

**ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL
QUITOSANO EXTRAÍDO DE LAS ESPECIES DE AVISPAS *Polistes*
versicolor y *Polybia occidentalis*.**

VIVIAN ALEXANDRA MONTAÑEZ VALDERRAMA



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2022**

**ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL QUITOSANO
EXTRAÍDO DE LAS ESPECIES DE AVISPAS *Polistes versicolor* y *Polybia
occidentalis*.**

VIVIAN ALEXANDRA MONTAÑEZ VALDERRAMA
Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de
Químico(a)

Tutores

JOSÉ HERNANDO QUINTANA MENDOZA
Magister
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

DIANA ALEXANDRA TORRES SÁNCHEZ
Doctora
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2022

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios, quien me ha dado fortaleza para continuar y lograr cada una de mis metas personales y profesionales, y guiado con su amor y fidelidad incondicional en el camino de mi vida. A toda mi familia porque con sus consejos y apoyo hicieron de mí una mejor persona; y de manera especial a mi madre, por ser mi mejor amiga, consejera y ejemplo a seguir, por brindarme su plena confianza y enseñarme que con valentía y dedicación puedo lograr lo que me proponga.

AGRADECIMIENTOS

Una vez más les digo, que, si en este mundo dos de ustedes se ponen de acuerdo en lo que piden, mi Padre, que está en los cielos, se lo concederá. Porque donde dos o tres se reúnen en mi nombre, allí estoy yo, en medio de ellos.

Mateo 18:19-20

Primeramente, agradezco a Dios por bendecirme con su amor y bondad, por enseñarme a no temer a las adversidades porque él siempre estará conmigo, gracias por brindarme la sabiduría y fortaleza necesaria para culminar exitosamente esta gran meta.

Le agradezco profundamente a mis tutores José Quintana y Alexandra Torres por sus consejos y orientaciones, por su plena dedicación, confianza y apoyo en este gran proceso, como también por enseñarme a amar un poco más esta bella ciencia, adicionalmente a Wolfgang Hoffmann por su apoyo en la identificación taxonómica de las avispa estudiadas en esta investigación.

Gracias a mis padres, Janeth y Wilson, y a mi padrastro Nelson, por haberme brindado su amor y apoyo incondicional, por sus palabras sabias que me impulsaron a seguir mis sueños por más locos que fueran, también les agradezco a mis hermanos Andres y Valentina por llenarme de alegrías y momentos inolvidables, como también por enseñarme a apreciar los pequeños detalles de la vida; le doy gracias a mi familia por ser los principales promotores de consejos, por creer en mí y acompañarme en mis aspiraciones.

Agradezco a mis amigos y compañeros de carrera, Daniel Villamizar y Rainer Ruidiaz por brindarme su amistad, por vivir juntos los mejores esparcimientos colmados de diversión cuando estábamos cansados de trabajar, finalmente les agradezco por compartir una pequeña parte de sus vidas conmigo.

***“Soy el amo de mi destino,
soy el capitán de mi alma.”***

William E. Henley

CONTENIDO

DEDICATORIA	3
Agradecimientos	4
Lista de tablas	9
Lista de figuras	11
Lista de ecuaciones	14
Lista de abreviaturas	15
RESUMEN	16
Abstract	17
INTRODUCCION	18
2. Objetivos	22
2.1 Objetivo general	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. METODOLOGÍA	23
3.1 Reactivos	23
3.2 Materiales y equipos	23
3.3 Procedimiento	23
3.4 Muestreo	24
3.5 Extracción de Quitina	25

3.5.1	Análisis morfológico	25
3.5.2	Deshidratación	25
3.6	Obtención de Quitosano	25
3.6.1	Desproteínización	25
3.6.2	Determinación de proteínas	26
3.6.3	Desmineralización	26
3.6.4	Desacetilación	26
3.7	Técnicas de caracterización	27
4.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	28
4.1	Extracción de Quitina	28
4.1.1	Análisis morfológico	29
4.1.1.1	Avispas <i>Polistes versicolor</i>	29
4.1.1.2	Avispas <i>Polybia occidentalis</i>	31
4.1.2	ATR-FTIR	32
4.1.2.1	Tratamiento de deconvolución	34
4.1.2.1	Avispas hembra <i>Polistes versicolor</i>	36
4.1.2.2	Avispas macho <i>Polistes versicolor</i>	41
4.1.2.3	Avispas <i>Polybia occidentalis</i>	47
4.1.2.4	Comparación entre las avispas <i>Polistes versicolor</i> y <i>Polybia occidentalis</i>	52
4.1.3	Deshidratación	54
4.2	Obtención de Quitosano	57

4.2.1 Determinación de proteínas	58
4.2.2 Tratamientos	59
4.2.2.1 Avispas macho <i>Polistes versicolor</i>	59
4.2.2.2 Avispas hembra <i>Polistes versicolor</i>	64
4.2.2.3 Avispas hembra <i>Polybia occidentalis</i>	68
4.2.3 Caracterización	72
4.2.3.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	72
4.2.3.2 Análisis termogravimétrico simultáneo (TGA/DSC)	73
4.3 Desacetilación	75
4.3.1 Avispas hembra <i>Polistes versicolor</i>	76
4.3.2 Avispas macho <i>Polistes versicolor</i>	77
4.3.3 Avispas hembra <i>Polybia occidentalis</i>	78
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	81
BIBLIOGRAFÍA	82
ANEXOS	89

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de los 9 componentes aplicados para las avispas estudiadas. _____	35
Tabla 2. Agrupación por k-means centroides de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> . _____	37
Tabla 3. Agrupación por k-means centroides de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> . _	42
Tabla 4. Agrupación por k-means centroides de las avispas <i>Polybia occidentalis</i> . _____	49
Tabla 5. Datos obtenidos a partir del tratamiento con UV-vis para la estimación de la concentración de proteína y su porcentaje de pérdida. _____	59
Tabla 6. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> . _____	61
Tabla 7. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> . _____	65
Tabla 8. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas hembra <i>Polybia occidentalis</i> . _____	69
Tabla 9. DA y DD de los tratamientos aplicados a la biomasa de las hembras <i>Pv</i> según la relación 1320/1420. _____	76
Tabla 10. DA y DD de los tratamientos aplicados a la biomasa de los machos <i>Pv</i> según la relación 1320/1420. _____	77
Tabla 11. DA y DD de los tratamientos aplicados a la biomasa de las hembras <i>Po</i> según la relación 1320/1420. _____	78

Tabla B.1 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> . _____	92
Tabla B.2 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> . _____	94
Tabla B.3 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas <i>Polybia occidentalis</i> . _____	97
Tabla C.1 Peso y pérdida de humedad de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> . _____	100
Tabla C.2 Peso y pérdida de humedad de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> . _____	100
Tabla C.3 Peso y pérdida de humedad de las avispas hembra <i>Polybia occidentalis</i> . _____	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de la metodología experimental_____	24
Figura 2. Estructura α y β quitina. _____	28
Figura 3. Identificación del género sexual de las avispas <i>Polistes versicolor</i> : (a) Antena Hembra, (a.1) Aguijón, (b) Antena macho, (b.1) Pene, (b.2) Ramificación pene. _____	30
Figura 4. Identificación del género sexual de las avispas <i>Polybia occidentalis</i> : (a) Antena Hembra, (a.1) Aguijón. _____	32
Figura 5. Espectro de infrarrojo para el abdomen de la hembra 7 de las avispas <i>Polistes versicolor</i> . _____	33
Figura 6. PCA para las partes morfológicas de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> ____	37
Figura 7. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> : (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma. _____	40
Figura 8. PCA para las partes morfológicas de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> . ____	41
Figura 9. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> : (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma. _____	44
Figura 10. PCA para la comparación de las partes morfológicas clasificatorias para los géneros sexuales de las avispas <i>Polistes versicolor</i> . _____	45
Figura 12. PCA para las partes morfológicas de las avispas <i>Polybia occidentalis</i> . _____	48

Figura 13. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas <i>Polybia occidentalis</i> : (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma.	51
Figura 14. PCA para la comparación de las partes morfológicas clasificatorias de las avispas <i>Polistes versicolor</i> y <i>Polybia occidentalis</i>	52
Figura 15. Comparación de la semejanza de grupos funcionales clasificatorios de las partes de las avispas <i>Polistes versicolor</i> y <i>Polybia occidentalis</i> : (a) Clúster de 6, (b) Dendrograma.	53
Figura 16. Distribución cajas y bigotes pérdida de humedad de avispas <i>Polistes versicolor</i> : (a) Hembras, (b) Machos.	56
Figura 17. Distribución cajas y bigotes pérdida de peso de avispas <i>Polybia occidentalis</i> .	57
Figura 18. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> .	60
Figura 19. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas macho <i>Polistes versicolor</i> : (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma.	63
Figura 20. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> .	64
Figura 21. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas hembra <i>Polistes versicolor</i> : (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma.	67

Figura 22. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas hembra *Polybia occidentalis*. _____ 68

Figura 23. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas hembra *Polybia occidentalis*: (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma. _____ 71

Figura 24. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de: (a) Biomasa *Polistes versicolor*, (b) Quitosano *Polistes versicolor*, (c) Biomasa *Polybia occidentalis* y (d) Quitosano *Polybia occidentalis*. _____ 73

Figura 25. Termograma de (a) Quitina-quitosano de *Polistes versicolor* y (b) Quitina-quitosano de *Polybia occidentalis*. _____ 74

Figura A.1. Espectro de infrarrojo para el abdomen del macho 29 de las avispas *Polistes versicolor*. _____ 89

Figura A.2. Espectro de infrarrojo para el abdomen de la hembra 100 de las avispas *Polybia occidentalis*. _____ 90

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Correlación del área 1320/1420 con respecto al DA _____ ¡Error! Marcador no definido.

Ecuación 2. Grado de desacetilación del quitosano _____ ¡Error! Marcador no definido.

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
<i>Pv</i>	<i>Polistes versicolor</i>
<i>Po</i>	<i>Polybia occidentalis</i>
PCA	Principal component analysis
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy
ATR	Attenuated total reflectance
SEM	Scanning electron microscopy
TGA	Thermogravimetric analysis
DSC	Differential scanning calorimetry
RMN	Resonancia magnética nuclear
DA	Degree of acetylation
DD	Degree of deacetylation

RESUMEN

En este trabajo se realizó la obtención de quitina y quitosano a partir individuos de dos especies de avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*. Para conocer la materia prima se realizaron análisis FTIR a las diferentes partes externas de las avispas, encontrando que la estructura de la quitina del tórax es diferente a las demás partes y en las dos especies de avispas.

Se establecieron los parámetros más adecuados en los diferentes procesos que involucran la obtención de quitosano como deshidratación de la quitina, desproteinización, desmineralización y desacetilación.

Al finalizar cada etapa (mencionada anteriormente) se analizaron las muestras mediante FTIR-ATR, análisis térmico y SEM. Los resultados permitieron establecer la temperatura óptima de secado, el porcentaje de pérdida de humedad, porcentaje de pérdida de proteína, la concentración óptima de NaOH, la morfología superficial del biopolímero y la presencia de dos eventos térmicos y dos pérdidas de masa, debidas a la evaporación del agua y a su degradación. También se determinó el grado de acetilación y desacetilación mediante la relación de A1320/1420.

Palabras Claves: *Quitina, quitosano, avispas.*

ABSTRACT

In this work, chitin and chitosan were obtained from two species of wasps, *Polistes versicolor* and *Polybia occidentalis*. To know the raw material, FTIR analysis was carried out on the different external parts of the wasps, finding that the structure of the chitin of the thorax is different from the other parts and in both species of wasps.

The most appropriate parameters were established in the different processes that involve obtaining chitosan, such as chitin dehydration, deproteinization, demineralization, and deacetylation.

At the end of each stage (mentioned above) the samples were analyzed by FTIR-ATR, thermal analysis, and SEM. The results allowed establishing the optimum drying temperature, the percentage of moisture loss, the percentage of protein loss, the optimal concentration of NaOH, the superficial morphology of the biopolymer and the presence of two thermal events and two mass losses, due to the water evaporation and degradation. The degree of acetylation and deacetylation was also determined by the ratio of A1320/1420.

Keywords: *Chitin, chitosan, wasps.*

INTRODUCCION

Las avispas sociales o también conocidas popularmente como avispas de papel, debido a sus nidos contruidos a partir de fibras vegetales, son insectos voladores pertenecientes a la familia *Vespidae* del orden Hymenoptera, las cuales desempeñan un papel importante en el funcionamiento de los ecosistemas en casi todo el mundo, como control biológico natural de plagas agrícolas en plantas cultivadas y ornamentales (Rasool, 2018; Durán et al., 2020) y como polinizadores para la reproducción de cultivos (San Vicente, 2020). En estas avispas se encuentra una de las subfamilias con mayor diversificación y alta presencia de especies, la *Polistinae*, la cual está constituida con alrededor de 950 castas (Aragón & Andena, 2016; Reed & Landolt, 2019; Ferreira et al, 2020)

Principalmente la subfamilia *Polistinae* es representada por dos géneros claves para la evolución social de las avispas de papel, estas son: *Polistes* y *Polybia*, las cuales están distribuidas tanto en zonas tropicales como templadas por lo que son ampliamente reproducibles (Rasool, 2018), adicionalmente presentan formas variadas de organización de las colonias, intermedias entre las de las especies subsociales, en las que uno o ambos progenitores cuidan de sus propias crías y las altamente sociales, que tienen una casta estéril morfológicamente diferenciada. Típicamente dichos géneros viven en colonias conformadas por una hembra que pone huevos (reina) y varias obreras que cuidan de la cría de la reina, pero no ovipositan, un claro diferenciador entre estas dos especies son sus nidos, los cuales son pequeños y abiertos (sin envoltura) para *Polistes*, lo que permite ver toda la sociedad simultáneamente, caso contrario para *Polybia* pues su nido es cerrado y

formado por amplias capas de fibras vegetales (West-Eberhard, 1969; Richards, 1971), aún así no es sencillo encontrar diferencias morfológicas claras para identificar el género sexual en las avispas, pues para ello se requiere de un especialista en el estudio de insectos, el cual es el entomólogo, este parte de sus conocimientos para diferenciar morfológicamente entre macho y hembras, que luego confirma con un estudio genético, convirtiendo esta identificación en una problemática que se podría resolver por medio del conteo de flagelómeros presentes en las antenas de las avispas, la cual no está plenamente confirmada, esto es importante para su introducción en los diversos ecosistemas. Lo anterior hace necesario el empleo de técnicas alternas para su identificación, como la que se propone con estudio preliminares en esta investigación.

Colombia tiene una amplia variedad de pisos térmicos ricos en vegetación, haciéndole un país promotor en agricultura, lo que a su vez crea una dependencia económica en su producción de cultivos, la cual es afectada comúnmente por la presencia de plagas, por ello las avispas representan una alternativa amigable como control biológico (San Vicente, 2020), teniendo en cuenta un sistema viable para la coexistencia entre la función de dicho insecto con la recolección de su biomasa, la cual presenta una excelente presencia de quitina en su exoesqueleto, la cual esta alrededor del 50% (Da Silva et al., 2021), lo que brindaría no solo la protección a estos insectos, sino también hacerlo asequibles para los campesinos en dicho bio-control.

La quitina es un polímero natural insoluble en agua que consiste en *N*-acetil-D-glucosamina unida por enlaces β -1,4-glucosídicos (Jiran et al., 2023), se considera el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa, este se presenta naturalmente en tres formas polimórficas según la disposición de sus cadenas moleculares,

conocidas como quitina α , β y γ (Marei et al, 2016), debido a esto y a la presencia de puentes de hidrógeno en su estructura se facilita la transformación de nuevos derivados, como es el quitosano, este es un polisacárido de cadena lineal, compuesto por la repetición de la D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina con numerosas proporciones, que varían según el grado de acetilación obtenida por desacetilación parcial de quitina en condiciones alcalinas (Lárez, 2003; Giraldo, 2015; Wang & Zhuang, 2022).

El estudio de las estructuras químicas que diferencian la quitina y quitosano ha sido ampliamente discutida, para ello se han aplicado diversos métodos de caracterización con la finalidad de cubrir la mayor cantidad de características químicas de estos biopolímeros, en donde se ha encontrado una mayor aplicación de ATR-FTIR debido a su simplicidad para la estimación de los grupos funcionales presentes en la estructura de la quitina y el quitosano, a partir de estas características y aplicando la misma técnica varios autores han cruzado esta información con la obtenida a partir de la resonancia nuclear magnética (RMN) generando así curvas de calibración con los cuales se pueden determinar los porcentajes de acetilación y desacetilación de ambos polímeros (Shigemasa et al., 1996; Brugnerotto et al., 2001; Kasaai, 2008; Boukhelifi, 2020).

A pesar de lo expuesto previamente, se observa que los diversos estudios se han centrado solo en los crustáceos, presentando así, una clara ausencia de información desde que se extrae la quitina y hasta la obtención del quitosano en los insectos, específicamente en las avispas, lo cual genera dificultades al momento de estudiar dichos polímeros a partir de estas biomasas.

En las rutas sintéticas para la transición de quitina a quitosano de los exoesqueletos a partir de insectos se siguen los métodos químicos utilizados para fuentes marinas, estos

implican una desproteinización, desmineralización, que corresponden a la eliminación de proteínas y minerales, respectivamente, como también se realiza una desacetilación la cual permite finalmente la transformación de quitina a quitosano (Hahn et al., 2020; Da Silva et al., 2021), dichos procesos al ser solo estudiados en los crustáceos no permiten estimar si los ácidos usados para la desmineralización, ni las bases para la desproteinización son los más adecuados para los insectos, como tampoco si las concentraciones o tiempos aplicados en dichas especies marinas sean acertados para extraer estos biopolímeros de forma eficiente a partir de las avispas sociales, por tanto es necesario dependiendo de la biomasa de cada insecto hacer estudios de viabilidad tanto de los métodos químicos como del tipo de estructura que se obtiene.

Los métodos de caracterización como SEM permiten hacer un seguimiento a la morfología superficial del biopolímero, el TGA/DSC da información de la temperatura de degradación y transformación, y el análisis elemental junto con resonancia magnética nuclear permiten calcular el grado de purificación de la quitina y el grado de desacetilación (DD) de quitina-quitosano, finalmente difracción de rayos X para la identificación de la cristalinidad y determinación del polimorfo de quitina (Kasaai, 2009; Saenz-Mendoza et al., 2020; Hahn et al., 2020; Da Silva et al., 2021). Sin embargo, se han realizado trabajos que demuestran que se puede hacer seguimiento a los cambios químicos a través de la espectroscopía de infrarrojo, mediante metodología de la relación de las áreas para identificar las contribuciones tanto de los grupos funcionales presentes en la estructura de la quitina como en los diversos promotores de las propiedades fisicoquímicas de ambos biopolímeros (Shigemasa et al., 1996; Brugnerotto et al., 2001; Kasaai, 2008; Boukhelifi, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Estudiar las características químicas del quitosano extraído de dos especies de avispas

2.2 Objetivos específicos

- Establecer los parámetros óptimos (Cantidad de biomasa, concentración de solución extractora y tiempo de extracción) del quitosano a partir de las avispas recolectadas.
- Caracterizar estructural y fisicoquímicamente el quitosano extraído por TGA/DSC, ATR-FTIR y SEM.

3. METODOLOGÍA

A continuación, se indican los reactivos, materiales y equipos usados en esta investigación.

3.1 Reactivos

- Agua destilada (H_2O).
- Hidróxido de sodio ($NaOH$).
- Ácido clorhídrico (HCl) con pureza de 37%, marca Merck.
- Cloruro de sodio ($NaCl$).
- Sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).
- Sal sódica del ácido etilendiaminotetraacético ($Na-EDTA$).
- Ioduro de potasio (KI).

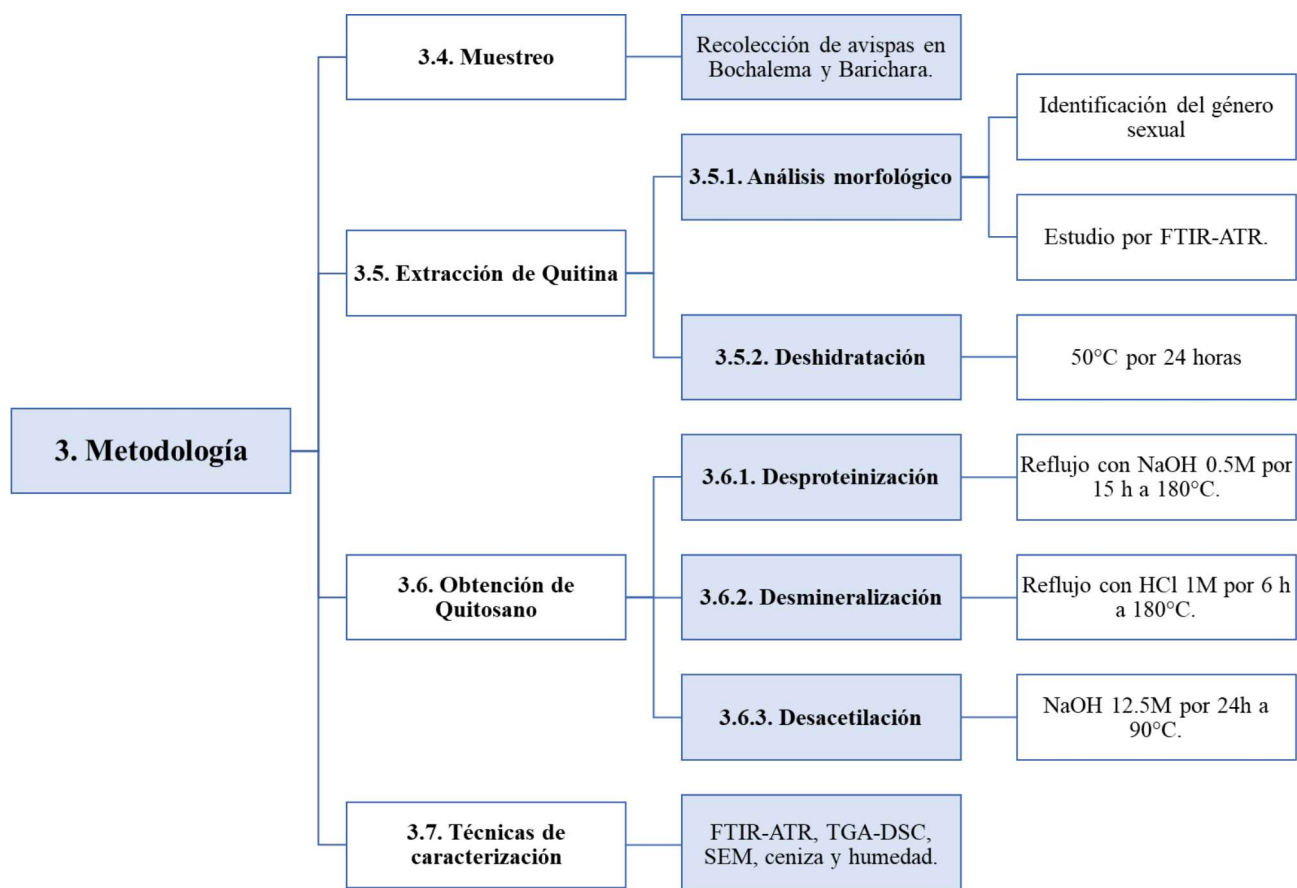
3.2 Materiales y equipos

- Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige-21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycene Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante, en el rango de $4000 - 500\text{ cm}^{-1}$ con 24 escaneos por muestra.
- Calorímetro de barrido diferencial (TGA-DSC), Shimadzu DTG-60, en atmósfera de nitrógeno a 100 mL/min y rampa de calentamiento de 10°C/min .
- Los espectros de ultravioleta visible se realizaron en un espectrofotómetro UV-vis marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, en una longitud de onda establecida de 280 nm y 540 nm .
- Balanza analítica de precisión $0,0001\text{ g}$, marca aeADAM.
- Horno mufla, marca Ney VULCAN D-550.
- Estereomicroscopio binocular Stemi DV4 marca ZEISS ajustado con un microscope LED light ring MIC-209.
- Para graficar y analizar los diferentes espectros, como también para el análisis estadístico por PCA, se usó la licencia académica de aprendizaje del software OriginPro 2022b.

3.3 Procedimiento

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en esta investigación se planteó la siguiente metodología expuesta en la figura 1.

Figura 1. Esquema general de la metodología experimental



3.4 Muestreo

Se recolectaron 65 avispas de la especie *Polistes versicolor* y 121 avispas de *Polybia occidentalis*, el muestreo se realizó en la vereda Zarcuta, zona rural de Bochalema y en la vereda San José bajo, Barichara, respectivamente, para ello se visitó el área para identificar la presencia de los nidos. Una vez identificados, se fueron recolectando los individuos a medida que se encontraban muertos en el piso y se transfirieron a recipientes plásticos y se llevaron al laboratorio de Biocalorimetría donde se almacenaron en congelación a -18°C hasta su análisis. La identificación taxonómica de las especies fue realizada por Wolfgang Hoffmann.

