se guardaron los datos recogidos.

2.2.5 Análisis de rugosidad y periodicidad

Para el análisis de la rugosidad y de la periodicidad, se utilizó el procesador de datos XEI. Se analizaron las imágenes obtenidas y se procesaron substrayendo el fondo de manera polinomial cuadrática. De este modo pudieron obtenerse valores de rugosidad superficial media cuadrática (Sq o RMS), de rugosidad media (Sa), de asimetría (Ssk) y de curtosis (Sku). De la misma manera, la periodicidad se determinó mediante la transformada de Fourier bidimensional. Así, pudo verificarse la existencia o ausencia de periodicidad, que evalúa la frecuencia con la que un ciclo espacial se repite (Percastre, 2015).

2.2.6 Identificación del ángulo de contacto de los pétalos de Begonias

Para la identificación de los ángulos de contacto, se usó una cámara profesional con el uso de lentes macro. Primero, se colocó al pétalo de la flor en un soporte que le brinde estabilidad, luego se enfocó la cámara a la misma altura de la flor. Después, se añadieron 40 μ L de agua sobre la superficie del pétalo con la ayuda de una micropipeta. Seguidamente, se tomaron las fotografías necesarias en distintos ángulos y direcciones. Finalmente, se midieron los ángulos de contacto en las imágenes mediante el programa Image J. La base de la gota con los extremos, así como la superficie del pétalo, se consideraron como referencia para medir el ángulo de contacto en cada imagen, tal y como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Ángulo de contacto representación de la medición.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de la caracterización de la superficie de los pétalos de *Begonia consobrina* y *Begonia micranthera* mediante microscopia óptica

Mediante el uso de microscopia óptica se identificaron las células epidérmicas adaxiales (haz del pétalo) de los dos tipos de begonias, donde se evidenció que ambas presentan una estructura estable de forma poliédrica (hexagonal) e isodiamétrica (forma regular) con espacios intracelulares pequeños, como se observa en la Figura 2 (A y B). Es común en los pétalos de las flores encontrar en la epidermis adaxial células planas de menor tamaño que las células abaxiales (envés del pétalo) (Fonseca, Castro, & Sandoval, 2019). Además, en la sección final del pétalo, que corresponde al tubo de la corola, también conocida como uña de *B. micranthera*, se observó la presencia de estomas. Esto puede ser debido a que se encuentra cerca del receptáculo y los sépalos de la flor, como se observa en la Figura 1 (A) (Zhang, y otros, 2021).



Figura 2. Imagen de la superficie que presentan los pétalos de Begonia consobrina (a) y Begonia micranthera (b) mediante el microscopio óptico (Lente 40x).

3.2 Análisis de la caracterización nanoscópica bidimensional de la superficie de los pétalos de *B. consobrina* y *B. micranthera* mediante microscopia de fuerza atómica

La topografía superficial de las begonias se analizó mediante AFM. Inicialmente, se sustrajo el fondo de manera polinomial cuadrática mediante el programa de procesamiento de datos XEI. Se observó que los dos tipos de begonias presentan una nanoestructura de forma tubular e irregular, la *B. consobrina* tiene mayor inclinación

y una forma menos alargada con menor irregularidad, sin profundidades notorias tanto en la Figura 3 (A) como en la Figura 5 (A). La *B. micranthera*, por el contrario, presenta una forma más alargada con mayor irregularidad y continuidad (Figura 4 (A)). Para una mejor comparación, se disminuyó el tamaño de medida de cada zona analizada de la superficie de los pétalos a $5x5 \ \mu m^2$, donde se evidenció que las muestras de *B. micranthera* presentaron una mayor cantidad de nanoirregularidades en su estructura, como se observa en la Figura 6 (A).



Figura 3. Imagen bidimensional de la nanoestructura de B. consobrina (A) y perfil estructural (B) de la imagen de $10 \times 10 \ \mu m^2$ a lo largo de la línea indicada.



Figura 4. Imagen bidimensional de la nanoestructura B. micranthera (A) y perfil estructural (B) de la imagen de $10 \times 10 \mu m^2 a$ lo largo de la línea indicada.

Las imágenes obtenidas en modo *tapping* muestran que los dos tipos de begonias presentan nanoestructuras en las distintas zonas de la superficie. Además, se analizaron los perfiles de las nanoestructuras trazando una línea perpendicular, donde se identificó que la *B. consobrina* presenta un perfil con mayor irregularidad, con picos de altura similar (Figura 3(B)). Se observó que el pico con mayor altura en las

imágenes $5x5 \ \mu m^2 \ y \ 10x10 \ \mu m^2$ fue de 391 nm y 369 nm, respectivamente, como se observa en la Figura 3(B) y 5(B).

