

**DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UNA FORMULACIÓN TIPO
UNGÜENTO CON AGREGADOS DE PLATA SINTÉTICOS A
PARTIR DEL EXTRACTO DE LA PIEL DE CEBOLLA ROJA
(*Allium cepa* L.)**

LISBETH DANIELA MORA GONZÁLEZ



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2024**

**DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UNA FORMULACIÓN TIPO UNGÜENTO CON
AGREGADOS DE PLATA SINTÉTICOS A PARTIR DEL EXTRACTO DE LA
PIEL DE CEBOLLA ROJA (*Allium cepa* L.)**

LISBETH DANIELA MORA GONZÁLEZ

**Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de
Químico (a)**

Tutores

Amanda Lucía Chaparro García

Química, M.Sc., Ph.D
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

José Hernando Quintana Mendoza

Químico, M.Sc.
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2024**

DEDICATORIA

A mi familia, mis abuelos, mis padres y mis tíos.

A mis queridos amigos Michael, Camilo e Ilsa.

Gracias por su apoyo incondicional, amistad y compañerismo a lo largo de este viaje académico. Su presencia y motivación han sido fundamentales para alcanzar esta meta.

Gracias por creer en mí, por su aprecio y comprensión, y por ser mi pilar en todo momento. Sus palabras de aliento y sacrificios me han permitido llegar hasta aquí.

Este trabajo, es el resultado de esfuerzo, dedicación y el apoyo invaluable de todos ustedes.

Con profundo agradecimiento.

Daniela

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, el profesor José Hernando Quintana Mendoza y la profesora Amanda Lucía Chaparro García.

Al grupo de Investigación en Biocalorimetria, al Semillero de Investigación en Tecnologías Verdes “ConCiencia” y a la profesora Alba Lucía Roa por el apoyo en hacer las pruebas de microbiológicas a los ungüentos.

A los laboratorios de Biocalorimetria, Control de Calidad y Biotecnología de la Universidad de Pamplona.

A mi familia.

A mis amigos y compañeros de laboratorio de tesis Luisa, Rainer y Elkin.

A la Universidad de Pamplona, especialmente al programa de Química.

Muchas gracias por su apoyo.

CONTENIDO

DEDICATORIA	3
Agradecimientos	4
Lista de tablas.....	7
Lista de figuras	8
Lista de ECUACIONES	10
Lista de abreviaturas	11
RESUMEN	12
Abstract.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
1. Marco Referencial	15
1.1 La cebolla.....	15
1.2 Compuestos bioactivos en cebollas rojas	17
1.2.1 Antocianinas	19
1.2.2 Flavonoles	20
1.2.3 Métodos de extracción y cuantificación de flavonoides	21
1.3 Aplicaciones de los fitoquímicos de la cebolla	22
1.3.1 Nanopartículas de plata	22
1.4 Plata en ungüentos	26
1.4.1 Pruebas de estabilidad química a ungüentos	28
2. objetivos.....	29
2.1 Objetivo general	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3. Metodología.....	30
3.1 Muestreo	30
3.2 Reactivos y materias primas.....	30
3.3 Equipos e instrumentos	30
3.4 Métodos	32
3.4.1 Tratamiento a la cebolla.....	33
3.4.2 Seguimiento por ATR-FTIR a las capas.....	34
3.4.3 Extracción de flavonoides	35
3.4.4 Determinación de flavonoides por UV-vis y GC-MS	36
3.4.5 Síntesis de agregados de plata.....	36
3.4.6 Construcción de formulaciones tipo ungüento.....	38
3.4.7 Pruebas de estabilidad química	39

3.5 Análisis estadístico	41
4. Resultados y análisis.....	42
4.1 Tratamiento a la cebolla	42
4.2 Seguimiento por ATR-FTIR a las capas	44
4.3 Extracción y determinación de flavonoides por UV-vis y GC-MS	50
4.4 Síntesis de agregados de plata	58
4.5 Construcción de formulaciones tipo ungüento	59
4.6 Pruebas de estabilidad química.....	66
Conclusiones	74
RECOMENDACIONES	75
Bibliografía.....	76
ANEXOS.....	99

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Abundancia relativa de los picos del cromatograma por extracción mecánica junto con molécula elucidada.	53
Tabla 2. Interpretación de los espectros de la muestra pulverizada de la capa 1 y su residuo después de la extracción etanólica.	56
Tabla 3. Porcentaje de humedad y cenizas a los ungüentos.....	61
Tabla 4. Interpretación de los espectros de las formulaciones tipo ungüento.....	65
Tabla 5. pH de los ungüentos en diferentes días después de su construcción.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes del bulbo de la cebolla. Fuente: autor	16
Figura 2. Estructuras químicas de los diferentes tipos de flavonoides, (a) flavonol, (b) flavona, (c) flavanona, (d) flavanol, (e) isoflavonoide, (f) antocianina (g) Estructura química de los flavonoides. Fuente (Sagar et al., 2022).	18
Figura 3. Estructuras moleculares de la (a) cianidina y (b) cianidina 3-glucósido. Fuente: autor	19
Figura 4. Estructuras moleculares, estructura general del, (a) quercetina, (b) quercetina-3-glucósido y (c) quercetina-3,4-diglucósido. Fuente: autor	20
Figura 5. Reacción propuesta de reducción de la plata desde un alcohol primario. Fuente: autor	24
Figura 6. Mecanismo de muerte celular en bacterias por las nanopartículas, imagen adaptada de (Nirmala et al., 2024) (Irfan et al., 2017).	25
Figura 7. Interacción entre la fase oleosa y la fase hidrofílica en un ungüento. Fuente: autor	27
Figura 8. Diagrama general de la metodología. Fuente: autor	32
Figura 9. Capas de la cebolla. Fuente: autor	33
Figura 10. Procesamiento de los datos espectrales de infrarrojo.	34
Figura 11. Extracciones etanoicas de cebolla roja (1) por capas molturadas (2) utilizando (a) ultrasonido, (b) microondas, (c) mecánica, y seguimiento de los extractos (3) por UV-vis y GC-MS. Seguimiento de las capas molturadas y residuos (4) por ATR-FTIR.....	35
Figura 12. Síntesis de agregado de plata.....	37
Figura 13. Cálculo tamaño del agregado de plata.	38
Figura 14. Construcción de las formulaciones tipo ungüento con agua (blanco), solo extracto etanólico y con el extracto + agregado de plata.	39
Figura 15. Distribución estadística del Porcentaje de peso por capas de cebolla (ANOVA de una variable).	43
Figura 16. Espectro de absorción UV-vis de por lámina y promedio de las absorbancias, zona de interés de absorción de antocianinas.	44
Figura 17. Espectros de infrarrojo de las muestras molturadas de las capas (a) región de $3700-2700\text{ cm}^{-1}$, (b) región de $1800-550\text{ cm}^{-1}$	45
Figura 18. PCA en 3D de las diferentes capas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR ($1800-550\text{ cm}^{-1}$). (A) Capa 1, (B) Capa 2, (C) Capa 3, (D) Capa 4, (E) Capa 5, (F) Capa 6, (G) Capa 7, (H) Capa 8.	46
Figura 19. Porcentaje de peso disuelto de las diferentes capas por extracción las tres extracciones, microondas, ultrasonido y mecánica.	48
Figura 20. Porcentaje de peso disuelto de la capa 1 por los diferentes métodos de extracción.	49
Figura 21. Espectros UV-vis de los extractos etanólicos por el método de (a) ultrasonido, (b) microondas y (c) extracción mecánica.	50
Figura 22. Espectros UV-vis de los extractos etanólicos de la capa 1 por los tres métodos de extracción.	51
Figura 23. Cromatogramas de las extracciones etanólicas para la capa 1, por los diferentes métodos de extracción y sus abundancias relativas para cada pico.	52
Figura 24. Espectro de masas y posible ruta de fragmentación de la molécula Quercetina 3,4-diglucosida.....	54
Figura 25. Espectro de infrarrojo de la muestra pulverizada de la capa 1 y su residuo después de la extracción mecánica.	56

Figura 26. Tamaño calculado de los agregados de plata por UV-vis.....	59
Figura 27. (a) Fotografía de los ungüentos el mismo día de elaboración, 5 réplicas de cada tipo de ungüento (a-e), (b) fotografías de los ungüentos a lo largo de un mes.....	60
Figura 28. TGA con la primera derivada de los ungüentos, (a) ungüento con agua o blanco, (b) ungüento con extracto de cebolla, (c) ungüento con extracto + agregado de plata.....	62
Figura 29. Espectros UV-vis a los ungüentos.	63
Figura 30. Espectros de infrarrojo de las formulaciones tipo ungüento (a) región de 3700-2700 cm^{-1} , (b) región de 1800-550 cm^{-1}	64
Figura 31. PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata, en diferentes días (d1: un día después de construido el ungüento, d2: 4 días después, d3: 11 días después, d3: 18 días después, d4: 25 días después, d5: 32 días después y d6: 39 día. .	66
Figura 32. pH a los ungüentos.	68
Figura 33. Escala Cielab para color (Ly et al., 2020).....	68
Figura 34. Boxplot y ANOVA para ΔE , para los distintos ungüentos construidos con agua (blanco), extracto y el extracto con el agregado de plata en distintos días, día 8 después de su construcción, día 15 y día 22.	69
Figura 35. (a) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a un ambiente húmedo con KBr. (b) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a temperatura ambiente de 19°C, en un lugar oscuro. (c) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a un ambiente cerrado herméticamente y caliente. En humedad d1: peso después de 2 días de la construcción del ungüento, d2: 3 días, d3: 4 días, d4: 7 días, d5: 8 días, d6: 9 días, d7: 10 días, d8: 15 días, d9: 16 días. Para temperatura ambiente y ambiente cerrado d1: 3 días después de construida la formulación, d2: 4 días, d3: 7 días, d4: 8 días, d5: 9 días, d6: 10 días, d7: 15 días, d8: 16 días.	70
Figura 36. (a) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente con temperatura de 19°C y oscuridad, en diferentes días. (b) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente húmedo con KBr. (c) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente cerrado y cálido. (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después), en las regiones de 3700-2700 cm^{-1} y 1800-550 cm^{-1} de la segunda derivada de los espectros IR.	71
Figura 37. (a) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente con temperatura de 19°C y oscuridad. (b) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente húmedo con KBr. (c) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente cerrado y cálido. En las regiones de 3700-2700 cm^{-1} y 1800-550 cm^{-1} de la segunda derivada de los espectros IR.....	72
Figura 38. Días vs área de las regiones o picos seleccionados, para hacer seguimiento de áreas. Temperatura ambiente de 19°C en (a1) región de 2940-2900 cm^{-1} , (a2) región 1076-1050 cm^{-1} . Ambiente húmedo con KBr en (b1) región de 2940-2900 cm^{-1} , (b2) región 1076-1050 cm^{-1} . (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después).	73

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1..... 21

Ecuación 2..... 24

Ecuación 3..... 25

Ecuación 4..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
PCA	Principal component analysis
PC	Principal Component
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy
ATR	Attenuated total reflectance
UV-vis	Ultraviolet spectroscopy
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry
TGA	Thermogravimetric análisis

RESUMEN

Esta investigación se utilizó la piel de cebolla roja (*Allium Cepa L.*), la cual es considerada un desecho en postcosecha que, se encontró que en promedio esta capa representa alrededor del 0,5% del peso total de la cebolla, a pesar de ser un residuo, es rica en compuestos fenólicos como flavonoles, teniendo su extracto con etanol-agua. Bandas significativas en el UV-vis alrededor de lo 330 nm, y en GC-MS una elucidación de compuestos derivados de la quercetina, la cual es un flavonol. Se comprobó, su gran capacidad sintética para la reducción de la plata, obteniéndose agregados estables en tamaños que van desde los 17 hasta los 96 nm. Se utilizó el extracto de la piel de cebolla Roja, y el extracto que sintetizó los agregados, para la construcción de ungüentos, los cuales fueron sometidos a varias pruebas desde TGA, UV-vis, pH, ATR-FTIR, Color, entre otras, para ver sus características y estabilidad. Obteniéndose ungüentos homogéneos, donde no se observó cambios de fase, formación de agregados inorgánicos, ni alteraciones bruscas de color.

Palabras Claves:

Extractos de cebolla, flavonoides de cebolla, biosíntesis de agregados de plata, ungüentos, pruebas de estabilidad química.

ABSTRACT

This research used the skin of red onion (*Allium Cepa* L.), which is considered a post-harvest waste, it was found that on average this layer represents about 0.5% of the total weight of the onion, despite being a waste, it is rich in phenolic compounds such as flavonols, having its extract with ethanol-water. Significant bands in the UV-vis around 330 nm, and in GC-MS an elucidation of compounds derived from quercetin, which is a flavonol. It was proved, its great synthetic capacity for the reduction of silver, obtaining stable aggregates in sizes ranging from 17 to 96 nm. The red onion skin extract and the extract that synthesized the aggregates were used for the construction of ointments, which were subjected to several tests from TGA, UV-vis, pH, ATR-FTIR, color, among others, to see their characteristics and stability. Obtaining homogeneous ointments, where no phase changes, formation of inorganic aggregates, or sudden color alterations were observed.

Keywords:

Onion extracts, onion flavonoids, biosynthesis of silver aggregates, ointments, chemical stability tests.

INTRODUCCIÓN

La cebolla cabezona, se podría considerar un producto insignia de nuestro departamento norte de Santander aportando a la economía y beneficiando comunidades campesinas, pero este cultivo genera cierta cantidad de desechos en postcosecha, que van desde la raíz, tallo y la primera capa de piel, materia orgánica la cual no se le puede dar un aprovechamiento adecuado esto en base a su naturaleza química.

Dentro de los múltiples aprovechamientos que se le puede dar a la piel de cebolla, es la creación de nuevos materiales, pero no solo basta con sintetizar compuestos para usos aplicados al beneficio humano, se debe de garantizar que estos nuevos materiales tengan una ruta de síntesis “verde” (Serrano, 2009) (Bouqellah et al., 2019), al utilizar un desecho como la piel de cebolla, se asegura una producción sostenible, donde se reduce el daño ambiental al no generar biomasa extra, se reutiliza un desperdicio de la cosecha y se fomenta el desarrollo del país, al generar productos derivados de recursos propios del agro (DNP, 2022).

Estos nuevos materiales son de gran importancia en diversas aplicaciones, siendo una de ellas como productos antimicrobianos, ya que, la resistencia a antibióticos por parte de microorganismos, según como lo menciona la Organización Mundial de la Salud, es un problema que tiene un carácter de “amenaza mundial”. Se estima que en promedio unas setecientas mil personas mueren al año a consecuencia de enfermedades resistentes a medicamentos convencionales, en consecuencia, organismos como la ONU y la OMS lanzaron el plan “una sola salud” el cual invita a países a dar prioridad y financiación en la investigación y desarrollo de nuevas tecnologías y materiales (OMS, 2015; Rahul et al. 2023).

Esta lucha se ha expandido a varios campos de la medicina y al estudio de diversas enfermedades provocadas por bacterias, como las asociadas a la piel, provocadas por bacterias y microorganismos oportunistas como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Malassezia furfur* (McLoughlin et al., 2022; Sanad & Mabrouk, 2016), presentando un riesgo para la salud y una necesidad de nuevos productos para la piel que combatan estos microorganismos, siendo las formulaciones y ungüentos un mecanismo efectivo, las cuales ya han sido probadas a base de plantas y han mostrado propiedades antimicrobianas (Musthaba et al., 2010; Sanad & Mabrouk, 2016) (Bouqellah et al., 2019).

En este trabajo se busca crear un ungüento a base de los metabolitos presentes en la piel de cebolla y agregados de plata sintetizados con estos mismos metabolitos, y garantizar que este material logre dispersar correctamente los ingredientes activos en una base oleosa, así como que sea químicamente estable, siendo la primera etapa en la generación de un producto de esta clase.

1. MARCO REFERENCIAL

La investigación ejecutada se enfoca en emplear los residuos poscosecha de la cebolla para extraer sus metabolitos polares, sintetizar agregados de plata y estabilizar la mezcla en una formulación tipo ungüento.

1.1 La cebolla

La cebolla (*Allium Cepa L.*) es una planta monocotiledónea herbácea (Rullán, 2012), cuyo cultivo hortícola bienal (Burbano Morales, 2022), pertenece a la clase *Liliopsida*, a la familia *Amaryllidaceae*, al género *Allium* y a la especie *Cepa* (McCallum, 2007). Tiene sus orígenes hace 3500 años en el oeste asiático, con registros en las antiguas pinturas de las tumbas egipcias (Charles, 2013). Se encuentra en diferentes partes del mundo (*Allium Cepa L.*, 2021), crece principalmente en ambientes templados y zonas tropicales, como en lugares de escasa vegetación y condiciones desérticas (Griffiths et al., 2002; A. J. Gupta et al., 2024).

A nivel mundial se produjeron 115.586.885 de toneladas para el año 2022, siendo India el mayor productor con 31.687.000 de toneladas y china ocupando el segundo lugar con 24.605.100,77 de toneladas (FAO, 2023) (FAOSTAT, 2023). En cuanto a Colombia para el año 2021, se reportó por parte del ministerio de agricultura una producción de 281.035 toneladas con un rendimiento de 21,65 Ton/Ha, siendo el mayor productor el departamento de Boyacá con 127.276,13 toneladas, seguido del departamento de Norte de Santander con 60.907,06 toneladas, representando el 23,52% de la producción nacional (Agronet, 2023) (Agronet inicio, 2023).

La cebolla empieza a ser cultivada con el crecimiento completo del bulbo, el cual a nivel de mercado se prefiere que tenga un color homogéneo, este va desde colores claros como blanco y amarillo, hasta rojizos (Khandagale & Gawande, 2019). Continúa su crecimiento generando una morfología compuesta por raíces y hojas engrosadas y carnosas (escamas), en un corte trasversal (Figura 1) también se pueden observar estas escamas en forma de capas que rodean el péndulo floral (Teshika et al., 2019).

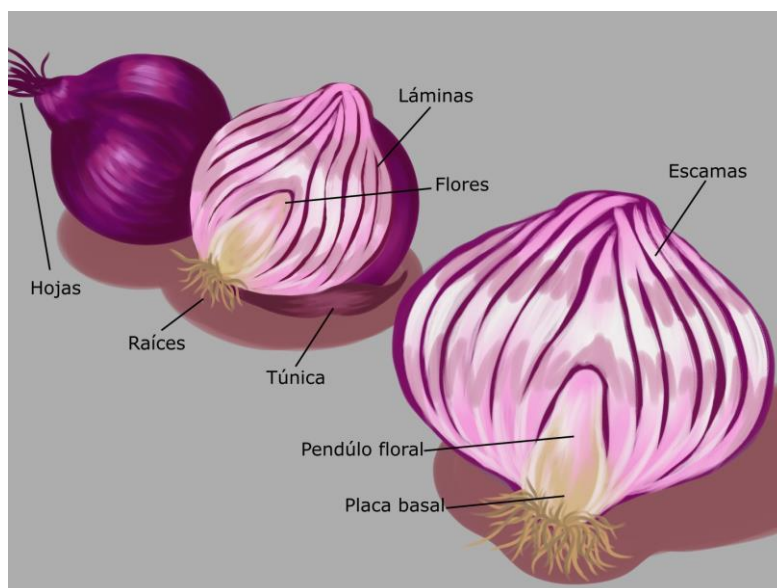


Figura 1. Partes del bulbo de la cebolla. Fuente: autor

El bulbo se forma cuando el fotosintato producido por las láminas de las hojas se transporta a las bases de las hojas hinchando el núcleo (Teshika et al., 2019), este termina su desarrollo cuando está rodeado de una escama protectora llamada túnica, la cual es seca, siendo resultado de las vainas de las hojas envejecidas que han perdido carnosidad durante la maduración, debajo de están se encuentran las escamas transitorias parcialmente húmedas, seguido de las escamas falsas y las escamas verdaderas (no desarrollan lámina) (Rullán, 2012), estas escamas recogen el agua y otros productos necesarios para la fotosíntesis; las más externas son como una capa impermeable que evita el secamiento del bulbo (Stoica et al., 2023), y en la zona más profunda se encuentran los primordios de hojas u órganos de almacenamiento como la placa basal y el péndulo floral, el cual puede ser más de uno (Rullán, 2012).

El bulbo es usado para el consumo tanto crudo como cocido, en la industria la producción de alimentos procesados como copos, polvos, aceites y encurtidos, así como deshidratados y producción de semillas (Teshika et al., 2019). El procesamiento genera residuos industriales tales como bulbos deformes o enfermos, raíces y piel, junto a lo que se produce en la postcosecha y en los hogares donde, anualmente estos residuos, pueden alcanzar las 500 mil toneladas (Benítez et al., 2011) (Sagar et al., 2022). Residuos como la túnica contiene compuestos bioactivos, los cuales llegan a estar hasta más de 48 veces más concentrados que en las partes comestibles (da Cruz et al., 2023).

A nivel general la composición química de la cebolla depende del cultivo, la etapa de maduración, las condiciones ambientales, agronómicas, al tiempo de almacenamiento y la sección del bulbo (Benítez et al., 2011), este último contiene en promedio un 89,1% de agua, 9.3% de carbohidratos, 1,1% de proteína y 0,1% de grasas, vitaminas y minerales (Chadorshabi et al., 2022). En cuanto a la parte de túnica, esta es más rica en diversos compuestos como los flavonoides, los cuales se encuentran más de 20 veces más que en la parte comestible (escamas interiores) (Bains et al., 2023). En el caso de las cebollas rojas, estas poseen en mayor proporción de estos compuestos en su túnica o piel (de 1,276 a 169 mg/g), en comparación a las cebollas blancas o amarillas (aproximadamente 0.06 mg/g) según varios estudios (Chadorshabi et al., 2022; Stoica et al., 2023).

1.2 Compuestos bioactivos en cebollas rojas

Las cebollas rojas (*Allium cepa* L.) se ha reportado que contienen diversos compuestos bioactivos de gran interés como los compuestos organosulfurados, encargados del aroma único de la cebolla (Sagar et al., 2022), los ácidos orgánicos también afectan las características organolépticas y regulan el pH; los aminoácidos y péptidos se transportan gradualmente a las hojas senescentes, además de que tienen papeles claves en el metabolismo como fuente de nitrógeno almacenado.

Otros metabolitos de interés son las saponinas que tienen atributos espumantes, en el caso de la cebolla se encuentran los derivados del furostanol y espirostanol; adicionalmente, en cuanto al aceite esencial su rendimiento de extracción ha alcanzado el 0,03% y es una mezcla compleja responsable del sabor que contiene moléculas como mono, di, tri y tetrasulfuros de diferentes grupos alquilo (Elattar et al., 2024), también es rica en compuestos fenólicos, los cuales son fundamentales en el metabolismo de la cebolla, siendo metabolitos de vías secundarias contribuyendo a la especialización de células. Estos se dividen en compuestos como fenoles simples y aldehídos derivados de ácidos benzoicos, polímeros como lignina y compuestos ampliamente distribuidos como flavonoides (Chadorshabi et al., 2022).