3.5 Extracción de Quitina

3.5.1 Análisis morfológico

Antes de ser almacenadas en congelación a las avispas se les registró su peso, y se estudiaron una por una con un estereomicroscopio para la identificación de su género sexual y sus características físicas, seguidamente se eligió una avispa de cada sexo para separarla en sus diferentes partes externas (antenas, alas, patas, cabeza, tórax y abdomen) y finalmente se analizaron dichas partes por ATR-FTIR.

3.5.2 Deshidratación

Se realizó el tratamiento de deshidratación de las avispas, las cuales se separaron por género sexual y especie, de esta manera se llevaron a una mufla a 50 °C durante 24 horas, siendo esta la temperatura óptima. Una vez cumplido el secado y su enfriamiento a temperatura ambiente en el desecador, se procedió a pesar cada una de las avispas para identificar la pérdida de humedad de ellas y así proceder con el proceso de molturado de cada individuo hasta obtener fibras delgadas, dicha biomasa se conservó en un vial de plástico (en un vial 6 avispas pulverizadas), una vez cumplido con la generación de las fibras de avispa se continuo con el estudio morfológico (estereomicroscopio) e infrarrojo (ATR-FTIR).

3.6 Obtención de Quitosano

3.6.1 Desproteínización

La biomasa previamente deshidratada y pulverizada se sometió a reflujo con NaOH a 0,5 M por 15 horas con una relación masa-volumen 0,06 g de biomasa en 60 mL, una vez finalizado este proceso se filtró a vacío y se secó a 30 °C por 24 horas en la mufla, y

seguidamente se procedió a realizar un análisis térmico (atmósfera inerte) e infrarrojo a la biomasa obtenida.

3.6.2 Determinación de proteínas

Se aplicó el método de Biuret para la determinación de la cantidad y presencia de las proteínas con UV-Vis, para ello, primeramente, se preparó el reactivo disolviendo 0.95g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 1.7 g de NaEDTA en 175 mL de H_2O , se agitó constantemente mientras se añadía 50 mL de NaOH 5 M y luego 0.25 g de KI como estabilizante. Una vez obtenido el reactivo de Biuret se procedió a preparar las soluciones a analizar por UV-vis, para ello se tomó 20 mL de la muestra proteica (filtrado) obtenida después de la desproteínización y 1 mL del reactivo, aforados en 25 mL, seguidamente las soluciones se analizaron por UV-vis a 280 nm (medición de la absorbancia UV característica a 280 nm (A_{280}), que depende en gran medida del triptófano y también del contenido de tirosina y fenilalanina de la proteína), y 540-560 nm (método de Biuret).

3.6.3 Desmineralización

Se realizó una extracción de minerales al sólido obtenido en la desproteínización por medio de un sistema de reflujo con HCl 1M por 6 horas con una relación masa-volumen de 0,06 g de biomasa en 60 mL de solución. Seguidamente se filtró y secó la muestra a 30 °C por 24 horas en la mufla, para proceder a realizar análisis infrarrojo.

3.6.4 Desacetilación

Se evaluó la desacetilación de la biomasa obtenida de los anteriores procesos previamente descritos, con NaOH 50 %p/v por 24 horas en un reactor, con preparación directa de la solución de NaOH sobre la biomasa en el reactor, dicha muestra se filtró a vacío y se secó a 30 °C por 24 horas en la mufla, de esta manera se preparó la muestra para

su posterior análisis de infrarrojo por ATR-FTIR y tratamiento estadístico con el software OriginPro 2022b, empleando PCA.

3.7 Técnicas de caracterización

A los productos obtenidos en esta investigación se les hizo su correspondiente seguimiento por espectroscopía infrarroja (ATR-FTIR) en un rango de 4000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} con 24 escaneos por muestra, análisis térmico (atmósfera inerte, TGA-DSC), microscopía electrónica de barrido (SEM), como también se evaluaron los parámetros fisicoquímicos cenizas y humedad.

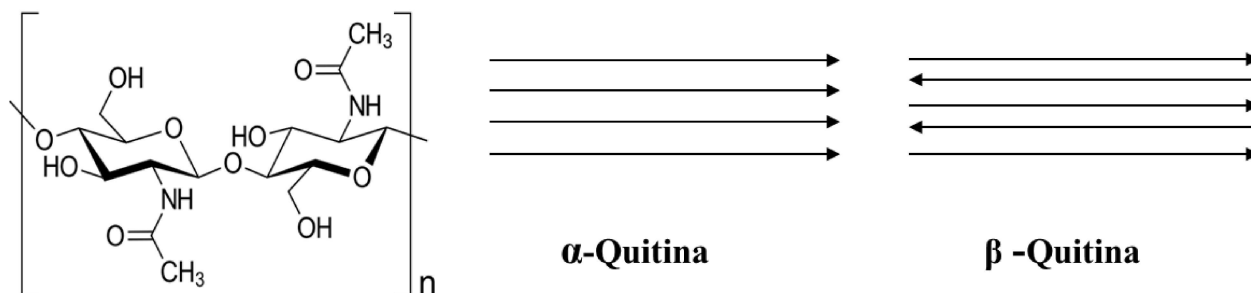
Para los sólidos analizados por infrarrojo se diseñó la siguiente metodología para su tratamiento y análisis: Se normalizaron los datos de cada espectro, seguidamente se seleccionaron los segmentos de gran relevancia a estudiar, los cuales fueron de: 1) 520 cm^{-1} a 920 cm^{-1} , 2) 910 cm^{-1} a 1182 cm^{-1} , 3) 1182 cm^{-1} a 1764 cm^{-1} y 4) 2391 cm^{-1} a 3701 cm^{-1} , a dichos segmentos se les realizó un tratamiento de deconvolución para sus picos, estos se centraron alrededor de 890 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} , 1070 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 1560 cm^{-1} , 1446 cm^{-1} , 1130 cm^{-1} , 2870 cm^{-1} y 3415 cm^{-1} , de los cuales se tomaron sus valores de área, número de onda máximo para el pico, la constante FWHM y el error estándar del área para su posterior tratamiento estadístico empleando el Análisis de Componentes Principales (PCA siglas en inglés), k-means centroide y dendrograma con el software OriginPro 2022b.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 Extracción de Quitina

Teniendo en cuenta que en los insectos se presentan mayoritariamente las estructuras de la quitina α y β , entonces se podría estudiar si existen diferencias entre estos biopolímeros en las partes morfológicas de las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*, puesto que entre estas estructuras poliméricas se pueden diferenciar según su apilamiento y número de monómeros en la cadena (n), en donde el número de enlaces glucosídicos apilados más su cantidad presente en las estructuras puede cambiar de acuerdo a cada parte morfológica, generando así una estructura más soluble, reactiva y cristalina (Romero & Pereira, 2020), pues si entre ellas hay más o menos espacio entre sus cadenas de apilamiento entonces se presentarán mayor o menor número de enlaces entre sus grupos funcionales (ver figura 2), por ello es importante estudiar inicialmente la morfología de las avispas y luego químicamente, y así mostrar si el cambio en su número de las cadenas y apilamientos llevan a una quitina diferente.

Figura 2. Estructura α y β quitina.



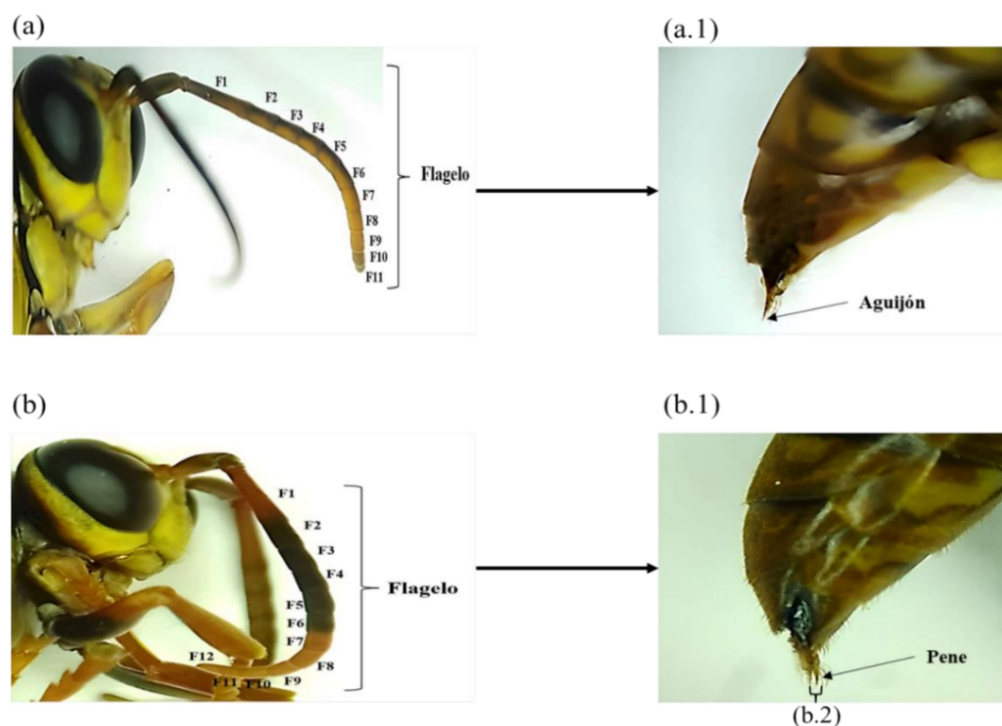
4.1.1 Análisis morfológico

4.1.1.1 Avispas *Polistes versicolor*

En el análisis morfológico de las avispas se tomaron 65 individuos de la especie *Polistes versicolor* a estos individuos se les hizo una identificación de género sexual debido a una clara diferencia en sus características físicas, como color y tamaño, ya que en la especie *Polistes versicolor* se evidenció un claro dimorfismo, el cual se puede ver en sus antenas tipo geniculada (Gupta, 2004; King et al., 2018; Turilazzi, 2012; Zhou et al., 2015; King et al., 2018).

Puesto que en unos individuos eran más largas y tenían una terminación curvada y otros individuos terminación recta, además los individuos que presentaban una antena con terminación curvada evidenciaban una degradación de color del marrón al amarillo en dicha extremidad, caso contrario de los individuos con terminación recta de su antena, ya que en estos se presentaba el amarillo en la parte inferior del flagelo y de la mitad hacia la parte superior el color marrón, por ello fue necesario el diseño de un protocolo para la identificación sexual de las avispas a estudiar en esta investigación, este proceso se realizó mediante el conteo de los flagelómeros presentes en el flagelo de las antenas de cada una de las avispas (Wang et al., 2018), como se evidencia en la figura 3, para dicho proceso se usó un estereomicroscopio Stemi para realizar las observaciones macroscópicas con gran detalle.

Figura 3. Identificación del género sexual de las avispas *Polistes versicolor*: (a) Antena Hembra, (a.1) Aguijón, (b) Antena macho, (b.1) Pene, (b.2) Ramificación pene.



Las antenas para las dos especies se comprendían de tres regiones, un escapo proximal alargado, el más cercano a la cabeza de la avispa, un pedicelo medial, l cual conecta el escapo con el flagelo, y finalmente un flagelo distal multisegmentado (Zhou et al., 2015), este segmento de la antena es nuestro enfoque para la identificación del género sexual, con ello se encontró que para los individuos con la antena en terminación recta presentaban un flagelo compuesto por 11 flagelómeros (figura 3a), y para el individuo con la antena curvada presento un flagelo segmentado en 12 flagelómeros (figura 3b), donde el primer flagelómero para ambas individuos era más largo y estrecho que los otros segmentos de los flagelos (Turilazzi, 2012; King et al., 2018) , esto demuestra y confirma el dimorfismo sexual presente en la especie *Polistes versicolor*, en el que se expone que las antenas más largas y curvadas corresponden a los machos y las más cortas y rectas son de

las hembras, con esto se identificó al flagelo con 11 segmentos para las hembras y de 12 para los machos (Turilazzi, 2012).

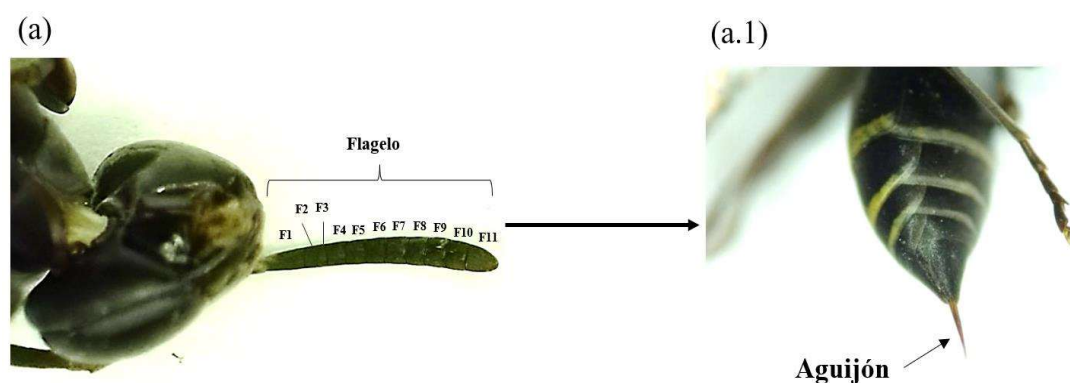
Después de la identificación de género sexual por los flagelómeros presentes en las avispas, se procedió a confirmar el sexo de los individuos verificando con la extremidad inferior, esto debido a que en el momento del conteo se pueden generar incertidumbres ya sea por la posición de la avispa para analizar su antena, como un fallo en el enfoque del estereomicroscopio, por ello se usó como dato de confirmación el aguijón o el pene de las avispas, el aguijón tiene una forma levemente grueso en su parte más proximal al abdomen de la avispa y al extremo puntuda y como se evidencia en la figura 3a.1, con una coloración homogénea marrón y estructura lisa, en cambio en el caso del pene, este consta de dos parámetros (espinas) que encierran un pene alargado (Turilazzi, 2012), como se logra ver en la figura 3b.1, donde cada segmentación presenta una coloración marrón claro con cerdas cortas, lo que finalmente permitió confirmar que la cantidad de flagelómeros de las antenas junto con su extremidad inferior permite identificar adecuadamente el género sexual de la avispas, siendo 20 hembras y 45 machos para las avispas *Polistes versicolor*

4.1.1.2 Avispas Polybia occidentalis

Se tomaron 121 individuos de *Polybia occidentalis*, a los cuales se les realizó una identificación de su género sexual primeramente por medio de sus características físicas, como el color y tamaño y seguidamente por las terminaciones de sus antenas tipo geniculadas (Gupta, 2004; Turilazzi, 2012), como se evidencia en la figura 4, se encuentra un color negro homogéneo en la totalidad de la antena, a partir de esto se continuo con el proceso de identificación del género sexual mediante el conteo de los flagelómeros presentes en el flagelo de las antenas de cada una de las avispas. En este proceso se

continuó con lo expuesto para las avispas *Polistes versicolor*, para el cual se centró en el flagelo distal multisegmentado en el que se lograron estimar 11 flagelómeros (figura 4a) en cada una de sus antenas lo que permitiría asegurar que corresponden a una hembra (Gupta, 2004; Zhou et al., 2015).

Figura 4. Identificación del género sexual de las avispas *Polybia occidentalis*: (a) Antena Hembra, (a.1) Aguijón.



Siguiendo lo expuesto por las avispas *Polistes versicolor* se continuó con la confirmación del género sexual de las avispas *Polybia occidentalis*, para ello se observó la extremidad inferior de esta especie, el aguijón, el cual tiene una forma delgada, alargada y puntuda de estructura homogénea, es decir sin ramificaciones con una coloración marrón (Turilazzi, 2012), como se evidencia en la figura 4a.1, a partir de esta información encontrada se confirma que el aguijón junto con el conteo de flagelómeros permitió identificar la totalidad de las avispas *Polybia occidentalis* (121 individuos) como hembras.

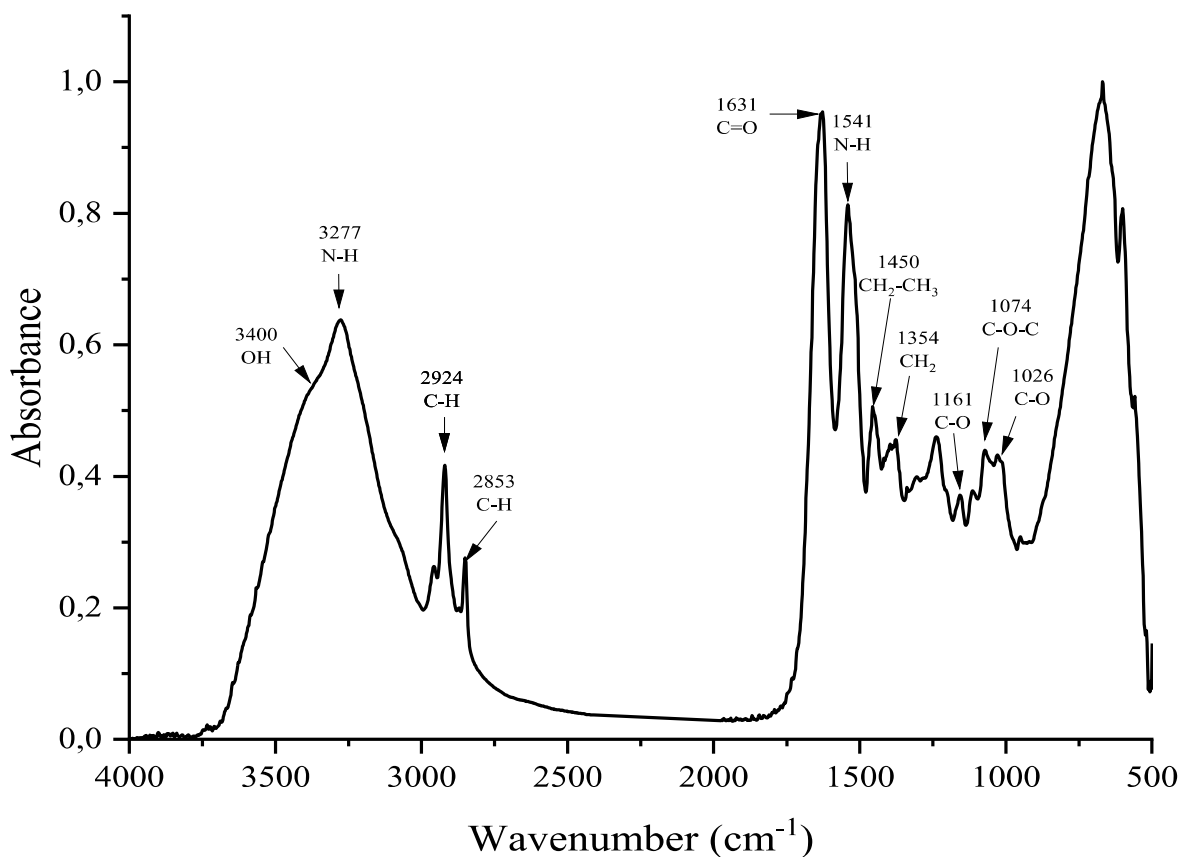
4.1.2 ATR-FTIR

Se realizó un análisis FTIR para observar las diferencias estructurales de la quitina en cada una de las partes morfológicas de las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis* con sus géneros sexuales. Para ambas especies de avispas no se evidenciaron

diferencias significativas más allá de las bandas características de la quitina en sus espectros IR, ya que se logró encontrar una leve diferencia en los espectros tomados para las partes más externas de las avispa, alas, antenas y patas, debido a que se presentaban las dos bandas características de la alfa-quitina la cual se divide en 1650 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} , que se atribuyen a la existencia de la banda intermolecular ($-\text{CO}\cdots\text{NH}-$) y los enlaces de hidrógeno intramoleculares ($-\text{CO}\cdots\text{HOCH}_2-$), correspondiente a los grupos carbonilos (Da Silva, 2021; Kyeong et al., 2004), esto no se presentó para las partes abdomen, cabeza, propleura y tórax, los cuales presentaban una única banda alrededor de los 1631 cm^{-1} característica de la amida secundaria (NH) correspondiente a la estructura beta-quitina (Kyeong et al., 2004). En general, para los espectros tratados, como es el caso expuesto en la figura 5, se observa una banda levemente ancha en los 3400 cm^{-1} que corresponde al estiramiento de los enlaces hidroxilos, una banda más intensa unida a la banda del hidroxilo en los 3277 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de los enlaces N-H, las bandas alrededor de los 2924 y 2853 cm^{-1} corresponden a la vibración de los enlaces C-H, en la región más importante para identificar la quitina se encontraron las bandas con amplias intensidades en 1631 y 1541 cm^{-1} correspondientes a la vibración y el estiramiento de los enlaces C=O y N-H respectivamente, las cuales corresponde claramente a las bandas de la amida primaria (NH_2) y secundaria (NH), y finalmente en 1026 cm^{-1} se asigna al estiramiento de los enlaces C-O (Kaya et al., 2016a; Kaya et al., 2015a; Luo et al., 2019; Abidi, 2021).

Un ejemplo adicional de los espectros infrarrojos obtenidos para ambas especies y géneros sexuales se encuentran expuestos en el Anexo A.

Figura 5. Espectro de infrarrojo para el abdomen de la hembra 7 de las avispa *Polistes versicolor*.



4.1.2.1 Tratamiento de deconvolución

La espectroscopia de infrarrojo se ha convertido en una técnica alternativa para la evaluación del grado de desacetilación de la quitina/quitosano, esto por medio de la determinación de las relaciones de áreas en las regiones características del espectro infrarrojo, pero la elección de estas relaciones presenta una gran dificultad, debido a que los valores seleccionados deben explicar con claridad la contribución y mayor presencia de ciertos grupos funcionales en dicho biopolímero, por ello en esta investigación se siguió la metodología para la determinación de las relaciones de área de acuerdo a la banda de absorbancia que representa el *N*-acetil o a la amina contenida en la estructura sobre la intensidad de la banda de referencia, la cual debe representar los monómeros, esto con la

finalidad de estimar la contribución de los grupos funcionales en la estructura de la quitina (Shigemasa et al., 1996; Brugnerotto et al., 2001; Kasaai, 2008; Boukhelifi, 2020).

Por lo expuesto previamente se realizó una reducción de la información para cada uno de los individuos que se desean clasificar, para ello se procedió a tomar las áreas obtenidas en el tratamiento de deconvolución, siguiendo la metodología ya expuesta para obtener las relación de las bandas características de la quitina para cada uno de los rasgos descriptores trabajados, los cuales son: el abdomen, alas, antenas, cabeza, propleura, patas y tórax, a estos se les asignaron las 9 componentes descritas en la tabla 1, en las que se divide las áreas de las bandas, con el objeto de evaluar los cambios de acuerdo a la diferencia en los grados de libertad que presenta cada grupo funcional en el espectro.

Tabla 1. Descripción de los 9 componentes aplicados para las avispas estudiadas.