*B. micranther*a presentó un perfil con menor irregularidad y baja periodicidad, donde el pico con mayor altura de 1222 nm (Figura 4(B)). En la imagen de 5x5 μ m² (Figura 6(A)), se observa un pico con una altura total de 767 nm. Al seleccionar una región más pequeña, en la Figura 6(A) no está presente la diferencia de altura que se observa en la Figura 3(A).



Figura 5. Imagen bidimensional de la nanoestructura de B. consobrina (A) y perfil estructural (B) de la imagen de 5 x 5 μ m² a lo largo de la línea indicada.



Figura 6. Imagen bidimensional de la nanoestructura B. micranthera (A) y perfil estructural (B) de la imagen de 5 x 5 μ m² a lo largo de la línea indicada.

Es importante mencionar que mediante la AFM se observaron conformaciones nanoestructurales que no se pueden evidenciar mediante microscopía óptica, permitiendo analizar con mayor detalle la forma estructural que presentan los pétalos de ambas begonias.

3.3 Análisis de la caracterización nanoscópica de los pétalos de *B. consobrina* y *B. micranthera* en representación tridimensional

Las imágenes obtenidas de las nanoestructuras de los dos tipos de begonias pueden representarse de forma tridimensional. Esto nos permite visualizar mejor los valores del plano *z*, que son las alturas entre picos y valles. En las imágenes en representación tridimensional se observan formas geometrías tubulares que son picos con bajas alturas (Figura 7 (A y B)).



Figura 7. Imagen tridimensional de la nanoestructura de los pétalos de B. consobrina (A) y B. micranthera (B) en un rango de 10 x 10 µm² en ambos casos.

El eje (z) representa la altura de la superficie, y los ejes (x) e (y) corresponden al área de la superficie que se escaneó en cada tipo de begonia, las dos muestras tienen diferencias significativas: la *B. consobrina* tiene picos afilados con mayor altura, y la *B. micranthera* presenta una estructura más uniforme en la superficie sin picos afilados. Sin embargo, en este último caso se pueden ver importantes cambios microscópicos de altura en la base, es decir, una depresión de gran tamaño en el centro de la micrografía.

3.4 Análisis de la rugosidad de *B. consobrina* y *B. micranthera* mediante las imágenes topográficas obtenidas de la AFM

Se analizaron los parámetros de la rugosidad sustrayendo el fondo de manera polinomial cuadrática mediante el programa de procesamiento de datos XEI, lo cual nos ayuda a determinar las nanoirregularidades (Boussu et al., 2005).

Muestra	B. consobrina		B. micranthera	
Tamaño (µm)	10	05	10	05
Sq o RMS	$0,\!11 \pm 0,\!03$	$0,\!13\pm0,\!03$	$0,\!45\pm0,\!05$	$0{,}29\pm0{,}04$
(µm)				
Sa (µm)	$0,\!09\pm0,\!03$	$0,\!12\pm0,\!03$	$0,\!39\pm0,\!06$	$0{,}28\pm0{,}05$
Ssk	$1,1 \pm 0,1$	$1,13 \pm 0,03$	$1,2 \pm 0,1$	$1,\!07\pm0,\!02$
Sku	$1,7 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,3$	$1,\!16\pm0,\!05$
Sz (µm)	$0,\!30 \pm 0,\!04$	$0,\!25\pm0,\!05$	$0,9\pm0,1$	$0,4 \pm 0,1$

Tabla 1. Parámetros de rugosidad obtenidos de la topografía mediante el procesamiento de imágenes con el programa XEI.

La rugosidad cuadrática media (Sq o RMS) se obtuvo con la expresión matemática de la raíz cuadrada media de la superficie, fórmula usada por el procesador de datos XEI:

$$Sq = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} Z_i^2}$$

donde Z_i representa las alturas que registra la AFM en cada uno de los píxeles de la imagen y N representa al número total de puntos del área escaneada (Batista, Bastos, Pereira, Alvernaz, & Barbosa, 2015). N depende de la resolución de las imágenes: por ejemplo, si ésta es 512 x 512 píxeles², existen 262144 puntos sobre la superficie (Gros et al., 2021).