Los flavonoides se sintetizan por la rama flavonoide de la vía metabólica denilpropanoide, comenzando con la desaminación de la fenilalanina por la enzima L-fenilalanina amoníaco-liasa, y a través de otras modificaciones enzimáticas se producen diferentes tipos de flavonoides, desempeñando papeles fisiológicos como soporte de las paredes celulares contra la luz UV y en mecanismos de defensa contra patógenos del suelo y herbívoros (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2014).

Las flavonoides tienen una columna vertebral formada por 15 carbonos en un heterociclo oxigenado (Stoica et al., 2023) (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2014) e

hidroxilos que generan la función fenol (Chen et al., 2022). Se clasifican en isoflavonoides, flavonoles, flavanonas, flavonas y antocianinas (Figura 2), (Sagar et al., 2022) de las cuales predominan en las cebollas la quercetina, la miristina y el kaempferol, las antocianinas y los óxidos de quercetina abundantes en capas secas (Chadorshabi et al., 2022; Nemeth & Piskula, 2007).

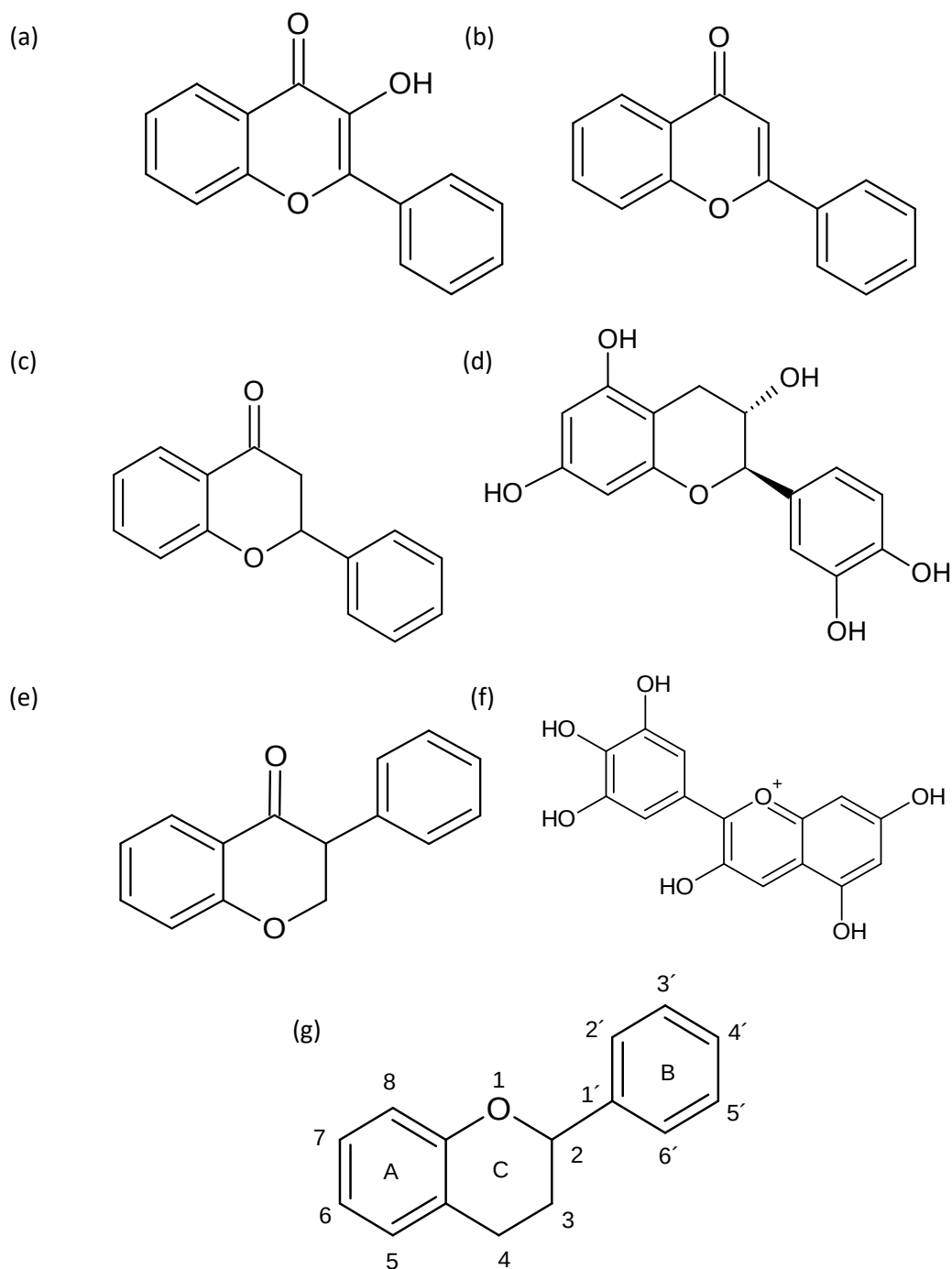


Figura 2. Estructuras químicas de los diferentes tipos de flavonoides, (a) flavonol, (b) flavona, (c) flavanona, (d) flavanol, (e) isoflavonoide, (f) antocianina (g) Estructura química de los flavonoides. Fuente (Sagar et al., 2022).

El contenido de flavonoides en la piel de cebolla roja oscila entre 1,276 mg/g y 169 mg/g, a diferencia de la cebolla blanca cuyo contenido es de 0,08 mg/g (Sagar et al., 2022), su presencia da a la cebolla el atributo fenotípico del color (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2014), principalmente en la cascara se encuentran en su forma aglicona debido a la hidrólisis glucósido del flavonol en la formación de las cascara (Nemeth & Piskula, 2007), a medida que se acerca del núcleo de la cebolla se encuentran en forma glicona, siendo la glucosa el residuo más común, principalmente ligado a C3, C4' y/o C7 (Elattar et al., 2024). Por lo anterior, en este estudio se abordará principalmente las antocianinas y los flavonoles.

1.2.1 Antocianinas

Responsables de la pigmentación junto con las flavonas y flavonoles. Formadas por un catión flavilio en uno de sus anillos. Se encuentran presentes en el bulbo y la piel, en el bulbo la cantidad de este compuesto varía entre variedades en cebolla roja es de alrededor de 300 mg/kg (10,04 mg de cianidina-3-glucósido/100 g), amarillo a 100 mg/kg y blanco a 10 mg/kg (Bains et al., 2023). Estas representan el 10% del contenido total de flavonoides y un 63% se encuentran ubicadas en la piel seca (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2014). Dentro de las principales antocianinas se encuentran la peonidina, isopeonidina, ptenudina, dephinidina, derivados de pelargonidina y la cianidina y sus derivados como la cianidina 3-O-glucósido, siendo el 50% del contenido total de antocianinas (Elattar et al., 2024), sus estructuras químicas se presentan en la Figura 3, también destacan moléculas como cianidina-3-glucósido, cianidina-3-laminaribiosido, cianidina-3-malonilglucósido y cianidina-3-malonillaminaribiosido (Nemeth & Piskula, 2007) (Chadorshabi et al., 2022).

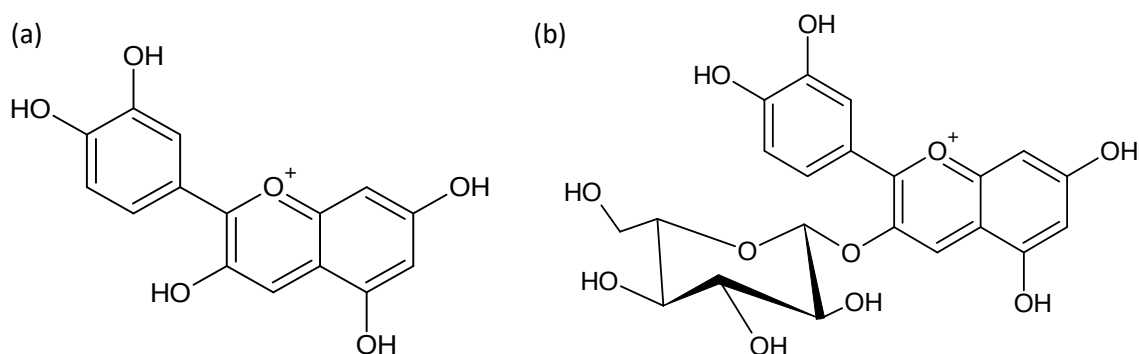


Figura 3. Estructuras moleculares de la (a) cianidina y (b) cianidina 3-glucósido. Fuente: autor

1.2.2 Flavonoles

Los flavonoles son compuestos polifenólicos, compuestos por dos anillos aromáticos unidos por un anillo piran, su estructura puede presentar diferentes sustituciones con grupos hidroxilo, metoxi, entre otros. Dentro de la cebolla se han identificados 25 flavonoles, donde los derivados de quercetina son los más comunes como la quercetina 4'-glucósido y la quercetina 3,4'-diglucósido, siendo del 80 al 95% de flavonoides totales, sus estructuras se pueden ver en la figura 4, el 53% de quercetina en forma aglicona se encuentra en la piel (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2014) y en su forma glicona constituye el 93% del total de flavonol y del 80% del contenido de flavonoides totales (aglicona 284-486 mg/kg (Bains et al., 2023)) y hasta 104-1260 mg/kg de peso fresco de cebolla morada (Nemeth & Piskula, 2007). La quercetina tiene una configuración soluble en lípidos, alcohol, pero insoluble en agua, debido a la oxidación del flavonol de quercetina en ácido 3,4-hidroxibenzoico y ácido 2,4,6-trihidroxifenilglicosílico, que se concentra en las pieles secas de la cebolla para proteger el bulbo de los microorganismos del suelo (Chadorshabi et al., 2022).

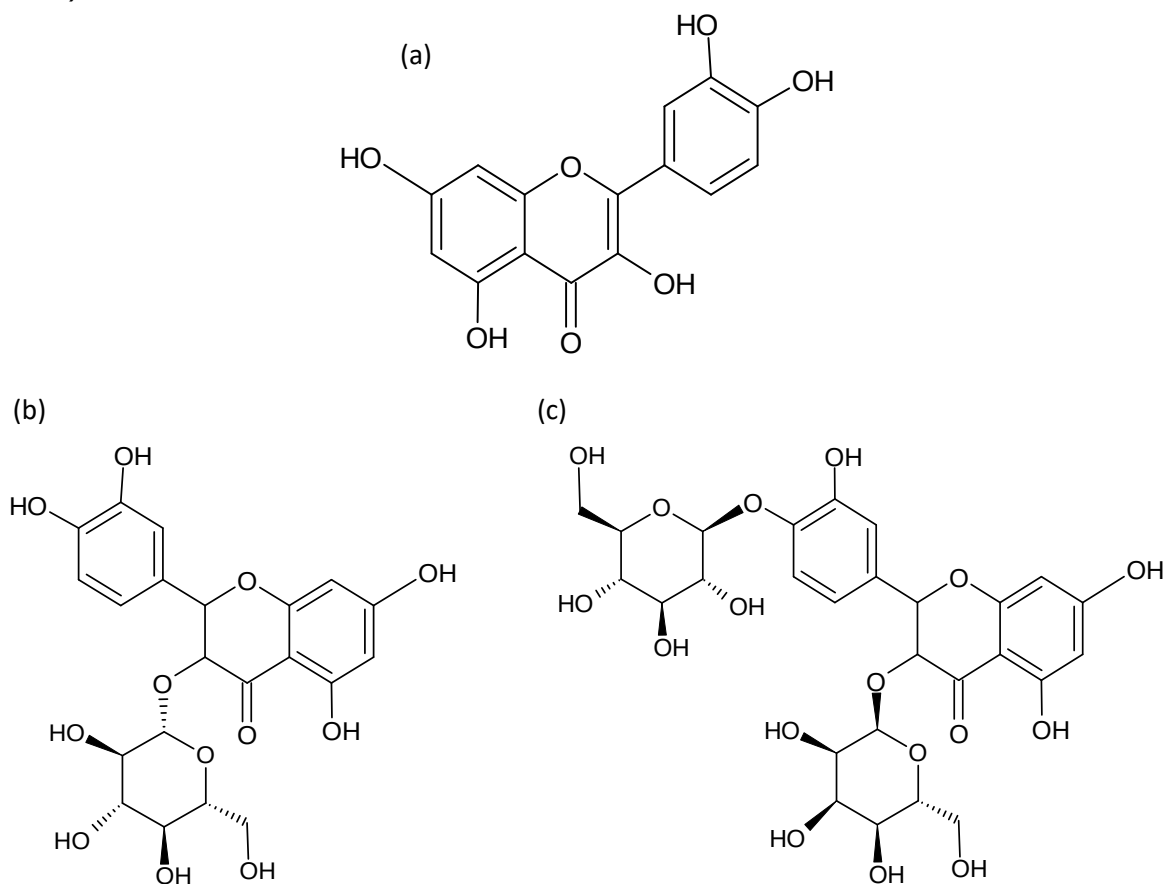


Figura 4. Estructuras moleculares, estructura general del, (a) quercetina, (b) quercetina-3-glucósido y (c) quercetina-3,4'-diglucósido. Fuente: autor

1.2.3 Métodos de extracción y cuantificación de flavonoides

Los flavonoides son solubles en disolventes polares, las agliconas son más solubles en alcoholes y glucósidos más solubles en agua, es por esto que estos compuestos fenólicos se extraen en mezclas de alcohol y agua. En el caso de la extracción de quercetina, el disolvente preferido es el etanol acuoso (en el rango del 50 al 75%), acidificados, ya que un pH menor a 2 mantiene las antocianinas en una forma más estable (Benito-Román et al., 2021).

En la extracción de flavonoides, una variable a tener en cuenta es el tamaño de partícula del sólido, entre más pequeña habrá una mayor área de contacto entre el solvente y la cascará de cebolla, también está la temperatura, ya que esta puede mejorar la solubilidad (Rodríguez García & Raghavan, 2022), al igual que la liofilización de las cebollas (M. R. Pérez-Gregorio et al., 2011). Algunos métodos más utilizados en la extracción de flavonoides y compuestos fenólicos es la asistida por ultrasonido (EAU) mediante el proceso de cavitación (Benito-Román et al., 2021). La extracción asistida por microondas (MAE), el método Soxhlet y la hidrodestilación (Azmir et al., 2013).

El total de antocianinas se puede calcular con el método de pH diferencial y el contenido total de flavonoides mediante espectrofotometría a 510 nm, mediante una curva de calibración. El contenido total de polifenoles por el método de Folin - Ciocalteu con el ácido gálico usado como estándar, la absorbancia es leída a 750 nm y se calcula mediante una curva de calibración (S. Zhang et al., 2016) (Kiani et al., 2023). Aunque también existen otros métodos como el colorimétrico mediante el cloruro de aluminio, que se basa en la formación de un complejo flavonoide-aluminio que tiene la máxima absorción a 415 nm (Firoozi et al., 2016). El contenido total de flavonoides se expresa en mg de quercetina/ g materia seca (Zhishen et al., 1999). en el caso de las antocianinas tienen una alta absorbancia de 240 a 280 nm y de 465 a 560 nm, en cambio los flavonoles absorben en los rangos de 240 a 280 nm y de 300 a 380 nm, a una longitud de onda de 510 y 700 nm (R. M. Pérez-Gregorio et al., 2010). El contenido total de antocianinas monoméricas se puede calcular como se muestra en la ecuación 1:

Contenido de antocianinas (mg/100 g de materia seca) = $A * PM \% FD (\epsilon * P)$

Ecuación 1

Donde A es la absorbancia (520 – 700 nm) a pH ácido (preferiblemente a pH 1) (Giusti & Wrolstad, 2001), PM es el peso molecular de la cianidina-3 glucósido, FD es el factor de dilución, ϵ es la absorción molar (26900) y P es el peso de la muestra en gramos (Carine Raddatz et al., 2022).

1.3 Aplicaciones de los fitoquímicos de la cebolla

Compuestos como los fenólicos en especial los flavonoides, han demostrado distintas propiedades y aplicaciones a partir de los extractos de cebolla en distintas concentraciones, tales como actividad anticáncer, reduciendo el estrés oxidativo intracelular (Salimi Shahraki et al., 2023; Tan et al., 2023), también han demostrado propiedades antiobesidad, en especial la quercetina, que suprimió la expresión de las adipoquinas (Griffiths et al., 2002; Stoica et al., 2023), así como propiedades neuroprotectoras y antiinflamatorias (Bains et al., 2023), se ha usado en tratamientos de insomnio (Tewani et al., 2023), como potencial gastro protector (N. B. Ali et al., 2024), en prevención de enfermedades cardiovasculares (Chadorshabi et al., 2022) junto con propiedades antimicrobianas (Félix et al., 2021). Las propiedades antimicrobianas, se atribuyen a la quercetina (Gibbons, 2008), esta altera el metabolismo energético, las funciones de la membrana citoplasmática, inhibiendo las síntesis de ácidos nucleicos, cuando hay una alteración de la pared celular, causa una muerte celular por lisis (M. Kumar et al., 2022). Otra aplicación es la reducción de metales como la plata, formando nanopartículas (Patra et al., 2016).

1.3.1 Nanopartículas de plata

Las nanopartículas se pueden definir como materiales que tienen menos de 100 nm de diámetro (Bouqellah et al., 2019). Estos se pueden dividir en inorgánicos y orgánicos; los orgánicos son a base de carbono e hidrogeno, como el grafeno y los nanotubos, son considerados una clase diferente de nanomateriales con amplia gama de morfologías junto con diversas aplicaciones, pero esta clase de materiales no se tratarán en este escrito. La segunda clase de nanomateriales son los inorgánicos, los cuales están hechos de metales (Ehtesabi et al., 2023) y son de al menos una dimensión (Upadhyay et al., 2019), entre estos metales está la plata.

Las nanopartículas y agregados de plata, se puede sintetizar a través de medios físicos y químicos; los métodos químicos se basan en reacciones de reducción de la sal metálica (precursor); la reacción requiere de un agente reductor. En la síntesis convencional se usa el NaBH_4 como reductor, a esto se le llama el método Creighton (Estevan et al., s/f), obteniéndose nanopartículas de aproximadamente 10 nm; también se ha usado como reductor la dimetilformamida (DMF). El tercer elemento para la síntesis convencional son los agentes estabilizantes (Sifontes et al., 2010), empleando aminopropiltriethoxisilano (APS) o polivinilpirrolidona (PVP), esta para mantener cierta estructura (esferas o prismas). Lamentablemente estas síntesis convencionales se hacen través de reductores altamente tóxicos y hasta algunos de ellos cancerígenos (Gescher, 2002).

En los últimos años se han probado en nuevos estudios, la síntesis de nanopartículas por métodos alternos (G. Ali et al., 2022; Bharadwaj et al., 2021;

Santhosh et al., 2021; Y.-W. Zhang et al., 2022). Se ha usado los fitoquímicos de distintas plantas (Virk et al., 2023), donde extractos de diferentes partes de la planta como hojas, tallos, cortezas, raíces, contienen metabolitos como cetonas, ácidos carboxílicos, flavonoides, compuestos fenólicos, carbohidratos, aldehídos, terpenoides y amidas (Zafar et al., 2019). Los compuestos fenólicos son los principales antioxidantes, debido a que tiene propiedades redox, por lo tanto, pueden actuar como agentes reductores de iones metálicos, neutralizando radicales libres (Firoozi et al., 2016).

Se ha usado la familia *Allium* (Irfan et al., 2017) (F et al., s/f), donde el extracto de la piel de cebolla ha formado exitosamente nanopartículas (Santhosh et al., 2021). La formación de estas se debe principalmente a la quercetina (Peña-Juarez et al., 2021). Para la síntesis se siguen ciertas condiciones como: a pH neutro, hay una rápida ionización de grupos fenólicos presentes y por lo tanto una rápida producción de nanopartículas, a pH alto estas son muy pequeñas y estables, en cambio a pH bajo se promueve la agregación sobre la nucleación.

El extracto de la planta es importante, ya que, entre más concentración de moléculas como fenoles, polisacáridos, taninos y antocianinas, contribuyen a la formación de átomos estables de plata. En cuanto al precursor, se recomienda usar una concentración pequeña, ya que a concentraciones muy altas no se reduce la plata. La temperatura de reacción se recomienda a temperatura ambiente (Dhaka et al., 2023). Las mezclas se deben encubar durante 24 horas en oscuridad para evitar activación fotoquímica del nitrato de plata (Kiani et al., 2023) (Zafar et al., 2019).

La síntesis de nanopartículas puede ser de “arriba hacia abajo”, donde hay técnicas como la molienda de bolas, la evaporación-condensación, método de descarga de alambre pulsado, donde se va rompiendo el material hasta que sea pequeño; el enfoque de “abajo hacia arriba” utiliza una metodología química y biológica, donde los átomos se van ensamblando en núcleos (Nirmala et al., 2024). Un mecanismo sugerido es la reducción del ion del metal con la interacción de los grupos -OH, facilitando el intercambio de oxígeno, para seguidamente los -OH oxidados se formen sobre el recubrimiento de la nanopartícula, evitando que las partículas se aglomeren. La transformación tautomérica de flavonoides de la forma de enol a cetogénica puede liberar un átomo de hidrogeno reactivo que reduce los iones de plata (Jain & Mehata, 2017). Aunque este mecanismo no se ha elucidado por completo se plantea un mecanismo mostrado en la figura 5 (Reddy et al., 2023) (Balavandy et al., 2014).