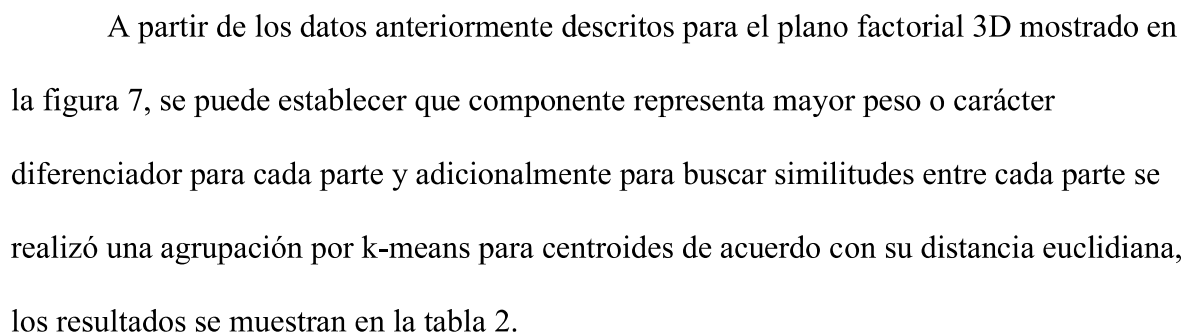
Número de componente	Cociente de las bandas centradas en (cm ⁻¹)	Observación
1	1560/2875	Relación de los enlaces N-H con el estiramiento de los enlaces CH ₃ y CH ₂
2	1655/2875	La relación de los estiramientos de los enlaces del C=O de la amida secundaria con el estiramiento de los enlaces CH ₃ y CH ₂
3	1655/3450	Estiramiento de los enlaces C=O de la amida secundaria con el estiramiento de los enlaces O-H
4	1320/3450	El balanceo simétrico fuera del plano de los CH ₂ con el estiramiento de los enlaces O-H
5	1655/1070	La relación entre los estiramientos de los enlaces C=O de la amida secundaria con los estiramientos de los enlaces C-O-C
6	1655/1030	Los estiramientos de los enlaces del C=O de la amida secundaria con los estiramientos de los enlaces C-O
7	1560/1160	Los doblamientos de los enlaces N-H con el estiramiento asimétrico del C-O
8	1560/897	Los doblamientos de los enlaces N-H con los estiramientos en el anillo de los enlaces C-H
9	1320/1420	El balanceo simétrico fuera del plano de los CH ₂ con la deformación en los enlaces de CH ₂ y CH ₃

Con lo expuesto previamente se buscó describir los individuos de las dos especies de avispas en diferentes componentes (atributos), por lo cual se normalizaron los datos obtenidos a partir de la deconvolución, esto con el fin de darle un peso estadístico a las características físicas externas de las avispas con respecto a sus atributos, de manera que presenten la misma escala de evaluación en su comparación, a partir de los relaciones estadísticas realizadas se obtuvieron los PCA para cada especie y género sexual de las avispas estudiadas, con el propósito de reducir y simplificar la dimensionalidad de los datos en tres dimensiones y así conservar la información más esencial para un crear un modelo de clasificación de los datos, por ello se partió de los nueve atributos previamente mencionados por cada característica morfológica de las avispas, tal como se muestra a continuación:

4.1.2.1 Avispas hembra *Polistes versicolor*

En el PCA se generó una reducción de los nueve atributos presentados en la tabla 1 a un plano factorial de tres dimensiones como se evidencia en la figura 6, en donde se encuentra que del 100% de la información suministrada a partir del tratamiento de deconvolución para cada una de las partes de las avispas “hembra” se encuentran explicadas con una representatividad del 83,63% en estos planos. Otro dato importante es que los vectores correspondientes a las componentes presentaron en su mayoría ángulos de separación entre ellos cercanos a 90°, lo cual indica que son variables que no convergen y son ampliamente clasificatorias. Solo dos de las características (A1560/897 y A1655/3450) presentaron un ángulo entre sí menor a 90°, lo cual indica que se comportan de manera similar para todas muestras. Adicionalmente, al observar el plano factorial 3D (Figura 6),

Figura 6. PCA para las partes morfológicas de las avispas hembra *Polistes versicolor*



Página 37 de 105

Parte morfológica	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 7 clúster, (ver figura 7a)	Agrupaciones para 6 clúster, (ver figura 7b)	Agrupaciones para 4 clúster, (ver figura 7c)
Antenas	8 (1560/897)	Grupo 1 (Antenas 2 individuos)	Grupo 1 (Antenas)	
Tórax	6 (1655/1030), 7 (1560/1160) y 2 (1655/2875)	Grupo 2 (Antenas)	Grupo 2 (Patas)	Grupo 1 (Antenas)
Patas y cabeza	1 (1560/2875) y 5 (1655/1070)	Grupo 3 (Patas)	Grupo 3 (Alas y propleura)	Grupo 2 (Alas, propleura, patas)
Propleura	3 (1655/3450)	Grupo 4 (Alas y propleura)	Grupo 4 (Cabeza)	Grupo 3 (Cabeza y abdomen)
Alas y Abdomen	Inversamente proporcional por: 2 (1655/2875) y 5 (1655/1070)	Grupo 5 (Cabeza)	Grupo 5 (Abdomen)	Grupo 4 (Tórax)
		Grupo 6 (Abdomen)	Grupo 6 (Tórax)	
		Grupo 7 (Tórax)		

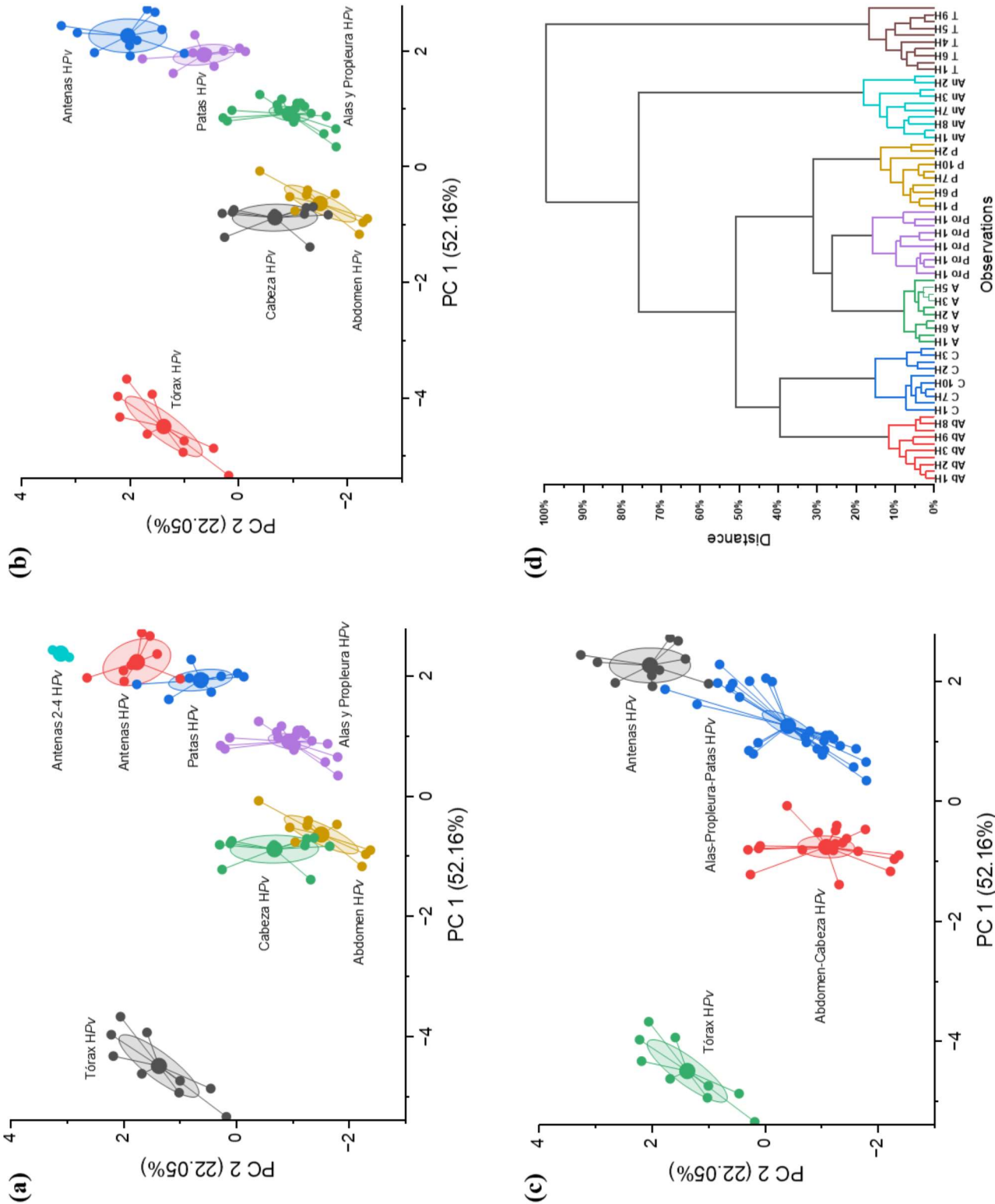
A medida que se van reduciendo los grupos se encuentran que partes morfológicas son químicamente similares, como son las alas, propleura y patas, los cuales a través de las relaciones de los grupos funcionales para los nueve componentes evaluados son similares y les permite formar una agrupación de similitud, este caso también se presenta para la agrupación formada por la cabeza y el abdomen; particularmente los k-means muestran que las antenas y la cabeza no forman agrupaciones, esto quiere decir que morfológicamente la quitina que hace parte de dichas características es diferente de las otras partes.

Para corroborar este postulado y no dejarlo de manera cualitativa se hizo el dendrograma expuesto en la figura 7d, el cual confirma los datos presentados previamente en la tabla 2, en donde se encuentran cuatro conglomerados, el primero presenta a la agrupación del abdomen y la cabeza con un 40% de diferencia con las otras partes, seguido por el segundo conglomerado, que presenta la agrupación generada por las alas-propleura-patas que confirma su similitud y adicionalmente se encuentra 50% de diferencia de dicha

agrupación con el resto de características, esto finalmente permite evidenciar que las características morfológicas diferenciadoras de la hembra *Pv* son el tórax y las antenas con una diferencia del 100% y 75%, respectivamente en comparación con las otras partes.

Lo anterior se puede explicar debido a las funciones elementales de dichas partes, en donde el tórax al ser la zona robusta de la avispa que da el soporte a las alas y patas, y además contiene los órganos promueve a una estructura de la quitina-quitosano más rígida que le permite cumplir con sus funciones ya expuestas (Turilazzi, 2012; Perrard, 2019), ahora bien en el caso de las antenas, estas presentan una porosidad en las que se encuentran las sensilas, las cuales son los quimiorreceptores de los insectos y que además están totalmente compuestos por la quitina (Wang et al., 2018).

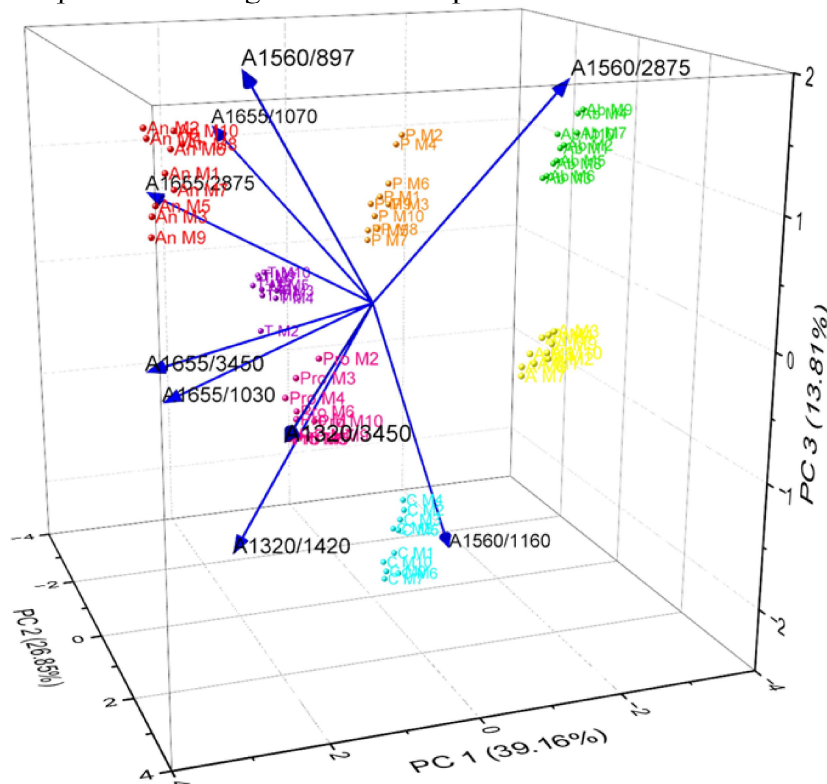
Figura 7. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas hembra *Polistes versicolor*: (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma.



4.1.2.2 Avispas macho *Polistes versicolor*

Como lo expuesto en las hembras Pv, se redujeron los nueve atributos (ver tabla 1) un plano factorial de tres dimensiones con un porcentaje de representatividad del 79,77% de la información obtenida a partir del tratamiento de deconvolución como se evidencia en la figura 8. Adicionalmente, los componentes presentaron ángulos de separación entre ellos de 90°, siendo la excepción dos características (A1560/1160 y A1560/897) que evidenciaban un ángulo de entre sí de 180°, esto quiere decir que las variables son inversamente proporcionales, es decir que mientras una aumenta la otra disminuirá, como en el caso de las hembras se presenta una clara reproducibilidad, ya que las partes morfológicas de acuerdo a sus contribuciones por los componentes se encuentran agrupadas entre sí, indicando no solo la similitud entre los individuos estudiados sino también en la diferencia entre las relaciones de los grupos funcionales con respecto a la quitina en cada parte morfológica.

Figura 8. PCA para las partes morfológicas de las avispas macho *Polistes versicolor*.



Continuando con el proceso identificación de grupos funcionales contribuyentes en las diferentes partes morfológicas como en sus posibles agrupaciones, se procedió con los k-means para machos (ver figura 9), los resultados de dicho proceso estadístico se encuentran expuestos en la tabla 3.

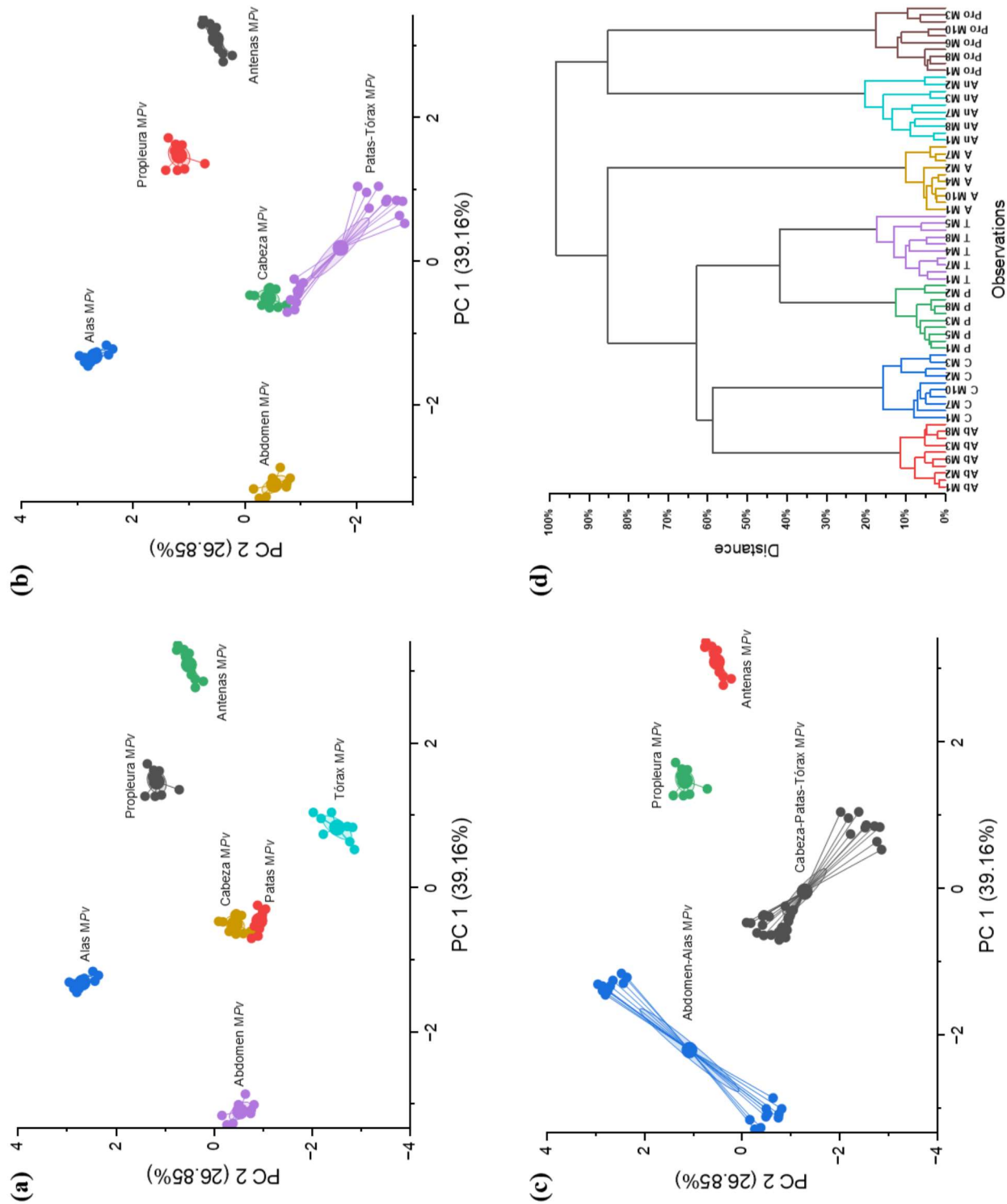
Tabla 3. Agrupación por k-means centroides de las avispas macho *Polistes versicolor*.

Parte morfológica	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 7 clúster, (ver figura 9a)	Agrupaciones para 6 clúster, (ver figura 9b)	Agrupaciones para 4 clúster, (ver figura 9c)
Antenas	8 (1560/897)			
Abdomen	1 (1560/2875) Inversamente proporcional por: 9 (1320/1420)	Grupo 1 (Alas)	Grupo 1 (Alas)	
Alas	Inversamente proporcional a: 1 (1560/2875) y 5 (1655/1070)	Grupo 2 (Propleura)	Grupo 2 (Propleura)	Grupo 1 (Alas y abdomen)
Cabeza	7 (1560/1160)	Grupo 3 (Antenas)	Grupo 3 (Antenas)	Grupo 2 (Propleura)
Patas	5 (1655/1070) Inversamente proporcional a: 4 (1320/3450)	Grupo 4 (Tórax)	Grupo 4 (Tórax y patas)	Grupo 3 (Antenas)
Propleura	4 (1320/3450) y 9 (1320/1420)	Grupo 5 (Patas)	Grupo 5 (Cabeza)	Grupo 4 (Tórax, patas y cabeza)
Tórax	2 (1655/2875) y 5 (1655/1070)	Grupo 6 (Cabeza)	Grupo 6 (Abdomen)	
		Grupo 7 (Abdomen)		

En este proceso de reducción de la información se encontró la formación de dos grupos, los cuales están conformados por la cabeza, patas y tórax, y para el segundo se encuentran las alas y el abdomen, lo que permite expresar que dichas partes morfológicas comparten una naturaleza química similar en cada una de sus agrupaciones, caso contrario de las antenas y la propleura, que no hacen parte de ninguna agrupación lo que permite discernir que sus características químicas promotoras de la quitina son diferentes al resto, por lo anterior se realizó el dendrograma (ver figura 9d), con la finalidad de confirmar la información expuesto por los k-

means centroides de forma cualitativa, en él se encuentran expuestos 4 conglomerados, los dos primeros se encuentran conformadas por las agrupaciones, en el primero se presentan el abdomen y la cabeza con un 58% de diferencia con respecto al resto de característica, además el dendrograma muestra una diferencia clara del 60% de dichas partes morfológicas con la agrupación de las patas y el tórax, esto quiere decir que a pesar de la similitud entre estas características con la cabeza, esta es más cercana al centroide de similitud del abdomen, de esta manera se descarta la agrupación formada en el k-means con un cluster de 4, adicionalmente se encuentra que las alas presentan un 85% de diferencia con respecto a las demás partes morfológicas, pero que tienen una cierta similitud con las agrupaciones ya expuestas, finalmente se estiman como los focos diferenciadores de los machos Pv son las antenas y la propleura con un porcentaje de diferencia del 100% con respecto a las partes analizadas en este proceso, esto ya confirma que las antenas son clasificatorias para las avispa según lo expuesto para las hembras (Wang et al., 2018) y que la propleura, la cual une la cabeza con el tórax en los machos presenta características químicas promotoras de una diferencia en la quitina presente en esta estructura morfológica, probablemente esto se debe al soporte que le da a la cabeza y el tórax del macho, los cuales son más pequeños y ligeros (King et al, 2018).

Figura 9. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas macho *Polistes versicolor*: (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma.



De acuerdo con las contribuciones y focos diferenciadores para cada género sexual de la especie *Polistes versicolor*, se tomaron las antenas, el abdomen y el tórax de los individuos previamente estudiados para realizar una comparación de estos y así estimar finalmente la parte morfológica más adecuada para la identificación más rápida del género sexual de las avispas de una misma especie, para ello se tomaron los datos obtenidos del tratamiento de deconvolución para dichas partes morfológicas, con las que se realizó el PCA expuesto en la figura 10, en donde se encuentra una porcentaje de representatividad de la información del 88,52%, en él se muestran las antenas de ambos géneros cercanas puesto que se posicionan en el mismo plano factorial que es el PC2, caso contrario de los tórax y abdomen, los cuales se encuentran más dispersos por los planos del PCA.

Figura 10. PCA para la comparación de las partes morfológicas clasificatorias para los géneros sexuales de las avispas *Polistes versicolor*.

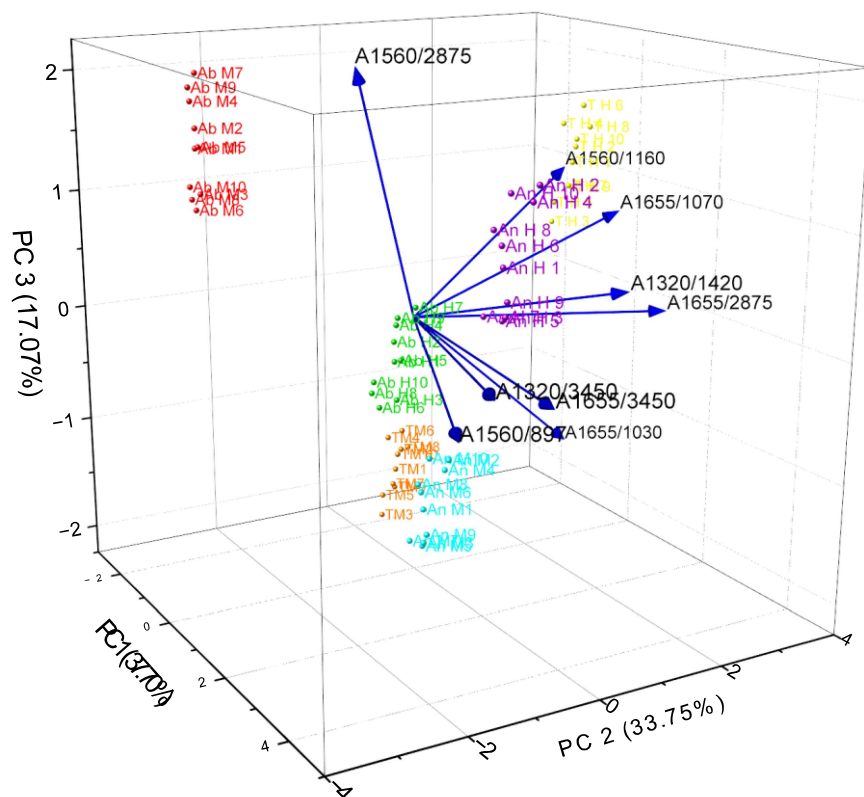
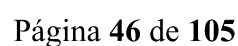


Figura 11. Comparación de la semejanza de grupos funcionales clasificatorios de las partes de las avispas macho y hembra *Polistes versicolor*: (a) Clúster de 6, (b) Dendrograma.

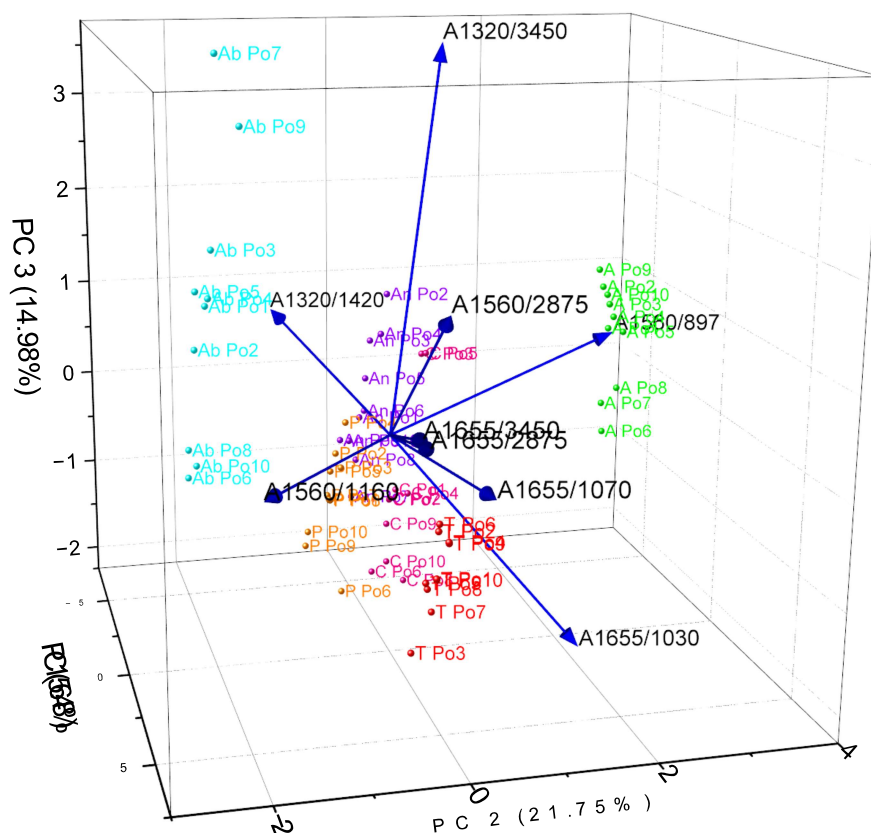


Por lo anterior, se considera la información hallada suficiente para proceder con la realización de un dendrograma, como se presenta en la figura 11b, esto con la finalidad de identificar plenamente las partes morfológicas más representativas para estimar adecuadamente el género sexual en esta especie, en él se encuentran cuatro conglomerados, el primero conformado por el abdomen de la hembra con el tórax del macho con un porcentaje de diferencia con respecto a las demás partes del 45%, la segunda está conformada solo por el abdomen del macho, presentó una diversidad del 65%, la tercera sección, corresponde al tórax de la hembra con un 93% de diferencia con el resto de las características, esto al compararlo con el cuarto conglomerado que son las antenas de ambos sexos presentan un porcentaje de diferencia del 100%, esto quiere decir que se puede tener encuentra el tórax o las antenas como foco diferenciador de los géneros sexuales para las avispas *Polistes versicolor*.