La RMS obtenida de las imágenes de la *B. consobrina* tiene un valor de $0,11 \pm 0,03$ µm en las imágenes obtenidas en un tamaño de $10 \times 10 \text{ µm}^2$, y de $0,13 \pm 0,03 \text{ µm}$ en las imágenes de $5 \times 5 \text{ µm}^2$. Por otro lado, en el caso de la *B. micranthera*, estos valores son de $0,45 \pm 0,05 \text{ µm}$ en imágenes de $10 \times 10 \text{ µm}^2$ y de $0,29 \pm 0,04 \text{ µm}$ en las de $5 \times 5 \text{ µm}^2$.

De la misma manera, se calculó la rugosidad media aritmética superficial (Sa) mediante la siguiente fórmula, procesada mediante el programa XEI.

$$Sa = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} \left| Z_{ij} \right|$$

Para la rugosidad media aritmética de la *B. consobrina* se obtuvo un valor de $0,09 \pm 0,03 \ \mu\text{m}$ a 10 x 10 μm^2 y de $0,12 \pm 0,03 \ \mu\text{m}$ a 5 x 5 μm^2 , a diferencia de la *B. micranthera* de $0,39 \pm 0,06 \ \mu\text{m}$ a 10 x 10 μm^2 y $0,28 \pm 0,05 \ \mu\text{m}$ a 5 x 5 μm^2 .

Al comparar la rugosidad media cuadrática con la aritmética, se observa que existe un cambio significativo. Esto puede deberse a que la rugosidad media cuadrática toma en cuenta los datos, incluidos los puntos aislados, o alguna variación de baja frecuencia, elevados al cuadrado, por lo que incrementa el valor de los datos altos, mientras que la rugosidad media aritmética considera la diferencia entre pico y valle, pero sólo toma los valores tal cual, no elevándolos al cuadrado (Boussu et al., 2005).

Otro parámetro calculado fue la asimetría (Ssk), que se relaciona con la distribución de la altura de la topografía. Mide las desviaciones entre el plano medio o plano de referencia con la superficie, y es utilizada para la evaluación del contorno o de la forma de la distribución (Ghosh, Kumar, Sidpara, & Bandyopadhyay, 2022). En las begonias analizadas, los valores de asimetría se encontraron en un rango de 1,1 a 1,2. Debido a que los valores fueron diferentes a cero, demuestra una superficie asimétrica, (Ayala, 2013). Además, los valores de asimetría fueron positivos, indicando que los valores de altura se encuentran por encima del promedio.

$$Ssk = \frac{1}{Sq^3} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} Z_{ij}^{3}$$

Además, se analizó la curtosis (Sku), la cual permite conocer la relación geométrica de la punta de los picos y valles, sea si están achatadas o escarpadas. Es recomendado para analizar el grado de contacto entre dos objetos (Olympus, 2023). Se analizó con la siguiente fórmula, y fue procesada mediante el programa XEI.

$$Sku = \frac{1}{Sq^4} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} Z_{ij}^4$$

Las superficies con un menor número de picos altos y valles bajos con una forma plana presentan valores de curtosis menores a 3, a diferencia de superficies con mayor número de picos altos y valles bajos, en los cuales la curtosis es superior a 3. En los dos tipos de begonias se evidenció que el valor de la curtosis es menor a 3, es decir,

que presentan superficies planas, sin picos de tamaño significativo (Liao, Liu, Li, & Chen, 2020).

Finalmente, se obtuvo la altura máxima superficial (Sz), también denominada altura media de diez puntos, donde se calcula la diferencia de 5 picos más altos y 5 valles más bajos de la superficie escaneada (Kumar & Rao, 2012).

$$Sz = \frac{1}{5} \sum_{j=1}^{5} (Zpj + Zvj)$$

Para la altura máxima superficial se obtuvo valores de la *B. consobrina* de $0,30 \pm 0,04$ µm a 10 x 10 µm² y de $0,25 \pm 0,05$ µm a 5 x 5 µm², a diferencia de la *B. micranthera* de $0,9 \pm 0,1$ µm a 10 x 10 µm² y $0,4 \pm 0,1$ µm a 5 x 5 µm².

3.5 Análisis de la periodicidad de B. consobrina y B. micranthera

La transformada de Fourier permite representa picos de intensidades, que corresponden a las frecuencias espaciales de sus estructuras (Cárdenas, Cifuentes, Torres, Escofet, & Millán, 2007).