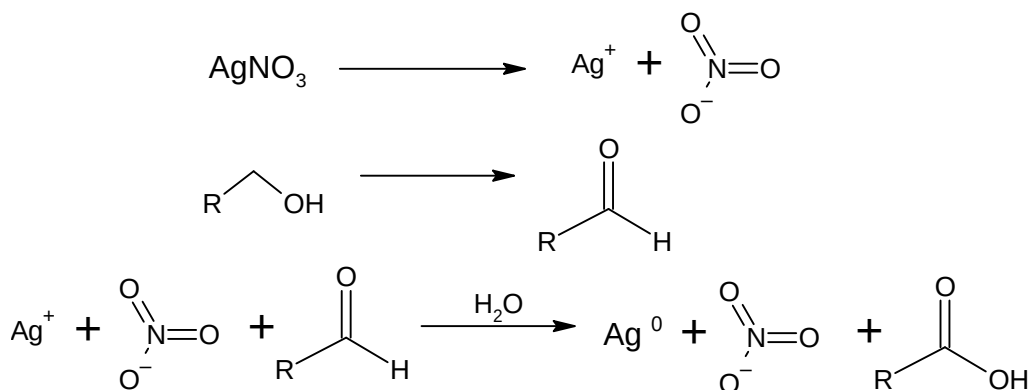


Figura 5. Reacción propuesta de reducción de la plata desde un alcohol primario. Fuente: autor

Existen varios métodos de caracterización como lo es el análisis con el microscopio electrónico de transmisión (TEM), para determinar la morfología de las partículas (Alshahrani et al., 2024a). El diámetro hidrodinámico y la distribución de tamaño mediante un análisis de dispersión dinámica de la luz (DLS) (Irfan et al., 2017). La microscopía electrónica de barrido (SEM) para analizar tamaño y forma (Kiani et al., 2023), mientras la difracción de rayos X (DRX) se usa para estudiar la estructura cristalina (Kiani et al., 2023). La espectroscopia de infrarrojo (IR), muestra un corrimiento en la señal de 1631 cm^{-1} , vibración del grupo C=O, demostrando oxidación de grupos -OH donde se forman enlaces de hidrógeno intramoleculares (Reddy et al., 2023). En la espectroscopia ultravioleta (UV-vis), gracias a la resonancia del plasmón de superficie (SPR), estos plasmones por interacción de la luz con las nanopartículas suspendidas, generan colores diferentes al material, los electrones libres del metal se mueven libremente a través del extracto, aunque también el confinamiento cuántico es un mecanismo que da color a la suspensión (Tesfaye et al., 2023), se pueden ver picos de absorción a 275 y 375 nm, siendo un pico alrededor de los 450 nm característico de la reducción de iones de plata (Alshahrani et al., 2024a).

Haiss et al., 2007, propusieron una ecuación para determinar el tamaño de la nanopartícula y su ecuación es indicada a continuación (Haiss et al., 2007).

$$d = \frac{\ln\left(\frac{\lambda_{spr} - \lambda_0}{L_1}\right)}{L_2}$$

Ecuación 2

Donde d es el diámetro, λ_{spr} es la longitud de onda de máxima absorción, λ_0 es la longitud de onda de más baja absorción, L_1 es 6,53 y L_2 es 0,0216, los cuales son parámetros establecidos (Haiss et al., 2007).

Aunque también hay otros métodos y ecuaciones de encontrar el tamaño de la partícula, por ejemplo por la ecuación utilizada por (Jain & Mehata, 2017).

$$d = \frac{hv_f}{\pi\Delta E_{1/2}}$$

Ecuación 3

Donde d es el diámetro, h es la constante de Planck, v_f es la velocidad de fermi de los electrones en plata a granel y $\Delta E_{1/2}$ es la anchura total a la mitad del máximo de la banda de absorción. Esta ecuación se usa cuando el tamaño de las nanopartículas sea menor que el camino libre medio de los electrones de plata a granel.

Las nanopartículas de plata han demostrado actividad en biodetección, detección eléctrica, magnética, térmica, óptica y catalítica (Santhosh et al., 2021). También con actividad biológica en diversas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Santhosh et al., 2021), con una baja toxicidad en células de mamíferos (Salem et al., 2022). Las posibles causas de muerte celular en las bacterias por parte de las nanopartículas de plata (AgNP) se muestran en la figura 6 (Nirmala et al., 2024) (Irfan et al., 2017).

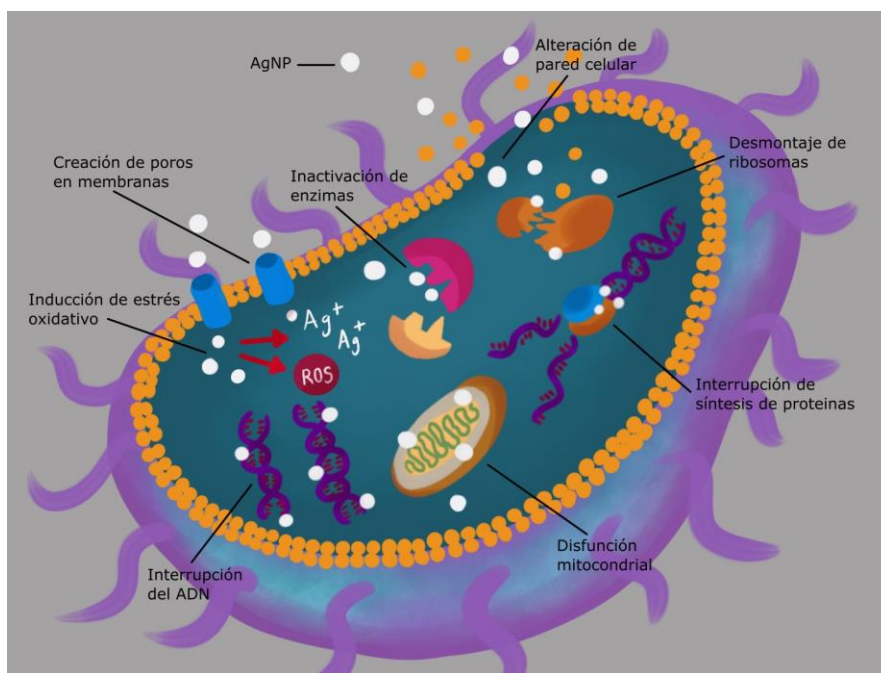


Figura 6. Mecanismo de muerte celular en bacterias por las nanopartículas, imagen adaptada de (Nirmala et al., 2024) (Irfan et al., 2017).

Los agregados de plata del tipo nano se pueden estabilizar en diversas formulaciones farmacéutica como sprays, cremas y ungüentos, según sea la aplicación y el nivel de penetrabilidad que se quiera, para evitar toxicidad se prefieren las mezclas hidrofóbicas del tipo ungüento, los cuales se describen a continuación.

1.4 Plata en ungüentos

La industria farmacéutica con el fin de enfrentar las infecciones cutáneas, emplea tratamientos específicos utilizando formulaciones dermatológicas con propiedades antibacterianas y antifúngicas (Tarannum et al., 2024). Debido al problema de enfermedades resistentes a antibióticos, un ejemplo es el *Staphylococcus aureus*, es un patógeno oportunista, responsable de infecciones cutáneas como foliculitis, dermatitis atópica, impétigo, abscesos, necrosis epidérmica toxica, entre otras (Bouqellah et al., 2019; A. Gupta et al., 2020; McLoughlin et al., 2022), que impiden la cicatrización y la reconstitución del tejido (Shittu et al., 2021). Hay varios tipos de bacterias que puede infectar las capas superiores, inferiores y los folículos de la piel, y si no se trata la infección a tiempo puede extenderse por el cuerpo provocando enfermedades como lyme (provocada por *Borrelia burgdorferi*) (Marquilles Bonet et al., 2015; Tabassum & Hamdani, 2014).

La plata como nanopartícula como uno de los ingredientes activos en ungüentos se ha usado ampliamente como una alternativa para el tratamiento de enfermedades de la piel es mediante el uso de diferentes formulaciones, las cuales ya se han usado en estudios de enfermedades en la piel provocadas por resistencia bacteriana (Musthaba et al., 2010; Nguyen et al., 2022), para acelerar la cicatrización de heridas por quemaduras (Huynh Luu et al., 2023), en casos como el tratamiento contra la úlcera del pie diabético, en terapia combinada con apósitos de alginato de plata (Faraji et al., 2023), en lesiones cutáneas de leishmaniasis con un ungüento de nanopartículas de plata con quercetina (Alemzadeh et al., 2022), ungüentos antifúngicos basados en nanopartículas de plata (Tarannum et al., 2024), también se han usado formulaciones tipo ungüento con nanopartículas de plata a partir de extractos de plantas como las hojas de limón, esto para curar heridas cutáneas (Abbasi et al., 2021), entre otras.

Los ungüentos son un tipo de formulación, es un sistema semisólido compuesto por una base oleosa teniendo una consistencia grasosa debido a la emulsión del agua en aceite (Kubendiran et al., 2023). Es un vehículo para un ingrediente activo, para la elección de la base que transporta el medicamento, se debe de tener en cuenta que la base transporte y aumente la eficacia del medicamento y no disminuya su eficacia terapéutica (Headlee, 1958). Como el medicamento puede ser hidrofílico, es necesario el uso de un tensioactivo o varios para que las fases se mantengan estables en el tiempo y así mantener un equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB) (Sanad & Mabrouk, 2016). En 1940 William Griffin, introdujo el Sistema de Balance de

Lipófilo Hidrofílico (HLB) para descubrir qué emulsionante funciona mejor con la fase oleosa de una emulsión, los emulsionantes tienen una cabeza hidrofílica, compuesta de un grupo funcional soluble en agua y una cola lipofílica compuesta de un ácido graso o alcohol graso. A un emulsionante que es de carácter lipofílico se le asigna un número de HLB bajo y si es de carácter hidrofílico se le asigna un número alto (Gadhve, 2014) (Pasquali et al., 2009) (Miloudi et al., 2018). Ungüentos estables se logran con emulsionantes o combinación de agentes emulsionantes que tienen valores de equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB) cercanos a los de la fase oleosa (Ferreira et al., 2010).

Los tensioactivos pueden ser de bajos valores de equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB), como los ésteres de ácidos grasos de glicerol, o con valores altos como el aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno (POE) 40 y éter oleílico POE(10) (Kitagawa et al., 2016). Generalmente en ungüentos comerciales se usa tensioactivos sintéticos como SDS, sulfonatos de lignina, alquifenoletoxilatos y entre otros, aunque estos surfactantes también se pueden producir biológicamente (Kubendiran et al., 2023).

La deposición de plata en ungüentos viene dada por su interacción con la fase oleosa así como la hidrofílica, en la cual se cree que penetra ligeramente en la fase oleosa, tal y como hablan varios artículos (Etienne et al., 2018) (Miyasaka et al., 2023) (Figura 7). En cuando a los flavonoides se unen a la fase oleosa mediante tensioactivos, estos tienen una cabeza hidrofílica que interacciona con esta fase, la cual puede tener componentes como los compuestos fenólicos y una cola hidrofóbica compuesta por largas cadenas de carbono que interaccionan muy bien con la fase oleosa, tal y como se ve en la Figura 7 (Bergfreund et al., 2021).

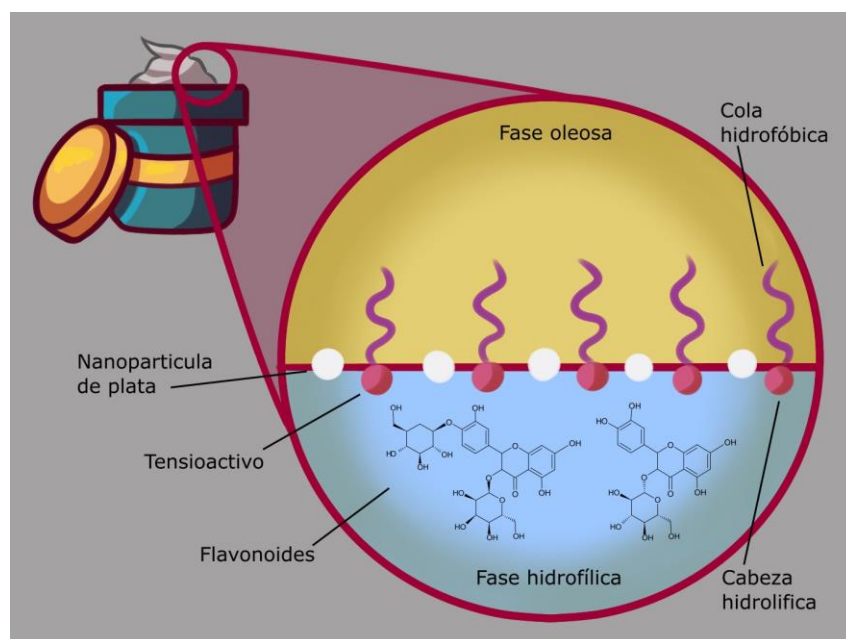


Figura 7. Interacción entre la fase oleosa y la fase hidrofílica en un ungüento. Fuente: autor

El ingrediente activo de la formulación que son los flavonoides, algunos en su forma de aldehído por la biosíntesis de las nanopartículas, se esparce por la formulación como gotas de micelas que contienen por dentro las moléculas del extracto y entre ambas fases la nanopartícula de plata (Bergfreund et al., 2021).

La formulación de los ungüentos debe presentar estabilidad a largo plazo bajo diversas condiciones de humedad, esta estabilidad se mide en evitar pérdida de peso por deshidratación o volátiles y por la estabilidad de los grupos funcionales.

1.4.1 Pruebas de estabilidad química a ungüentos

Una primera fase para el desarrollo de una formulación tipo ungüento o de las formulaciones en general, es la estabilidad a largo plazo, por eso es necesario las pruebas de reología, como dureza, adhesividad, capacidad de esparcimiento, estabilidad gravitacional por centrifugación, esto para ver si la formulación presenta separación de fases, pruebas de ciclo calentamiento-enfriamiento el color, olor, pH y viscosidad (Saengsorn & Jimtaisong, 2017). Como también ensayos de estabilidad por estrés químico, (Aguilar et al., 2023). También hay otra clase de pruebas que se le hacen a los ungüentos con un ingrediente activo, como la cinética de liberación del fármaco (Akombaetwa et al., 2023) (Nguyen et al., 2022). Además de que la base oleosa del ungüento, esté formada por ingredientes aprobados por la FDA para su uso en humanos (FDA, 2023).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- ❖ Diseñar una formulación tipo ungüento de agregados de plata por síntesis verde a través de extractos de piel de cebolla roja.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar un método específico para la extracción de flavonoides de la piel de cebolla roja.
- ❖ Sintetizar agregados de plata sobre la extracción con mayor proporción de flavonoides.
- ❖ Construir una formulación tipo ungüento a partir de los extractos con agregados de plata y evaluar su estabilidad química.

3. METODOLOGÍA

3.1 Muestreo

La cebolla roja, de la variedad Red Granex, fue donada por una finca del municipio de Arboledas, Norte de Santander, donde el agricultor la hizo llegar al municipio de Pamplona y fue llevada al laboratorio de Biocalorimetría de la Universidad de Pamplona donde se almacenó en el congelador, para evitar la descomposición antes de los ensayos.

3.2 Reactivos y materias primas

- ❖ Cebolla Roja (*Allium Cepa L.*) variedad Red Granex
- ❖ Alcohol etílico al 96% marca SQI
- ❖ Nitrato de plata marca Chemí 99,5% (AgNO_3)
- ❖ Manteca de karite
- ❖ Aceite mineral
- ❖ Alcohol cetílico
- ❖ Polisorbato 80
- ❖ Bromuro de potasio (KBr)
- ❖ Agua destilada (H_2O)

3.3 Equipos e instrumentos

- ❖ Balanza analítica de precisión 0,0001g, marca aeADAM.
- ❖ Horno microondas marca Kalley, modelo K-MW07N, 120V, potencia 1050-700W, frecuencia 2450MHz.
- ❖ Ultrasonido marca BRANSON 5800 con una frecuencia de 100 kHz y 0,764 W/cm².
- ❖ Centrifugadora marca Hettich Zentrifugen ROTOFIX 32.
- ❖ Plancha calentamiento marca DIAB MS7-H550-Pro.
- ❖ Horno marca MEMMERT.
- ❖ Horno mufla marca Ney VULCAN D-550.
- ❖ Colorímetro marca FRU Modelo WR-10QC.
- ❖ Procesador de alimentos marca Oster.
- ❖ pH-metro marca H-METER-SCHOTT
- ❖ Espectrofotómetro de ultravioleta visible (UV-vis) marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, en un barrido de 900 nm - 190 nm.

- ❖ Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de fourier (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, resolución $4,0\text{ cm}^{-1}$, en el rango de $4000 - 550\text{ cm}^{-1}$ con 24 escaneos por muestra.
- ❖ Cromatógrafo gases masas (GC) AT 7890A (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE.UU.), acoplado a un detector de espectrometría de masas de tripli cuadrupolo (Agilent Technologies 6400). La inyección se realizó en modo splitless (Viny = $1\text{ }\mu\text{L}$). Columna Zebron ZB-5 de 5%-Ph-PDMS, de $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$. La temperatura del horno se programó desde 65°C (tiempo inicial de 2 min) aumentada a 300°C a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ (isotermo para el tiempo final). La temperatura real en la fuente de MS alcanzó los 230°C y la MS en el modo de impacto de electrones con una energía de fuente de iones de 70 eV. La temperatura del inyector fue de 250°C , mientras que el volumen de inyección fue de $1\text{ }\mu\text{L}$ y se realizó un ciclo total de una hora, rango de escaneo del detector de masas $m/z = 50-550$. La recepción y el procesamiento de datos se realizó utilizando el software de solución Shimadzu GC-MS.
- ❖ Analizador termogravimétrico (TGA), Instrument Serie Discovery, se realizó en atmósfera de nitrógeno a $50\text{ mL}/\text{min}$ y rampa de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, calentamiento de temperatura ambiente 25°C hasta los 600°C .
- ❖ Software graficador de moléculas ChemSketch.
- ❖ Software estadístico OriginPro 9, con licencia académica de aprendizaje.
- ❖ Rstudio.
- ❖ Software estadístico minitab, prueba gratis.
- ❖ Software de edición de imágenes Inkscape.
- ❖ Software de ilustración Medibang Paint pro.

3.4 Métodos

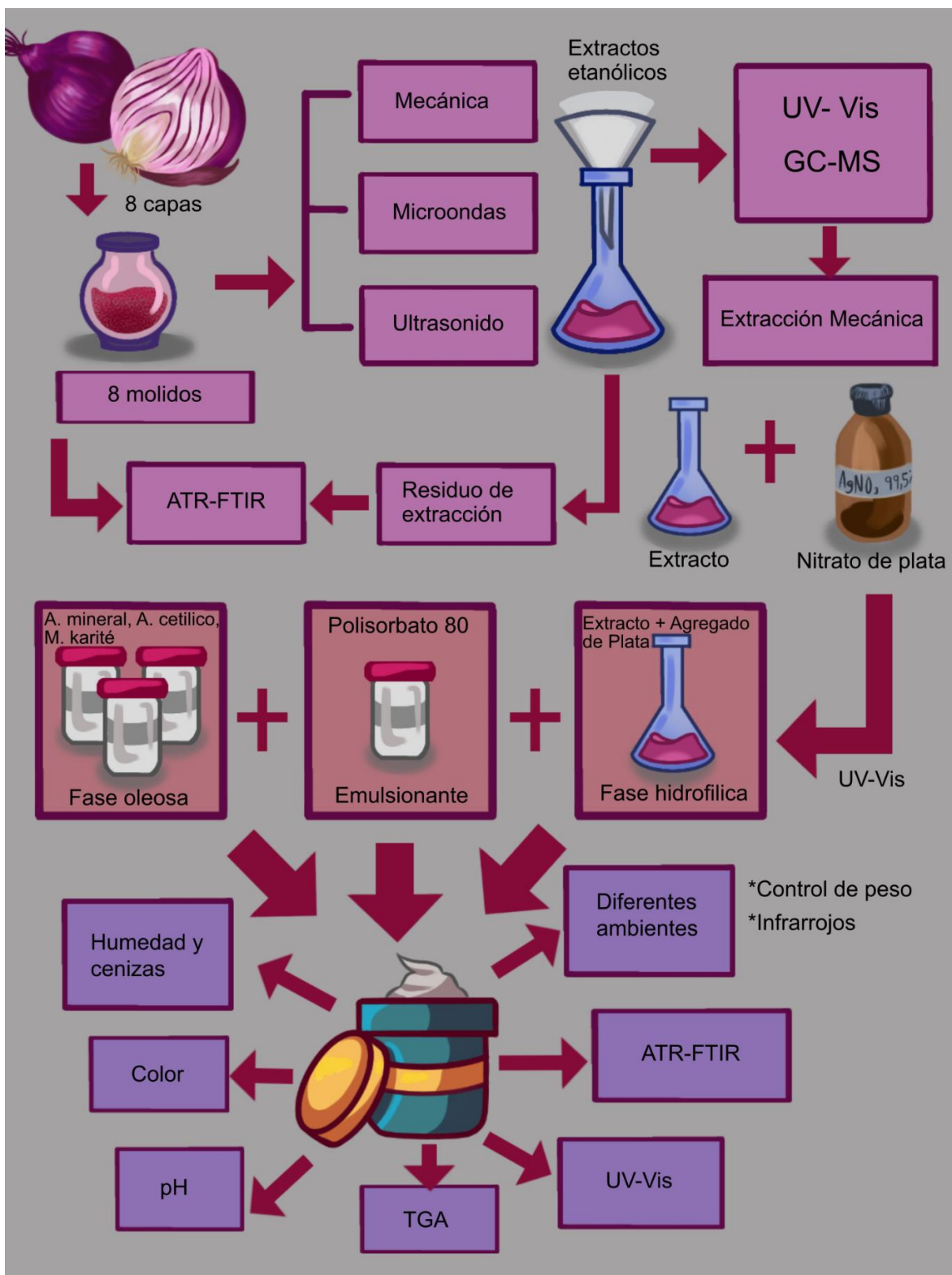


Figura 8. Diagrama general de la metodología. Fuente: autor

Determinación de un método específico para la extracción de flavonoides de la piel de cebolla roja.

3.4.1 Tratamiento a la cebolla

3.4.1.1 Porcentaje de peso de capas de cebolla

Se realizó la clasificación las cebollas, según si presentaban daños o se habían empezado a pudrirse, estas se clasificaron según las escamas o capas, mediante un corte trasversal a cada una de las cebollas (56 cebollas en total), se pudieron separar las capas, las cuales en promedio eran 7 capas, siendo la capa 1 la túnica (parte seca) más un residuo que era parte del péndulo floral de la cebolla y se clasificó como capa 8, tal y como se muestra en la Figura 9. La capa 1 se secó en un horno a 30°C durante 24 horas, y el resto de capas tomaron una semana en secarse bajo las mismas condiciones debido a su alto contenido de agua (aproximadamente el 90% según la literatura). Posteriormente las capas fueron molidas en un procesador de alimentos y molturadas, para reducir su tamaño de partícula.