4.1.2.3 Avispas *Polybia occidentalis*

A partir de las nueve componentes ya expuestas en la tabla 1, se hizo una reducción por PCA en un plano factorial de tres dimensiones (ver figura 12), esta se encuentra con un 93,21% de la información expuesta en él, en donde se presenta la mayoría de sus vectores en ángulos de separación cercanos a 90°, expresando que las variables suministran diferente información, exceptuando a dos atributos (A1655/2875y A1655/3450) los cuales presentan una tendencia a sobreponerse, lo que quiere decir que estas suministran la misma información.

Figura 12. PCA para las partes morfológicas de las avispas *Polybia occidentalis*.



De acuerdo con las contribuciones de naturaleza química previamente mencionadas, más una visualización del PCA se podría estimar que las partes morfológicas se encuentran agrupadas entre sí, lo que habla de su clara reproducibilidad, y que adicionalmente se evidencia una similitud en las tendencias de contribución en las antenas, cabeza y patas, por lo anterior se hace necesario realizar un análisis por k-means, el cual se expone en la figura 13, adicionalmente los resultados de este proceso se encuentran en la tabla 4.

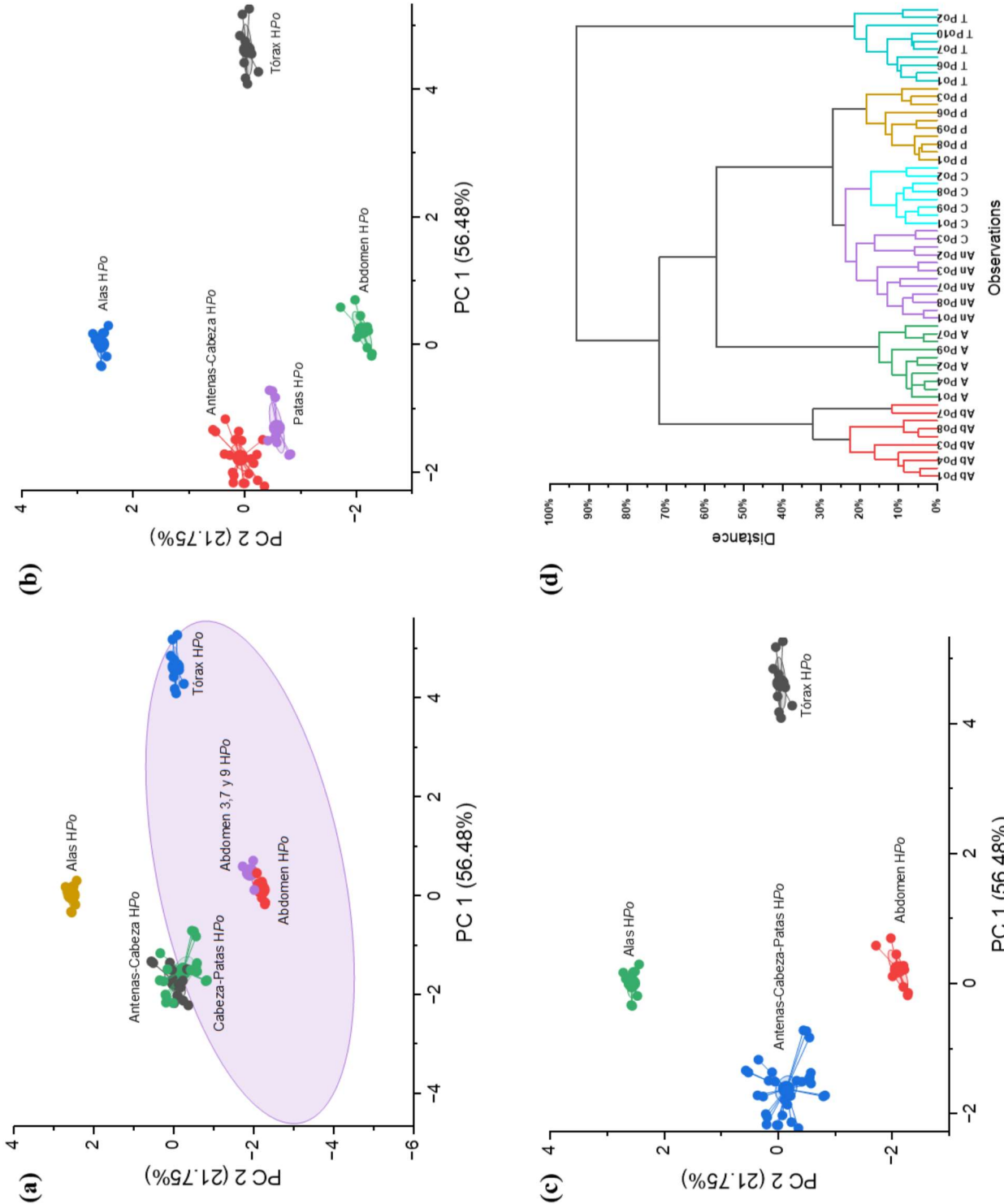
Tabla 4. Agrupación por k-means centroides de las avispas *Polybia occidentalis*.

Parte morfológica	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 6 clúster, (ver figura 13a)	Agrupaciones para 5 clúster, (ver figura 13b)	Agrupaciones para 4 clúster, (ver figura 13c)
Antenas	1(1560/2875) y 9(1320/1420)			
Abdomen	Inversamente proporcional a: 6 (1655/1030) y 8 (1560/897)	Grupo 1 (Alas)	Grupo 1 (Alas)	Grupo 1 (Alas)
Alas	8 (1560/897)	Grupo 2 – Plano euclidiano	Grupo 2 (Antenas y cabeza)	Grupo 2 (Antenas, cabeza y patas)
Cabeza	9(1320/1420), 6 (1655/1030) y 4 (1320/3450)	(Antenas, cabeza, patas, abdomen, abdomen 3	Grupo 3 (Patas)	Grupo 3 (Abdomen)
Patas	9(1320/1420) Inversamente proporcional a: 8 (1560/897)	individuos aparte y tórax)	Grupo 4 (Abdomen)	Grupo 4 (Tórax)
Tórax	5 (1655/1070) y 2 (1655/2875)		Grupo 5 (Tórax)	

En la figura 13a, se evidencia la formación de una agrupación por plano euclidiano, esto se debe principalmente a que el centroide se ubica en el centro de los planos dimensionales para tratar de agrupar la mayor cantidad de características similares, a pesar de que no todas sean contribuyentes para ciertas agrupaciones, de este proceso finalmente se encuentra la formación una agrupación, la cual está conformada por las antenas, cabeza y las patas, esto expresa la similitud que se presentan en los grupos funcionales externos que permiten describir la quitina en dichas partes morfológicas, y se presentan como diferenciadores a las alas, abdomen y tórax. Para confirmar lo anteriormente expuesto se realizó un dendrograma (ver figura 13), en el cual se presentan cuatro conglomerados, en el primero se encuentra únicamente al abdomen con una diferencia del 72% con respecto a las demás partes morfológicas, en este se logra evidenciar un subgrupo correspondiente al valor máximo del abdomen, seguidamente se encuentra el

conglomerado de la alas, las cuales se encuentran cerca del nivel de similitud de la agrupación, con un porcentaje de diferencia del 57%, de este conglomerado se conecta el nivel de similitud de la agrupación, el cual está conformado por las antenas, la cabeza y las patas, esto expresa que sus características químicas son similares, es decir que sus grupos funcionales contribuyen de la misma manera a la quitina, finalmente esto permite asignar como foco diferenciador entre las partes morfológicas al tórax, el cual presenta un 95% de diferencia con las demás características, esto se debe principalmente a que dicha parte cumple con la función de soporte y robustes a las hembras obreras, lo que lleva a una clara diferencia en la estructura de la quitina (Turilazzi, 2012; Perrard, 2019).

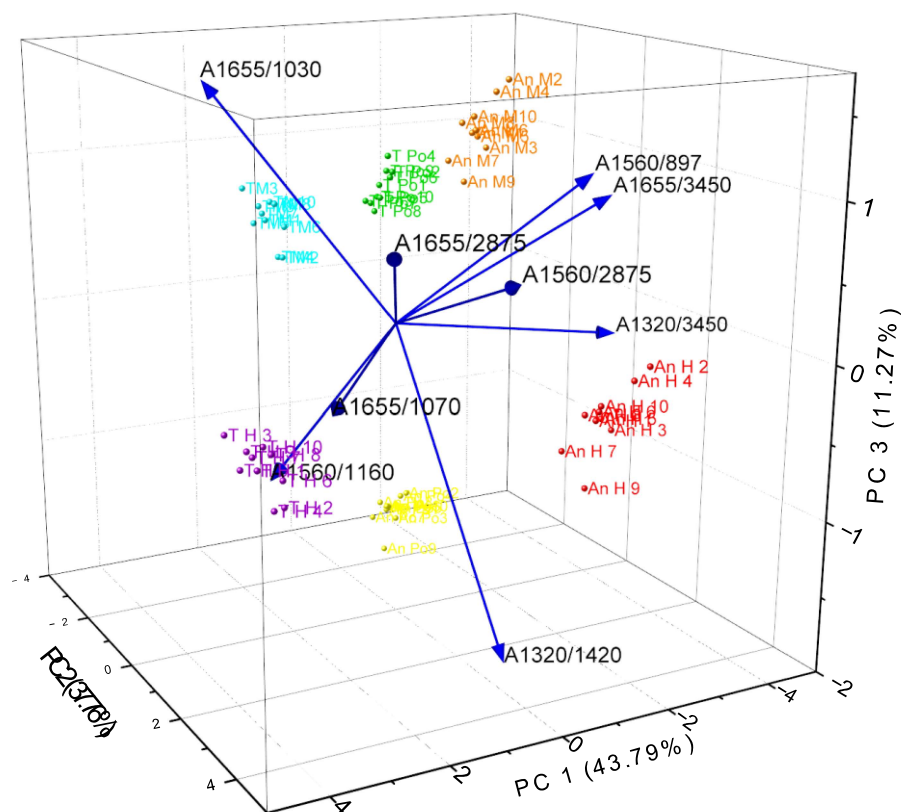
Figura 13. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas *Polybia occidentalis*: (a) Clúster de 7, (b) Clúster de 6, (c) Clúster de 4 y (d) Dendrograma.



4.1.2.4 Comparación entre las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*

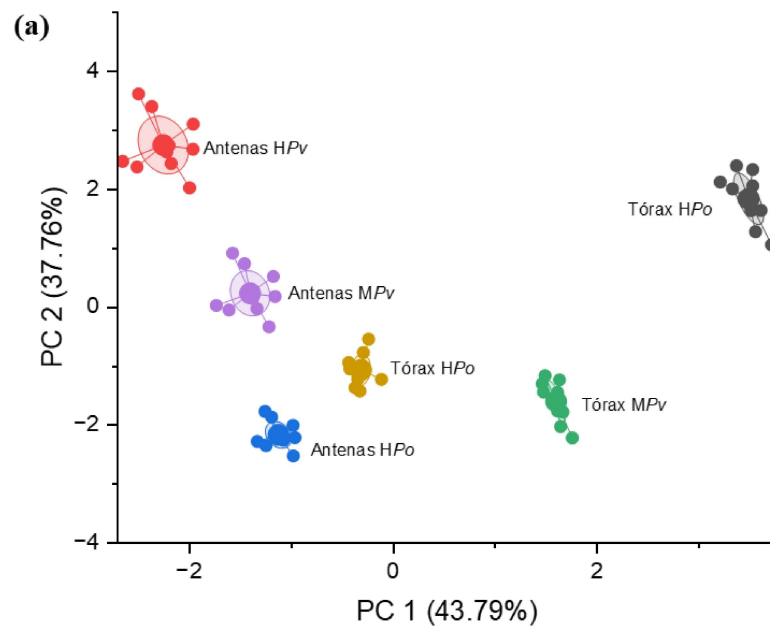
Después de la elucidación de la información expuesta en los PCA, k-means y dendrogramas para ambas especies y sus respectivos géneros sexuales, se estima que las características morfológicas más adecuadas para estudiar en la comparación de las especies son las antenas y el tórax, cada una con grandes contribuciones de los grupos funcionales a la estructura de la quitina-quitosano, ya mencionados en los anteriores análisis, por lo cual se tomaron los valores del tratamiento de deconvolución de las antenas y tórax de cada especie y género sexual y se normalizaron para posteriormente obtener un PCA (ver figura 14) con un porcentaje de representatividad de la información del 92,82%, en donde se expone que los componentes asignados a los vectores son contribuyentes para estas seis características morfológicas.

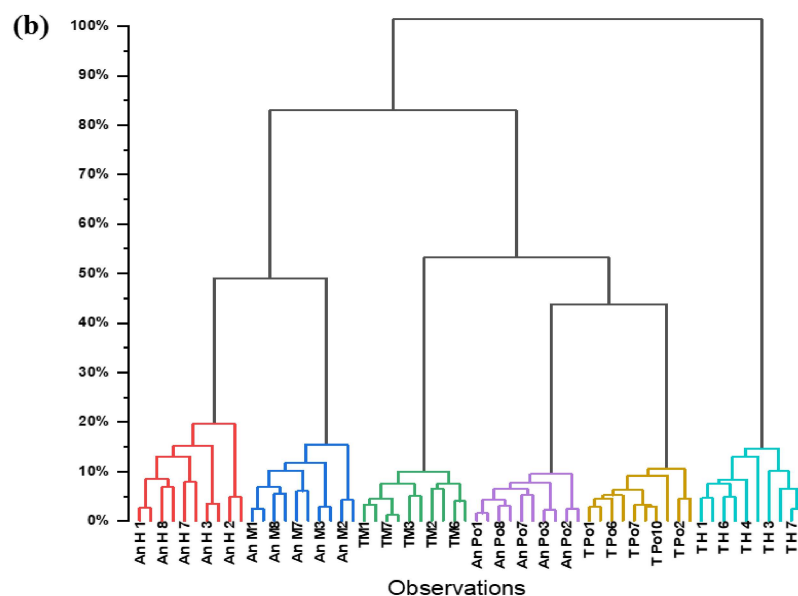
Figura 14. PCA para la comparación de las partes morfológicas clasificatorias de las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*



A partir del PCA se logra evidenciar cierta similitud entre las características, por ello se procede a realizar un k-means de 6, como se muestra en la figura 15a, el cual cuenta con un 81,55% de representatividad de la información, además se presenta una cercanía entre las antenas de ambos sexos de las avispas *Polistes versicolor*, como también se encuentra cierta similitud entre las agrupaciones formadas para las antenas de los macho *Pv* con el tórax de las avispas *Polybia occidentalis*, y como foco diferenciador el tórax de hembras *Pv* la cual presenta una mayor distancia visual con el resto de características morfológicas, por ello se busca esclarecer las posibles similitudes entre dichas partes por medio una jerarquización de los datos.

Figura 15. Comparación de la semejanza de grupos funcionales clasificatorios de las partes de las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*: (a) Clúster de 6, (b)Dendrograma.





Por lo anterior, se procedió a realizar un dendrograma, como se presenta en la figura 15b, en donde se evidencian cuatro conglomerados de información, en donde se encuentran para el primer conglomerado las antenas tanto de macho como hembra de *Pv*, esto quiere decir que dichas partes presentan características químicas similares con un porcentaje de diferencia con respecto a las otras secciones del 48%, seguido por este conglomerado se encuentra únicamente el tórax de macho con una diferencia del 54%, en el tercero se evidencian las antenas y el tórax de *Po* en el mismo nivel de similitud con una diferencia del 42% con respecto al resto de partes, finalmente se encuentra el tórax de las hembras de *Pv* con un porcentaje de diferencia del 83%, esto expresa que es la característica que menos se parece al resto de las partes estudiadas, con ello se confirma que el tórax es el mejor diferenciador tanto de especie como de género sexual en las avispas.

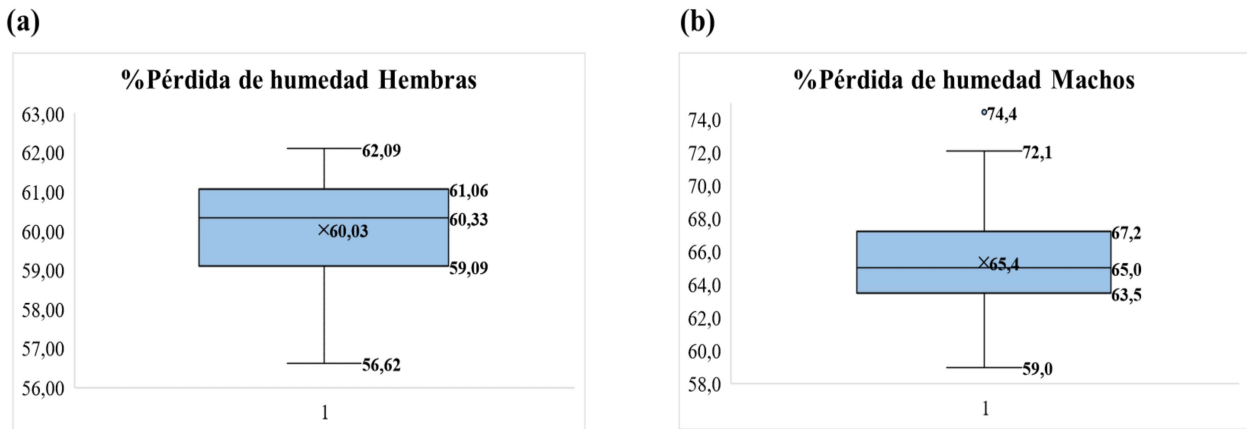
4.1.3 Deshidratación

Buscando determinar la pérdida de humedad y la masa de las avispas después de la deshidratación se tomaron los 45 machos y 20 hembras de la especie *Polistes versicolor* y las 121 hembras de la especie *Polybia occidentalis*, para ello se aplicó un diagrama de cajas y

bigotes, encontrando una distribución asimétrica tanto para machos como para hembras *Polistes versicolor* (ver figura 16), la cual posee una mediana en torno a 60,03% para las hembras, figura 5a, donde la distribución es asimétrica negativa debido a que la mayoría de los datos se encuentran por debajo de la mediana, y de 65,352% para los machos, figura 16b, en el que se presenta una distribución asimétrica positiva ya que la mayoría de los datos se encuentran por encima de la mediana, la cual es representada en el diagrama como la línea horizontal dentro de la caja, como también encontramos que el rango límite de la caja para las hembras es de 59,1 a 61,1% y para los machos es de 63,5 a 67,2%.

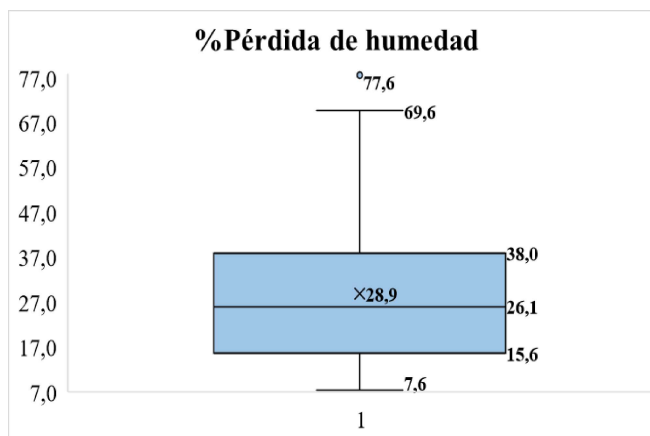
Los bigotes muestran el límite máximo posible establecido para los valores atípicos representados en el diagrama, como se evidencia para las hembras no se encuentran valores que superen los bigotes, caso contrario para los machos donde se evidencia un valor que supera el límite superior de los bigotes, este valor atípico se verificó con la prueba T-student con la finalidad de identificar si el valor estaba entre el orden para los 45 datos expuestas en el diagrama de cajas y bigotes, para una fiabilidad del dato del 90% sería de 0,255, al aplicar dicha prueba se obtuvo un valor por debajo del límite de asertividad del valor expuesto para los 45 grados de libertad permitiendo así aceptar el valor de 74,44% en el diagrama de cajas y bigotes.

Figura 16. Distribución cajas y bigotes pérdida de humedad de avispas *Polistes versicolor*: (a) Hembras, (b) Machos.



Para el caso de las avispas *Polybia occidentalis*, se presentó un diagrama de cajas y bigotes con una distribución asimétrica negativa, ya que la mayoría de los datos se concentran por encima de la mediana, esta cuenta con una mediana de 28,93%, figura 17, como el caso previamente expuesto para la otra especie estudiada, en esta también se presenta un valor atípico por encima de los bigotes, por lo cual fue necesario aplicar la prueba T student para la verificación de si el dato 77,58% era adecuada para este diagrama, por ello se aplicó dicha prueba con una fiabilidad del dato del 90% para 121 datos o grados de libertad el cual es de 0,254 que permitió finalmente aceptar el valor atípico ya que el resultado obtenido de la prueba fue menor al límite de asertividad para los grados de libertad de este ensayo.

Figura 17. Distribución cajas y bigotes pérdida de peso de avispas *Polybia occidentalis*.



Los valores específicos del peso inicial y final, además de los porcentajes de pérdida de humedad tomados para aplicar los diagramas de cajas y bigotes expuestos en este apartado se encuentran en las tablas del anexo C.

4.2 Obtención de Quitosano

En la extracción de la quitina y a su vez la obtención de quitosano a partir de las dos especies avispas estudiadas se aplicaron tres métodos fundamentales, los cuales son la desproteinización, desmineralización y desacetilación, con el tratamiento de eliminación de proteínas se partió inicialmente con un estudio de concentraciones de hidróxido de sodio, esto con la finalidad de identificar el método más adecuado en la eliminación de proteínas, en el que se logró evidenciar una extracción simultanea de la quitina, colorantes y lípidos solubles contenidos en el exoesqueleto de las avispas, esto se confirmó con la coloración de la biomasa (Hahn et al., 2020) la cual perdió su tonalidad oscura y paso a ser un sólido fibroso de color beige, adicionalmente esto se confirmó con el color obtenido en las muestras líquidas del filtrado de la biomasa, el cual era de color ámbar, pero para realizar un adecuado proceso de eliminación de proteínas se partió con un estudio de las concentraciones de hidróxido de sodio más

adecuadas para la generación de una mayor pérdida de proteínas, por ello se confirmó por medio del método de Biuret la cantidad de proteína perdida en los ensayos.

4.2.1 Determinación de proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó aplicando el método de Biuret, el cual es un proceso sencillo y fácil de analizar por medio de la espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis), para ello se promueve la formación de un complejo coloreado entre el Cu^{2+} y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico de los filtrados obtenidos a partir de la desproteínización, en donde la absorbancia producida es proporcional al número de enlaces peptídicos que reaccionan y, por tanto, al número de moléculas de proteína presentes en el sistema de reacción, por ello, la reacción de Biuret con proteínas es adecuada para la determinación de proteínas totales por espectrofotometría (a 540–560 nm) (Bianchi-Bosisio, 2005), adicionalmente la reacción es bastante específica, por lo que al combinarse diferentes tipo de proteína se presentan interferencias y debido a esto, se aplicó la técnica de Proteína A280, la cual estima la concentración de proteínas basándose en la absorción de la muestra en 280 nm. De esta manera, se pudo obtener el porcentaje de proteína perdida después de la desproteínización a diferentes concentraciones de NaOH con la finalidad de obtener la concentración más adecuada para la obtención del quitosano (Reyes & Galván, s.f.; Bianchi-Bosisio, 2005).

Entonces a partir de las absorbancias tomadas para cada una de las muestras y con sus diversas concentraciones de NaOH se procedió a aplicar la ecuación de Lambert y Beer para la obtención de la concentración de proteína para cada caso, como se muestra en la tabla 1, de la cual se procedió a obtener la cantidad final de proteína para así aplicar el porcentaje de perdida (Reyes & Galván, s.f.).

Tabla 5. Datos obtenidos a partir del tratamiento con UV-vis para la estimación de la concentración de proteína y su porcentaje de pérdida.

Muestra desproteínizada	NaOH (M)	Abs. λ 280nm	Concentración ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Cant. inicial proteína	Cant. final proteína	%Proteína
Hembras <i>Pv</i>	0,5	0,102	0,102	0,058	0,025	56,5
	1,0	0,114	0,114	0,063	0,028	55,3
	1,5	0,117	0,117	0,067	0,029	56,5
Machos <i>Pv</i>	0,5	0,082	0,082	0,061	0,020	66,7
	1,0	0,073	0,073	0,045	0,018	59,9
	1,5	0,079	0,079	0,055	0,019	64,5
Hembras <i>Po</i>	0,5	0,145	0,145	0,070	0,036	48,6
	1,0	0,150	0,150	0,068	0,038	45,5
	1,5	0,152	0,152	0,078	0,038	51,7

Al obtener los porcentajes de pérdida de proteína se consideró como la mejor concentración para la eliminación de proteínas la de NaOH 0,5M, con la cual se continuó toda la aplicación de desproteínización para la biomasa de avispas y luego se continuó con los tratamientos posteriores.