En el análisis de periodicidad se observa una potencia de origen en la cual se refleja un brillo en el medio. Cada frecuencia es representada por un píxel en la imagen. Los píxeles que se encuentran cerca del origen representan frecuencias bajas, mientras que los píxeles alejados del origen son de frecuencias altas (Xu, 1996). En la Figura 8 pueden observarse los espectros de las TF de los dos tipos de muestras. En el caso de la *B. consobrina* puede visualizarse una clara periodicidad en dirección oblicua en la Figura 7 (A y B), mientras que en el caso de la *B. micranthera* (B) aparece una periodicidad en el eje horizontal en la Figura 7 (B y C).



Figura 8. Transformada rápida bidimensional de Fourier de B. consobrina (A, B) y B. micranthera (C, D) de imágenes de 10x10 μm² (A, C) y de 5x5 μm² (B, D).

En definitiva, con el análisis del espectro de potencia se puede inferir que ambas, la *B. consobrina* y la *B. micranthera*, presentan periodicidad en la estructura, debido a la presencia de picos que representan las diversas intensidades de los componentes de la frecuencia de la línea seleccionada. La separación entre los picos tiene relación con la longitud de onda de la periodicidad, y la línea que los une, pasando por el punto central, tiene que ver con la dirección en la cual se presenta la periodicidad.

En la Figura 9 (A y B) se representa el espectro de potencia de los perfiles de las Figuras 3(B), 4(B), 5(B) y 6(B), donde pueden observarse los picos que corresponden a la presencia de estructuras periódicas de las imágenes de $10x10 \ \mu m^2$. Este análisis permite identificar la presencia o ausencia de estructuras periódicas en los perfiles, por medio de la formación de picos que corresponderán a la intensidad de las frecuencias; donde el eje de abscisas (x) corresponde a la frecuencia de la zona de interés representado por la unidad (1/ μ m), mientras que el eje de ordenadas (y)

corresponde a la intensidad de las frecuencias, representada en unidades de μm^3 (Chauca, 2022). La *B. consobrina* de la Figura 9 (A y B) presentan periodicidad correspondiente a 1,22 1/ µm y 1,37 1/ µm, respectivamente, mientras que en la *B. micranthera* de la Figura 9 (C y D) corresponde a 0,18 1/ µm y 0.97 1/ µm, respectivamente, lo cual indica que *B. consobrina* presenta una periodicidad con una longitud de onda de aproximadamente 0,82 µm y 0,73 µm, bastante menor en comparación con la *B. micranthera*, la cual se relaciona con una longitud de onda de 5,55 µm y 1,03 µm, respectivamente en el orden de las figuras enunciadas.



Figura 9. Análisis del espectro de potencia del perfil de B. consobrina (A, B) y B. micranthera (C, D) de los perfiles mostrados en las Figuras 3, 4, 5 y 6 tomados a partir de las imágenes de 10x10 μm² (A, C) y de 5x5 μm² (B, D).

3.6 Análisis de ángulo de contacto de B. consobrina y B. micranthera

El ángulo de contacto analizado es el ángulo de contacto aparente macroscópico, que es un parámetro utilizado para la caracterización de la humectabilidad de una superficie en estado sólido (Jiang & Choi, 2021). La *B. consobrina* y la *B. micranthera* presentaron ángulos de $82,2^{\circ} \pm 1,7^{\circ}$ y de $77^{\circ} \pm 9^{\circ}$, respectivamente, lo cual indica que son fundamentalmente superficies hidrofílicas. En el análisis de la topografía de *B. micranthera* se evidencia la presencia de microestructuras con picos bajos y más irregulares, con menor periodicidad y espaciado entre estructuras. Esta diferencia nanoscópica superficial podría estar relacionada con una mayor hidrofilicidad, obteniendo así ángulos de contacto más bajos que la *B. consobrina*.

La rugosidad es un parámetro que afecta directamente al ángulo de contacto de una gota líquida situada sobra la superficie. Mediante la topografía nanoscópica, se observó la presencia de picos afilados en la superficie rugosa de *B. consobrina*. Estos

picos bajos y achatados aumentan el área de contacto de la interacción sólido-líquido y generan ángulos de contacto diferentes en la misma gota. (Nosonovsky & Bhushan, 2005).



Figura 10. Gotas de agua líquida sobre pétalos de B. consobrina (A) y B. micranthera (B).

3.7 Relación entre las medidas de los ángulos de contacto del agua líquida con la topografía nanoscópica de las superficies de los pétalos de Begonia.