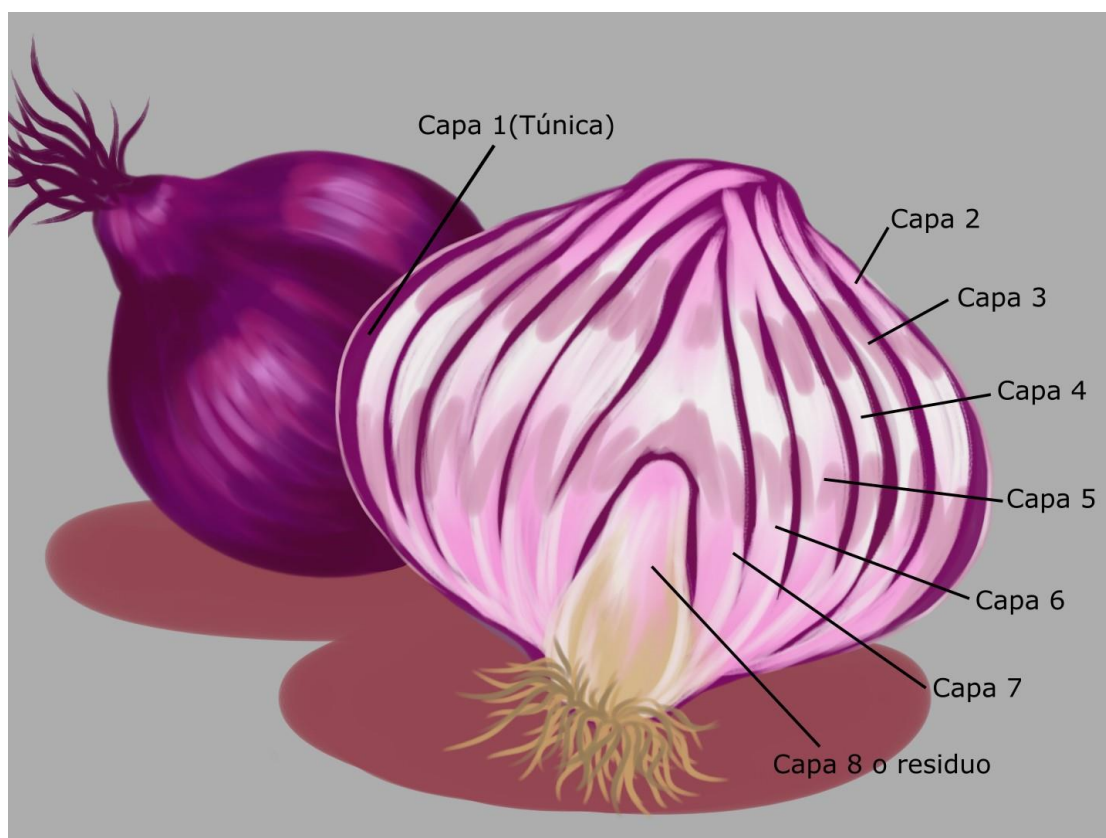


Figura 9. Capas de la cebolla. Fuente: autor

3.4.1.2 Seguimiento por UV-vis a las capas

Antes de que se secaran y se molieran las capas se sacaron filamentos con pinzas (láminas) de cada una de estas para ser llevadas al espectrofotómetro UV-visible, se midió la absorbancia de las distintas capas en un barrido completo de 900 a 190 nm, y como cambió estos espectros entre ellas.

3.4.2 Seguimiento por ATR-FTIR a las capas

Las capas molidas se sometieron a un seguimiento de su fibra antes y después de las extracciones por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (ATR-FTIR), se hicieron 10 réplicas a cada capa y 10 réplicas a cada residuo. El tratamiento de los espectros se hizo mediante el software OriginPro9, donde se hizo un suavizado de 15 puntos, una normalización de 0 a 1, junto con primera y segunda derivada a cada espectro, para hacer un PCA en la región de huella dactilar entre capas y entre la capa 1, esto según la metodología propuesta por (Perera et al., 2021) y sus respectivos residuos después de la extracción de flavonoides que se verá en la sesión 4.3, así como una línea base, pero solo para la presentación de los espectros, como se muestra en la figura 10.

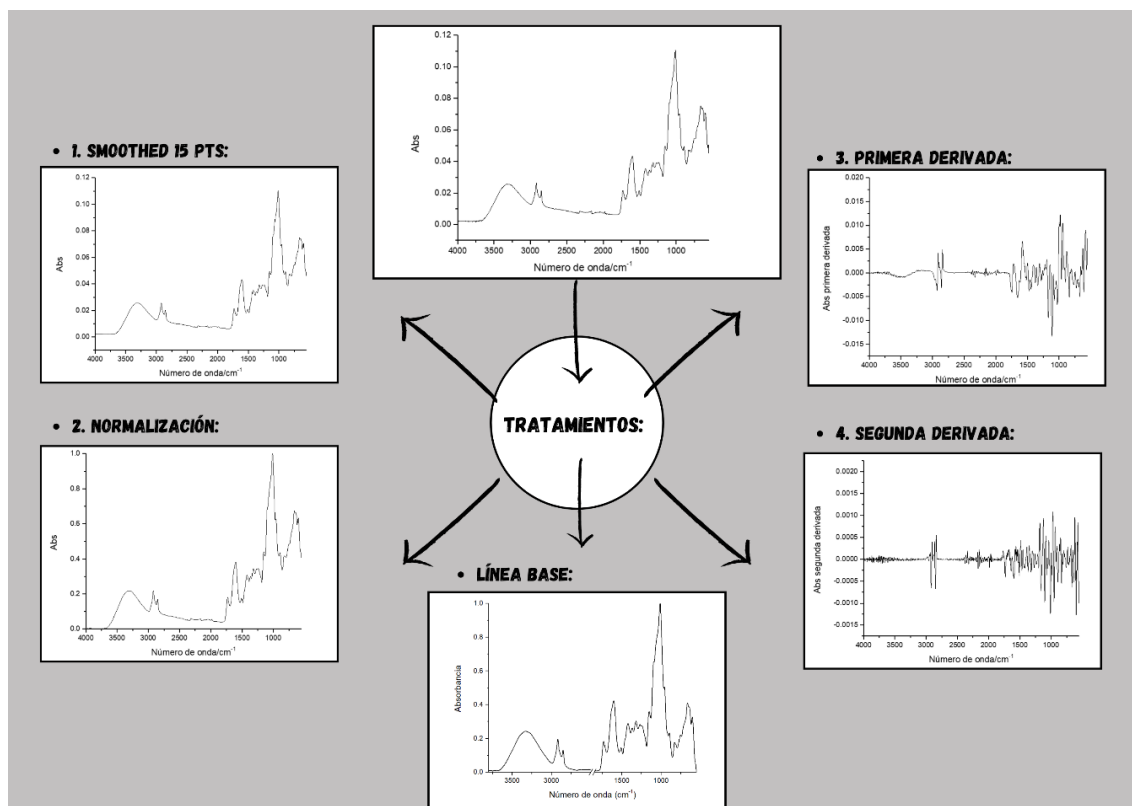


Figura 10. Procesamiento de los datos espectrales de infrarrojo.

3.4.3 Extracción de flavonoides

Se realizaron extracciones con alcohol etílico al 70% donde por cada 0,15 g de capa molida, se agregaron 15 mL de alcohol etílico (Boccalon et al., 2022), se hicieron mediante tres métodos de extracción (ultrasónico, microondas y mecánica) y por cada capa se hizo un quintuplicado, para posterior análisis de los extractos por UV-vis y GC-MS, como se muestra en la figura 11.

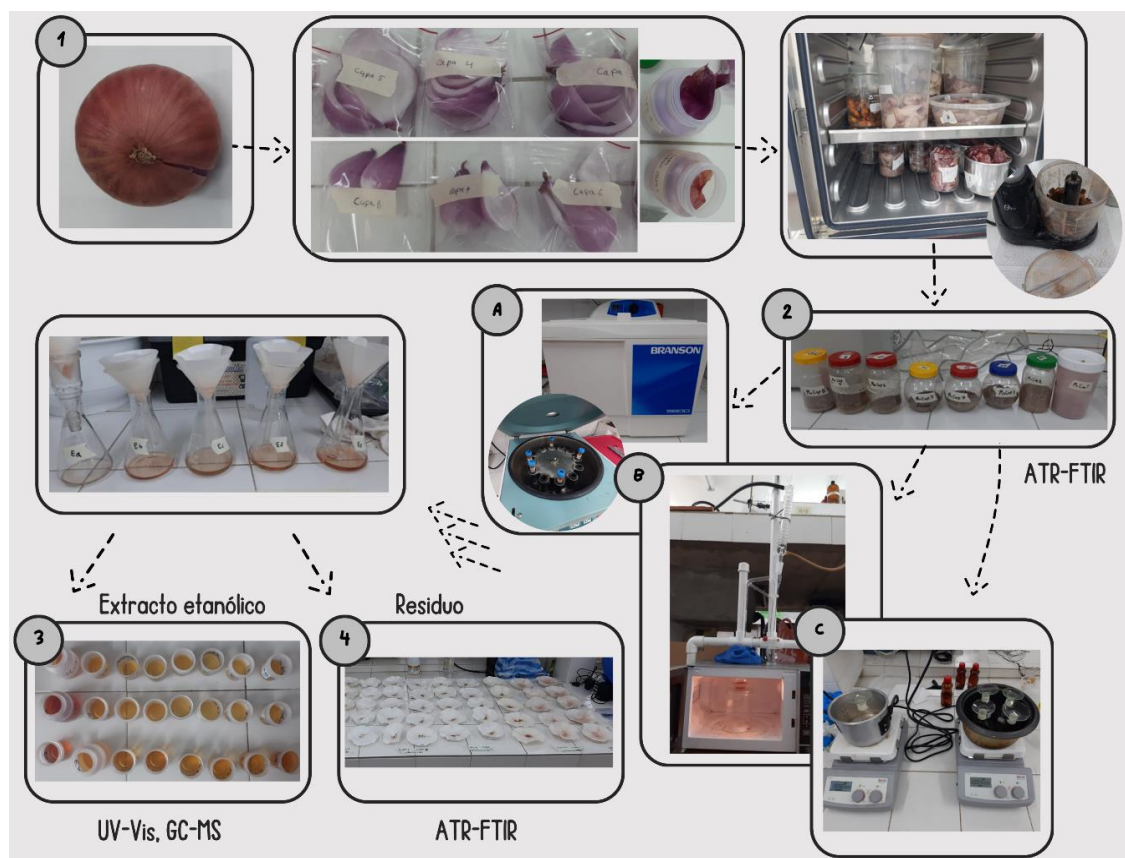


Figura 11. Extracciones etanoicas de cebolla roja (1) por capas molturadas (2) utilizando (a) ultrasónico, (b) microondas, (c) mecánica, y seguimiento de los extractos (3) por UV-vis y GC-MS. Seguimiento de las capas molturadas y residuos (4) por ATR-FTIR.

3.4.3.1 Extracción por ultrasónico

Se utilizó un equipo de ultrasónico, en agua caliente a en un rango de 60°C a 80°C, por 40 min, seguidamente en una centrifuga, se configuró a 2500 rpm durante 5 min, los extractos se filtraron con papel filtro (Yusoff et al., 2022). Posteriormente se almacenó el filtrado en un frasco colector con papel aluminio cubriéndolo, se guardó en un lugar sin contacto con la luz y los residuos de extracción se dejaron secando a temperatura ambiente por 24 horas, excepto la primera capa que se secó en un horno a 30°C por 2 horas, (Darweesh et al., 2024) para luego ser pesado y almacenado en bolsas con cierre hermético.

3.4.3.2 Extracción por Microondas

En un equipo de extracción por microondas, durante 2 minutos, con trampa y un condensador, los extractos se filtraron y almacenaron de la misma manera que la sesión 3.4.3.1 al igual que los residuos de extracción (Sgroppo et al., 2005).

3.4.3.3 Extracción mecánica

Las mezclas de capa molida con el alcohol se mezclaron en baño maría a 200° C y agitación a 2000 rpm durante 40 min, en una plancha de calentamiento. Seguidamente se filtraron y se almacenó el extracto como en la sesión 3.4.3.1 al igual que los residuos de extracción (Shi et al., 2024).

3.4.4 Determinación de flavonoides por UV-vis y GC-MS

En el espectrómetro UV-vis, a una longitud de onda de en un barrido completo de 900 a 190 nm, se tomaron las absorbancias de cada uno de los extractos (dilución de 100 µL en 50 mL para cada extracto). seguidamente a los espectros se les hizo un tratamiento en OriginPro, donde se normalizaron, se les hizo una primera derivada normalizada solo para conocer la longitud de onda de cada uno de los picos principales por capa y por método.

Escogiendo la primera capa como la mejor en cuanto a contenido de flavonoides, de esta capa se hicieron tres cromatografías, por cada método de extracción, en un cromatógrafo. Los compuestos detectados se identificaron tentativamente mediante correlaciones espectrales de MS utilizando NIST08 (Instituto Nacional de Estándares y Tecnologías, Bibliotecas de Espectros de Masas), así como datos publicados. Se escogió la extracción mecánica, teniendo en cuenta lo información suministrada por los espectros ultravioleta visible y las cromatografías (Tan et al., 2023).

Síntesis de agregados de plata sobre la extracción con mayor proporción de flavonoides.

3.4.5 Síntesis de agregados de plata

Se preparó una solución precursora de nitrato de plata a 2mM (Tan Sian Hui Abdullah et al., 2021), la cual se mezcló con el extracto en una relación de 5:10 (solución de nitrato de plata/extracto de cebolla), para luego llevar el vial al ultrasonido por 10 min rango de 60°C a 80°C, pero esta mezcla precipitó

rápidamente la plata. Por lo anterior se disminuyó la concentración de solución de nitrato de plata a una relación de 1:14, pero los nanoagregados formados eran difíciles de ver en el espectro de ultravioleta visible. Finalmente se hizo una mezcla en relación 2:13 donde se pudieron observar agregados de plata, por ultravioleta, siendo estables incluso tomando espectros varias horas después, donde se vio la formación del agregado, sin precipitarse, escogiendo solo esta relación para la construcción de las formulaciones. Cabe resaltar que estas reacciones se realizaron en un ambiente con poca luz y luego se almacenaron en condiciones de total oscuridad. Estas relaciones también cumplieron los parámetros que, se mantuvieran en la concentración adecuada para la formación de agregados de plata (Tan Sian Hui Abdullah et al., 2021), que no se observaran agregados precipitables dentro de las primeras 24 o 48 horas después de la síntesis, y que estos agregados fueran visibles en el espectrofotómetro UV-vis en el rango de 10 a 100 nm. El proceso de síntesis del agregado de plata se puede ver en la figura 12.

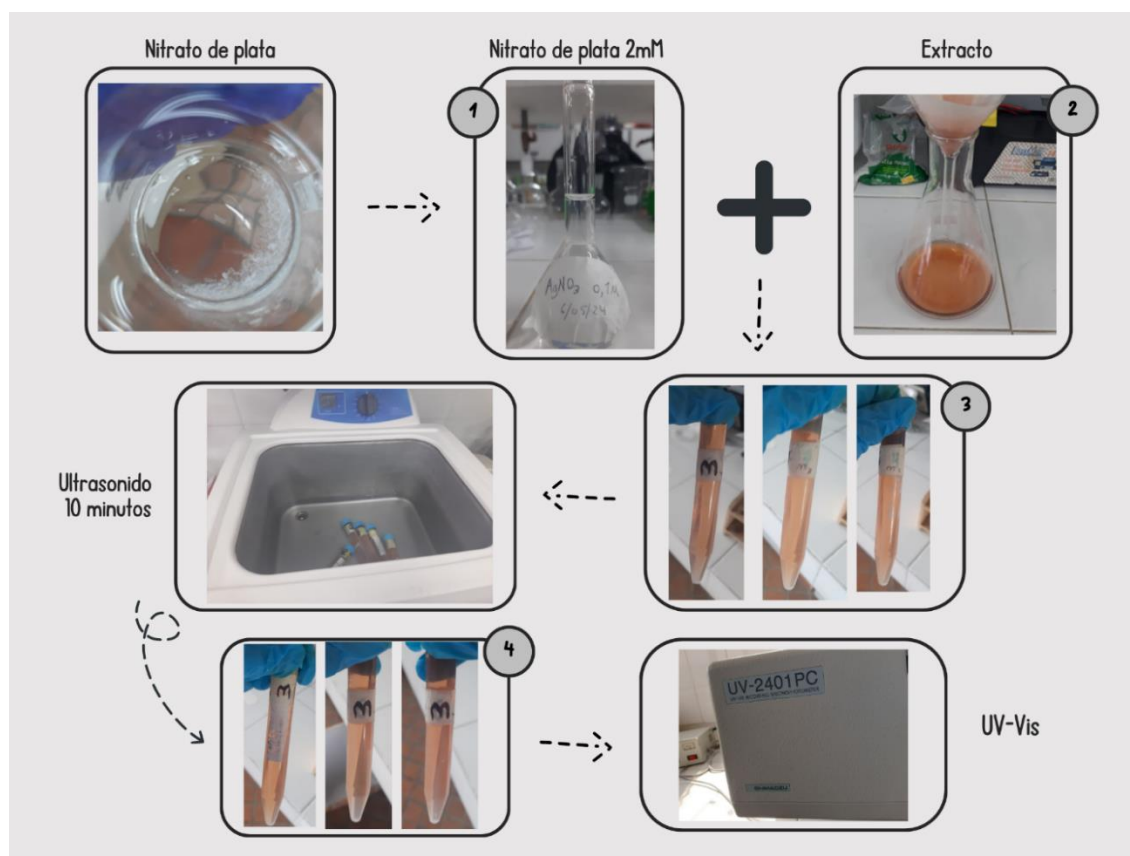


Figura 12. Síntesis de agregado de plata.

Se formaron 3 tamaños de nanopartícula, los cuales fueron calculados como se muestra en la figura 13.

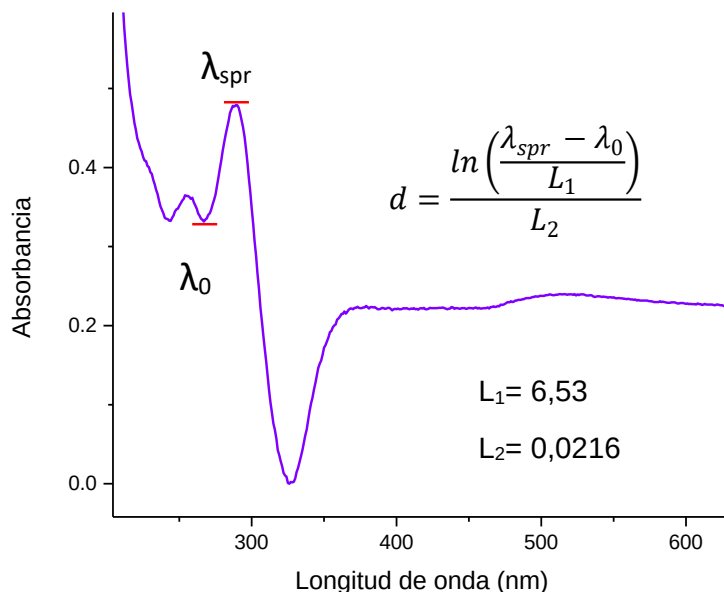


Figura 13. Cálculo tamaño del agregado de plata.

Construcción de una formulación tipo ungüento a partir de los extractos con agregados de plata y evaluación de su estabilidad química.

3.4.6 Construcción de formulaciones tipo ungüento

Con una sola base oleosa construida a partir de manteca de karite (1 g), aceite mineral (2 g) y alcohol cetílico (1g), se construyó un ungüento con 2 mL de agua, como blanco, otro con 2 mL de extracto etanólico de cebolla y con 2 mL de extracto con agregados de plata, en baño maría hasta fundición a 60°C, para unir cada uno de estos ingredientes activos con la base oleosa, se usó 5 gotas de polisorbato 80, ya que con menos gotas no se distribuía uniformemente el extracto y el extracto con la plata. De cada formulación se hicieron 5 réplicas para contar con 5 blancos, 5 formulaciones con extracto y 5 formulaciones con extracto + agregado de plata. Este proceso se puede ver en la figura 14.

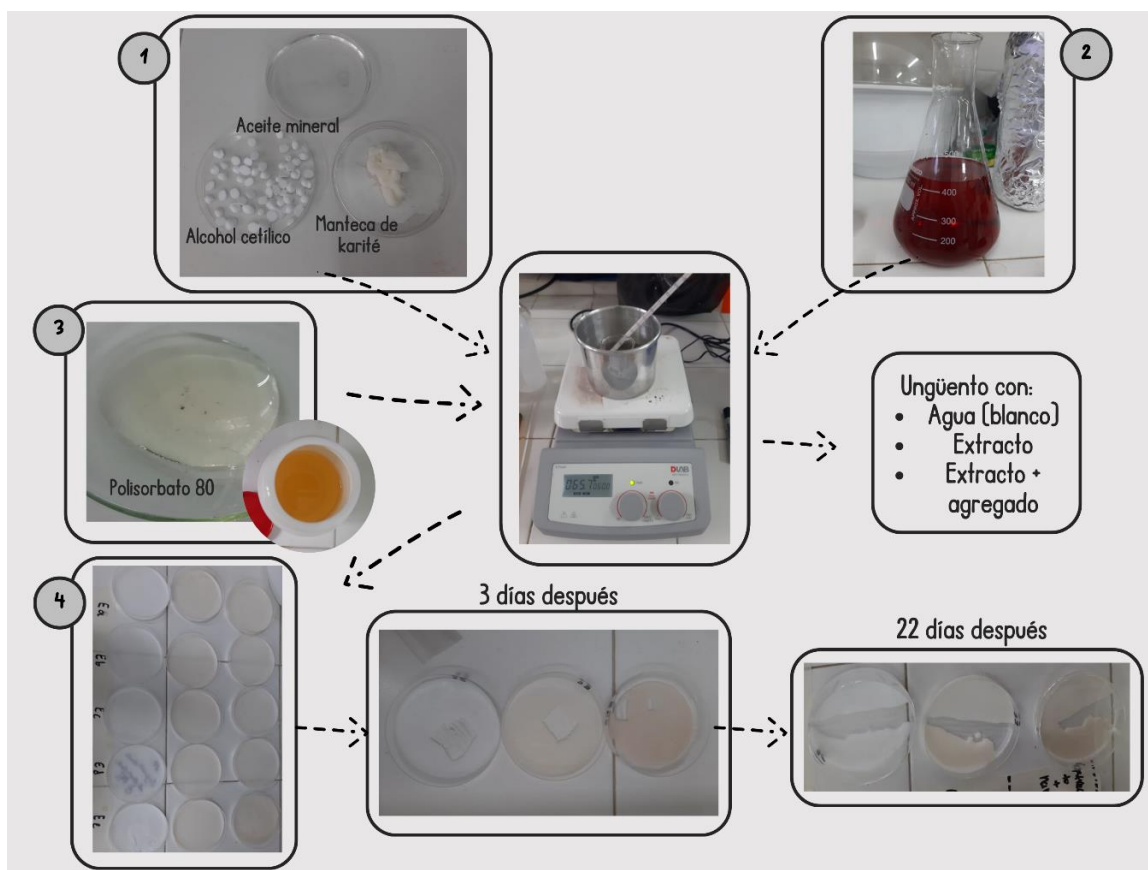


Figura 14. Construcción de las formulaciones tipo ungüento con agua (blanco), solo extracto etanólico y con el extracto + agregado de plata.