4.2.2 Tratamientos

4.2.2.1 Avispas macho *Polistes versicolor*

Uno de los tratamientos de gran relevancia en la obtención del quitosano es la desmineralización, la cual se aplicó solo para los machos *Pv*, con la finalidad de estimar si esta metodología era necesaria y corroborar si se debía realizar en el resto de las muestras, para ello se hizo un comparativo por PCA aplicando las relaciones de absorbancia descritas en la tabla 1, y así identificar la eficiencia de la desmineralización en esta investigación. En el PCA se presentan los tratamientos aplicados a la biomasa de los machos *Pv* de acuerdo con los nueve componentes previamente mencionados (figura 18), con un porcentaje de representatividad de información del

Figura 18. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas macho *Polistes versicolor*.

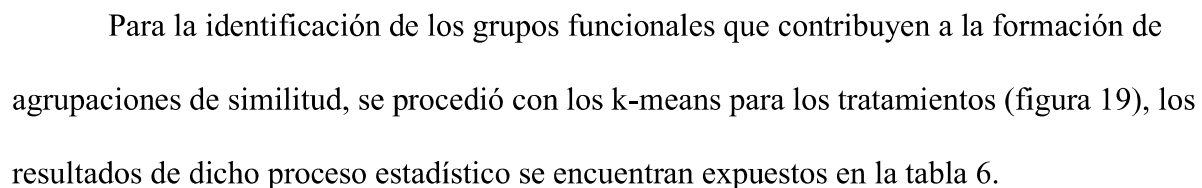


Tabla 6. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas macho *Polistes versicolor*.

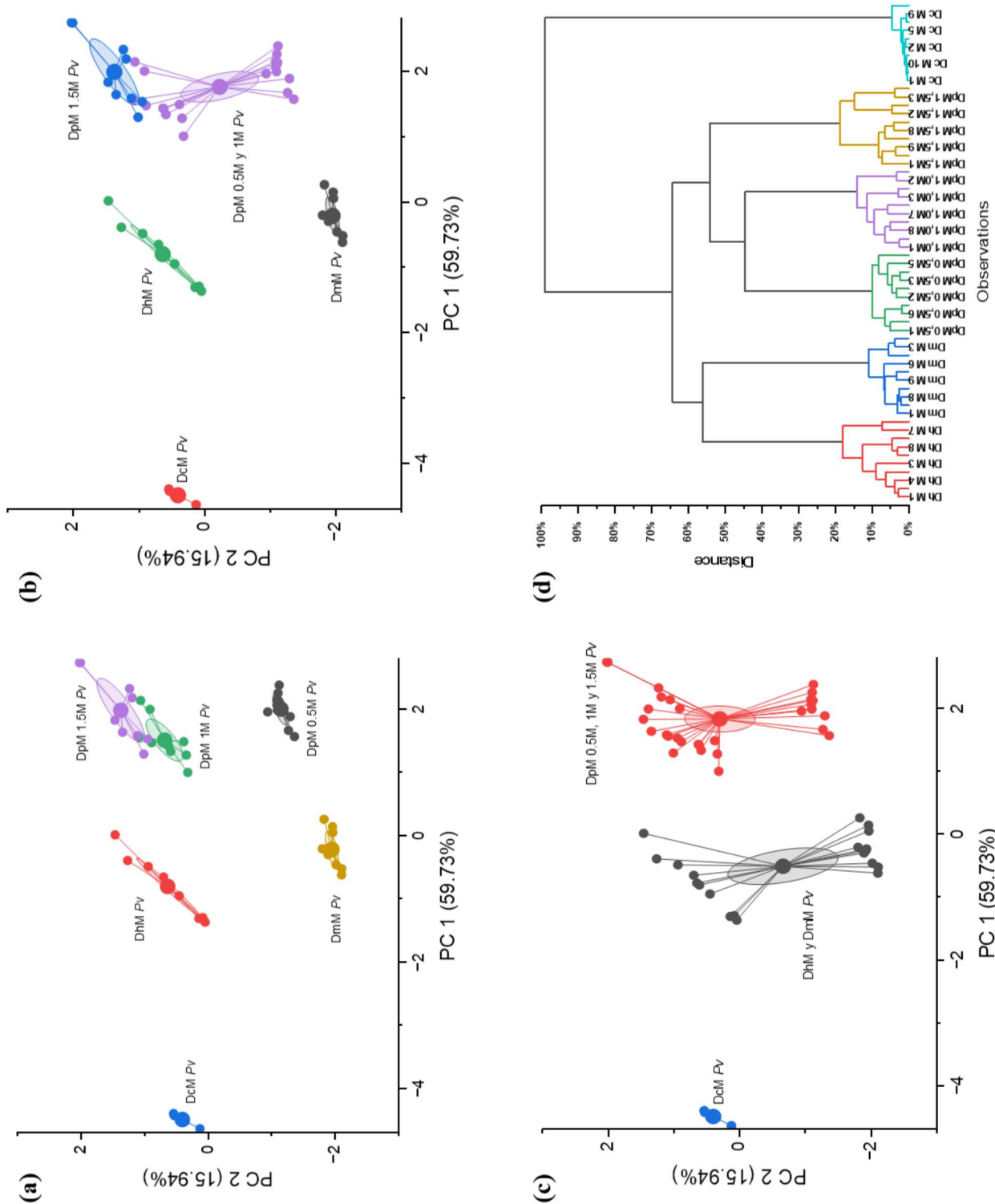
Tratamiento	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 6 clúster, (ver figura 19a)	Agrupaciones para 5 clúster (ver figura 19b)	Agrupaciones para 3 clúster, (ver figura 19c)
Deshidratación	8 (1560/897)			
Desproteínización 0.5 M	7 (1560/1160) y 6 (1655/1030), Inversamente proporcional a: 3 (1655/3450)	Grupo 1 (Desacetilado) Grupo 2 (Deshidratado) Grupo 3 (Desproteínizado 1.5 M)	Grupo 1 (Desacetilado) Grupo 2 (Deshidratado) Grupo 3 (Desproteínizado 1.5 M)	Grupo 1 (Desacetilado) Grupo 2 (Deshidratado y desmineralizado) Grupo 3 (Desproteínizado 0.5 M, 1.0 M y 1.5 M)
Desproteínización 1.0 M	4 (1320/3450) y 6 (1655/1030)			
Desproteínización 1.5 M	4 (1320/3450)	Grupo 4 (Desproteínizado 1.0 M) Grupo 5 (Desproteínizado 0.5 M)	Grupo 4 (Desproteínizado 0.5 M y 1.0 M) Grupo 5 (Desmineralizado)	
Desmineralización	7 (1560/1160), Inversamente proporcional a: 4 (1320/3450)			
Desacetilado	2 (1655/2875) y 5 (1655/1070)	Grupo 6 (Desmineralizado)		

En el procesamiento por k-means se encontró la formación de dos grupos (figura 19c), la primera agrupación correspondiente a las desproteínizaciones en las tres diferentes concentraciones, esto quiere decir que sin importar la concentración del hidróxido de sodio (NaOH) llevan a la misma interacción con los grupos funcionales contribuyentes para este tratamiento, y la segunda agrupación cuenta con la presencia de la deshidratación y la desmineralización, como en el caso anterior quiere decir que los mismos grupos funcionales se ven implicados en la interacción de la estructura de la quitina, adicionalmente esto expone que no hay diferencia clara entre dichos tratamientos, como también se encuentra al desacetilado más lejano al resto de procesos, exponiendo así su diferencia estructural de grupos funcionales. A partir de lo previamente mencionado se realizó un dendrograma (figura 19d), en él, se presentan

tres conglomerados, en donde la desmineralización se encuentra en el mismo nivel de similitud con la deshidratación, lo que quiere decir que no hay una diferencia significativa entre estos dos tratamientos, estos cuentan con una diferencia del 55% con respecto al resto, al revisar la siguiente sección se encontró lo esperado para el tratamiento de desproteinización, los cuales presentan el mismo nivel de similitud, claramente exceptuando ligeramente el tratamiento a 1,5 M el cual presenta un 53% de diferencia con respecto al resto de tratamientos de desproteinización, y en general este conglomerado presento una diferencia del 65%, para el ultimo conglomerado se evidencia únicamente la desacetilación con un porcentaje de diferencia del 100% en comparación con el resto de tratamientos, lo que expone su falta de similitud con el resto de tratamientos.

Finalmente con este dendrograma se permite afirmar que la desmineralización para estas avispa no es más eficiente que los otros tratamientos realizados, esto a pesar de que en los insectos se presenta un contenido muy bajo de minerales que oscila entre 2 y el 10% (Hahn et al., 2020), no se consiguió una diferencia clara entre la desmineralización y los procesos aplicados, pues este en realidad tiene un mayor parecido a la deshidratación que es el primer tratamiento por el que pasan las muestras, adicionalmente, la información brindada en la literatura sobre la eficiencia de la desmineralización en los insectos es escasa y está basada en el uso de solventes eutécticos (Zhou et al, 2019) y ácidos orgánicos como el ácido oxálico (Ibitoye et al.,2018) , con los que se han obtenido una desmineralización significativa, aún así no hay suficiente información sobre la eficiencia de la desmineralización de insectos y compararla con lo obtenido en esta investigación (Hahn et al., 2020), por lo que, de acuerdo con los resultados de este trabajo, se considera innecesario el tratamiento de desmineralización para las avispa *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*.

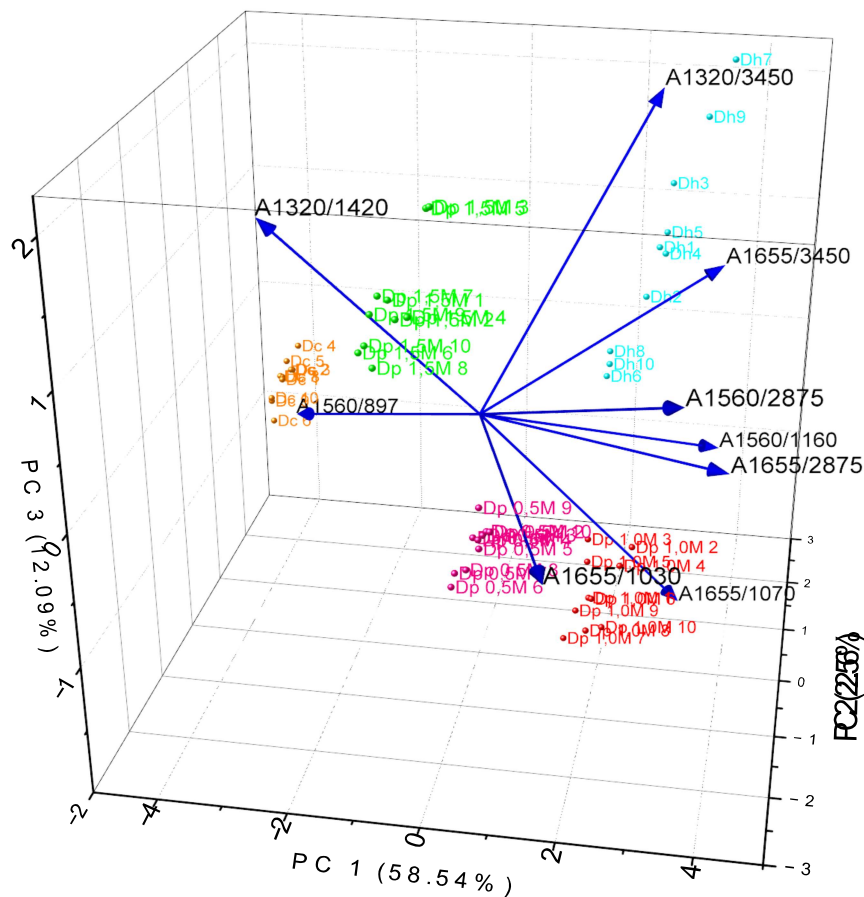
Figura 19. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas macho *Polistes versicolor*: (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma.



4.2.2.2 Avispas hembra *Polistes versicolor*

El comparativo de los tratamientos de hembras se realizó aplicando un PCA, como se evidencia en la figura 20, el cual presenta un porcentaje de representatividad de la información analizada de acuerdo a las componentes aplicados previamente (tabla 1), con un 93,91% en el plano factorial de tres dimensiones, en él se muestra vectores clasificatorios, al presentar un ángulo de separación entre sí cercano a 90°, con una amplia reproducibilidad de los datos, esto al formarse agrupaciones para cada tratamiento.

Figura 20. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas hembra *Polistes versicolor*.



De acuerdo con los anterior se procedió con los k-means para los tratamientos como se evidencian en la figura 21, con la finalidad de identificar las posibles agrupaciones y contribuciones de grupos funcionales para estos, los resultados se encuentran también expuestos en la tabla 7.

Tabla 7. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas hembra

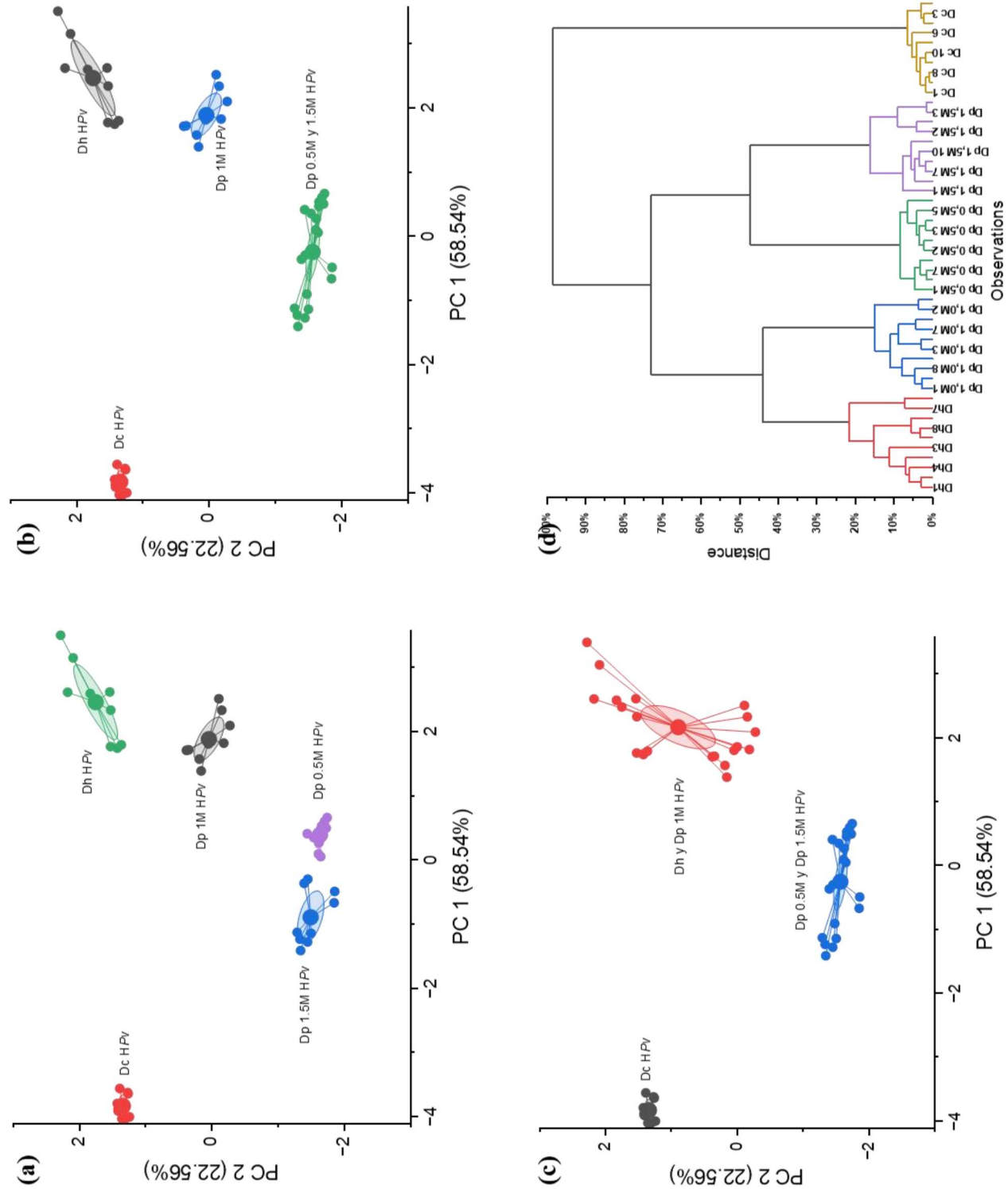
Polistes versicolor.

Tratamiento	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 5 clúster, (ver figura 21a)	Agrupaciones para 4 clúster, (ver figura 21b)	Agrupaciones para 3 clúster, (ver figura 21c)
Deshidratación	4 (1320/3450), 3 (1655/3450) y 7 (1560/1160)	Grupo 1 (Desacetilado)	Grupo 1 (Desacetilado)	Grupo 1 (Desacetilado)
Desproteínización 0.5 M	6 (1655/1030)	Grupo 2 (Deshidratado)	Grupo 2 (Deshidratado)	Grupo 2 (Deshidratado y desproteínizado 1.0 M)
Desproteínización 1.0 M	5 (1655/1070)	Grupo 3 (Desproteínizado 1.0 M)	Grupo 3 (Desproteínizado 1.0 M)	Grupo 3 (Desproteínizado 0.5 M y 1.5 M)
Desproteínización 1.5 M	9 (1320/1420), Inversamente proporcional a: 5 (1655/1070)	Grupo 4 (Desproteínizado 0.5 M)	Grupo 4 (Desproteínizado 0.5 M y 1.5 M)	
Desacetilado	8 (1560/897)	Grupo 5 (Desproteínizado 1.5 M)		

A partir de lo expuesto para los k-means de la hembra *Pv*, se encontró la formación de dos agrupaciones, entre ellas están la deshidratación con el desproteínizado 1,0 M y la agrupación de la desproteínización de 0,5 M con 1,5 M, lo que finalmente permite estimar que el tratamiento alcalino para la biomasa de las hembras *Pv* presenta una misma interacción con sus respectivos grupos funcionales para la obtención de la estructura quitina-quitosano, y que el desacetilado al no formar ninguna agrupación es el que mayor diferencia presenta en la atribución de la quitina-quitosano.

Conociendo esta información se procedió con el dendrograma con el propósito de identificar las agrupaciones con mayores similitudes (ver figura 21d), en el que se encuentran tres conglomerados, siendo la deshidratación y la desproteinización 1,0 M el primer conglomerado con un porcentaje de diferencia del 43% del resto, esta agrupación generada por las jerarquías expone que la concentración a 1,0 M no es la más adecuada si se busca una correcta eliminación de proteínas, en el segundo conglomerado se presentan las desproteinizaciones al 0,5 M y 1,5 M con una diferencia con respecto a los otros tratamientos del 75%, en esta se evidencia que cualquiera de las concentraciones para este proceso es adecuado para aplicar en la obtención de la quitina-quitosano, ya que se encuentran en el mismo nivel de similitud, por último, se encontró la desacetilación con un 100% de diferencia con respecto al resto, esto es claramente esperado al ser el tratamiento en que se genera un mayor cambio en la estructura de la quitina.

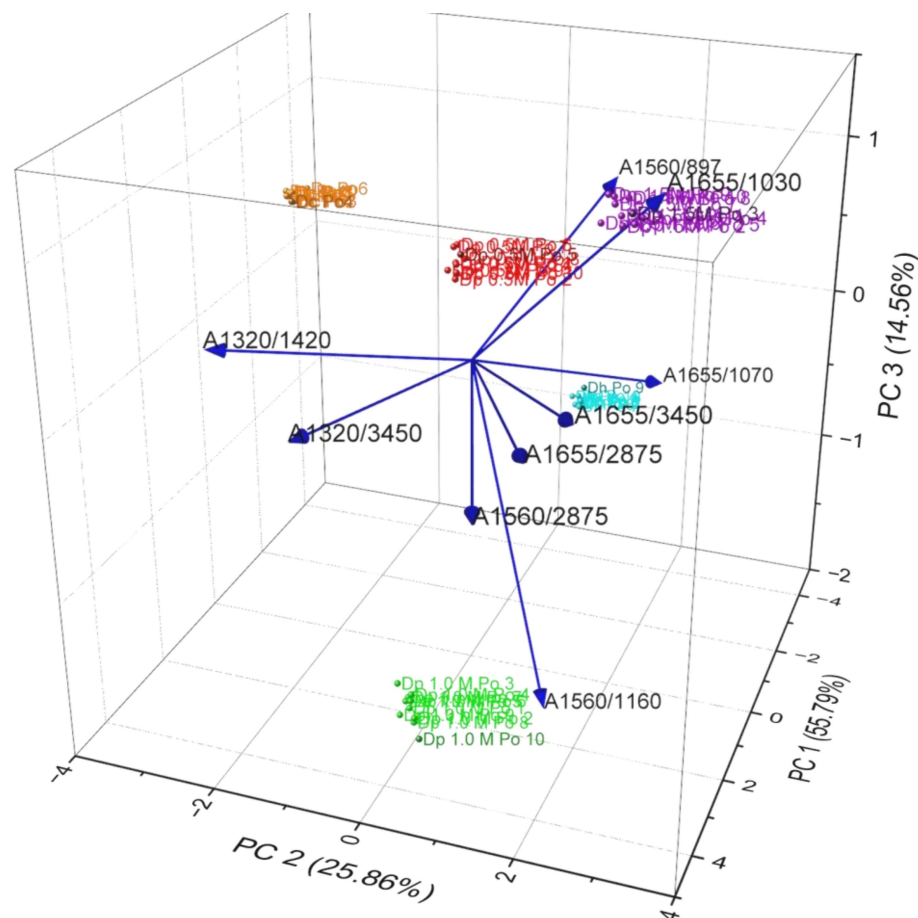
Figura 21. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispas hembra *Polistes versicolor*: (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma.



4.2.2.3 Avispas hembra *Polybia occidentalis*

Partiendo de las nueve componentes expresadas en la tabla 1 se hizo la reducción de información de los tratamientos aplicados para las hembras *Po* en un PCA (ver figura 22), el cual contiene un porcentaje de representatividad del 96,21%, lo cual expone que casi la totalidad de la información se encuentra en un plano factorial de tres dimensiones, en él se encuentran que todos sus vectores de acuerdo con los componentes asignados son contribuyentes para la información representada.

Figura 22. PCA para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas hembra *Polybia occidentalis*.



Se continua con el proceso de clasificación de la información obtenida para los tratamientos aplicados a la biomasa de las avispas hembra *Po* por medio de un k-means con diferente clúster, como se presenta en la figura 23, como también los resultados de este se encuentran expuestos en la tabla 8.

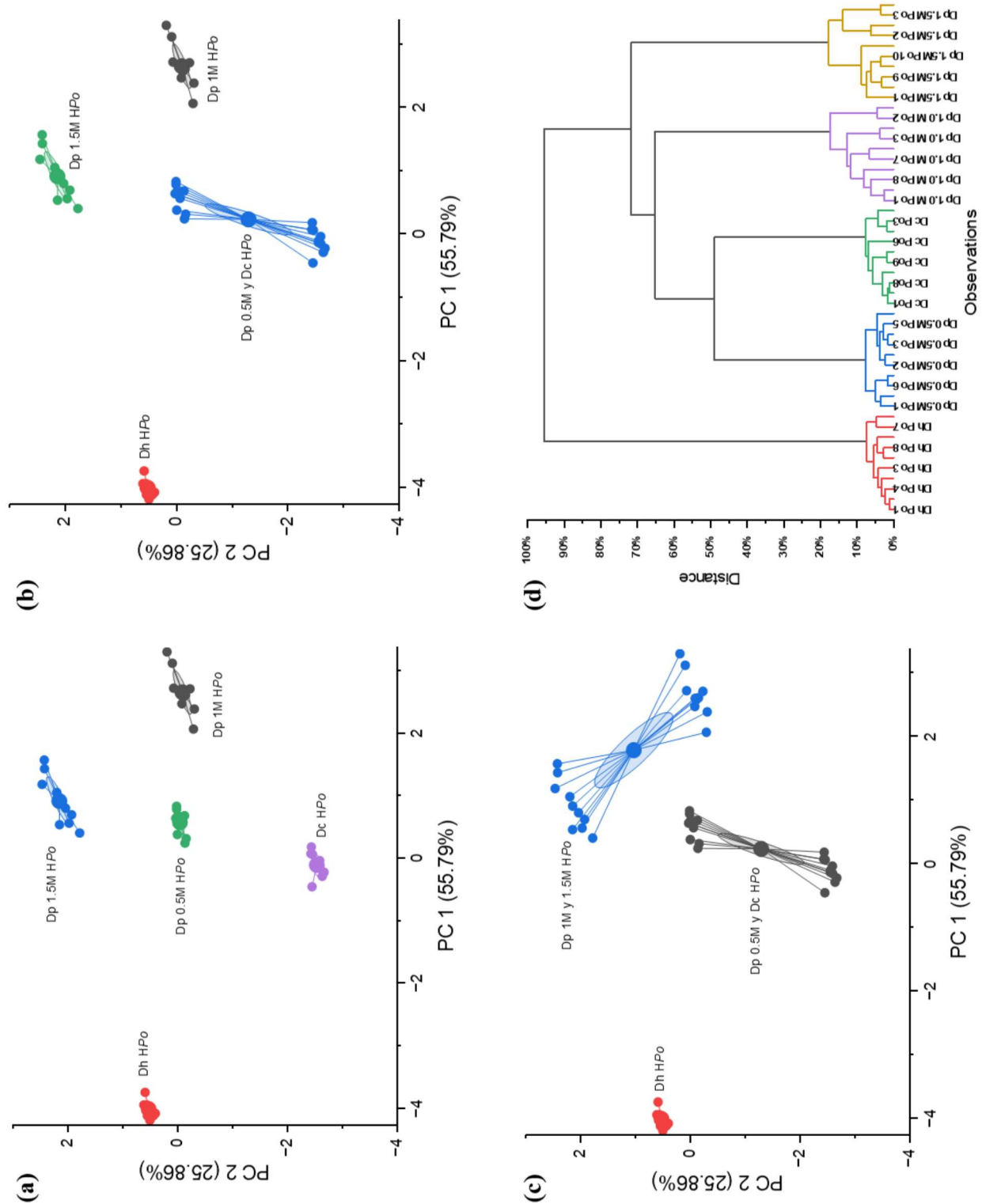
Tabla 8. Agrupación por k-means centroides para los tratamientos de las avispas hembra *Polybia occidentalis*.