Dos superficies perfectamente planas se dividen en dos estados hidrofílicos cuando tiene un ángulo de contacto (AC) inferior a 90°, e hidrofóbico cuando tienen ángulos superiores a 90°, el AC va a depender de la energía superficial de la gota de agua (Haj at al., 2022). La relación entre el ángulo de contacto y la topografía puede ser explicada por el modelo de Wenzel o por el modelo de Cassie-Baxter (Barraza, 2021). Una combinación de micro y nanoestructuras puede afectar directamente sobre el ángulo de contacto, generando superficies con varios grados de hidrofobicidad y adhesión (Bhushan & Her, 2010). Según Wenzel, una superficie altamente estructurada, es decir, muy rugosa, incrementa la naturaleza hidrofóbica de la superficie (Barraza, 2021). En el modelo de Wenzel se da un contacto directo de la superficie con la gota de agua, debido a que no hay formación de burbujas de aire entre la superficie y la gota. Al no tener espacio donde formarse, el área de contacto aumenta entre la gota y la superficie (Barraza, 2021). Al entrar la gota en completo contacto con la superficie, esta interacción hace que la gota se adhiera y no se mueva por la superficie (Jiang & Choi, 2021).

En cambio, el modelo de Cassie-Baxter explica lo que sucede en superficies menos rugosas, pero con picos altos, debido a que estos poseen espacios para generar un denominado colchón de aire, el cual formará una interacción solido-aire-liquido, donde las gotas se depositan encima de estas burbujas, lo cual mantiene su forma esférica y aumenta el ángulo de contacto (Cha, Yi, Moon, Lee, & Kim, 2010). El área de contacto será menor al mantener la forma esférica de la gota de agua. Además, al

ser ligeramente inclinado su desplazamiento será fácil, debido a que la interacción directa con la superficie es reducida (Kamaraj, Shaw, & Sundaram, 2015).

La nanoestructura de la superficie refuerza la tendencia natural de la superficie; es decir, que si es hidrofóbica y nanoestructurada, es más hidrofóbica aún, y su ángulo de contacto será todavía mayor. De la misma manera ocurre con las superficies hidrofílicas, si está conformado por moléculas polares y está menos nanoestructurada, se vuelve más hidrofílica y su ángulo de contacto será menor. En el caso de las estructuras superhidrofóbicas, al tener más nanoestructuras agrupadas con picos altos, permiten que las gotas pueden desplazarse fácilmente, esta característica se denomina propiedad de autolimpieza (Hong & Park, 2020).

Los resultados de las dos begonias analizadas presentaron ángulos menores a 90°, debido a que la forma de las gotas de agua no fue esférica, como se observa en la Figura 10 (A y B). Además, la gota se impregnó en todo el área de la superficie en cada caso, las topografías fueron periódicamente bajas (patrones recurrentes), se encontraron espaciados entre 1,37 μ m la *B. consobrina* y 0,97 μ m la *B. micranthera*, con la presencia de picos bajos, como se observa en la Figura 10 en los dos casos la gota no tiene forma esférica y se visualiza que tiene contacto con un área mayor de la superficie, estas características corresponden a superficies hidrofílicas en los dos tipos de begonias. De la misma manera, en las begonias estudiadas la presencia de un menor número de picos altos y de valores bajos de rugosidad afectan a la disminución del ángulo de contacto, debido a que una baja rugosidad permite mayor contacto entre la superficie y la muestra, lo cual genera ángulos de contacto menores (Bhushan & Her, 2010).

CAPÍTULO IV

4. Conclusiones y Recomendaciones

4.1 Conclusiones

Mediante el uso de microscopia de fuerza atómica, se obtuvo la caracterización nanoscópica superficial de los pétalos de *B. consobrina* y de *B. micranthera*, que nos da a conocer la nanoestructuración de la superficie de los pétalos representada en la topografía superficial. Esto tiene relación con los ángulos de contacto de agua líquida. Los pétalos no recibieron tratamientos previos para poder ser visualizados en los microscopios ópticos y de fuerza atómica.