3.4.7 Pruebas de estabilidad química

3.4.7.1 Color

Se tomaron los colores de las formulaciones cada 8 días, 4 veces en total, con un colorímetro con un espacio de color que trabaja con el diagrama CIELAB.

3.4.7.2 Estabilidad en distintos ambientes

Se guardaron muestras de las formulaciones en un ambiente oscuro y templado a unos 19°C, así como también en un ambiente cerrado herméticamente y cálido a 25°C y en un ambiente húmedo cerrado, generado con bromuro de potasio dentro de un desecador para ver la higroscopia. Cada uno de estos ensayos en diferentes ambientes se les hizo un control de peso diario durante 15 días, así como control químico mediante la toma de espectros de infrarrojo cada 8 días, durante un mes.

3.4.7.3 pH

Se tomó el registro del pH de cada una de las formulaciones, en modo fundido de la mezcla, donde a una temperatura de 60°C se fundieron los ungüentos, para inmediatamente se pasaron por el electrodo y así registrar el pH, se hicieron los ensayos cada 8 días 4 veces en total.

3.4.7.4 Estabilidad Térmica

Se hizo mediante un análisis termogravimétrico TGA, con un equipo marca Instrument Serie Discovery de la universidad Industrial de Santander, desde la temperatura ambiente hasta los 600°C, mostrando la pérdida de peso de la formulación hecha, con respecto al aumento de temperatura. Para más detalles de este análisis, véase la sesión 3.3 de la metodología.

3.4.7.5 Humedad y cenizas

Se tomó de cada formulación aproximadamente 4 g y se sometieron a una temperatura de 90°C por 1 día. En el horno, se dejaron reposar en el desecador y se registraron pesos después de 15 min, 1 horas y 12 horas, hasta que se estabilizaron, obteniéndose un porcentaje de pérdida de humedad. Seguidamente las mismas muestras se sometieron a un calentamiento en la mufla a 900°C, donde se iba subiendo de a 50 °C cada media hora para evitar la explosión de las muestras. Luego se les bajo la temperatura a 90°C durante 12 horas, se pasaron las muestras a un desecador por 30 minutos y se registraron los pesos de cada una, para conocer su porcentaje de cenizas.

3.4.7.6 Espectros de ultravioleta visible

Cada una de las formulaciones por triplicado se depositó sobre la celda en una capa fina, donde se midió el espectro total, en un espectrómetro UV-vis desde 900 a 190 nm.

3.4.7.7 Espectros de Infrarrojo

Se tomaron espectros FTIR cada 8 días de los tres tipos de formulaciones (formulación con agua o blanco, con extracto de cebolla y extracto de cebolla con agregado de plata). Se usó un espectrofotómetro FTIR con accesorio de ATR y los espectros fueron tratados en el software OriginPro versión de prueba usando el mismo pretratamiento de los espectros empleado en la sesión 3.4.2. de la metodología.

3.5 Análisis estadístico

Distribución estadística para el porcentaje de peso por capa dentro de la cebolla ANOVA de una variable, para 8 capas, siendo la capa 1 la túnica y la capa 8 el residuo o péndulo floral.

Distribución estadística ANOVA para los porcentajes de peso disueltos de las capas después de las extracciones etanólicas por los métodos de Microondas, ultrasonido y mecánica.

Análisis de componentes principales (PCA) con la segunda derivada de los espectros infrarrojo de las diferentes capas en la región de la huella dactilar (1800-550 cm^{-1}). Clúster para ver la similitud entre datos.

PCA para ver diferencias entre residuos después de extracciones etanólicas por las tres metodologías, y la capa pulverizada (para capas 1, 2 y 3). Clúster para ver similitud.

ANOVA para el color de los ungüentos por cada parámetro de la metodología cielab (L, a, b).

PCA con los datos de los espectros en segunda derivada de los ungüentos en los ensayos de estabilidad las regiones de 3700-2700 cm^{-1} y 1800-550 cm^{-1} , para ver diferencias entre los días de en qué se tomó cada espectro. Clúster para ver similitudes entre las observaciones.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Al aplicar la metodología anteriormente escrita, se obtuvieron los resultados que se describen y analizan a continuación. Iniciando con la determinación de un método específico para la extracción de flavonoides de la piel de cebolla roja.

4.1 Tratamiento a la cebolla

Para analizar la extracción se realizó un análisis de la composición porcentual en peso de cada capa de la cebolla, con el objeto de evaluar la contribución de cada capa con respecto a la totalidad de la cebolla. Posteriormente se deshidrató y se caracterizó por ATR-FTIR y UV-vis.

4.1.1 Porcentaje de peso de las capas de cebolla

Se realizó un boxplot en Rstudio para 56 cebollas, donde se muestran los porcentajes de pesos de cada una de las capas con respecto al peso total de la cebolla, comúnmente se encontraban 7 capas por cebolla, siendo la primera una capa deshidratada, y se contó como capa 8 al residuo o péndulo floral. En la figura 15 se muestran fotografías de las distintas capas con su promedio de porcentaje de peso y su respectiva desviación, datos sacados del boxplot, y la prueba ANOVA.

La capa 1 tiene la menor contribución dentro del peso total de la cebolla, tiene un porcentaje de peso del 0,49% de la cebolla, lo cual se explica por ser la capa más deshidratada, es decir con pérdida de humedad superior al 80%, perdiendo hasta el 10% por día al cortarse la cebolla (Yoo et al., 2019). Se puede observar en la figura 15 un aumento de estos porcentajes hasta la capa 4 con 18,23%, y disminuyendo en las capas 5, 6 y 7 su porcentaje dentro de la cebolla, lo cual se debe al grosor diverso que presenta cada capa. La capa 8 que corresponde al bulbo tiene un porcentaje del 20,03% de la cebolla.

La distribución porcentual entre las capas no se ha reportado en la literatura. Para continuar el seguimiento de las capas, se tomó una lamina fina de cada capa y se analizó por UV-vis.

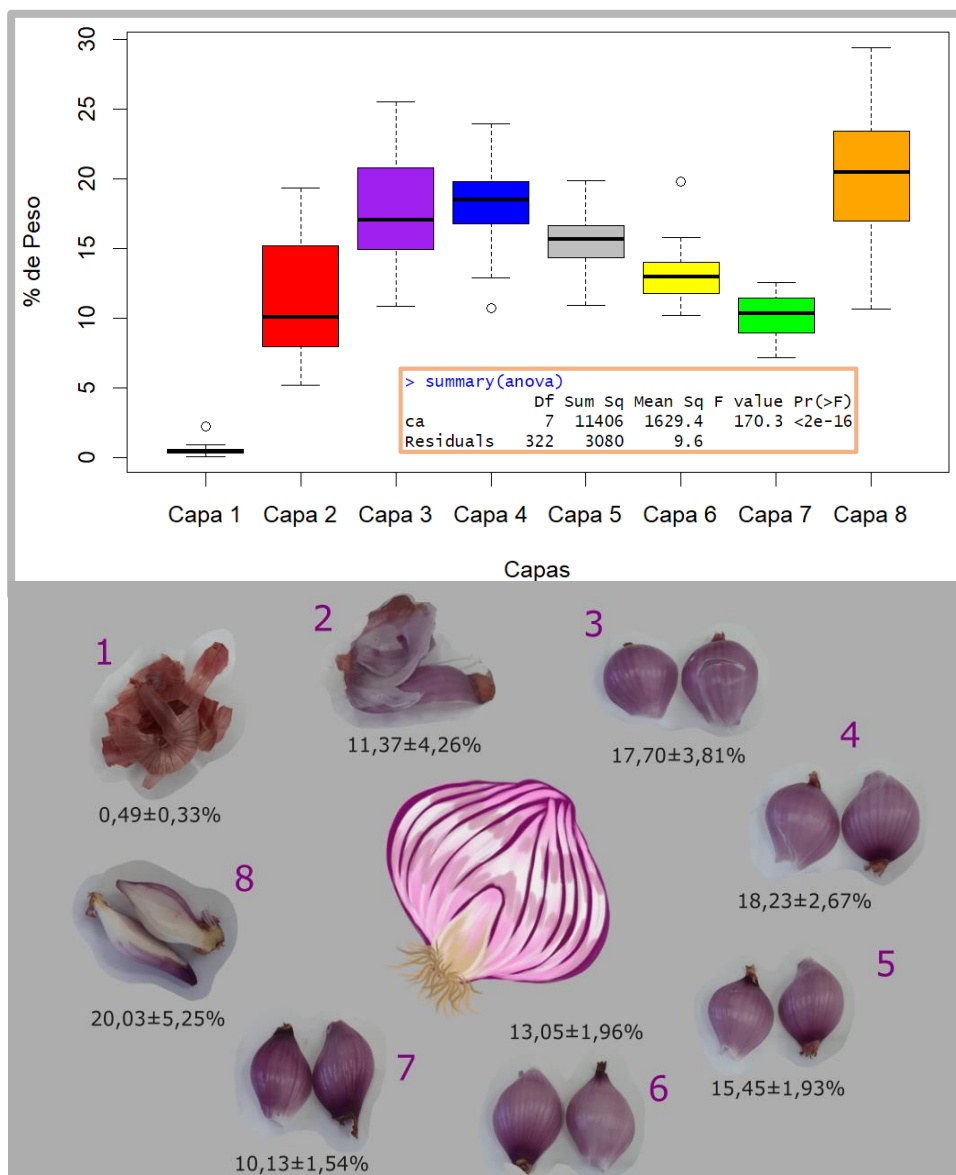


Figura 15. Distribución estadística del Porcentaje de peso por capas de cebolla (ANOVA de una variable).

4.1.2 seguimiento por UV-vis a las capas

En la figura 16, se evidencia el boxplot de los promedios de la absorbancia y los espectros de UV-vis de las láminas, los cuales mostraron que todas las capas tiene un máximo de absorción característico en la región entre 540 y 550 nm, el cual corresponde a antocianinas, reportado por (R. M. Pérez-Gregorio et al., 2010). En la figura 16, también se puede evidenciar el promedio de las absorbancias por capa, siendo la capa 1 de 0,0530, y esta absorbancia va aumentado hasta la capa 4, la cual fue la capa que presentó mayor absorbancia con 0,1925, y esta va disminuyendo hasta la lámina del péndulo floral. Lo anterior indica que la concentración de metabolitos suele ser diferente para cada capa.

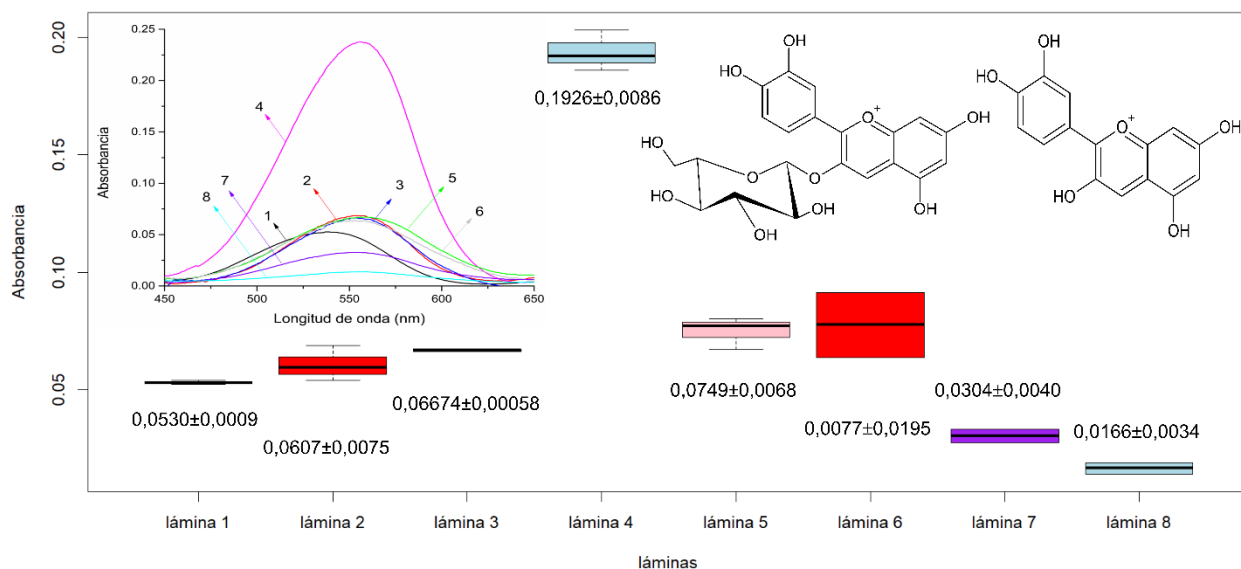


Figura 16. Espectro de absorción UV-vis de por lámina y promedio de las absorbancias, zona de interés de absorción de antocianinas.

Para continuar con el seguimiento de la caracterización de las capas, se realizó un estudio por ATR-FTIR.

4.2 Seguimiento por ATR-FTIR a las capas

4.2.1 Espectros ATR-FTIR a las capas molturadas antes de la extracción

En las figuras 17, se muestran los espectros FTIR de las muestras molturadas de las capas trabajadas, donde se puede observar una clara diferencia de la capa 1 respecto a las demás capas. La capa 1 muestra un pico mucho menor a 3304 cm^{-1} correspondiente a OH, debido su deshidratación (Slewa, 2024), también muestra un pico en 2849 cm^{-1} mucho más definido perteneciente a estiramientos C-H, con respecto a las demás capas, donde este pico a medida que se acerca a la capa 8, es menos definido. Otra clara diferencia es en la zona de 1093 , 1066 y 1011 cm^{-1} , correspondientes a grupos funcionales característicos de carbohidratos, en especial unidades de glucosa, (Movasaghi et al., 2008) donde se ve picos más definidos en la capa 1, esto corresponde a la literatura donde los flavonoides como la quercetina en su forma glicona está más presente en las capas exteriores de la cebolla y en la más interior (Bains et al., 2023). Otra diferencia la tiene la capa 1 y 2 con respecto al resto de las capas, región de 1731 cm^{-1} , donde se muestran bandas más definidas o intensas correspondiendo a C=O, pudiendo este pico corresponder a flavonoides, ya que estos poseen una cetona en sus estructuras (Alshahrani et al., 2024b), este pico desaparece casi por completo en capas interiores como la capa 7 y 8.

El resto de asignaciones de la capa 1, con la numeración de los picos principales nombrados anteriormente, se encuentran en la Tabla 2 junto con el residuo de extracción en la sesión 4.3.3.

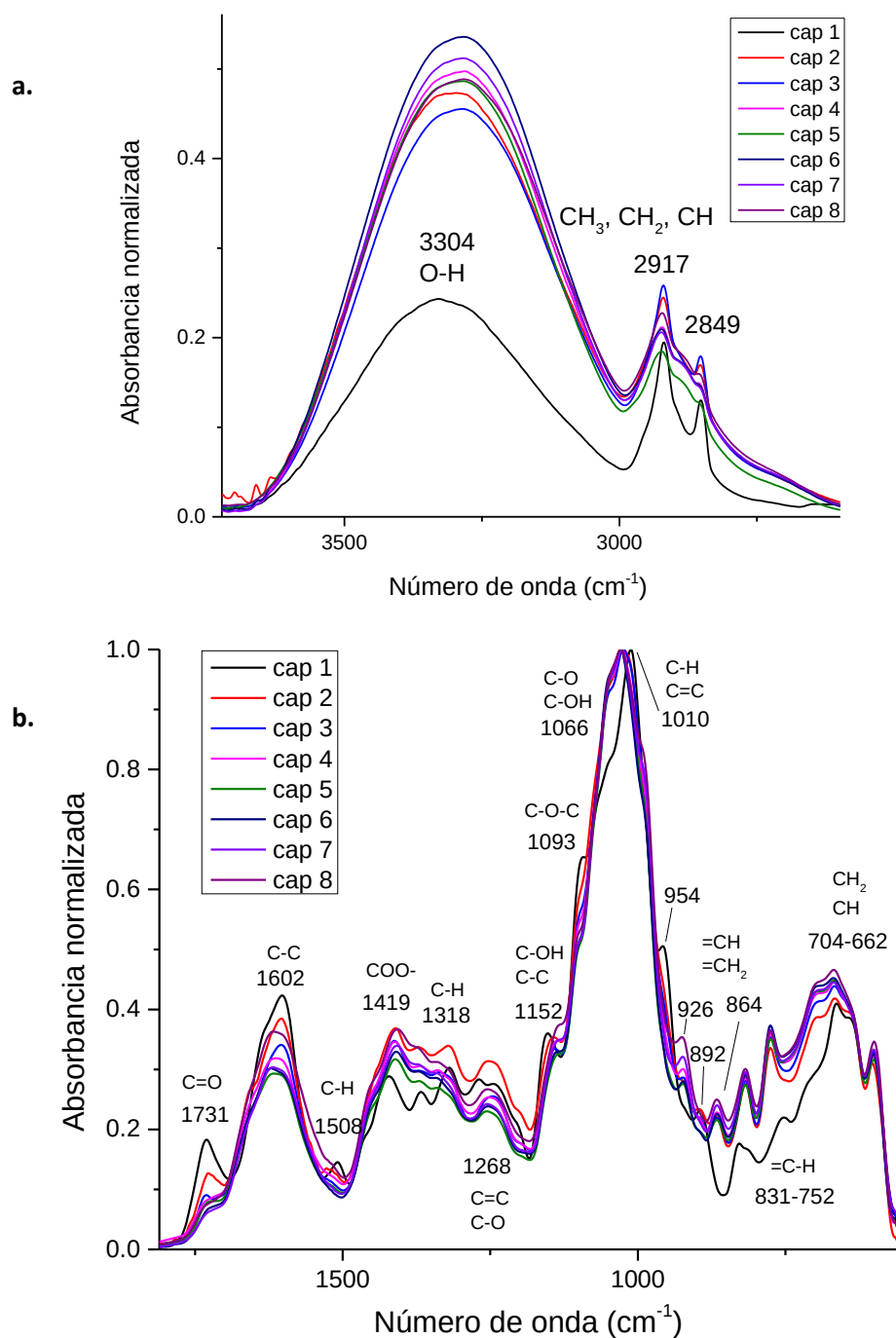


Figura 17. Espectros de infrarrojo de las muestras molturadas de las capas (a) región de 3700-2700 cm^{-1} , (b) región de 1800-550 cm^{-1} .

Con estos espectros de las diferentes capas, se procedió a sacar su segunda derivada, para eliminar el efecto de la línea base según metodología aplicada por (Perera et al., 2021) , y se cortaron solo en la región de la huella dactilar de los 550 a 1800 cm^{-1} para ver sus diferencias por una técnica de análisis multivariable como lo es el PCA y análisis de conglomerados jerárquicos (HCA).

4.2.2 Análisis de componentes principales (PCA) a las capas

En el PCA de la figura 18 se pueden ver la separación entre la capa 1 y el resto de las capas, este es un método de estadística multivariada, el cual extrae datos de una matriz compleja y la expresa en nuevos datos de variables ortogonales, que son los componentes principales (Sim et al., 2024), en este caso convirtió todos los componentes pertenecientes a cada número de onda de la huella dactilar de los espectros en segunda derivada y los expresó en términos de tres componentes principales que representan el 68% de la variabilidad total.

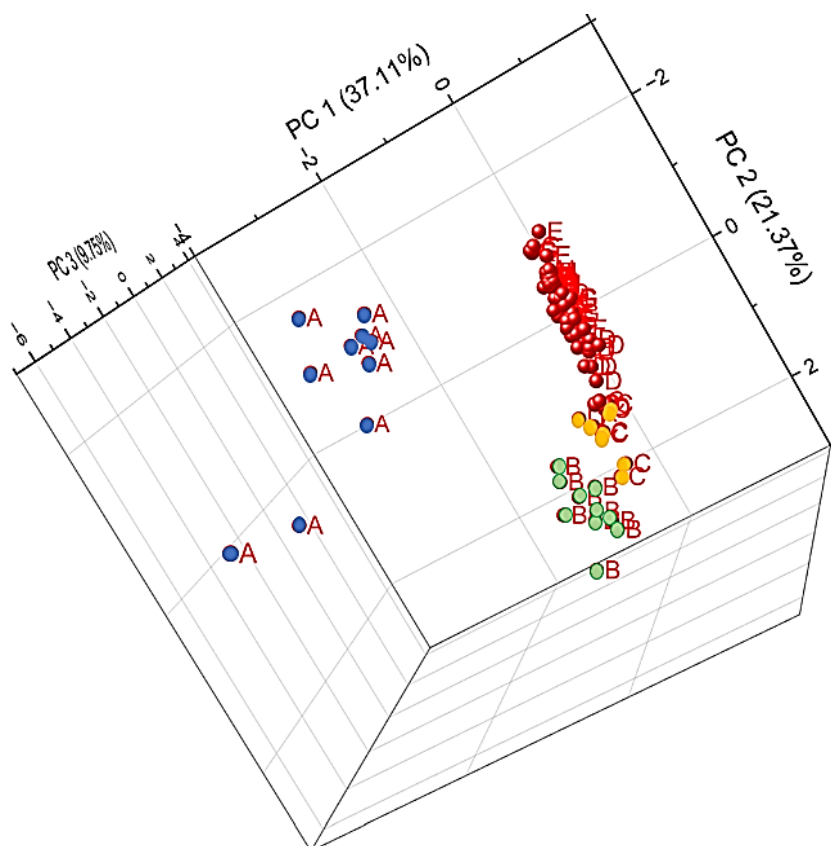


Figura 18. PCA en 3D de las diferentes capas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}). (A) Capa 1, (B) Capa 2, (C) Capa 3, (D) Capa 4, (E) Capa 5, (F) Capa 6, (G) Capa 7, (H) Capa 8.

En el PCA hay una discriminación entre capa 1 (A) lo cual se debe a que nivel de hidratación es diferente lo que hace que se ubique en un sector aparte del plano

factorial. En el caso de las capas 2 a la 8, se ubican en el mismo sector del plano factorial con una agrupación diferencial para la capa 2 (B), capa 3 (C) y de manera menos clara la capa 4(D), el resto todos los espectros se agrupan. Esta técnica no se ha reportado en la literatura para la diferencia entre capas de cebolla, se ha empleado para la discriminación de cebollas por regiones geográficas, teniendo este técnica una buena discriminación entre ellas (Jo et al., 2020). Se hizo el PCA en 2D y el dendograma se puede ver en el Anexo A y B, junto con la matriz de datos para hacer el PCA.

Partiendo de la caracterización realizada para las capas y teniendo en cuenta que la capa 1, fue muy distinta químicamente según la clasificación del PCA, lo cual se comprueba sus diferencias entre compuestos químicos mayoritarios en esta capa como los flavonoides, a diferencia de las otras capas, se seleccionó la capa 1 para trabajar, se procede a evaluar el efecto de la extracción por ATR-FTIR.