Tratamiento	Número de componente incidente (ver tabla 1)	Agrupaciones para 5 clúster, (ver figura 23a)	Agrupaciones para 4 clúster, (ver figura 23b)	Agrupaciones para 3 clúster, (ver figura 23c)
Deshidratación	5 (1655/1070) Inversamente proporcional a: 7 (1560/1160), 1 (1560/2875), y 4 (1320/3450)	Grupo 1 (Deshidratado) Grupo 2 (Desproteínizado 1.5 M)	Grupo 1 (Deshidratado) Grupo 2 (Desproteínizado 1.5 M)	Grupo 1 (Deshidratado) Grupo 2 (Desproteínizado 1.0 M y 1.5 M)
Desproteínización 0.5 M	6 (1655/1030) y 8 (1560/897), Inversamente proporcional a: 7 (1560/1160)	Grupo 3 (Desproteínizado 0.5 M)	Grupo 3 (Desproteínizado 1.0 M)	Grupo 3 (Desproteínizado 0.5 M y desacetilado)
Desproteínización 1.0 M	7 (1560/1160)	Grupo 4 (Desproteínizado 1.0 M)	Grupo 4 (Desproteínizado 0.5 M y desacetilado)	
Desproteínización 1.5 M	6 (1655/1030)	Grupo 5 (Desacetilado)		
Desacetilado	5 (1655/1070)			

De acuerdo a lo presentado en la figura 22 y en la tabla 8, se identifica la formación de dos agrupaciones, específicamente centrada en las desproteínizaciones aplicadas en la biomasa, donde la desproteínización a 1,0 y 1,5M presentan las mismas características, el mismo caso se presenta para la desproteínización a 0,5M con la desacetilación, esto informa de que este último proceso presenta muchas más similitudes de las esperadas con el tratamiento de eliminación de proteína, como también se estima como foco diferenciador a la deshidratación, es decir que es el

tratamiento que lleva a una transformación diferente de la quitina. De esta manera se procede a identificar las similitudes de estas agrupaciones por medio del dendrograma (ver figura 23d), conformada por cuatro conglomerados correspondientes a: la deshidratación con un porcentaje de diferencia del 95% con respecto al resto, esto de por sí ya confirma lo expuesto en los k-means, esto se debe a que hay una mayor pérdida de los volátiles presentes en la biomasa, lo que a su vez permite promover una mejor obtención de la quitina-quitosano, el siguiente es la agrupación formada por la desproteinización 0,5M con la desacetilación con una diferencia del 48% y una amplia similitud entre sí, lo que quiere decir que su función lleva al mismo resultado, como tercer conglomerado se encuentra la desproteinización a 1,0M a pesar de que es agrupada en los k-means centroides, con este proceso de jerarquización se encuentra una leve diferencia con respecto a la desproteinización al 1,5M, con una diversidad del 65% con respecto al resto, y como último conglomerado se encuentra al tratamiento de desproteinización al 1,5M con un 70% de diferencia, esto expone finalmente las posibles diferencias e importancias de los tratamientos aplicados a la biomasa de la avispa *Po*.

Figura 23. Clasificación por semejanza de grupos funcionales de las partes de las avispa hembra *Polybia occidentalis*: (a) Clúster de 5, (b) Clúster de 4, (c) Clúster de 3 y (d) Dendrograma.



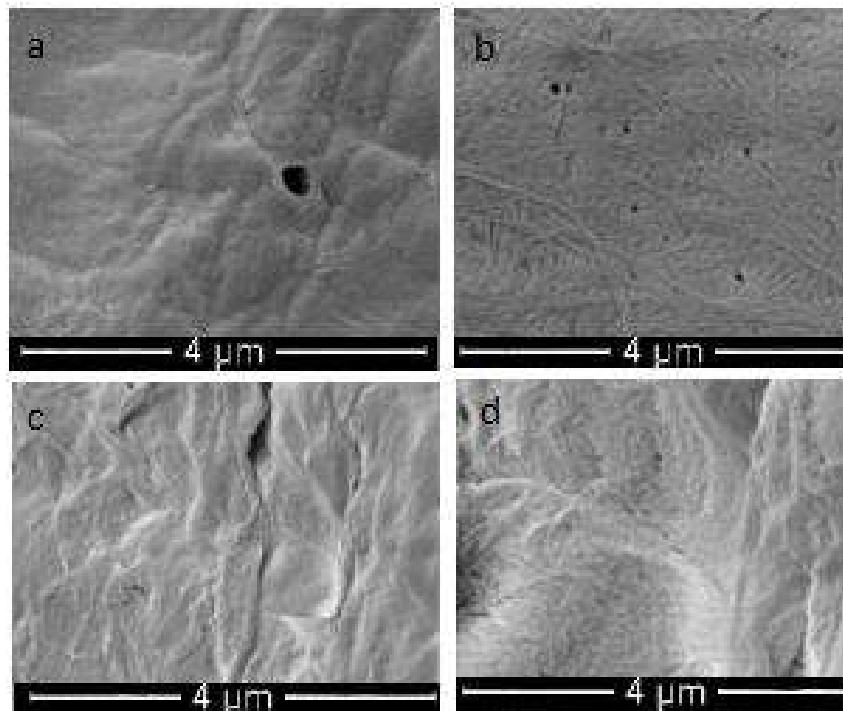
4.2.3 Caracterización

Para verificar la idoneidad de la quitina y el quitosano obtenidos se realizó una caracterización adicional por microscopía electrónica de barrido (SEM) y termogravimetría simultánea (TGA/DSC), con la finalidad de evaluar su morfología y la estabilidad térmica en la transición entre quitina-quitosano.

4.2.3.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

En el estudio morfológico de la transformación de quitina a quitosano por SEM, (figura 24), se evidenció una superficie fibrilar rugosa con algunas porosidades para la quitina en la especie *Pv* (figura 24a) y una mayor pronunciación de las rugosidades en la especie *Po* (figura 23c), dichas porosidades son características de la quitina, pues son las encargadas de promover la capacidad de adsorción (Hahn et al, 2020), dichas rugosidades se encuentran en una matriz proteica la cual cubre normalmente el exoesqueleto de las avispas, por lo que una vez tratada la biomasa por desproteinización se retiran estas proteínas adquiriendo así un material más fibroso para las avispas *Pv* y *Po* (ver figuras 24b y 24d), con esto, se corrobora que los procesos de desproteinización promueven a una estructura de fibras, adicionalmente se estimaría que el quitosano presentaría una morfología superficial similar a la de la quitina según lo reportado por la literatura (Kaya et al, 2015b)

Figura 24. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de: (a) Biomasa *Polistes versicolor*, (b) Quitosano *Polistes versicolor*, (c) Biomasa *Polybia occidentalis* y (d) Quitosano *Polybia occidentalis*.

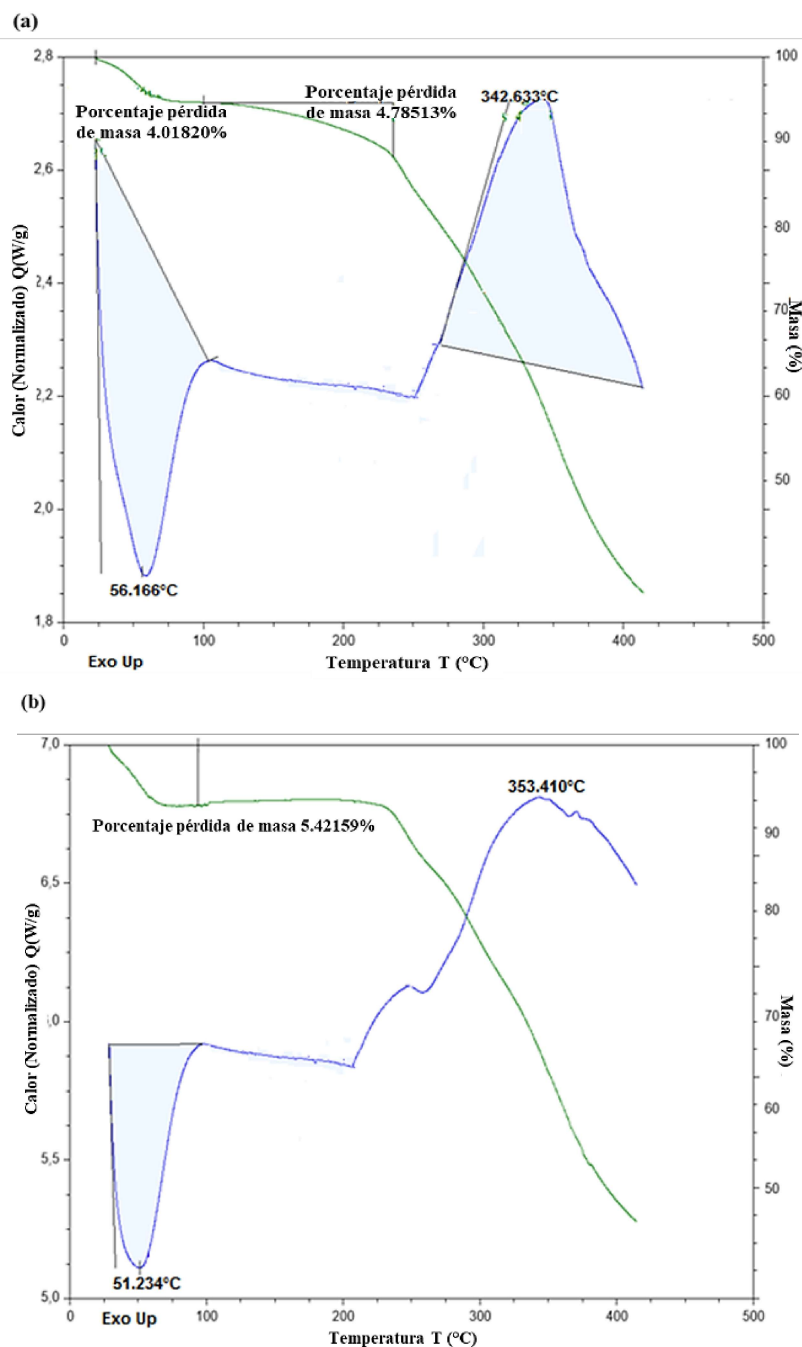


4.2.3.2 Análisis termogravimétrico simultáneo (TGA/DSC)

En el análisis termogravimétrico (figura 25) se evidencia la pérdida de masa de las muestras analizadas, en este caso para las avispas *Polistes versicolor* (ver figura 25a) se encuentra una pérdida de masa de la muestra aproximadamente del 4,8% y para *Polybia occidentalis* (figura 25b) una pérdida del 5,4%, esto es acorde a la literatura donde se expone que dicha pérdida, esta entre 1 y 7% (Hahn et al, 2020), adicionalmente en los termogramas de ambas especies se presentan dos pasos de descomposición, el primero se encuentra alrededor de 56°C para avispas *Pv* y de 51°C para *Po*, la cual corresponde a la evaporación del agua y la segunda descomposición se encuentra 343°C para avispas *Pv* y de 353°C para *Po*, esto debido a la degradación y deshidratación de los anillos sacáridos de quitina y la polimerización, y

adicionalmente a la descomposición de las unidades de quitina acetiladas y desacetiladas (Kaya et al, 2016) , lo que confirma la obtención de la quitina-quitosano en las avispas estudiadas.

Figura 25. Termograma de (a) Quitina-quitosano de *Polistes versicolor* y (b) Quitina-quitosano de *Polybia occidentalis*.



4.3 Desacetilación

El grado de acetilación (DA por sus siglas en inglés) y desacetilación (DD por sus siglas en inglés) de la quitina-quitosano son parámetros fundamentales para las propiedades fisicoquímicas de dichos polímeros, en la quitina prevalecen las unidades acetiladas, es decir sus grupos N-acetil (Chatelet et al, 2001; Ali-Komi & Hamblin, 2016) y el quitosano es cualquier polímero cuyo DD sea superior al 50%, lo que corresponde a los grupos a la cantidad relativa de grupos amino en dicha molécula, dichos grados son opuestos entre sí, en donde el primero representa a la quitina y el segundo al quitosano (Boukhlifi, 2020), estos se estimaron por medio de las relaciones de área expuestas en la tabla 1 para los diversos tratamientos realizados para la obtención del quitosano, por lo cual se aplicó la ecuación 1 para la relación de A1320/1420, siendo esta la más adecuada para la estimación del grado de acetilación de la quitina (Brugnerotto et al, 2001; Kasaai, 2008; Kasaai, 2009)

Ecuación 1. Correlación del área 1320/1420 con respecto al DA

$$A_{1320}/A_{1420} = 0.3822 + 0.03133 DA$$

De esta manera, se aplicó dicha ecuación para cada uno de los tratamientos en el valor obtenido para la relación de área ya mencionada para cada una de las especies de avispas y sus respectivos géneros sexuales, como también se aplicó la ecuación presentada por Wei et al (1991), con la cual se calcula el grado de desacetilación del quitosano a partir del grado de acetilación, esta presenta dos adaptaciones dependiendo de los valores obtenidos, es decir de si se obtiene directamente en decimales o en porcentaje (Boukhlifi, 2020)

Ecuación 2. Grado de desacetilación del quitosano

$$\%DD = 1 - DA \quad \text{ó} \quad \%DD = 100 - DA$$

4.3.1 Avispas hembra *Polistes versicolor*

De acuerdo con lo expuesto previamente para la identificación del grado de acetilación y desacetilación de la quitina-quitosano para estas avispas, se aplicaron dichas ecuaciones para los tratamientos realizados para la biomasa de las hembras *Pv*, sus resultados se encuentran expuestos en la tabla 9.

Tabla 9. DA, DD y rendimientos de los tratamientos aplicados a la biomasa de las hembras *Pv*.

Tratamiento	A1320/1420	% DA	%DD	Rendimiento
Deshidratado	0,68	9,4	90,6	41,4
Desproteínizado 0.5M	0,83	14,4	85,6	21,7
Desproteínizado 1.0M	0,71	10,3	89,7	55,6
Desproteínizado 1.5M	2,04	52,8	47,2	33,7
Desacetilado	1,59	38,7	61,3	88,9

Con los datos expuestos en la tabla, se encontró que la desproteínización con hidróxido de sodio al 1,5 M permite obtener una quitina con un mayor grado de acetilación pero que a su vez genera una disminución en el grado de desacetilación del quitosano obtenido de la biomasa tratada, por lo que se presenta una similitud entre los valores para ambos grados, como esta señalado en la tabla, se consideró como el más adecuado para el tratamiento de las avispas a la desproteínización a 0,5 M con el cual se obtuvo un grado de acetilación con la capacidad de generar un excelente grado de desacetilación del quitosano, se podría intentar la combinación entre este con la desacetilación para mejorar dichos grados de la quitina-quitosano, adicionalmente se obtuvieron excelentes rendimientos, finalmente para el ultimo rendimiento realizado que fue la desacetilación, la cual fue la transformación de quitina a quitosano se obtuvo un 88,9% esto es bastante bueno para la eficiencia de lo trabajado.

4.3.2 Avispas macho *Polistes versicolor*

Se continuó con el proceso para la identificación de dichos grados para los tratamientos realizados para la biomasa de las hembras *Pv*, aplicando las ecuaciones 1 y 2, sus resultados se encuentran expuestos en la tabla 10.

Tabla 10. DA, DD y rendimientos de los tratamientos aplicados a la biomasa de los machos *Pv*.

Tratamiento	A1320/1420	% DA	%DD	Rendimiento
Deshidratado	1,20	26,1	73,9	34,6
Desproteínizado 0.5M	1,17	25,1	74,9	11,5
Desproteínizado 1.0M	1,54	37,0	63,0	41,2
Desproteínizado 1.5M	1,90	48,5	51,5	38,2
Desmineralizado	1,17	25,0	75,0	41,3
Desacetilado	0,59	6,8	93,2	75,6

A partir de lo expuesto en esta tabla, se confirma que el tratamiento de desmineralización no es significativo para esta investigación, ya que como se evidencia en la tabla su grado de acetilación y desacetilación es el mismo de la desproteínización a 0,5 M, del cual se había tomado la biomasa tratada para aplicar dicha eliminación de minerales, adicionalmente, se encuentra que el grado de desacetilación es inversamente proporcional al grado de acetilación, puesto que al disminuir el DA el DD aumentará, con ello se encuentran valores más significativos para los machos, pues presentan altos porcentajes, en este caso el mejor resultado es para el desacetilado a partir de la biomasa tratada por la desproteínización a 0,5 M, adicionalmente se obtuvo un 75,6% de rendimiento en el tratamiento final, que es el desacetilado, lo que dice de un buen proceso.

4.3.3 Avispas hembra *Polybia occidentalis*

Se repitió el proceso de obtención de los grados de acetilación y desacetilación de la quitina y quitosano aplicados para las avispas *Polistes versicolor*, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. DA, DD y rendimientos de los tratamientos aplicados a la biomasa de las hembras *Po*.

Tratamiento	A1320/1420	% DA	%DD	Rendimiento
Deshidratado	0,53	4,7	95,3	71,2
Desproteínizado 0,5M	1,23	27,1	72,9	30,8
Desproteínizado 1,0M	1,35	31,0	69,0	51,5
Desproteínizado 1,5M	0,90	16,7	83,3	55,1
Desacetilado	1,62	39,6	60,4	75,0

Se evidenció que los grados de acetilación y desacetilación para *Polybia occidentalis* son relativamente similares a los obtenidos para las hembras *Pv*, aunque en este caso se encontró que la desproteínización a 1,5 M es la más adecuada para el tratamiento de la biomasa de las avispas *Po*, puesto que en él se presenta un mejor grado de desacetilación del quitosano presente en esta especie, adicionalmente, existe un mejor grado de los grupos aminos presentes en el quitosano en el proceso de deshidratación, esto quiere decir que en la pérdida de la humedad y compuestos volátiles se permite un aumento en la producción del quitosano partiendo de una quitina poco tratada con un rendimiento del 75% para su proceso de desacetilación, demostrando la eficiencia de los tratamientos.

CONCLUSIONES

Se demuestra a nivel estructural que la quitina de cada de las partes del cuerpo de las avispas presenta diferencias en la relación de sus grupos funcionales, ese cambio estructural sufre varias agrupaciones como son: antenas-cabeza-patas, abdomen-cabeza y alas-propleura-patas y que la parte más diferenciadora es el tórax.

Mediante la espectroscopía infrarroja y aplicando la metodología de PCA se puede proponer las características espectroscópicas de la quitina presentes en el tórax, como un mecanismo de clasificación o diferenciación de las especies *Polybia occidentalis* y *Polistes versicolor*.

Se pudo determinar que la temperatura óptima de secado fue de 50 °C (24 horas). En cuanto al porcentaje de pérdida de humedad para *Polistes versicolor* se encontró que la mediana estaba en 60% para hembras y 65,4% para machos, y para *Polybia occidentalis* la mediana fue de 28,9 %.

Se determinó la concentración de proteína 0,73 – 1,52 µg/µL y el porcentaje de pérdida de proteína 45,5% - 66,7%, encontrando que para su eliminación la concentración óptima de NaOH fue de 0,5 M.

Los procesos de desproteinización para la biomasa de las avispas contribuyen a altos porcentajes de desacetilación y permite el paso directo a la estructura desacetilada, es decir la transición de la quitina a quitosano.

Se demuestra que el impacto del tratamiento de desmineralización es bajo para este tipo de biomasa, lo que quiere decir que es un paso que se puede omitir para la conversión de quitina a quitosano.

Los análisis termogravimétricos indican que se obtuvo quitosano con porcentajes de humedad desde el 4,7 al 5,4%, con una estabilidad térmica superior a los 280°C, lo cual es característico para la extracción de quitina a quitosano, adicionalmente, se puede establecer que a nivel morfológico por SEM una vez realizada la desproteinización se logra obtener un material con estructura fibrosa al realizar la conversión y que, este cambio morfológico es diferente para cada una de las especies.

RECOMENDACIONES

Se propone ampliar el presente estudio a más especies de avispas y otros insectos.

Realizar investigaciones que apliquen este biopolímero a la conservación de alimentos y/o actividad antibacteriana.