La *B. consobrina* y la *B. micranthera*, al ser medidas en modo *tapping*, presentaron topografías superficiales con estructuras tubulares irregulares, espaciadas y con picos bajos, la *B. consobrina* en su topografía presentó de igual manera picos bajos e irregularidades. Se obtuvieron valores de RMS de $0,11 \pm 0,03 \mu m$ y de $0,45 \pm 0,05 \mu m$ a $10 \times 10 \mu m^2$ para la *B. consobrina* y para la *B. micranthera*, respectivamente, y de $0,13 \pm 0,03 \mu m$ y de $0,29 \pm 0,04 \mu m$ a $5 \times 5 \mu m^2$ para idénticas muestras. Esto indica una corrugación menos pronunciada en el caso de la *B. consobrina*, en comparación con la de la *B. micranthera*. La rugosidad media aritmética presentó valores al cuadrado como en la RMS. Además, las superficies presentaron asimetría, así como una estructura plana con picos y valles bajos, debido a que la curtosis fue menor a 3 en ambos tipos de muestras. En el análisis de la periodicidad se observó que *B. consobrina* presentó mayor periodicidad, en comparación con la *B. micranthera*.

Los ángulos de contacto de la *B. consobrina* y de la *B. micranthera* se encontraron en un rango de $82,2^{\circ} \pm 1,7^{\circ}$ y de $77^{\circ} \pm 9^{\circ}$, respectivamente. Estas características correspondieron a superficies hidrofílicas, con ángulos de contacto bajos. Estos datos podrían estar relacionados con la topografía nanoscópica observada, según el modelo de Wenzel.

4.2 Recomendaciones

Realizar pruebas de ángulo de contacto a los pétalos de las flores con un líquido apolar, debido a que el líquido apolar podría disolver compuestos de cera, y así identificar la presencia de cera en las begonias analizadas. También puede verificarse si la cera influye en las propiedades hidrofóbicas al encontrarse presente.

Caracterizar la nanoestructura de las hojas de las begonias para identificar si son hidrofóbicas, debido a que comercialmente tienen mayor demanda las propiedades hidrofóbicas para la biomimetización.

Analizar el ángulo de contacto con más detalle. La medición debe tomar en cuenta la histéresis y el ángulo de contacto de avance y retroceso, tanto horizontal como inclinado, además de medirlo cuando la gota de agua está en movimiento. Mediante el uso de un tensiómetro de la serie DCAT de DataPhysics Instruments, que sirve para la medición de ángulo de contacto dinámico, la tensión superficial e interfacial y la energía superficial.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Ayala, A. (2013). Índice de dificultad y asimetría de los ítems en las pruebas pedagógicas. *Horizonte de la Ciencia*, 3(5), 65-74.
- Barraza, M. (2021). Reducción de arrastre en superficies biomiméticas superhidrofóbicas vía impresión 3D. Universidad de Chile. Obtenido de https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/184153/Reduccion-dearrastre-en-superficies-biomimeticas-superhidrofobicas-via-impresion-3D.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Batista, A., Bastos, F. d., Pereira, T., Alvernaz, J., & Barbosa, E. (2015). Enamel wear characterization based on a skewness and kurtosis surface roughness evaluation. *Biotribology*, 35-41. doi:https://doi.org/10.1016/j.biotri.2015.04.001
- Bertoglio, R., Mazzucchelli, A., Catalano, N., & Matteucci, M. (2023). A Comparative Study of Fourier Transform and CycleGAN as Domain Adaptation Techniques for Weed Segmentation. *Smart Agricultural Technology*, 100188. doi:https://doi.org/10.1016/j.atech.2023.100188
- Bhushan, B., & Her, E. K. (2010). Fabrication of Superhydrophobic Surfaces with High and Low Adhesion Inspired from Rose Petal. 11, 8207–8217. doi:https://doi.org/10.1021/la904585j
- Boussu, K., Brugge, B. V., A. V., Snauwaert, J., Haesendonck, C. V., & C. Vandecasteele. (2005). Roughness and hydrophobicity studies of nanofiltration membranes using different modes of AFM. *Journal of Colloid and Interface Science*, 632-638. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.01.095
- Cárdenas, Cifuentes, Torres, Escofet, & Millán. (2007). Representación paramétrica de la transformada de Fourier de tejidos textiles. *Ingeniería y Ciencia*, *vol. 3*, 135-144.
- Cassagnes, A., Lutenberg, A., & Zacchigna, F. (2016). Implementación y análisis de algoritmos de cálculo de Transformada Rápida de Fourier para su aplicación en sistemas OFDM. Obtenido de http://laboratorios.fi.uba.ar/lse/tesis/LSE-FIUBA-Tesis-Grado-Andres-Cassagnes-2016.pdf