Conociendo que las capas muestran cromóforos del tipo flavonoides, especialmente del subgrupo de las antocianinas, se procedió a preparar un hidrolato etanólico al 70%, al cual se le determinó el porcentaje en peso disuelto con respecto al peso inicial, su UV-vis como hidrolato y caracterización por ATR-FTIR y GC-MS, se muestra a continuación.

4.2.3 Porcentaje de peso disuelto en extracciones

Una vez realizadas las extracciones, se realizó diagramas boxplot para el porcentaje de peso disuelto de las capas molturadas con respecto a cada método de extracción aplicado.

Para los métodos extracción, empezando con microondas (Ver figura 19), el residuo pesado mostró aumento de la masa disuelta a medida que se aumenta el número de capa, la fracción soluble es la mezcla de los hidrolatos del balón y el condensado que se recolectó en la trampa, el aumento con medias diferentes se ve hasta la capa 7, mostrando medias estadísticamente diferentes, lo anterior se puede explicar debido a que se presenta mayor porcentaje de pérdida de agua libre, flavonoides y demás compuestos solubles en la mezcla etanol-agua al 70%, al impactar capas con mayor contenido de humedad, donde las ondas de microondas tienen mayor efecto por la polaridad del solvente, mejorando la humectabilidad y permeabilidad del solvente, lo que aumenta la solubilidad de compuestos como flavonoides y acelera la solubilidad (Wang et al., 2021).

Como se muestra en la figura 19, el método de ultrasonido con respecto a la masa disuelta, mostrando mayor extracción para la capa 1 que para la capa 2, y posteriormente un aumento de la masa disuelta hasta la capa 5 y 6, luego aumentó en la capa 7 y disminuyó este porcentaje en la capa 8. Lo anterior denota que la extracción es diferente para cada capa, y que se puede explicar a diferencias en la cantidad de compuestos en cada capa previamente demostrado y la diferencias en

la hidratación de las capas que generan una cavitación diferente en las células vegetales de la capa. Esta técnica es usualmente utilizada en la literatura para la extracción de flavonoides de la familia *Allium*, y diferentes muestras de plantas en general, debido a que las ondas ultrasónicas pueden romper con éxito la pared de las células vegetales permitiendo que salgan los compuestos fenólicos del citosol, también rompe la vacuola, donde se almacenan los flavonoides, siendo esta el organelo encargado del balance hídrico en la célula (Yusoff et al., 2022).

El último método evaluado por capas es la extracción mecánica, la cual, indica que a medida que se aumenta el número de las capas, el porcentaje de materia presenta medias estadísticamente diferentes, con un aumento del porcentaje de materia, esto hasta la capa 7, en la capa 8 la media disminuye en alrededor del 5% con respecto a la anterior capa, denotando diferencias en la composición química de cada capa, lo que muestra la importancia de este estudio, que en la literatura no se ha abordado la extracción mecánica como un método en la extracción de flavonoides específicamente en cebollas rojas.

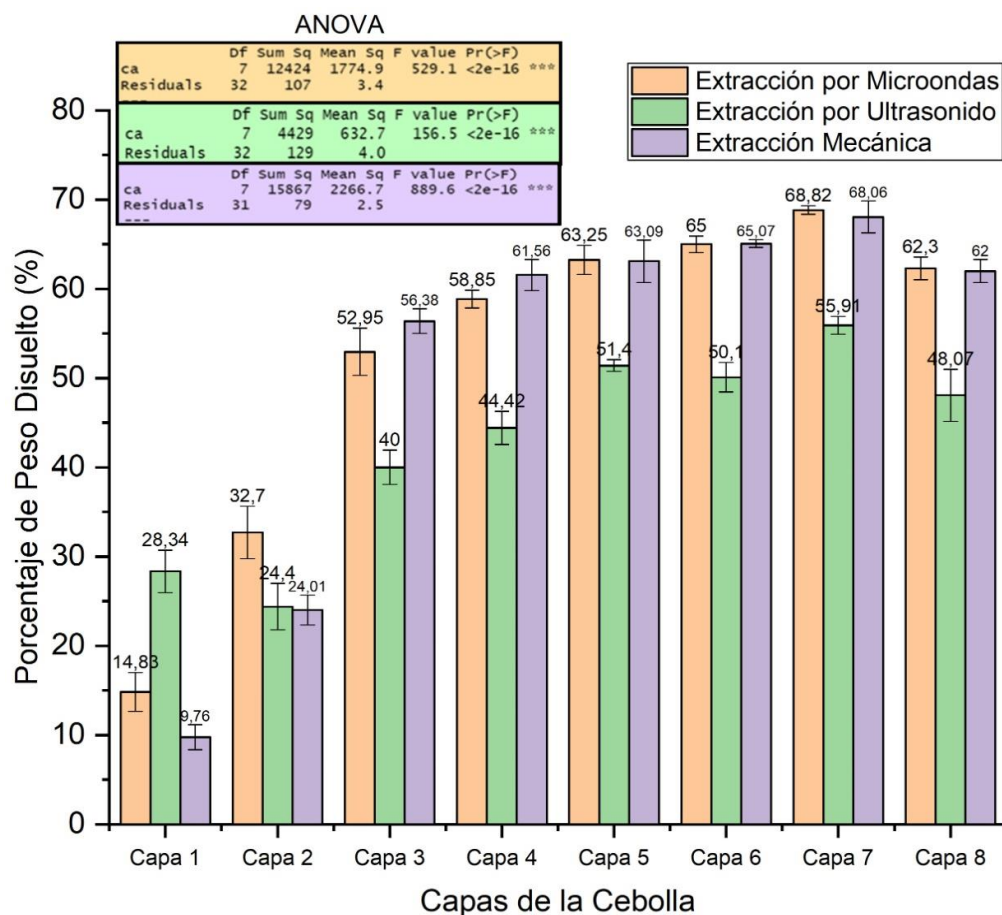


Figura 19. Porcentaje de peso disuelto de las diferentes capas por extracción las tres extracciones, microondas, ultrasonido y mecánica.

Se hicieron ANOVAS individuales por cada tipo de extracción, se pueden ver en el anexo C.

La determinación de la cantidad de materia disuelta para cada capa, mostró ser diferente en cada una de ellas, con el objeto de establecer este fenómeno con respecto a la capa 1, que suele ser la que no se consume como alimento, es decir un residuo de poscosecha, se aplicó un ANOVA de una variable, con comparación de medias por método de extracción.

El Boxplot de la figura 20, muestra que las medias son estadísticamente diferentes, que la extracción con ultrasonido presenta mayor porcentaje material disuelto, lo cual va de acuerdo con la literatura, luego sigue la extracción con microondas con un porcentaje a la mitad del ultrasonido y por último la extracción mecánica con un 9,76%. Esta notable diferencia entre la métodos de extracción se explica por efecto de cavitación del sonido que rompe con mayor facilidad las fibras de las células vegetales, esta técnica no depende de la polaridad de las moléculas del solvente, como es el caso de la extracción con microondas, que si bien sus ondas pueden romper la pared celular, no son tan efectivas como el ultrasonido (Yusoff et al., 2022), en el caso de la extracción mecánica, se ayuda de la polaridad del solvente usado para la extracción, en nuestro caso etanol-agua, donde tanto compuestos externos y los internos a nivel celular se dan por difusión intermembranal en la células, logrando extraer los mismos compuestos, pero en menor medida, al no poder romper completamente la pared celular (Carpentieri et al., 2021).

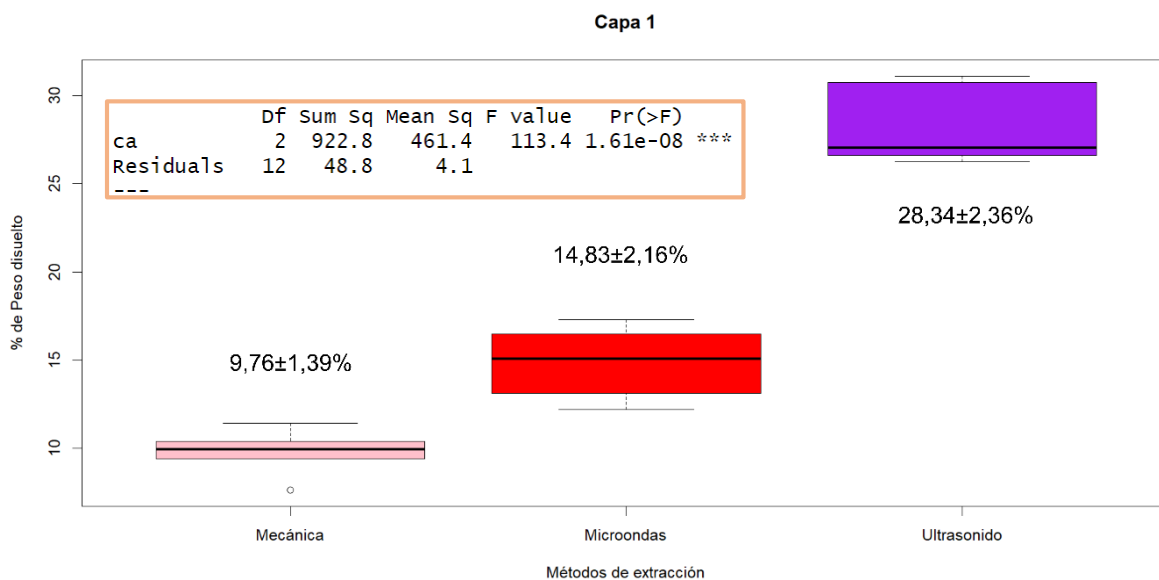


Figura 20. Porcentaje de peso disuelto de la capa 1 por los diferentes métodos de extracción.

La anterior sección se enfocó en el seguimiento del porcentaje de disolución, a continuación, se mostrará los resultados de la caracterización del hidrolato y el residuo de la extracción, se iniciará con los UV-vis y la GC-MS de los hidrolatos y posteriormente el análisis de los ATR-FTIR.

4.3 Extracción y determinación de flavonoides por UV-vis y GC-MS

4.3.1 Espectros UV-vis de las extracciones

Los espectros de UV-vis para los extractos etanólicos de las distintas capas exhibieron picos diferentes entre la capa 1 y el resto de capas, debido a diferencias entre las estructuras moleculares que conforman los extractos de las capas. Como se puede observar en la figura 21. El pico máximo alrededor de los 330 nm corresponde a flavonoles y a taninos (Ben-Ali et al., 2018), y los demás pico de 254, 275 y 296 nm corresponden a grupo de los flavonoides, esta ultima banda de 296, solo aparece con claridad en la extracción mecánica lo que muestra una ventaja de esta técnica al conservar su estabilidad (Ben-Ali et al., 2018). La banda más amplia de los 336 nm se atribuye estructuralmente a los sistemas llamados cinamoil y benzoilo (Rahman et al., 2022).

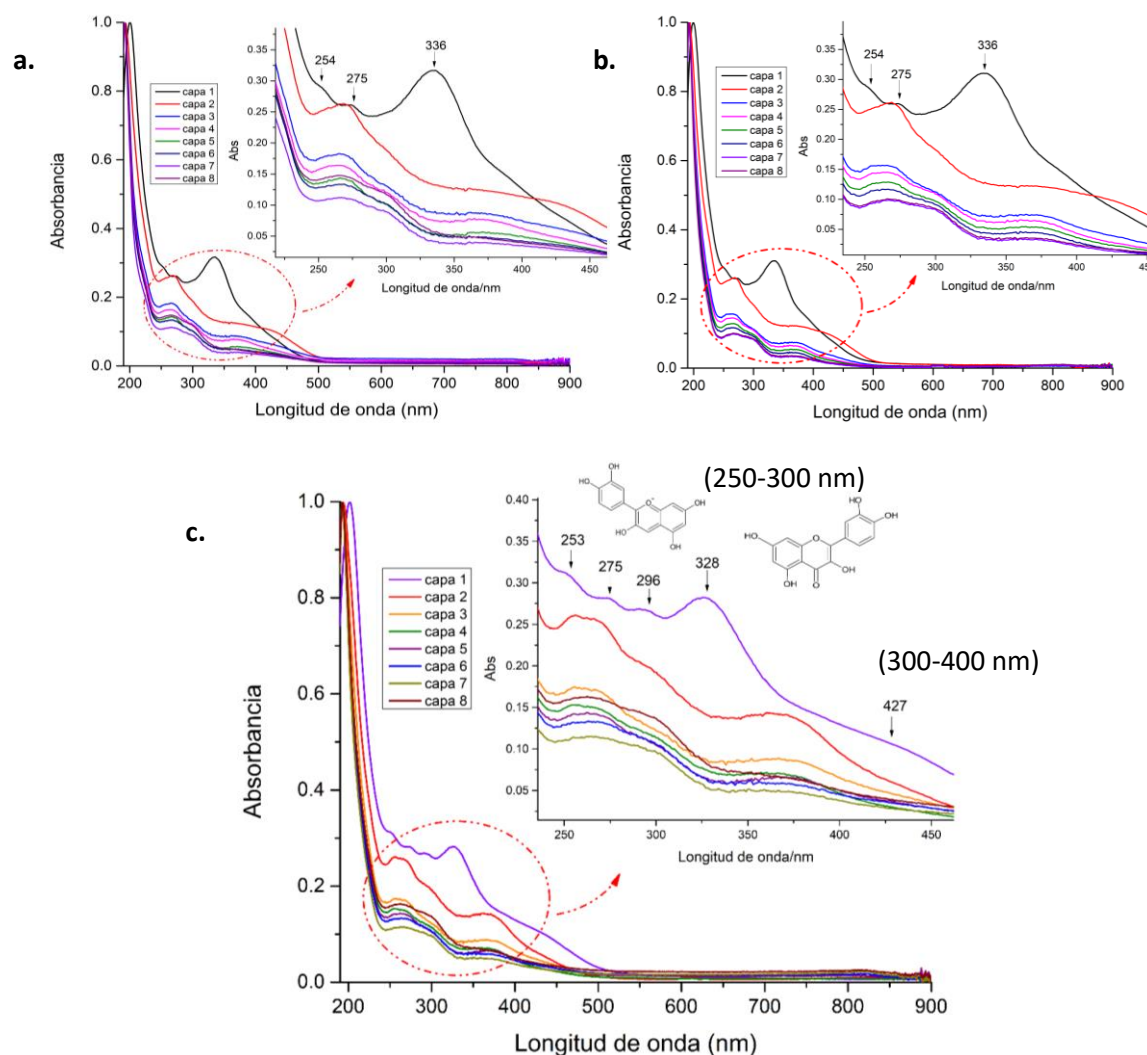


Figura 21. Espectros UV-vis de los extractos etanólicos por el método de (a) ultrasonido, (b) microondas y (c) extracción mecánica.

Se eligió la extracción mecánica y la capa 1 porque esta mostró mayores cromóforos y transiciones electrónicas, encontrándose según su espectro de UV-vis mayores metabolitos, sobre todo en una región donde absorben las antocianinas y flavonoles, aunque a comparación de las otras dos técnicas de extracción, presentó menor absorbancia en la región de 330 nm donde absorben las quercetinas y mayor absorbancia en la región de 427 nm, la cual pertenece también a quercetina (Golonka et al., 2020; Yang et al., 2010). Esto se puede apreciar en la figura 22.

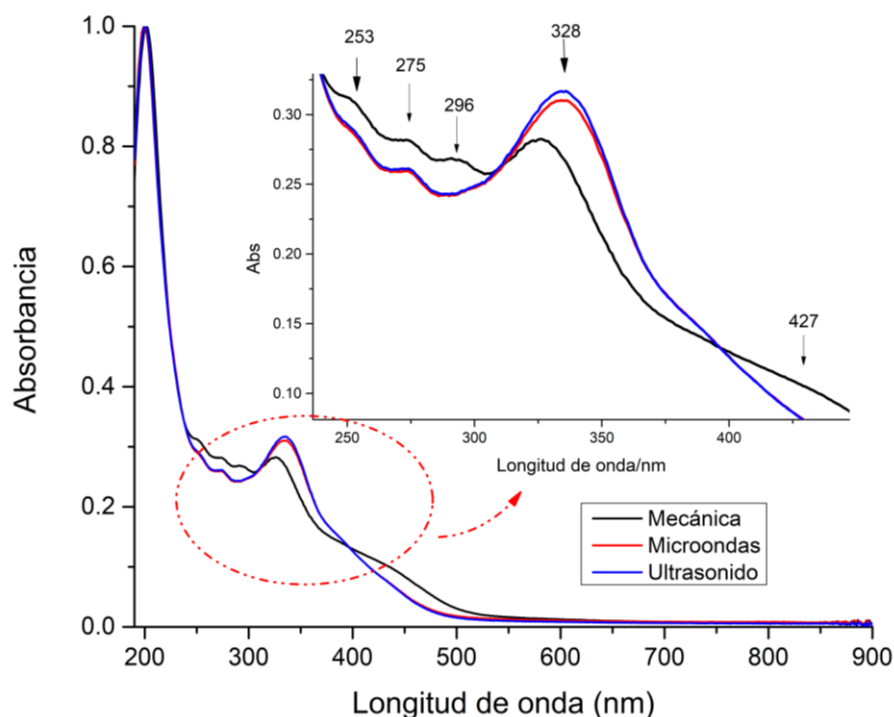


Figura 22. Espectros UV-vis de los extractos etanólicos de la capa 1 por los tres métodos de extracción.

Otra banda específica que se atribuye a los flavonoides es la que aparece alrededor de los 550 nm perteneciente a las antocianinas, encargadas del pigmento vegetal rojizo de la cebolla, pero esta banda no se vio presente en los extractos etanol-agua, la banda principal en los espectros de UV-vis de las láminas (Ver figura 16). Por lo tanto las extracciones solo extrajeron flavonoles y no antocianinas, debido a la polaridad del solvente y pH de extracción que se ejecutó a 7,0, ya que la mezcla etanol-agua no se acidificó y por lo tanto las antocianinas que se extrajeron no mantuvieron su forma estable y se degradaron antes de la toma de los espectros UV-vis (Yüçetepe et al., 2024), esto se puede corroborar con el GC-MS.

Se eligió no acidificar el disolvente, para priorizar la extracción de quercetinas, las cuales a pH ácido pierden efectos antioxidantes, y no pueden neutralizar especies reactivas al oxígeno, donando un átomo de hidrógeno para estabilizar radicales libres (Wu et al., 2024).

4.3.2 Análisis cromatográfico de las extracciones por GC-MS

En la figura 23 se presentan los cromatogramas de los extractos de la capa 1 por los tres métodos de extracción, encontrándose que salen los mismos picos con tiempos de retención muy parecidos, en la figura 23, también se aprecian las abundancias relativas de cada molécula, esta nos indica la concentración de estas quercetinas en las muestras, la variación dependió del método de extracción.

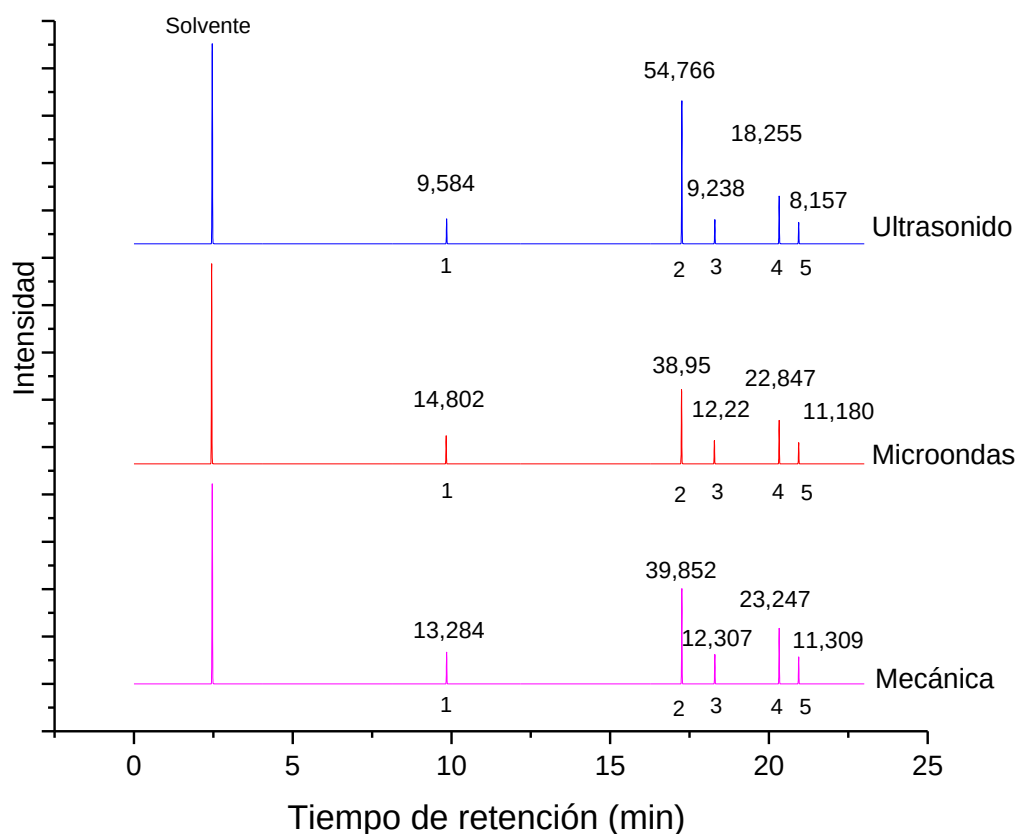
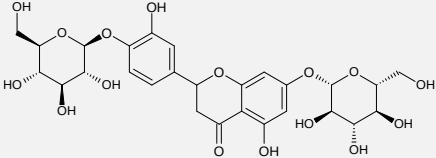
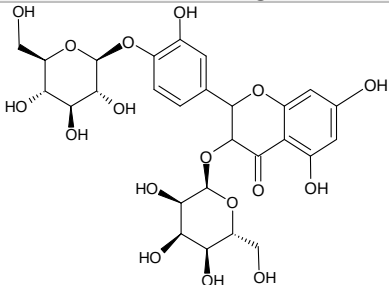
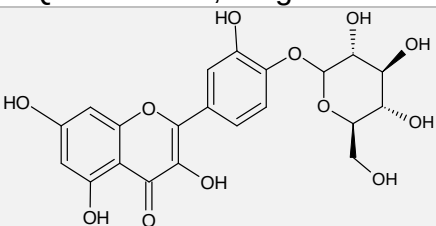
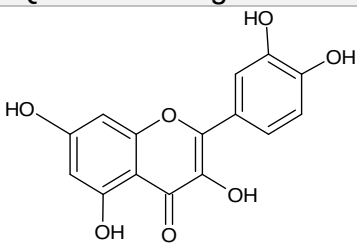


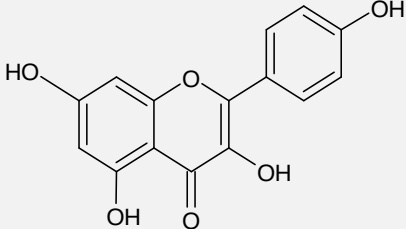
Figura 23. Cromatogramas de las extracciones etanólicas para la capa 1, por los diferentes métodos de extracción y sus abundancias relativas para cada pico.