BIBLIOGRAFÍA

A. Bianchi-Bosisio (2005). PROTEINS | Physiological Samples, Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition), Elsevier, Pages 357-375, <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00494-5>

Adrien Perrard (2020) Wasp Waist and Flight: Convergent Evolution in Wasps Reveals a Link between Wings and Body Shapes. The American Naturalist, Volume 195, Number 2, Doi: <https://doi.org/10.1086/706914>

Alíed Romero–Serrano y Juan Pereira (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. INGENIERÍA UC, Volumen 27, Páginas 118-135. Recuperado a partir de <https://www.redalyc.org/journal/707/70764230002/html/>

Alma Iveth Saenz-Mendoza, Paul Baruk Zamudio-Flores, Mayra Cristina García-Anaya, Claudio Rios Velasco, Carlos Horacio Acosta-Muñiz, José de Jesús Ornelas-Paz, María Hernández-González, Apolonio Vargas-Torres, Miguel Ángel Aguilar-González, René Salgado-Delgado (2020). Characterization of insect chitosan films from *Tenebrio molitor* and *Brachystola magna* and its comparison with commercial chitosan of different molecular weights, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 160, Pages 953-963, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.255>

Andressa Jantzen da Silva Lucas, Eliézer Quadro Oreste, Helena Leão Gouveia Costa, Héctor Martín López, Carolina Dias Medeiros Saad, Carlos Prentice, (2021). Extraction, physicochemical characterization, and morphological properties of chitin and chitosan from

cuticles of edible insects, Food Chemistry, Volume 343, 128550, ISSN 0308-8146, DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128550>

Claire Chatelet, Odile Damour, Alain Domard (2001). Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films, Biomaterials, Volume 22, Pages 261-268, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00183-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00183-6)

Durán Prieto, J., Tulande, E., & Flórez, V., (2020) Avispas (Insecto: Hymenoptera) asociadas a árboles urbanos de la ciudad de Bogotá, Colombia. REVISTA CHILENA DE ENTOMOLOGÍA. Volumen 46, Pág. 681-698. Recuperado a partir de <https://www.biotaxa.org/rce/article/view/66245>

Elieh-Ali-Komi D, Hamblin MR (2016). Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials. Int J Adv Res (Indore). Volume 4(3), Pages 411-427, doi : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5094803/>

Emilio Fernández Reyes y Aurora Galván Cejudo (s.f). Métodos para la cuantificación de proteínas, revisado: <https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdfs/27%20METODOS%20PARA%20LA%20CUANTIFICACION%20DE%20PROTEINAS.pdf>

Fatima Boukhlifi (2020). Quantitative Analysis by IR: Determination of Chitin/Chitosan DD. In M. Khan, G. M. d. Nascimento, & M. El-Azazy (Eds.), Modern Spectroscopic Techniques and Applications. IntechOpen, doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.89708>

Giraldo Pedraza, Juan. (2015). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano, Applications Of Chitosan, doi: 10.13140/RG.2.1.3350.9287

Gupta, V.K. (2004). Wasps, Ants, Bees and Sawflies (Hymenoptera). In: Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht. DOI https://doi.org/10.1007/0-306-48380-7_4543

Hal C. Reed, Peter J. Landolt (2019). Chapter 22 - Ants, Wasps, and Bees (Hymenoptera), Editor(s): Gary R. Mullen, Lance A. Durden, Medical and Veterinary Entomology (Third Edition), Academic Press, Pages 459-488, ISBN 9780128140437, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00022-4>

Ibitoye EB, Lokman IH, Hezmee MNM, Goh YM, Zuki ABZ and Jimoh AA (2018). Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. Biomed Mater, Volume 13, doi: 10.1088/1748-605X/aa9dde

J Brugnerotto, J Lizardi, F.M Goycoolea, W Argüelles-Monal, J Desbrières, M Rinaudo (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, Polymer, Volume 42, Pages 3569-3580, doi: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8)

Jianlong Wang, Shuting Zhuang (2022). Chitosan-based materials: Preparation, modification and application, Journal of Cleaner Production, Volume 355, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131825>

Jiran Lv, Xiaohui Lv, Meihu Ma, Deog-Hwan Oh, Zhengqiang Jiang, Xing Fu (2023). Chitin and chitin-based biomaterials: A review of advances in processing and food applications, Carbohydrate Polymers, Volume 299, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120142>

José Victor Ferreira, Danielle Storck-Tonon, Ricardo José da Silva, Alexandre Somavilla, Mônica Josene Barbosa Pereira & Dionei José da Silva (2020). Effect of habitat amount and complexity on social wasps (Vespidae: Polistinae): implications for biological control. J Insect Conserv 24, 613–624, doi: <https://doi.org/10.1007/s10841-020-00221-7>

King BH, Burgess ER 4th, Colyott KL (2018). Sexual Size and Shape Dimorphism in Three Species of Parasitoid Wasps with Burrowing Females: *Spalangia endius*, *Spalangia nigroaenea*, and *Spalangia nigra* (Hymenoptera: Pteromalidae). J Insect Sci, doi: 10.1093/jisesa/iey105

Lárez Velásquez, Cristóbal. (2003). Algunos Usos del Quitosano en Sistemas Acuáticos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 4, 91. Recuperado a partir de https://www.researchgate.net/publication/235791932_ALGUNOS_USOS_DEL_QUITOSANO_EN_SISTEMAS_ACUOSOS

Marcos Aragón & Sergio Ricardo Andena (2016). The social wasps (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) of a fragment of Atlantic Forest in southern Bahia, Brazil. Journal of Natural History, Volume 50, Pages 1411-1426, doi:10.1080/00222933.2015.1113317

Mary Jane West Eberhard (1969). The Social Biology of Polistine Wasps. Miscellaneous Publications Museum of Zoology, Volume 140, Pages 1-101. Recuperado a partir de https://digitalcommons.usu.edu/bee_lab_du/37

Mi-Kyeong Jang, Byeong-Gi Kong, Young-Il Jeong, Chang Hyung Lee, Jae-Woon Nah (2004). Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources, Journal of Polymer chemistry, Volume 42, Pages 3423-3432, DOI <https://doi.org/10.1002/pola.20176>

Mohammad R Kasaai (2009). Various methods for determination of the degree of N-acetylation of chitin and chitosan: a review. J Agric Food Chem. Volume 57(5), Pages 1667-1676. doi: 10.1021/jf803001m

Mohammad R. Kasaai (2008). A review of several reported procedures to determine the degree of N-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy, Carbohydrate Polymers, Volume 71, Pages 497-508, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.07.009>

Murat Kaya, Karwan Sofi, Idris Sargin, Muhammad Mujtaba, (2016) Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp), Carbohydrate Polymers, Volume 145, Pages 64-70, DOI <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.010>

Murat Kaya, Nil Bağrıaçık, Osman Seyyar, Talat Baran, (2015a). Comparison of chitin structures derived from three common wasp species (*Vespa crabro* LINNAEUS, 1758, *Vespa orientalis* LINNAEUS, 1771 and *Vespula germanica* (FABRICIUS, 1793)). Journal of Insect Biochemistry and Physiology, Volume 89, Issue 4, Pages 204-217, doi: <https://doi.org/10.1002/arch.21237>

Murat Kaya, Talat Baran, Meltem Asan-Ozusaglam, Yavuz Selim Cakmak, Kabil Ozcan Tozak, Abbas Mol, Ayfer Menten & Goksal Sezen (2015b), Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta). Biotechnol Bioprocess Eng 20:168–179, doi: <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0391-z>

Narguess H. Marei, Emtithal Abd El-Samie, Taher Salah, Gamal R. Saad, Ahmed H.M. Elwahy, (2016). Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 82, Pages 871-877, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.024>

Noureddine Abidi (2021) FTIR Microspectroscopy, Selected Emerging Applications, Springer Cham, Volume 1, Pages 14-19, doi: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1007/978-3-030-84426-4>

O. W. Richards (1971). THE BIOLOGY OF THE SOCIAL WASPS (HYMENOPTERA, VESPIDAE). Biological reviews, Volume 46, Pages 483-528, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1971.tb01054.x>

Qiang Luo, Ying Wang, Qianqian Han, Lisu Ji, Hongmei Zhang, Zhenghao Fei, Yanqing Wang (2019). Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic properties of chitosan from four insects, Carbohydrate Polymers, Volume 209, Pages 266-275, ISSN 0144-8617, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.030>

Rasool, M.H., Khan, K., & Zahid, M. (2018). Taxonomic study of polistinae species (Hymenoptera: Vespidae) of Dir, Pakistan. Journal of entomology and zoology studies, 6, 791-794. Recuperado a partir de: https://www.researchgate.net/publication/323727567_Taxonomic_study_of_polistinae_species_Hymenoptera_Vespidae_of_Dir_Pakistan

San Vicente Romero, Zharim, (2021) Biocontrol en Colombia: Avispas Parasitoides como Controladoras de Plagas Agrícolas, Recuperado a partir de <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/53597/24586.pdf?sequence=1>

Shan-Ning Wang, Shuang Shan, Jing-Tao Liu, Rui-Jun Li, Zi-Yun Lu, Khalid Hussain Dhilloo, Adel Khashaveh & Yong-Jun Zhang (2018). Characterization of antennal chemosensilla and associated odorant binding as well as chemosensory proteins in the parasitoid wasp

Microplitis mediator (Hymenoptera: Braconidae). Sci Rep 8, doi:

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25996-3>

Shigemasa, Yoshihiro & Matsuura, Hiroaki & Sashiwa, Hitoshi & Saimoto, Hiroyuki. (1996). Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. International journal of biological macromolecules. 18. 237-42. 10.1016/0141-8130(95)01079-3

Thomas Hahn, Elena Tafi, Aman Paul, Rosanna Salvia, Patrizia Falabella, Susanne Zibek (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects, Journal Chemical Technology and Biotechnology, Volume 95, Pages 2775-2795, doi:

<https://doi.org/10.1002/jctb.6533>

Turillazzi, S. (2012). Morphology and Anatomy. In: The Biology of Hover Wasps. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI [https://doi-](https://doi-org.unipamplona.basesdedatosczproxy.com/10.1007/978-3-642-32680-6_2)
[org.unipamplona.basesdedatosczproxy.com/10.1007/978-3-642-32680-6_2](https://doi-org.unipamplona.basesdedatosczproxy.com/10.1007/978-3-642-32680-6_2)

Wei Wang, Shuqin Bo, Shuqing Li, Wen Qin (1991). Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 13, Pages 281-285, doi: [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(91\)90027-R](https://doi.org/10.1016/0141-8130(91)90027-R)

Zhou CX, Sun X, Mi F, Chen J, Wang MQ (2015). Antennal sensilla in the parasitoid *Sclerodermus* sp. (Hymenoptera: Bethyridae). J Insect Sci;15(1):36. doi: 10.1093/jisesa/iev024

Zhou, Pengfei; Li, Jingbo; Yan, Tao; Wang, Xuping; Huang, Jing; Kuang, Zheshi; Ye, Mingqiang; Pan, Mushui (2019). Selectivity of deproteinization and demineralization using

natural deep eutectic solvents for production of insect chitin (*Hermetia illucens*), Carbohydr Polym, Volume 225, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115255

ANEXOS

ANEXO A

En el presente apartado se encuentran los espectros analizados para los abdómenes de las avispas macho *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*, como una ejemplificación de los obtenidos en todo el proceso de caracterización para las partes morfológicas.

Figura A.1. Espectro de infrarrojo para el abdomen del macho 29 de las avispas *Polistes versicolor*.

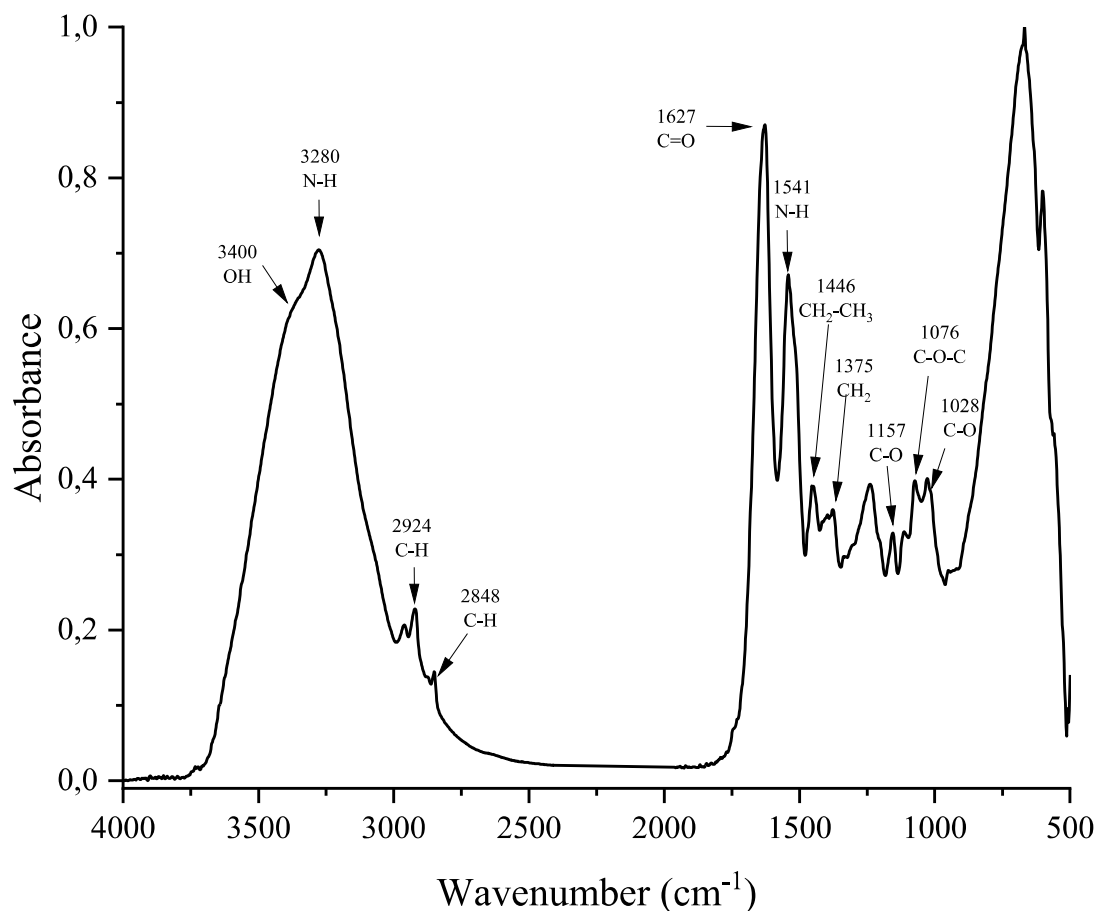
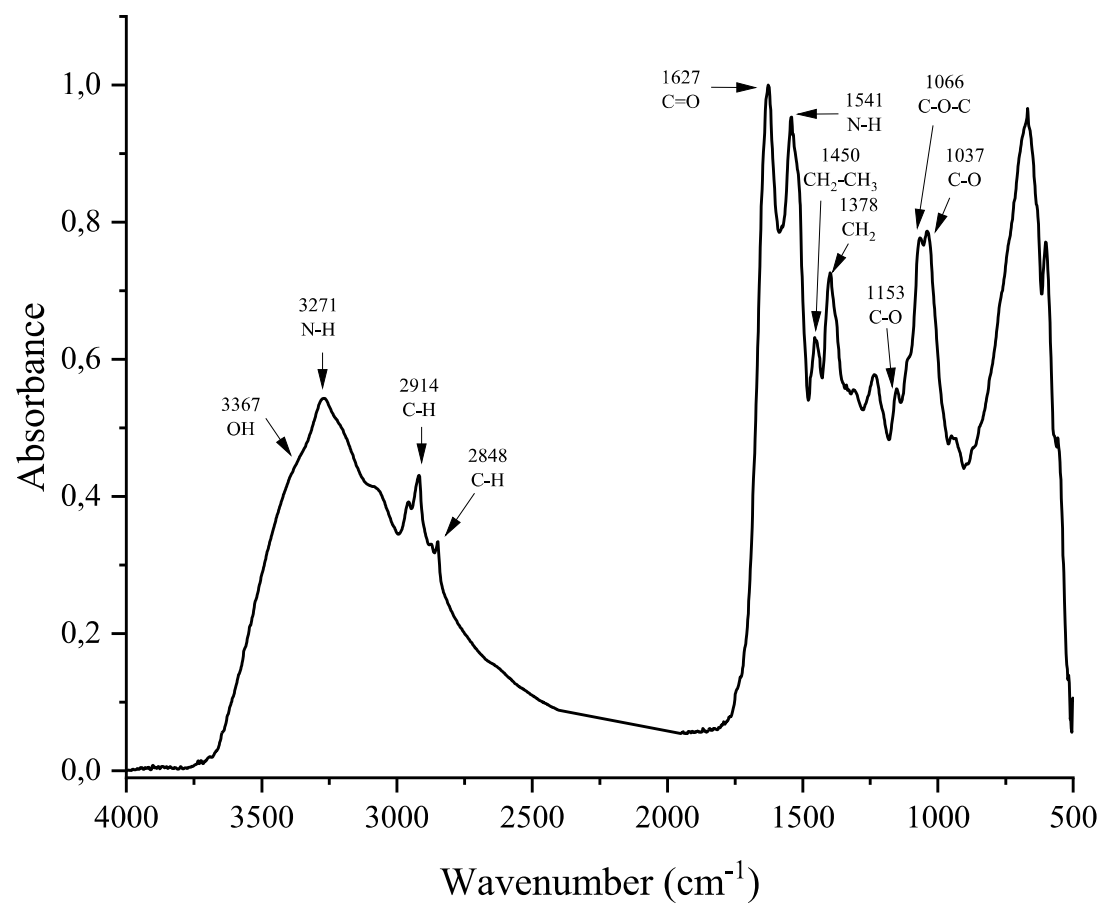


Figura A.2. Espectro de infrarrojo para el abdomen de la hembra 100 de las avispas *Polybia occidentalis*.



ANEXO B

En el presente apartado se encuentran las tablas con los datos obtenidos a partir de los espectros de las partes morfológicas de las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis* para su tratamiento de deconvolución, para el análisis de componentes principales (PCA), k-means y análisis por dendrograma.

Tabla B.1 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas hembra *Polistes versicolor*.

Característica	A1560/2875	A1655/2875	A1655/3450	A1320/3450	A1655/1070	A1655/1030	A1560/1160	A1560/897	A1320/1420
Ab 1H	1,4784	1,5798	0,4826	0,0982	1,4146	11,5011	1,3238	5,5964	0,8433
Ab 2H	1,5218	1,5952	0,4399	0,0912	1,4426	11,1756	1,3495	5,7610	0,8597
Ab 3H	1,3635	1,5031	0,5437	0,1072	1,4441	11,6197	1,3032	5,4030	0,8487
Ab 4H	1,5990	1,6765	0,4691	0,0973	1,3749	11,5011	1,3176	5,6229	0,8355
Ab 5H	1,4784	1,5960	0,5086	0,0993	1,4146	11,3849	1,3418	5,5563	0,8645
Ab 6H	1,3220	1,4430	0,3987	0,0794	1,4297	11,8761	1,3367	5,5964	0,8170
Ab 7H	1,6631	1,7279	0,5962	0,1248	1,3627	11,2861	1,3774	5,5964	0,8860
Ab 8H	1,3466	1,4233	0,4029	0,0829	1,4146	10,9021	1,3068	5,3632	0,8082
Ab 9H	1,6359	1,6519	0,5463	0,1176	1,3617	11,2820	1,3373	5,9804	0,8364
Ab 10H	1,3826	1,5099	0,4044	0,0805	1,4146	10,8040	1,2280	5,1441	0,7904
A 1H	1,4178	1,3557	0,8647	0,2439	4,4563	4,8720	11,2962	4,3697	0,8592
A 2H	1,5883	1,4908	0,8647	0,2485	4,5848	4,8720	11,8506	4,3657	0,9014
A 3H	1,5512	1,4278	0,8402	0,2462	4,4563	4,7792	11,4351	4,3615	0,8560
A 4H	1,5145	1,4067	0,8400	0,2439	4,5004	4,8247	11,0335	4,3572	0,8551
A 5H	1,4811	1,4437	0,8730	0,2416	4,5873	5,0153	10,6451	4,3528	0,8542
A 6H	1,3059	1,3173	0,8059	0,2155	4,4103	4,9757	10,5865	4,3938	0,8489

A 7H	1,3319	1,3146	0,8138	0,2224	4,4563	4,9233	10,6871	4,3981	0,8667
A 8H	1,3605	1,3557	0,8475	0,2295	4,7438	5,0243	11,1206	4,4021	0,8372
A 9H	1,5281	1,3557	0,8368	0,2544	4,0925	4,4743	11,4496	4,4060	0,8619
A 10H	1,5438	1,4611	0,8737	0,2490	4,3663	4,9228	11,6775	4,3742	0,8789
An 1H	1,7297	1,5528	1,1110	0,4097	6,9554	6,4944	16,0998	29,4076	0,8952
An 2H	1,9988	1,8116	1,2819	0,4682	6,9554	6,6205	15,7366	29,8671	0,9039
An 3H	1,6196	1,4398	1,2318	0,4587	6,6929	6,3088	15,4546	29,3222	0,9040
An 4H	1,9388	1,7746	1,2424	0,4493	7,0229	6,6873	15,0382	28,7867	0,9041
An 5H	1,6027	1,4531	1,2056	0,4402	6,8216	6,4313	16,0838	29,3205	0,8873
An 6H	1,7861	1,5865	1,0993	0,4097	7,0301	6,2935	15,6870	29,5320	0,8859
An 7H	1,5535	1,3802	0,9968	0,3714	7,3375	6,4944	16,1497	29,5600	0,8861
An 8H	1,8227	1,5862	1,0052	0,3824	6,9554	6,6340	16,4695	29,5888	0,8862
An 9H	1,6004	1,4222	1,0674	0,3976	7,2513	6,6297	16,7953	29,6170	0,9540
An 10H	1,9223	1,7363	1,0512	0,3853	6,9624	6,4944	16,7863	29,5891	0,9007
C 1H	1,5323	1,4719	0,5040	0,1132	7,5617	8,8664	36,0240	3,3878	0,8559
C 2H	1,7488	1,6638	0,4723	0,1070	7,7099	8,6178	34,7021	3,3558	0,8725
C 3H	1,7464	1,6301	0,5833	0,1348	7,2790	8,8664	35,1616	3,3561	0,8479
C 4H	1,7442	1,7067	0,5040	0,1111	7,8497	9,2927	35,7899	3,3564	0,8402
C 5H	1,7238	1,5945	0,5761	0,1343	7,7632	8,6991	36,4288	3,5181	0,8528
C 6H	1,3478	1,2811	0,4428	0,1005	7,2753	8,5045	36,2146	3,3180	0,8426
C 7H	1,3849	1,3445	0,5149	0,1144	7,4751	9,0571	35,4954	3,2495	0,8577
C 8H	1,3971	1,4286	0,4752	0,1002	7,7818	9,1435	34,7896	3,4061	0,8098
C 9H	1,3686	1,3290	0,4934	0,1096	7,2275	8,9628	34,0968	3,2399	0,8578
C 10H	1,3702	1,3728	0,4747	0,1022	7,7046	8,9588	34,0817	3,3060	0,8596
Pro 1H	1,4264	1,4775	1,3659	0,2567	5,1835	5,6279	24,8873	3,8773	0,8502
Pro 2H	1,6928	1,6886	1,3659	0,2665	5,1835	5,6279	25,8445	3,9579	0,8455
Pro 3H	1,6084	1,6976	1,4462	0,2667	5,4884	5,9011	25,6121	3,8555	0,8446
Pro 4H	1,5734	1,6603	1,5508	0,2861	5,4855	5,8985	26,0307	3,8521	0,8439
Pro 5H	1,3609	1,3826	1,4216	0,2724	5,2348	5,6279	24,7682	3,7199	0,8429
Pro 6H	1,2380	1,3521	1,2863	0,2293	5,2926	5,6865	23,8752	3,9547	0,7965
Pro 7H	1,3571	1,3771	1,3518	0,2593	5,3507	5,4574	24,9637	3,9132	0,8519
Pro 8H	1,3425	1,4196	1,4090	0,2594	5,1994	5,6279	25,1492	3,9099	0,8449

Pro 9H	1,3564	1,3472	1,2098	0,2371	5,1066	5,3408	25,6815	3,9055	0,8617
Pro 10H	1,4411	1,4166	1,1983	0,2373	5,0691	5,2868	24,6359	3,9012	0,8789
P 1H	2,0243	1,4872	1,0018	0,3734	4,6337	4,1377	14,4661	4,8382	0,8743
P 2H	2,3802	1,6833	0,9643	0,3734	4,5891	3,9461	14,4256	4,8977	0,8768
P 3H	2,0243	1,4712	0,8778	0,3308	4,3948	4,1377	14,5443	4,7214	0,8809
P 4H	2,2374	1,6281	1,0115	0,3807	4,5591	4,0596	14,3839	4,9083	0,8461
P 5H	1,9825	1,4872	1,0229	0,3734	4,6005	4,2698	14,5734	4,7141	0,9178
P 6H	2,1061	1,5173	1,0431	0,3965	4,4614	4,0183	14,3546	4,8335	0,8667
P 7H	1,8014	1,3371	1,0018	0,3696	4,6766	4,2239	14,6168	4,8482	0,8816
P 8H	1,8729	1,3343	0,9744	0,3746	4,5812	4,0533	14,4807	4,8529	0,8805
P 9H	1,9664	1,4872	1,1014	0,3989	4,7099	4,2180	14,4378	4,8193	0,8692
P 10H	1,9260	1,4006	1,0059	0,3789	4,7015	4,1377	14,5105	4,8630	0,8788
T1 H	1,5346	1,8904	0,3565	0,0546	11,9992	17,7056	203,2416	1,9821	0,8073
T 2H	1,6231	2,0721	0,3662	0,0541	9,8411	16,8203	194,4050	1,9467	0,8792
T 3H	1,3409	1,7252	0,3047	0,0447	11,7861	18,4925	220,3825	2,0044	0,7339
T 4H	1,6399	1,8774	0,3313	0,0546	11,2653	16,4549	201,7608	1,9712	0,8389
T 5H	1,3826	1,7406	0,3099	0,0464	12,2495	17,3329	205,2718	1,9975	0,7645
T 6H	1,7264	2,0085	0,4086	0,0662	11,3012	17,3651	205,1411	2,0044	0,8481
T 7H	1,4555	1,8514	0,3722	0,0552	12,4718	17,5212	198,9173	1,9358	0,7802
T 8H	1,6755	2,0447	0,4064	0,0628	11,7989	18,2213	202,2963	2,0256	0,8330
T 9H	1,4416	1,8713	0,3678	0,0534	12,6716	17,7056	204,1195	1,9142	0,7716
T 10H	1,6186	1,9747	0,3825	0,0591	11,8724	17,7056	205,2148	2,0131	0,7966

Tabla B.2 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas macho Polistes

versicolor.