- Cha, T.-G., Yi, J. W., Moon, M.-W., Lee, K.-R., & Kim, H.-Y. (2010). Nanoscale Patterning of Microtextured Surfaces to Control Superhydrophobic Robustness. *Langmuir*, 11, 8319–8326. doi:https://doi.org/10.1021/la9047402
- Chauca, J. (2022). Caracterización nanoscópica superficial de la estructura de las alas del insecto andino Platycoelia (catzo ecuatoriano) a través de microscopia de fuerza atómica. Universidad Técnica de Ambato.
- Chen, Y., & Huang, W. (2004). Numerical simulation of the geometrical factors affecting surface roughness measurements by AFM. *Measurement Science and Technology*, 15(10), 2005–2010. doi:10.1088/0957-0233/15/10/010
- Fonseca, R., Castro, M., & Sandoval, E. (2019). Morfoanatomía floral de Kallstroemia maxima (Zygophyllaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad Vol.* 90. doi:https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2075
- 13. Friedrich, V. (03 de 2013). *Transformada de Fourier de una Imagen y filtrado de una imagen en el dominio de la frecuencia*. Obtenido de http://lcr.uns.edu.ar/fvc/NotasDeAplicacion/FVC-Virginia%20Friedrich.pdf
- 14. Gan, W.-S. (2020). Transformada de Fourier. En: Procesamiento de Señales y Procesamiento de Imágenes para Imágenes Acústicas. Springer. doi:https://doi.org/10.1007/978-981-10-5550-8_3
- 15. García, A., & Kikut, C. K. (2020). Microscopía de fuerza atómica como herramienta en la investigación de asfaltos. *Infraestructura Vial*, 22(40), 20-27. doi:http://dx.doi.org/10.15517/iv.v22i40.42057
- Ghosh, G., Kumar, M., Sidpara, A., & Bandyopadhyay, P. (2022). 9 Tribological aspects of different machining processes. *Machining and Tribology*, 213-238. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819889-6.00006-X
- 17. González, M., & Castrellón, J. (2005). Microscopio de fuerza atómica. *Encuentro de Investigación en Ingeniería Eléctrica*, 17-18.
- Gros, J., Ketabi, S., Cañones, R., Garcia, M., C. V., Casado, S., & Teus, M. (2021). Atomic force microscopy comparative analysis of the surface roughness of two posterior chamber phakic intraocular lens models: ICL versus IPCL. *BMC Ophthalmology*, 21: 280. doi:https://doi.org/10.1186/s12886-021-02039-6

- Haj, I. S., Wejrzanowski, T., Przybyszewski, B., Kozera, R., Casas, X. G., & Barranco, A. (2022). Role of Surface Topography in the Superhydrophobic Effect—Experimental and Numerical Studies. *Materials* 2022, 15, 3112. doi:https://doi.org/10.3390/ma15093112
- 20. Hong, H.-R., & Park, C.-H. (2020). The influence of nanostructure on the wetting transition of polyvinylidene fluoride nanoweb: from the petal effect to the lotus effect. *Textile Research Journal*, 1-14. doi:https://doi.org/10.1177/0040517520955233
- 21. Iwashinaa, T., Saito, Y., Kokubugata, G., & Peng, C.-I. (2020). Flavonoids in the leaves of Hillebrandia and Begonia species (Begoniaceae). *Biochemical Systematics and Ecology, Volume 90*. doi:https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104040
- Jacques, E. D., & Henrique, M. (2005). Notas nomenclaturais em Begonia L. (Begoniaceae). Brazilian Journal of Botany, 28, 579-588. doi:https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000300014
- 23. Jiang, Y., & Choi, C.-H. (2021). Droplet Retention on Superhydrophobic Surfaces:
 A Critical Review. Advanced Materials Interfaces, 2001205, 1-26. doi:10.1002/admi.202001205
- Kamaraj, A., Shaw, V., & Sundaram, M. (2015). Novel Fabrication of Un-Coated Super-Hydrophobic Aluminum via Pulsed Electrochemical Surface Modification. *Procedia Manufacturing*, 892–903.
- Korayem, M., Kavousi, A., & Ebrahimi, N. (2011). Dynamic analysis of tappingmode AFM considering capillary force interactions. *Scientia Iranica*, 121-129. doi:https://doi.org/10.1016/j.scient.2011.03.014
- Kozlova, E., Chernysh, A., Moroz, V., & Kuzovlev, A. (2013). Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier. *Micron 44*, 218-227. doi:https://doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012
- 27. Kumar, R., & Rao, S. (2012). AFM studies on surface morphology, topography and texture of nanostructured zinc aluminum oxide thin films. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 1881-1889.