En la tabla 1 se encuentran las abundancias relativas para la extracción mecánica, junto con las moléculas elucidadas. En el caso del primer compuesto la Quercetina 7,4-diglucosida, su abundancia relativa es mayor en microondas con 14,802% y es menor en ultrasonido con 9,584%, en el caso de la molécula de Quercetina 3,4-diglucosida, su abundancia relativa es mucho mayor en ultrasonido con 54,766% comparado con mecánica y microondas, las cuales presentan un valor alrededor del 39%, esto se puede atribuir a una interconversión de las demás quercetinas a la forma 3,4-diglucosida, por acción de las ondas ultrasónicas (Majhi, 2021). La Quercetina 4-glucosida, presenta un porcentaje de abundancia parecido en mecánica y microondas del alrededor del 12%, en cambio es menor en ultrasonido con 9,238%, los mismo pasa con la quercetina y el Kaempferol, las cuales tienen

abundancias parecidas en los métodos de mecánica y microondas, pero disminuyen en ultrasonido.

Tabla 1. Abundancia relativa de los picos del cromatograma por extracción mecánica junto con las moléculas elucidadas.

Pico	Tiempo de retención (min)	Abundancia relativa	Molécula (estructura)	Referencia
1	9,85	13,284	 Quercetina 7,4-diglucosida	(González-Peña et al., 2015)
2	17,256	39,852	 Quercetina 3,4-diglucosida	
3	18,297	12,307	 Quercetina 4-glucosida	(Morrison et al., 2003)
4	20,322	23,247	 Quercetina	(Martínez-Esquivias et al., 2023)

5	20,937	11,309	 Kaempferol	(Ö et al., 2003)
Total		100		

Cabe resaltar que en la literatura se encuentran GC-MS de extractos de cebolla, pero no por tres métodos distintos, y no se ha encontrado para la extracción mecánica.

A continuación, se muestra uno de los espectros de masas de uno de los compuestos con mayor abundancia relativa, con un ejemplo de la posible ruta de fragmentación de masas en el espectro de la Quercetina 3,4-diglucosida (figura 24) (S. Kumar et al., 2017), cabe resaltar que para la elucidación de las 5 moléculas se hicieron comparando con bases de datos (PubChem, 2006).

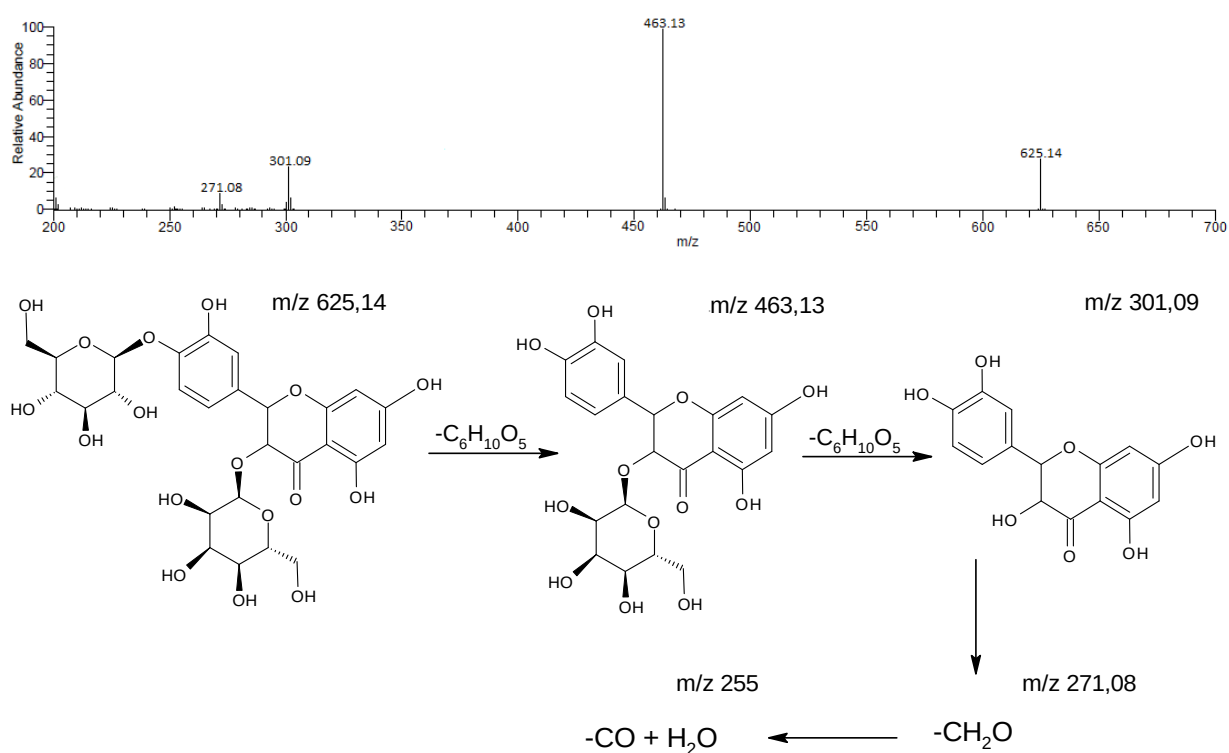


Figura 24. Espectro de masas y posible ruta de fragmentación de la molécula Quercetina 3,4-diglucosida.

El pico correspondiente al ion molecular m/z 625,14 menos un protón, debido a que es espectrometría de masas en modo negativo, hay una pérdida de una glucosa m/z 463,13 y una segunda pérdida de glucosa en m/z 301,09 quedando solo la

aglicona. m/z 271,08 hay una pérdida de grupo formaldehído de la aglicona. Estas fragmentaciones son características de los flavonoides glicosilados, ayudando en la elucidación estructural (S. Kumar et al., 2017).

Los tres métodos mostraron que elucidaban las mismas moléculas, por lo tanto todos son efectivos para la extracción de flavonoides de tipo flavonoles, teniendo en cuenta la información del UV-vis de la sesión 4.3.1, donde se puede ver mayor diversidad de cromóforos por extracción mecánica y partiendo que la excelente capacidad de extracción de cualquiera de los métodos, se decidió escoger la extracción mecánica, la cual según el método usado, mostró buena capacidad y mayor facilidad de extracción, ya que no se necesitó de un equipo como ultrasonido o microondas.

Teniendo la caracterización del hidrolato por UV-vis y GC-MS, se procedió a hacer los mismo con la fibra generada después de la extracción con ATR-FTIR.

4.3.3 Espectros ATR-FTIR de la capa 1 antes y después de la extracción por mecánica.

En la figura 24 (Para un ensayo de los 10 realizados). Se puede observar el espectro de infrarrojo de la capa 1 con uno de los residuos después de la extracción, donde se evidencian las mismas bandas. En el caso del pico 1 correspondiente al estiramiento asimétrico del grupo OH, se puede observar que esta banda es más grande en el residuo, esto pudo ser debido a que quedaron rastros de alcohol etílico en el sólido después de las extracciones, ya que estas se secaron a temperatura ambiente o a la alta concentración de celulosa y lignina que quedó después de la extracción (Hasan & Fatema-Tuj-Zohra, 2024). El pico 2 y 3 correspondiente a estiramientos de CH_3 , CH_2 y CH , se mantuvieron igual en el residuo y en la capa. El pico 4 disminuyó en el residuo, correspondiente a la vibración de grupos carbonilo, mientras las bandas de la 8 a la 11, asociados a flexión en el plano de los anillos fenilo y del enlace $\text{C}=\text{C}$, el pico 12, 16 y 17 correspondientes a $\text{C}-\text{OH}$ y a anillos fenilo con cuatro sustituciones. En cambio, picos del 18 al 20, asociados al balanceo del CH_2 , aumentaron. Para ver más las diferencias entre las capas y los residuos, se hizo PCA y un dendograma para las primeras capas (ver anexo D, E, F, G, H e I). Donde en la capa 1, se vio una separación en el PCA entre el molturado y los residuos de las extracciones por los tres métodos, aunque la capa 2 y 3, mostraron mejor separación, entre molturados y residuos con un porcentaje de varianza de 59,8 y 56,5%, respectivamente.

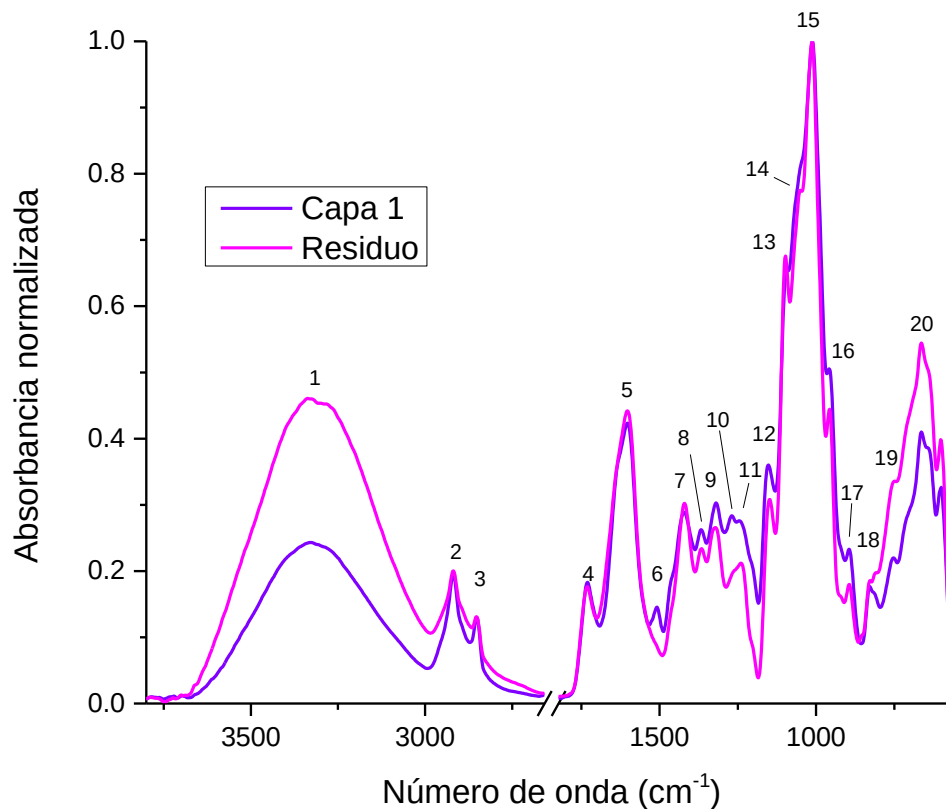


Figura 25. Espectro de infrarrojo de la muestra pulverizada de la capa 1 y su residuo después de la extracción mecánica.

Las asignaciones de la totalidad del espectro se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Interpretación de los espectros de la muestra pulverizada de la capa 1 y su residuo después de la extracción etanólica.

Nº	cm ⁻¹	Asignación	Tipo	Referencia
1	3304	OH	Estiramiento asimétrico	(Slewa, 2024)
2	2917	CH ₃ , CH ₂ Y CH, 2 bandas	Estiramiento	
3	2849			
4	1731	C=O, carbonilo de aldehído saturado ó cetona saturada	Estiramiento	(Alshahrani et al., 2024b)
5	1636-1602	C-C estiramiento del fenil, C=C de aromático conjugado, 3 bandas, tres veces sustituido, CH vibración del anillo fenil	Estiramiento, vibración, Flexión y fruncimiento del anillo	(Darweesh et al., 2024)
6	1508			
7	1419			

8	1366	CH ₂ , CH ₃ , en 1419 el COO- de polisacáridos, 1366 estiramiento C-O	Deformación, estiramiento	(Hasan & Fatema-Tuj-Zohra, 2024)
9	1318	Anillo de benceno mezclado con la flexión en el plano de CH del anillo de fenilo y el puente de etileno	Flexión en el plano	(Movasaghi et al., 2008)
10	1268	C=C C-O éter de arilo	Estiramiento, vibración	(Boccalon et al., 2022)
11	1244-1231-1201			
12	1152	C-O, (C-C): diagnóstico de la presencia de una estructura carotenoide, muy probablemente un pigmento celular, C-OH, C-O. Absorción de glucógeno debido a C-O y C-C. estiramiento y deformación C-O-H movimientos	Estiramiento vibracional, Vibraciones de estiramiento de los enlaces de hidrógeno.	(Darweesh et al., 2024)
13	1093	Característico de Manosa C-O-C glucosídico	Estiramiento, vibración	(Movasaghi et al., 2008)
14	1066-1048	C-O de la ribosa, CO-O-C Estiramiento de CO junto con flexión de CO del C-OH de los carbohidratos glucógeno	Estiramiento, flexión	(Slewa, 2024)
15	1010	CH flexión fuera del plano y torsión del C=C	Flexión y torción	(Movasaghi et al., 2008)
16	954	Carotenoide		
17	892	Aromático con cuatro sustituciones	Flexión y balanceo	
18	831-813	=C-H	Flexión fuera del plano y en el plano y torción del anillo	
19	752			
20	704-662	CH ₂	Balanceo	(Verma et al., 2021)

La presencia de grupos hidroxilo y carbonilo, vibraciones del carbono con el oxígeno, así como flexiones de anillos benceno, da información acerca del tipo de moléculas de las capas, especialmente de fenoles, siendo estas moléculas y sus grupos hidroxilo indispensables para la conversión de plata a agregados de plata. (Tan Sian Hui Abdullah et al., 2021), esto se verá en la sesión 4.4.

4.4 Síntesis de agregados de plata

Se sintetizaron los agregados de plata siguiendo la metodología propuesta en la sesión 3.4.5 de la metodología.

Aunque se ha demostrado que a la hora de sintetizar agregados de plata el pH y la temperatura tienen influencia sobre su tamaño, en este caso se lograron sintetizar los agregados en el ultrasonido en un rango de temperatura de 60°C a 80°C, durante 10 minutos, sin tener en cuenta el pH. Otros estudios han logrado sintetizar agregados de plata a partir de extracto de cebolla en temperaturas de 35°C, pH básicos y tiempos de 20 minutos de reacción, parámetros que según (Khalilzadeh & Borzoo, 2016) son los más óptimos.

Se usó el ultrasonido para sintetizar los agregados, con el objetivo de disminuir el tiempo de la síntesis, aumentando la velocidad de la reacción de reducción de plata, ya que con ayuda de la cavitación se puede tener acceso más fácilmente a las moléculas del extracto encargadas de esta reacción (Manjamadha & Muthukumar, 2016).

Después de la síntesis no se pudo observar a simple vista el cambio de color de los extractos, esto debido al color rojizo de los extractos, este mismo color es el que genera las nanopartículas en extractos de cebolla amarilla, según lo reportado por (Martínez-Esquivias et al., 2023).

En un barrido completo en el espectrofotómetro de ultravioleta, con el extracto como blanco, se registraron tres tamaños de nanopartículas o agregados de plata, mostrando varios picos de absorción a 253, 288 y 504 nm, siendo estas bandas características de nanopartículas de plata debido a la resonancia del plasmón de superficie (SPR). El pico de 504 nm puede ser debido a la reducción de iones plata de Ag^{+1} a Ag^0 , ya que se ha reportado que este es característico de la biosíntesis de nanopartículas (Alshahrani et al., 2024b).

4.4.1 Determinación del tamaño del agregado de plata

Mediante la metodología planteada por (Haiss et al., 2007), siguiendo la ecuación 2, y la figura 13 en la metodología, se calcularon los tamaños de las nanopartículas formadas, en cada uno de los picos del espectro, presentándose su diámetro en nanómetros junto con su respectiva desviación estándar en la figura 25. Se lograron obtener tamaños que oscilaban entre los 10 a 100 nm.

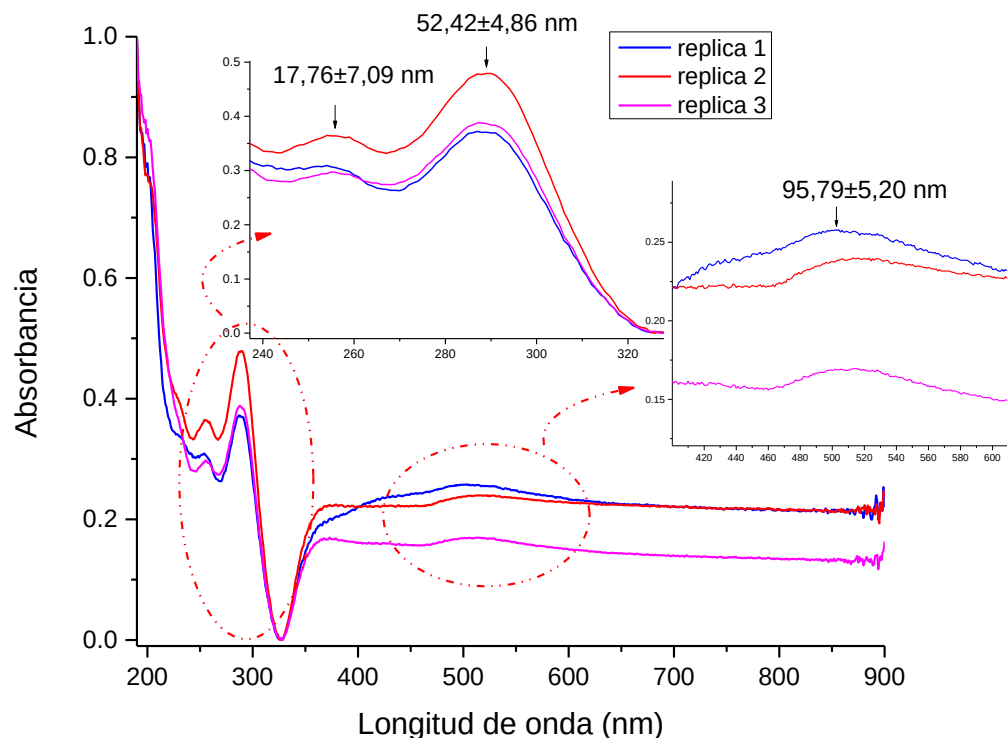


Figura 26. Tamaño calculado de los agregados de plata por UV-vis.

Una vez se logró sintetizar los agregados de plata con el extracto de cebolla, se procedió a la construcción de la formulación tipo ungüento y se hizo una evaluación de su estabilidad química.

4.5 Construcción de formulaciones tipo ungüento

Se elaboraron ungüentos siguiendo la metodología propuesta en la sesión 3.4.6 de la metodología. La formulación de los ungüentos permitió obtener materiales cerosos, de color homogéneo, con una buena combinación de sus componentes, es decir que no se evidenció separación de fases polar y apolar, o la generación de puntos de agregados inorgánicos (Bao & Burgess, 2018) (Ver figura 26 a). Los ungüentos presentaron una textura densa, lo cual es conveniente para que tenga propiedades congestivas y oclusivas. En el caso de los ungüentos que contenían extracto, fueron más suaves y con textura cremosa, a diferencia del ungüento blanco, el cual fue más quebradizo (Ver figura 26 b). Cabe resaltar que las formulaciones con el extracto y el agregado de plata, quedaron con 1,4815 ppm Ag en los ungüentos, esto teniendo en cuenta las concentraciones de partida de la solución de nitrato de plata.



Figura 27. (a) Fotografía de los ungüentos el mismo día de elaboración, 5 réplicas de cada tipo de ungüento (a-e), (b) fotografías de los ungüentos a lo largo de un mes.

A la formulación terminada se le determinó la cantidad de humedad y ceniza obteniendo los resultados que se muestran a continuación.

4.5.1 Humedad y cenizas

En la tabla 3 se puede apreciar el porcentaje de cenizas y humedad de los ungüentos, teniendo porcentajes de humedad más altos con la incorporación del extracto y el extracto con plata, con respecto a la formulación blanco, su incorporación afecta este parámetro fisicoquímico, al igual que las cenizas donde la formulación de extracto con plata tiene un mayor porcentaje de cenizas, esto debido a la incorporación de plata, el contenido de humedad aumenta al incorporar un ingrediente activo, en este caso el extracto y la plata (Mekjaruskul et al., 2024).

Tabla 3. Porcentaje de humedad y cenizas a los ungüentos.

Formulación	Porcentaje de Humedad	Porcentaje de cenizas
Blanco	5,14±0,57%	0,025±0,006%
Extracto	6,94±1,31%	0,018±0,007%
Extracto + agregado de Ag	5,94±0,40%	0,068±0,028%

La caracterización se continuó aplicando TGA, UV-vis del fundido y ATR-FTIR.

4.5.2 Análisis térmico con TGA a los ungüentos

La curva del TGA da información sobre la estabilidad de los ungüentos, donde estos son estables hasta los 156,09°C, donde hay un 99,54% del peso del material, como se ve en la figura 27. El pico máximo de la primera derivada es la temperatura donde está la mayor descomposición, es 249,66°C y hay otro pico de descomposición en 232,86°C. El material se vuelve a estabilizar a los 264,97 °C donde ya ha perdido el 95,25% del material total. Quedando solo el 4,75% del material, este sigue descomponiéndose hasta los 499°C donde solo queda un 1,898% del porcentaje en peso del material.

No se ha encontrado literatura acerca de TGA de ungüentos con extracto de cebolla y plata, pero sí de fibra de cebolla, donde la lignina se descompone de los 375 a 490 °C (Hasan & Fatema-Tuj-Zohra, 2024).

Las nanopartículas de plata se han reportado muy estables, así que estas fueron las que quedaron después de los 500°C, como reporta (Alshahrani et al., 2024a).

Los materiales que componen el ungüento son la manteca karité con un punto de fusión de 28-45°C (Butter et al., 2019), el alcohol cetílico con un punto de fusión de 49°C y una temperatura de descomposición de en un rango de 180 a 250°C, según (Huang et al., 2017), estando en el mismo rango en el que se descompone en material. El aceite mineral tiene dos temperaturas de descomposición, una a 179°C y otra a 360°C, según (Hadjadj et al., 2021).

En la figura 27, se puede apreciar que todos los materiales tienen un termograma parecido, independientemente de si el ungüento contiene extracto o extracto con plata.