Característica	A1560/2875	A1655/2875	A1655/3450	A1320/3450	A1655/1070	A1655/1030	A1560/1160	A1560/897	A1320/1420
Ab M1	1,8355	0,5491	0,0915	0,0550	2,9225	2,8182	32,9575	5,0208	0,4755
Ab M2	1,8895	0,5545	0,0834	0,0511	2,9803	2,7384	33,5975	5,1685	0,4847
Ab M3	1,6929	0,5224	0,1031	0,0601	2,9833	2,8472	32,4453	4,8473	0,4785

Ab M4	1,9853	0,5827	0,0890	0,0545	2,8405	2,8182	32,8028	5,0446	0,4710
Ab M5	1,8355	0,5547	0,0964	0,0556	2,9225	2,7897	33,4052	4,9849	0,4874
Ab M6	1,6413	0,5016	0,0756	0,0445	2,9535	2,9101	33,2796	5,0208	0,4606
Ab M7	2,0649	0,6005	0,1131	0,0699	2,8152	2,7655	34,2911	5,0208	0,4995
Ab M8	1,6719	0,4947	0,0764	0,0464	2,9225	2,6714	32,5332	4,8116	0,4557
Ab M9	2,0311	0,5742	0,1036	0,0659	2,8132	2,7645	33,2935	5,3654	0,4716
Ab M10	1,7166	0,5248	0,0767	0,0451	2,9225	2,6474	30,5722	4,6151	0,4456
A M1	1,5624	0,1435	0,0867	0,3029	0,5707	4,1418	17,6859	14,3485	0,6438
A M2	1,7503	0,1578	0,0867	0,3086	0,5872	4,1418	18,5540	14,3353	0,6754
A M3	1,7094	0,1512	0,0843	0,3058	0,5707	4,0629	17,9034	14,3217	0,6414
A M4	1,6689	0,1489	0,0842	0,3029	0,5764	4,1015	17,2746	14,3076	0,6407
A M5	1,6321	0,1529	0,0875	0,3000	0,5875	4,2636	16,6665	14,2930	0,6400
A M6	1,4391	0,1395	0,0808	0,2676	0,5648	4,2299	16,5749	14,4278	0,6361
A M7	1,4677	0,1392	0,0816	0,2762	0,5707	4,1853	16,7324	14,4417	0,6493
A M8	1,4993	0,1435	0,0850	0,2849	0,6075	4,2712	17,4110	14,4550	0,6273
A M9	1,6839	0,1435	0,0839	0,3160	0,5241	3,8036	17,9262	14,4678	0,6458
A M10	1,7013	0,1547	0,0876	0,3092	0,5592	4,1849	18,2829	14,3631	0,6585
An M1	1,3374	1,2560	0,8571	0,3157	4,2722	14,4806	15,3737	35,4088	0,6482
An M2	1,5454	1,4653	0,9889	0,3608	4,2722	14,7618	15,0269	35,9620	0,6545
An M3	1,2523	1,1646	0,9502	0,3534	4,1109	14,0669	14,7576	35,3059	0,6546
An M4	1,4990	1,4354	0,9584	0,3462	4,3136	14,9107	14,3601	34,6612	0,6546
An M5	1,2392	1,1753	0,9300	0,3392	4,1900	14,3400	15,3585	35,3039	0,6425
An M6	1,3810	1,2833	0,8480	0,3157	4,3181	14,0328	14,9795	35,5585	0,6415
An M7	1,2012	1,1164	0,7690	0,2862	4,5069	14,4806	15,4214	35,5922	0,6416
An M8	1,4093	1,2830	0,7754	0,2946	4,2722	14,8399	15,7268	35,6269	0,6417
An M9	1,2374	1,1503	0,8235	0,3064	4,4539	14,7823	16,0379	35,6609	0,6908
An M10	1,4863	1,4044	0,8109	0,2968	4,2765	14,4806	16,0293	35,6273	0,6522
C M1	1,2896	0,7368	0,4669	0,1923	2,6248	8,9002	50,9534	3,2779	0,6487
C M2	1,4718	0,8329	0,4375	0,1819	2,6763	8,6507	49,0835	3,2470	0,6613
C M3	1,4699	0,8160	0,5403	0,2290	2,5267	8,9002	49,7335	3,2472	0,6426
C M4	1,4680	0,8543	0,4669	0,1888	2,7248	9,3281	50,6222	3,2475	0,6368
C M5	1,4508	0,7982	0,5336	0,2282	2,6947	8,7323	51,5259	3,4040	0,6463

C M6	1,1344	0,6413	0,4102	0,1707	2,5254	8,5369	51,2230	3,2103	0,6386
C M7	1,1656	0,6730	0,4769	0,1944	2,5947	9,0916	50,2056	3,1441	0,6500
C M8	1,1758	0,7151	0,4402	0,1703	2,7012	9,1783	49,2073	3,2956	0,6137
C M9	1,1519	0,6652	0,4571	0,1862	2,5088	8,9970	48,2275	3,1348	0,6501
C M10	1,1532	0,6872	0,4397	0,1736	2,6744	8,9929	48,2061	3,1988	0,6515
Pro M1	1,4966	0,7485	0,8083	0,3694	1,9881	26,0689	19,4787	5,4613	0,6027
Pro M2	1,7762	0,8555	0,8083	0,3836	1,9881	26,0689	20,2278	5,5748	0,5993
Pro M3	1,6877	0,8600	0,8558	0,3839	2,1050	27,3344	20,0460	5,4305	0,5987
Pro M4	1,6509	0,8411	0,9177	0,4117	2,1039	27,3222	20,3736	5,4258	0,5982
Pro M5	1,4280	0,7005	0,8413	0,3920	2,0078	26,0689	19,3855	5,2396	0,5975
Pro M6	1,2990	0,6850	0,7612	0,3299	2,0299	26,3404	18,6865	5,5703	0,5646
Pro M7	1,4240	0,6977	0,7999	0,3732	2,0522	25,2789	19,5385	5,5119	0,6039
Pro M8	1,4086	0,7192	0,8338	0,3733	1,9942	26,0689	19,6837	5,5072	0,5989
Pro M9	1,4233	0,6825	0,7159	0,3412	1,9586	24,7388	20,1003	5,5010	0,6108
Pro M10	1,5121	0,7177	0,7091	0,3415	1,9442	24,4890	19,2819	5,4949	0,6230
P M1	1,5230	0,9225	0,3018	0,1264	4,3756	10,1428	23,1193	7,7415	0,5681
P M2	1,7907	1,0441	0,2905	0,1264	4,3335	9,6733	23,0547	7,8367	0,5697
P M3	1,5230	0,9126	0,2644	0,1120	4,1500	10,1428	23,2443	7,5547	0,5724
P M4	1,6833	1,0099	0,3047	0,1289	4,3052	9,9515	22,9879	7,8537	0,5498
P M5	1,4916	0,9225	0,3082	0,1264	4,3442	10,4665	23,2909	7,5430	0,5964
P M6	1,5845	0,9411	0,3142	0,1342	4,2129	9,8502	22,9411	7,7340	0,5632
P M7	1,3553	0,8294	0,3018	0,1251	4,4161	10,3541	23,3601	7,7575	0,5728
P M8	1,4091	0,8277	0,2935	0,1268	4,3260	9,9358	23,1427	7,7650	0,5722
P M9	1,4795	0,9225	0,3318	0,1350	4,4476	10,3398	23,0741	7,7113	0,5648
P M10	1,4490	0,8688	0,3030	0,1282	4,4397	10,1428	23,1903	7,7812	0,5710
T M1	1,1438	1,2774	0,2901	0,0613	5,4416	19,2451	24,5521	3,3747	0,6071
T M2	1,2098	1,4002	0,2979	0,0607	4,4629	18,2828	23,4846	3,3144	0,6612
T M3	0,9994	1,1658	0,2479	0,0501	5,3449	20,1004	26,6228	3,4126	0,5519
T M4	1,2223	1,2686	0,2696	0,0613	5,1087	17,8856	24,3732	3,3562	0,6308
T M5	1,0305	1,1762	0,2521	0,0521	5,5551	18,8399	24,7974	3,4008	0,5749
T M6	1,2867	1,3572	0,3324	0,0744	5,1250	18,8750	24,7816	3,4126	0,6378
T M7	1,0848	1,2511	0,3028	0,0619	5,6559	19,0446	24,0297	3,2959	0,5867

T M8	1,2488	1,3817	0,3306	0,0705	5,3507	19,8056	24,4379	3,4488	0,6264
T M9	1,0745	1,2645	0,2992	0,0600	5,7465	19,2451	24,6582	3,2590	0,5803
T M10	1,2064	1,3344	0,3112	0,0664	5,3841	19,2451	24,7905	3,4274	0,5991

Tabla B.3 Matriz de datos cocientes a partir de los valores obtenidos de la deconvolución para las partes morfológicas de las avispas *Polybia*

occidentalis.

Característica	A1560/2875	A1655/2875	A1655/3450	A1320/3450	A1655/1070	A1655/1030	A1560/1160	A1560/897	A1320/1420
Ab Po1	1,0482559	0,8457075	0,6172208	0,2708534	3,3447119	3,1883055	17,66221	3,2383061	0,7562925
Ab Po2	1,079087	0,8539987	0,5625995	0,251678	3,4109438	3,0980704	18,005166	3,3335503	0,7709778
Ab Po3	0,966838	0,8046537	0,6952602	0,2957595	3,4143934	3,2211746	17,387668	3,1264134	0,7610994
Ab Po4	1,1338278	0,8974855	0,5999155	0,2683221	3,2509349	3,1883055	17,579289	3,2536535	0,7492243
Ab Po5	1,0482559	0,8544261	0,6504047	0,2737658	3,3447119	3,1561004	17,902136	3,2151043	0,7752617
Ab Po6	0,9373827	0,7725212	0,509878	0,219038	3,3802939	3,292272	17,834805	3,2383061	0,7326584
Ab Po7	1,1792879	0,9249925	0,7624492	0,3441432	3,2219702	3,128711	18,376866	3,2383061	0,7945485
Ab Po8	0,954847	0,761974	0,5152944	0,2286102	3,3447119	3,0222479	17,4348	3,1033766	0,7247803
Ab Po9	1,1599989	0,8843438	0,6986125	0,3244288	3,2196759	3,1275759	17,84227	3,4605427	0,750099
Ab Po10	0,9803832	0,8083329	0,5171309	0,222051	3,3447119	2,9950748	16,383906	2,9766248	0,7087808
A Po1	0,9928052	0,7484718	0,5626762	0,2909985	3,7725416	11,729521	11,724066	6,5014618	0,6638183
A Po2	1,1121867	0,8230882	0,5626762	0,2964377	3,8813649	11,729521	12,29955	6,4955026	0,6964022
A Po3	1,0861979	0,7882678	0,5467514	0,2937438	3,7725416	11,506102	11,86826	6,4893322	0,661346
A Po4	1,0604735	0,7766442	0,5465997	0,2909985	3,8098935	11,615642	11,451414	6,4829391	0,6606722
A Po5	1,0371089	0,7970541	0,5680865	0,2882004	3,8834987	12,074507	11,048297	6,476311	0,6599738
A Po6	0,9144259	0,72726	0,5244361	0,2570958	3,7336494	11,979086	10,987539	6,5373814	0,6558899
A Po7	0,9326352	0,7257908	0,5295776	0,2653222	3,7725416	11,85299	11,091945	6,543679	0,6695781
A Po8	0,9526919	0,7484718	0,5515341	0,2737115	4,0159314	12,096069	11,541827	6,5497229	0,6467973
A Po9	1,0700234	0,7484718	0,5445253	0,3035146	3,464579	10,772009	11,883328	6,555528	0,6658777
A Po10	1,0810546	0,8066863	0,5685374	0,297061	3,6963287	11,851704	12,119816	6,5081027	0,6790626
An Po1	0,8845013	0,5784182	0,4334073	0,2605658	2,4000263	8,4058816	12,905904	4,0079899	0,736054
An Po2	1,0220904	0,6748212	0,5000854	0,2977895	2,4000263	8,5691026	12,614794	4,0706148	0,7432002

An Po3	0,8282149	0,5363514	0,4805168	0,2917204	2,3094593	8,1657136	12,388706	3,9963501	0,7432703
An Po4	0,9914191	0,6610493	0,4846706	0,2857818	2,4233275	8,6555612	12,054966	3,9233683	0,7433417
An Po5	0,8195838	0,5412721	0,470293	0,2799696	2,353872	8,3242711	12,893139	3,9961203	0,7295531
An Po6	0,9133438	0,5909925	0,4288451	0,2605658	2,425833	8,1459059	12,574984	4,024937	0,7283868
An Po7	0,7944132	0,5141495	0,3888514	0,2362138	2,5318959	8,4058816	12,945943	4,0287567	0,7285433
An Po8	0,9320552	0,5908573	0,3921304	0,2431947	2,4000263	8,6144418	13,202282	4,0326798	0,7286192
An Po9	0,8183704	0,5297662	0,416411	0,2529021	2,5021551	8,5810041	13,463483	4,0365311	0,7843848
An Po10	0,9830026	0,6467767	0,41007	0,2450321	2,4024678	8,4058816	13,456263	4,0327306	0,7405976
C Po1	0,7771729	0,6075498	0,4548962	0,2429937	2,6679023	10,058742	12,602198	4,3566798	0,7356567
C Po2	0,8869909	0,6867954	0,4262091	0,2298589	2,7202141	9,7767211	12,139732	4,3155791	0,7499413
C Po3	0,88581	0,6728778	0,5264529	0,2894082	2,5681676	10,058742	12,300488	4,3159632	0,7287814
C Po4	0,8846543	0,7044993	0,4548962	0,2385351	2,7695367	10,542335	12,52029	4,3163402	0,7221584
C Po5	0,8743196	0,658179	0,5198814	0,2883881	2,7390112	9,8689543	12,743796	4,5242444	0,7329421
C Po6	0,6836244	0,5287934	0,3996285	0,2157421	2,5668661	9,648181	12,668877	4,2668514	0,7242216
C Po7	0,7024448	0,5549734	0,4646789	0,2456065	2,6373644	10,275059	12,41726	4,1788562	0,7372253
C Po8	0,7085989	0,5896807	0,4289022	0,215223	2,7455543	10,373078	12,170347	4,3802295	0,6959926
C Po9	0,6941739	0,5485644	0,4453195	0,2353202	2,5499991	10,168076	11,928007	4,1664714	0,7372595
C Po10	0,694972	0,566657	0,4283974	0,2194021	2,7183458	10,16352	11,922731	4,2515344	0,7388345
P Po1	0,759663	0,6512178	0,5081848	0,2461686	2,7939741	10,631122	14,708124	3,5631985	0,7794522
P Po2	0,901578	0,7442489	0,5081848	0,2556366	2,7939741	10,631122	15,273821	3,6372914	0,7751458
P Po3	0,8566412	0,7482077	0,538078	0,2558222	2,9583255	11,147195	15,136516	3,5431429	0,7743386
P Po4	0,8379787	0,7317808	0,5770015	0,2743754	2,9567299	11,142233	15,383864	3,5400393	0,7736678
P Po5	0,724816	0,6093965	0,528927	0,2612401	2,8216372	10,631122	14,63775	3,4185668	0,7727648
P Po6	0,6593301	0,5959257	0,4785818	0,2198787	2,8527946	10,741862	14,109983	3,6343044	0,7302403
P Po7	0,7227861	0,6069603	0,5029457	0,2487064	2,8841023	10,308966	14,753287	3,596225	0,7810462
P Po8	0,7149769	0,6256798	0,5242327	0,2487598	2,8025534	10,631122	14,862946	3,5931413	0,7746109
P Po9	0,7224246	0,5937574	0,4501065	0,2274129	2,7525381	10,088717	15,177532	3,5890992	0,7900404
P Po10	0,7674945	0,6243635	0,4458602	0,2275898	2,7322775	9,9868111	14,559557	3,5851484	0,8057628
T Po1	1,2453715	1,1596804	0,8605005	0,2266139	4,9245814	13,410471	19,418144	3,7129717	0,5281078
T Po2	1,4643379	1,3126053	0,8283322	0,2266139	4,8772296	12,789616	19,363853	3,7586374	0,5295926
T Po3	1,2453715	1,1472107	0,7539623	0,2007152	4,670737	13,410471	19,523107	3,6233617	0,5321129
T Po4	1,3764633	1,2695448	0,8688549	0,2310142	4,8453781	13,157443	19,307814	3,7667829	0,5110721

T Po5	1,2196937	1,1596804	0,8786163	0,2266139	4,8892978	13,838465	19,562287	3,6177673	0,5543673
T Po6	1,2956896	1,1831083	0,895985	0,2406313	4,741494	13,023631	19,268486	3,7093703	0,5235332
T Po7	1,1082664	1,0426484	0,8605005	0,2243015	4,9702263	13,689856	19,620417	3,7206431	0,5324995
T Po8	1,1522596	1,0404609	0,836961	0,2273027	4,8687931	13,136788	19,437778	3,7242573	0,5318685
T Po9	1,2097895	1,1596804	0,9461	0,2420379	5,0056248	13,670869	19,380144	3,6984679	0,5250194
T Po10	1,1849166	1,0921262	0,8640636	0,2298982	4,9966987	13,410471	19,47777	3,7320126	0,530816

ANEXO C

En este apartado se encuentran las tablas correspondientes a los pesos inicial, final y el porcentaje de humedad obtenidos en el proceso de deshidratación para las avispas *Polistes versicolor* y *Polybia occidentalis*.

Tabla C.1 *Peso y perdida de humedad de las avispas hembra Polistes versicolor.*

Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% Perdida de Humedad
1-H	0,0681	0,0279	59,0
2-H	0,071	0,0308	56,6
3-H	0,0808	0,0329	59,3
4-H	0,074	0,0309	58,2
5-H	0,0762	0,0299	60,8
6-H	0,1149	0,0374	67,4
7-H	0,0734	FTIR	FTIR
8-H	0,073	0,0301	58,8
9-H	0,0729	0,0285	60,9
10-H	0,0758	0,0304	59,9
11-H	0,0684	0,0267	60,9
12-H	0,0779	0,03	61,5
13-H	0,1004	0,0296	70,5
14-H	0,084	0,0338	59,8
15-H	0,0851	0,0329	61,3
16-H	0,0831	0,0315	62,1
17-H	0,0804	0,0313	61,1
18-H	0,0769	0,0298	59,3
19-H	0,0545	0,0361	33,8
20-H	0,0667	0,026	61,0

Tabla C.2 *Peso y perdida de humedad de las avispas macho Polistes versicolor.*

Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% Perdida de Humedad
1-M	0,0787	0,027	65,7
2-M	0,0846	0,0347	58,9
3-M	0,0541	0,0215	60,3
4-M	0,0696	0,0241	65,4
5-M	0,072	0,0273	62,1

6-M	0,0827	0,0288	65,2
7-M	0,075	0,0268	64,3
8-M	0,0799	0,0284	64,5
9-M	0,0858	0,032	62,7
10-M	0,0901	0,0289	67,9
11-M	0,0717	0,0244	65,9
12-M	0,0747	0,0236	68,4
13-M	0,0831	0,0248	70,2
14-M	0,075	0,023	69,3
15-M	0,0852	0,0289	66,1
16-M	0,0703	0,0261	62,8
17-M	0,0623	0,0217	65,2
18-M	0,0889	0,0355	60,1
19-M	0,0745	0,0269	63,8
20-M	0,0785	0,0284	63,8
21-M	0,0758	0,0262	65,4
22-M	0,0835	0,0261	68,7
23-M	0,0643	0,0237	63,1
24-M	0,092	0,0327	64,5
25-M	0,0749	0,0264	64,8
26-M	0,0764	0,0263	65,6
27-M	0,081	0,0207	74,4
29-M	0,0757	FTIR	FTIR
28-M	0,0848	0,0278	67,2
30-M	0,0813	0,0267	67,2
31-M	0,0774	0,0246	68,2
32-M	0,0894	0,0331	62,9
33-M	0,0708	0,0252	64,4
34-M	0,0864	0,0302	65,0
35-M	0,0727	0,0245	66,3
36-M	0,0683	0,0249	63,5
37-M	0,0719	0,0276	61,6
38-M	0,0777	0,0286	63,2
39-M	0,0838	0,0265	68,4
40-M	0,0738	0,0266	63,9
41-M	0,0704	0,0213	69,7
42-M	0,0806	0,0225	72,1
43-M	0,0717	0,0262	63,5
44-M	0,0708	0,0248	64,97175141
45-M	0,0749	0,027	63,95193591

Tabla C.3 *Peso y perdida de humedad de las avispas hembra Polybia occidentalis.*

Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	%Perdida de Humedad
1-HPO	0,0089	0,0041	53,9
2-HPO	0,0049	0,0029	40,8
3-HPO	0,0042	0,0022	47,6
4-HPO	0,0077	0,0059	23,4
5-HPO	0,0056	0,0017	69,6
6-HPO	0,0065	0,0048	26,2
7-HPO	0,0028	0,0024	14,3
8-HPO	0,0051	0,0046	9,8
9-HPO	0,0056	0,0041	26,8
10-HPO	0,0052	0,003	42,3
11-HPO	0,0036	0,0027	25
12-HPO	0,0052	0,0039	25
13-HPO	0,0053	0,0037	30,2
14-HPO	0,0053	0,0046	13,2
15-HPO	0,0066	0,0051	22,7
16-HPO	0,0057	0,0034	40,3
17-HPO	0,006	0,0036	40
18-HPO	0,0048	0,0017	64,6
19-HPO	0,0037	0,0023	37,8
20-HPO	0,0046	0,0038	17,4
21-HPO	0,0042	0,0036	14,3
22-HPO	0,0031	0,0025	19,4
23-HPO	0,0038	0,0016	57,8
24-HPO	0,0046	0,0034	26,1
25-HPO	0,006	0,0039	35,0
26-HPO	0,0061	0,0023	62,3
27-HPO	0,0053	0,0021	60,4
28-HPO	0,0041	0,0025	39,0
29-HPO	0,0058	0,0013	77,6
30-HPO	0,0063	0,0039	38,1
31-HPO	0,0051	0,004	21,6
32-HPO	0,0055	0,0042	23,6
33-HPO	0,0049	0,0045	8,2
34-HPO	0,0045	0,0031	31,1
35-HPO	0,0047	0,004	14,8
36-HPO	0,0061	0,0053	13,1

37-HPO	0,0074	0,0068	8,1
38-HPO	0,0045	0,0018	60
39-HPO	0,0071	0,006	15,5
40-HPO	0,0056	0,002	64,3
41-HPO	0,0066	0,0055	16,7
42-HPO	0,0039	0,0029	25,6
43-HPO	0,0056	0,0048	14,3
44-HPO	0,0051	0,0034	33,3
45-HPO	0,006	0,0051	15
46-HPO	0,0038	0,0024	36,8
47-HPO	0,0024	0,0015	37,5
48-HPO	0,0049	0,004	18,4
49-HPO	0,0037	0,0032	13,5
50-HPO	0,0047	0,0038	19,1
51-HPO	0,0049	0,0036	26,5
52-HPO	0,006	0,0045	25
53-HPO	0,0069	0,0051	26,1
54-HPO	0,0027	0,0022	18,5
55-HPO	0,0051	0,0036	29,4
56-HPO	0,0052	0,0023	55,8
57-HPO	0,0055	0,0049	10,9
58-HPO	0,0051	0,0046	9,8
59-HPO	0,0065	0,0057	12,3
60-HPO	0,0054	0,0048	11,1
61-HPO	0,0052	0,0046	11,5
62-HPO	0,0065	FTIR	FTIR
63-HPO	0,0037	0,0026	29,7
64-HPO	0,0068	0,0061	10,3
65-HPO	0,0043	0,0036	16,3
66-HPO	0,0036	0,0021	41,7
67-HPO	0,0046	0,0025	45,6
68-HPO	0,0057	0,004	29,8
69-HPO	0,0047	0,0035	25,5
70-HPO	0,0065	0,0054	16,9
71-HPO	0,006	0,0043	28,3
72-HPO	0,0045	0,0036	20,0
73-HPO	0,0044	0,0039	11,4
74-HPO	0,0066	0,0058	12,1
75-HPO	0,0045	0,0037	17,8
76-HPO	0,0041	0,0028	31,7

77-HPO	0,0044	0,0031	29,5
78-HPO	0,0071	0,0065	8,4
79-HPO	0,0046	0,0037	19,6
80-HPO	0,0046	0,0025	45,7
81-HPO	0,0039	0,0034	12,8
82-HPO	0,0039	0,0033	15,4
83-HPO	0,0056	0,003	46,4
84-HPO	0,004	0,0035	12,5
85-HPO	0,0067	FTIR	FTIR
86-HPO	0,0057	0,0048	15,8
87-HPO	0,0028	0,0022	21,4
88-HPO	0,0034	0,0025	26,5
89-HPO	0,0056	0,0048	14,3
90-HPO	0,0066	0,0061	7,6
91-HPO	0,0041	0,0026	36,6
92-HPO	0,0062	0,0049	20,9
93-HPO	0,0061	0,0051	16,4
94-HPO	0,0058	0,0035	39,6
95-HPO	0,0053	0,0029	45,3
96-HPO	0,0046	0,0034	26,1
97-HPO	0,0054	0,0036	33,3
98-HPO	0,0042	0,003	28,6
99-HPO	0,0052	0,0045	13,5
100-HPO	0,0042	FTIR	FTIR
101-HPO	0,0043	0,0027	37,2
102-HPO	0,0048	0,0039	18,7
103-HPO	0,0047	0,0032	31,9
104-HPO	0,0045	0,0021	53,3
105-HPO	0,0043	0,0029	32,6
106-HPO	0,0025	0,0017	32
107-HPO	0,0053	0,003	43,4
108-HPO	0,0024	0,0015	37,5
109-HPO	0,0059	0,0036	38,9
110-HPO	0,0053	0,0029	45,3
111-HPO	0,0044	0,0034	22,7
112-HPO	0,0035	0,0022	37,1
113-HPO	0,0052	0,0037	28,8
114-HPO	0,005	0,0042	16
115-HPO	0,0059	0,002	66,1
116-HPO	0,0056	0,0021	62,5

117-HPO	0,0044	FTIR	FTIR
118-HPO	0,0043	0,0028	34,8
119-HPO	0,0061	0,0055	9,8
120-HPO	0,0053	0,0042	20,7
121-HPO	0,0031	0,0027	12,9