- León, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa, C., & Navarrete, H. (2011). Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador, 2ª edición. . En C. Quintana, & S. León, *Begoniaceae* (págs. 197-204). Quito: Publicaciones del Herbario QCA,Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- 29. Liao, W., Liu, X., Li, G., & Chen, T. (2020). Evaluation of thermal-hydraulic performance of dimpled tube from the perspective of skewness and kurtosis. *International Journal of Thermal Sciences Vol. 156.* doi:https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2020.106469
- Lin, H.-P., & Chen, L.-J. (2015). Direct observation of wetting behavior of water drops on single micro-scale roughness surfaces of rose petal effect. *Biotribology*, 35-41. doi:https://doi.org/10.1016/j.biotri.2015.04.001
- Main, K., Provan, J., Haynes, P., Wells, G., Hartley, J., & Pyne, A. (2021). Atomic force microscopy—A tool for structural and translational DNA research. *APL Bioengineering*, 5(3), 031504. doi:10.1063/5.0054294
- 32. Midobuche, E., Zermeño, M., Guízar, J., & Carrera, S. (2016). Determinación de la calidad de pulido de resinas de nanorrelleno empleando un microscopio de fuerza atómica. *Revista ADM*, 73(5), 255-262.
- Nosonovsky, M., & Bhushan, B. (2005). Roughness optimization for biomimetic superhydrophobic surfaces. *Microsyst Technol*, 11: 535–549. doi:10.1007/s00542-005-0602-9
- 34. Olympus. (2023). Medición de la rugosidad superficial: Parámetros. Recuperado el 2023, de https://www.olympus-ims.com/es/metrology/surface-roughnessmeasurement-portal/parameters/#!cms[focus]=cmsContent14709
- 35. Percastre, A. (2015). La Serie de Fourier: estimación de observaciones económicas inexistentes. *Economía Informa*, 100-105. doi:https://doi.org/10.1016/j.ecin.2015.09.007
- 36. Pi, J., & Cai, J. (2019). Cell Topography and Its Quantitative Imaging by AFM. Atomic Force Microscopy: Methods and Protocols, 99-113. doi:10.1007/978-1-4939-8894-5_6

- 37. Pico, C. (2022). : Caracterización nanoscópica de la estructura superficial del insecto amazónico Rhynchophorus palmarum. Universidad Técnica de Ambato.
- 38. Piontek, M., & Roos, W. (2018). Atomic Force Microscopy: An Introduction. *Methods Mol Biol*, 1665:243-258. doi:10.1007/978-1-4939-7271-5_13
- 39. Reséndiz, M., & Castrellón, J. (03 de 2005). Microscopio de Fuerza Atómica. Encuentro de Investigación en Ingeniería Eléctrica, 17-18. Obtenido de https://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS_20/Top ografia/2.pdf
- 40. Spaeth, M., & Barthlott, W. (2008). Lotus-Effect®: Biomimetic Super-Hydrophobic Surfaces and Their Application. Advances in Science and Technology 60, 60, 38-46. doi:https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AST.60.38
- 41. Thomas, S. (17 de 02 de 2022). Discrete vs. Continuous Variables: Meaning and Differences. Obtenido de https://articles.outlier.org/discrete-vs-continuousvariables#section-what-is-a-discrete-variable
- 42. Toledo, J., Ruiz, V., A. D., D. R., Donoso, A., Bellido, J.-C., . . . Sánchez, J. (2017). Design and Characterization of In-Plane Piezoelectric Microactuators. *In Actuators*, 19. doi:10.3390/act6020019
- 43. Vazquez, C., Fragoso, R., Golzarri, J., & Espinosa, G. (2007). Applications of the atomic force microscopy to nuclear track methodology. *Revista mexicana de física*, 53, 52-56.
- 44. Vicent, J., Bogatyreva, O., Bogatyrev, N., Bowyer, A., & Pahl, A.-K. (2006).
 Biomimética: su práctica y teoría. *Journal of The Royal Society Interface*, 3, 471–482. doi:https://doi.org/10.1098/rsif.2006.0127
- 45. Xu, B. (1996). Identifying Fabric Structures with Fast Fourier Transform Techniques. 66 (8), 496-506. doi:10.1177/004051759606600803
- 46. Zhang, P., Sun, M., Wang, X., Guo, R., Sun, Y., Gui, M., . . . Zhang, L. (2021). Morphological Characterization and Transcriptional Regulation of Corolla Closure in Ipomoea purpurea. *Frontiers in Plant Science*. doi:10.3389/fpls.2021.697764