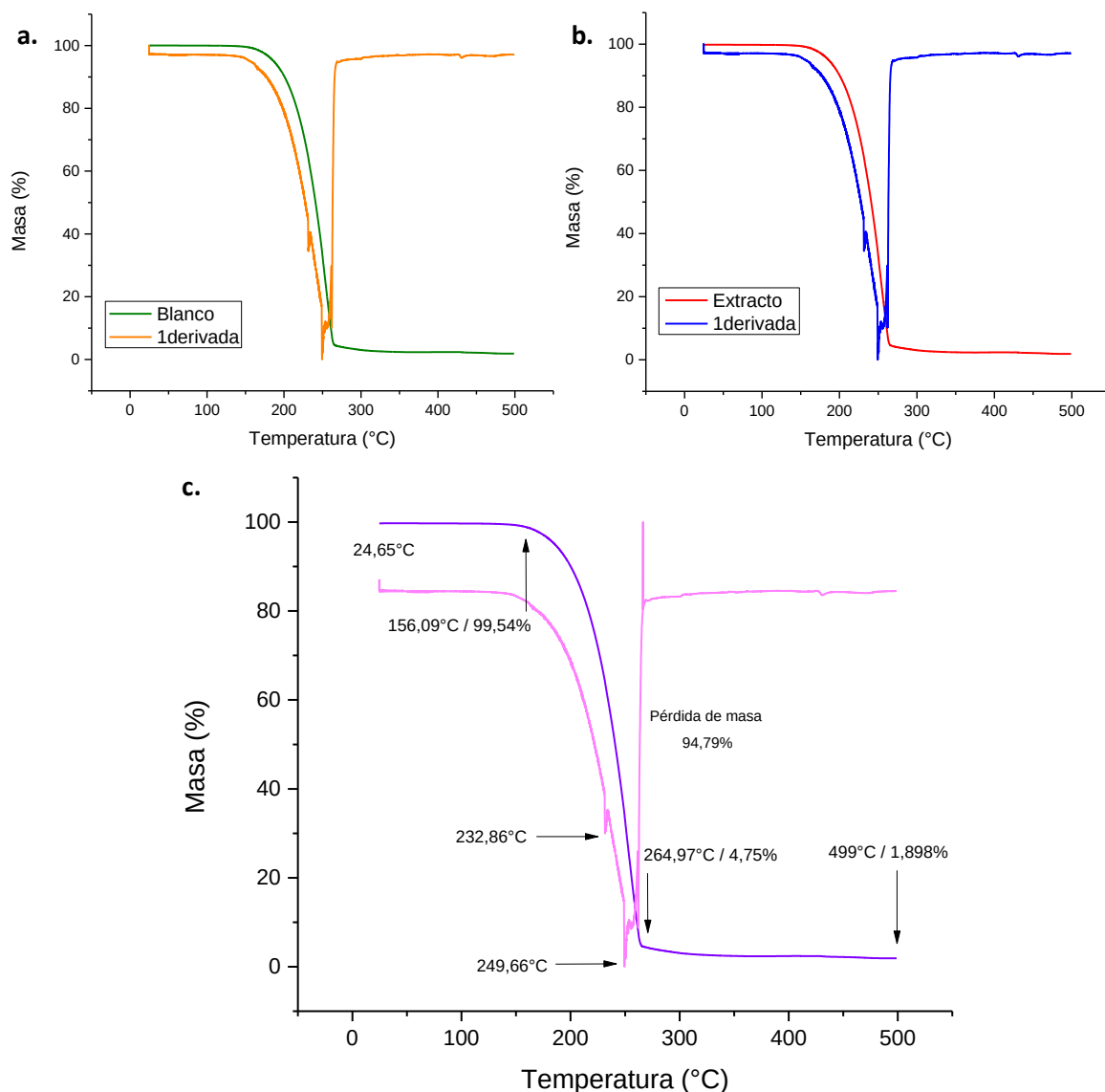


Figura 28. TGA con la primera derivada de los ungüentos, (a) ungüento con agua o blanco, (b) ungüento con extracto de cebolla, (c) ungüento con extracto + agregado de plata.

4.5.3 Análisis por UV-vis de los ungüentos

En los espectros de ultravioleta visible de los ungüentos, estos mostraron bandas características como la de 254, 236, 246 y 271 nm, característica de antocianinas y flavonoles, pero estas mismas bandas salen en el ungüento etiquetado como blanco. Por lo tanto, en la técnica de UV-vis también registra las absorbancias de

los ingredientes en que está hecha la formulación. En la figura 28 se puede observar en los tres espectros las bandas en 292, 246 y 236 nm son atribuidas a la manteca de karité (Megnanou & Niamke, 2015), la banda de los 301 nm se puede atribuir al aceite mineral (Bosa et al., 2023), la banda de 224, 271, 254 nm se pueden atribuir al polisorbato 80 (Peter Wuelfing et al., 2006), esta misma banda de 224 nm, también se puede atribuir al alcohol cetílico (Chebbi et al., 2018).

Según los resultados obtenidos concluyó que técnica de UV-vis, no es la adecuada para ver las diferencias entre los tres ungüentos construidos.

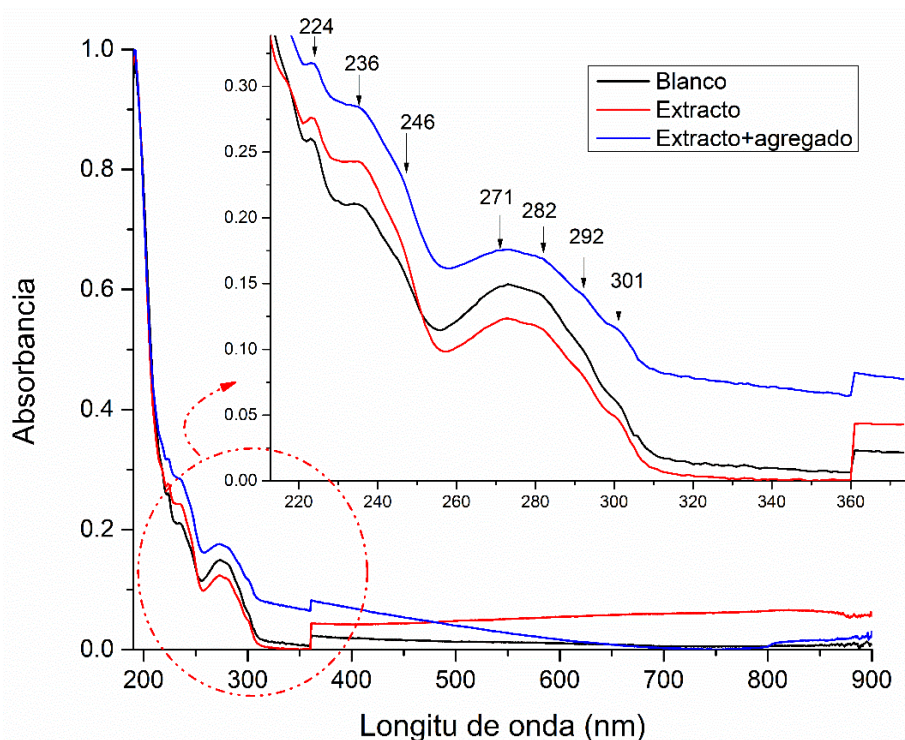


Figura 29. Espectros UV-vis a los ungüentos.

4.5.4 Análisis de infrarrojo de los ungüentos

En la figura 29, se muestran los espectros de ATR-FTIR de los ungüentos elaborados, en el blanco se pueden observar bandas típicas de los ésteres de glicerol y ácidos grasos que componen la manteca de karité, como el pico del OH de 3329 cm^{-1} y los tres picos de alcanos de 2955 a 2849 cm^{-1} , aunque estos también pueden pertenecer a la molécula de alcohol cetílico la cual es un alcano de 16 carbonos con su grupo hidroxilo o de moléculas que conforman el aceite mineral. Picos como el de 1746 cm^{-1} correspondiente al C=O podría pertenecer a los triglicéridos de la manteca de karité, pico de 1643 cm^{-1} de C=C, podría pertenecer a los flavonoides del extracto, la banda de 1462 cm^{-1} COO- se atribuye a los ácidos grasos en la manteca de karité. El pico de 1247 cm^{-1} , aumenta en el extracto, y los picos de 1350 y 1307 cm^{-1} , disminuyen, los cuales son pertenecientes a C-O. Esto

pudo ser debido al efecto de los agregados de plata sobre el ungüento, lo mismo pasa con el pico de 1102 cm^{-1} , disminuye en el ungüento de extracto con plata, el cual también es perteneciente a enlaces carbono oxígeno. El pico de 1062 cm^{-1} , aumenta en los espectros con extracto, por lo tanto, se podría atribuir a la síntesis de los agregados de plata. El resto de picos encontrados se encuentran en la figura 29 y la tabla 4.

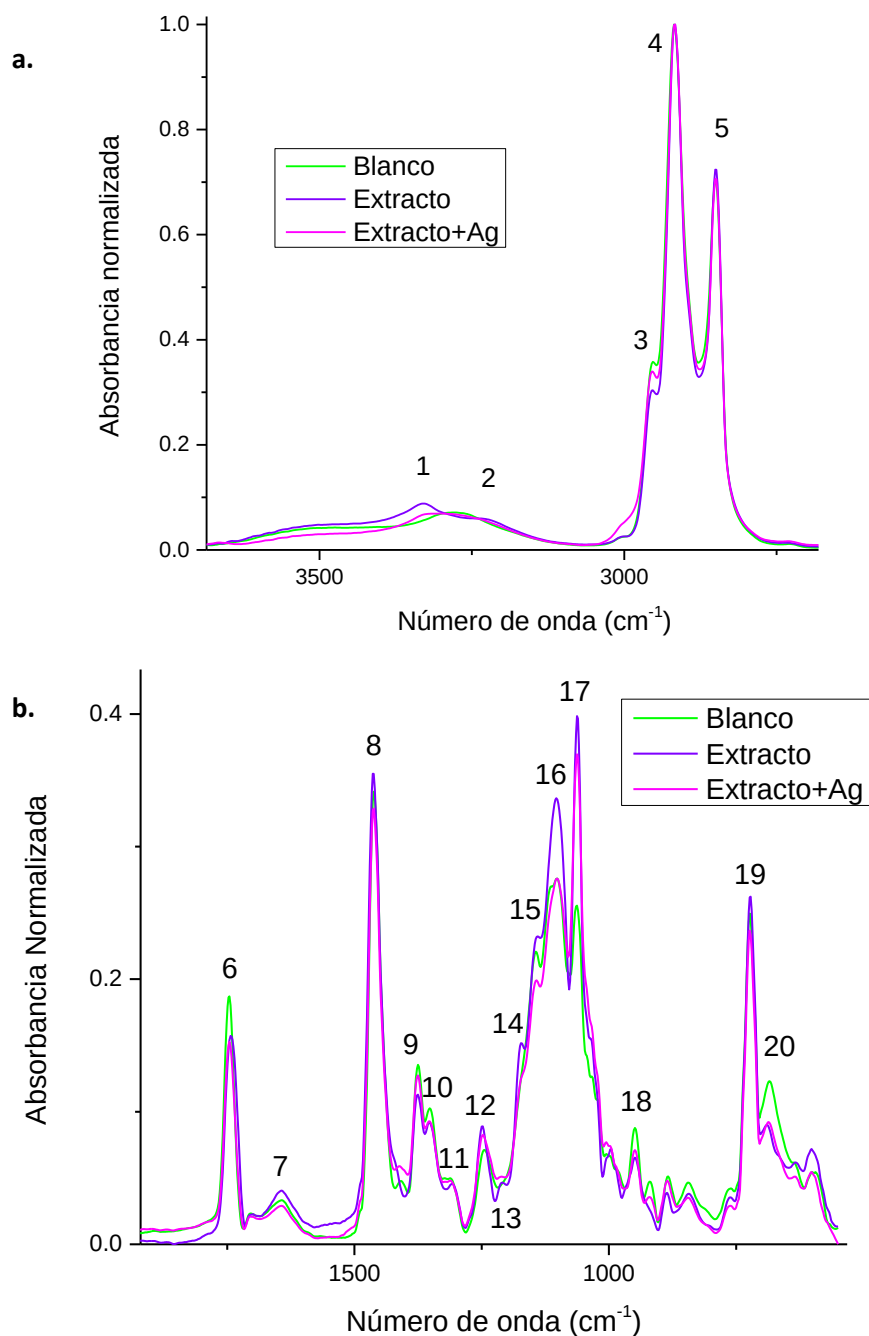


Figura 30. Espectros de infrarrojo de las formulaciones tipo ungüento (a) región de $3700\text{--}2700\text{ cm}^{-1}$, (b) región de $1800\text{--}550\text{ cm}^{-1}$.

Tabla 4. Interpretación de los espectros de las formulaciones tipo ungüento.

Nº	cm ⁻¹	Asignación	Tipo	Referencia
1	3329	=CH ₂ , OH	Estiramiento asimétrico	(Slewa, 2024)
2	3230			
3	2955	CH ₃ , CH ₂ Y CH, 3 bandas	Estiramiento	
4	2918			
5	2849			
6	1746	C=O, cetona saturada	Vibraciones de estiramiento	(Alshahrani et al., 2024b)
7	1643	C=C en anillo	Vibraciones de estiramiento	(Darweesh et al., 2024)
8	1462	COO-	Deformación, estiramiento	(Hasan & Fatema-Tuj- Zohra, 2024)
9	1377	CH ₂ y CH ₃	Vibraciones de flexión: Deformación	(Hasan & Fatema-Tuj- Zohra, 2024)
10	1350			
11	1307	C-O	Vibraciones de estiramiento	(Nandiyanto et al., 2023)
12	1247			
13	1215	C=C C-O	Estiramiento, vibración	(Boccalon et al., 2022)
14	1177	C-C	Vibraciones de flexión: balanceo	Darweesh et al., 2024)
15	1138			
16	1102	C-O	Vibraciones de estiramiento	(Nandiyanto et al., 2023)
17	1062			
18	919	=CH, =CH ₂	Flexión fuera del plano	
19	722	CH ₂	Vibraciones de flexión: balanceo	(Verma et al., 2021)
20	685	CH	Deformación	(Nandiyanto et al., 2023)

Para continuar con la investigación cada una las formulaciones realizadas se sometieron a pruebas de estabilidad química en el tiempo.

4.6 Pruebas de estabilidad química

Con los espectros de infrarrojo de los tres ungüentos, se tomaron casi todos los números de onda en las regiones de $3700\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ y $1800\text{-}550\text{ cm}^{-1}$, con la segunda derivada para aplicar un análisis estadístico multivariable como el PCA, siguiendo la metodología se tomaron espectros cada 8 días a cada una de las formulaciones.

4.6.1 PCA a los ungüentos de acuerdo al día a condiciones ambientales del laboratorio de Biocalorimetría Pamplona.

En la figura 30 se muestra el PCA donde se observa la diferencia de los espectros de los ungüentos con el agregado de plata en diferentes días, del 1 al día 39 (Realizando 6 puntos de control). Donde se usaron las regiones de $3700\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ y $1800\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ en segunda derivada de los espectros para este análisis estadístico, se redujeron a dos componentes principales, los cuales pueden representar el 35,8% y el 20,5%, para un total de 56,3% de la varianza de los datos, donde se puede ver una clara separación por los días en que se tomaron los espectros, este mismo tratamiento estadístico se realizó para el blanco y el ungüento con extracto, donde en el caso del blanco se puede ver una separación, según los puntos de control, con una varianza explicada del 61% para las dos primeras componentes, este tipo de material tiende a tener cambios químicos, lo cual pudo ser debido a las fuerzas de van der Waals dentro de la fase oleosa (Requena & Haydon, 1997). En el caso del extracto también hubo variaciones, donde no se vieron tan unidos los puntos de control, con una variabilidad del 58,3% para las dos primeras componentes (Ver Anexo J).

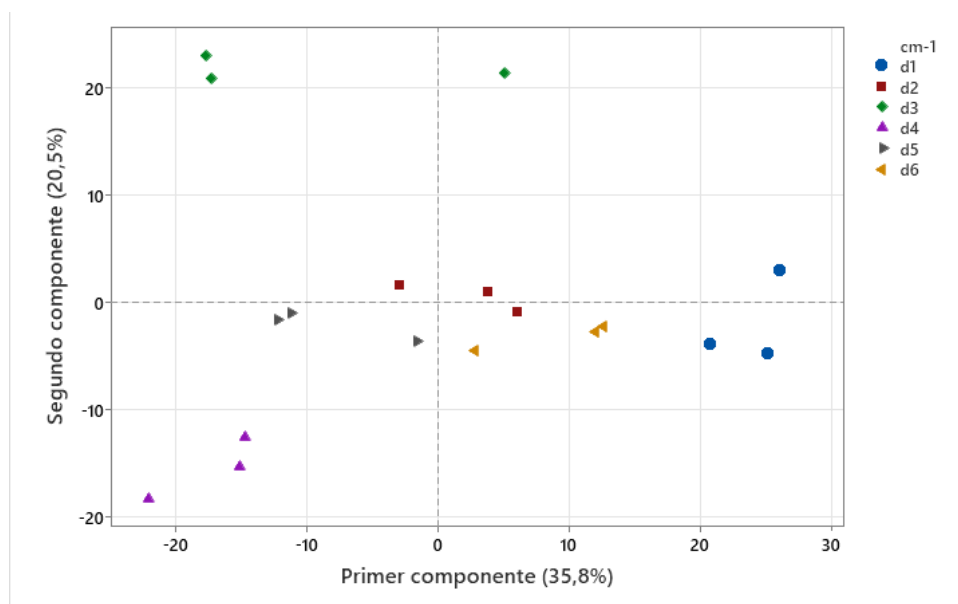


Figura 31. PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata, en diferentes días (d1: un día después de construido el ungüento, d2: 4 días después, d3: 11 días después, d3: 18 días después, d4: 25 días después, d5: 32 días después y d6: 39 día).

El plano factorial generado por las dos componentes permiten establecer que las replicas se agrupan entre sí generando reproducibilidad en la medida, adicionalmente que los puntos de control se separan (Ringnér, 2008), (esta separación se puede ver en el dendograma, anexo J) lo cual indica que el ungüento a condiciones ambientales genera variaciones en las concentraciones de sus grupos funcionales, la cuales pueden estar ligadas a la degradación de los flavonoides y demás compuestos vinculados desde el hidrolato.

Cabe resaltar que en la literatura no se encuentra un estudio sobre la homogeneidad, de un ungüento a base del extracto de cebolla utilizando ATR-FTIR. Se han encontrado algunos estudios al seguimiento de ungüentos pero utilizando imágenes infrarrojas para ver sus cambios en la homogeneidad de la formulación, ya que estas tienden a presentar cambios químicos internos a lo largo del tiempo y estos se han observado utilizando PCA (Carneiro & Poppi, 2012).

4.6.2 pH

El pH se registró en los días que aparecen en la tabla 5, los cuales evidencian que las formulaciones tienen estabilidad con pequeñas variaciones, las formulaciones tipo ungüento con la incorporación de extractos de platas oscilan en un pH de 6,8 según (Kshetrimayum et al., 2024), lo anterior se debe a que se prefieren pH ácidos debido a que evitan la proliferación de microorganismos por contaminación (Lukić et al., 2021)

Tabla 5. pH de los ungüentos en diferentes días después de su construcción.

Día	Blanco	Extracto	Extracto + agregado
Día 1	5,58	4,92	5,28
Día 8	5,36	4,92	5,28
Día 16	5,33	5,05	5,14
Día 24	5,71	5,11	5,46

El ungüento que solo tenía agua (blanco), mantuvo su estabilidad en 24 días de ensayo, con un pH por debajo de los 6, los ungüentos con extracto y extracto + agregado de plata, tuvieron una baja en su pH en el día 8 y este se estabilizó en el día 16, y aumentaron en el día 24, manteniéndose en un pH ácido (ver figura 31).

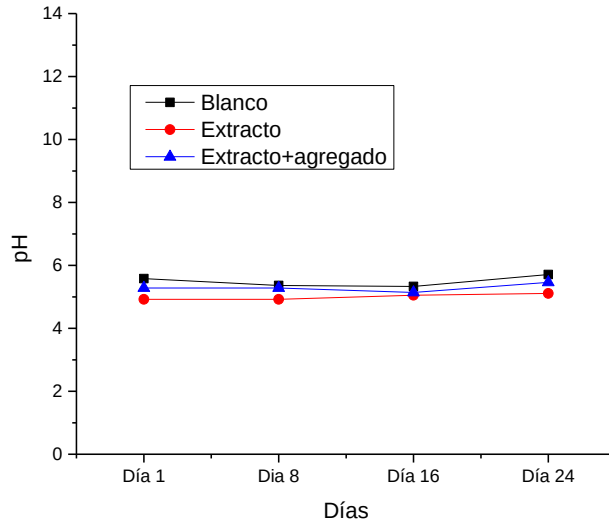


Figura 32. pH a los ungüentos.

Con la estabilidad del pH registrada, se procedió al estudio de la propiedad física del color.

4.6.3 Color

Las propiedades de color del ungüento se evaluaron con las coordenadas de color Cielab, que se muestran en la figura 32 (Ly et al., 2020).

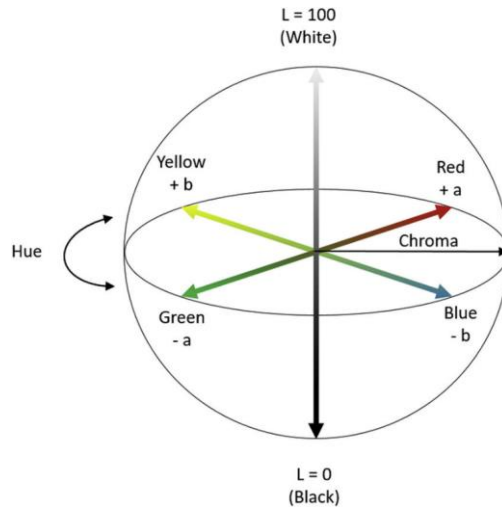


Figura 33. Escala Cielab para color (Ly et al., 2020).

Donde L representa la luminosidad, a las coordenadas de +a para rojo y -a para el verde, +b para el amarillo y -b para el azul. En la industria se aprecia mucho los colores de los productos y que estos se mantengan estables en el tiempo, la medida de cada parámetro y sus ANOVAS se muestran en el anexo K, L y M. Estos datos

se emplearon para calcular el índice de color empleando la ecuación 4, con el fin de evaluar su evolución a diferentes días.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

$$\Delta L = L_0 - L_I; \Delta a = a_0 - a_I; \Delta b = b_0 - b_I$$

Ecuación 4

Donde L_0 es la coordenada de la luminosidad final y L_I es la coordenada de la luminosidad inicial, y así para el resto de coordenadas o parámetros a y b (Piroozi et al., 2023).

En la figura 33, se hizo una ANOVA y un boxplot, con los datos de ΔE , donde el ungüento con el extracto y el ungüento con extracto-agregado de plata, hace que el color de la formulación no se estabilice, incluso 22 días después de su construcción, donde la formulación con agua o blanco si se mantuvo estable, lo anterior muestra que la incorporación de la plata puede generar cambios asociados a fotosensibilidad de la plata, lo anterior llevaría a investigar posteriormente propiedades de empaque (Baertschi et al., 2015; Tang et al., 2020)

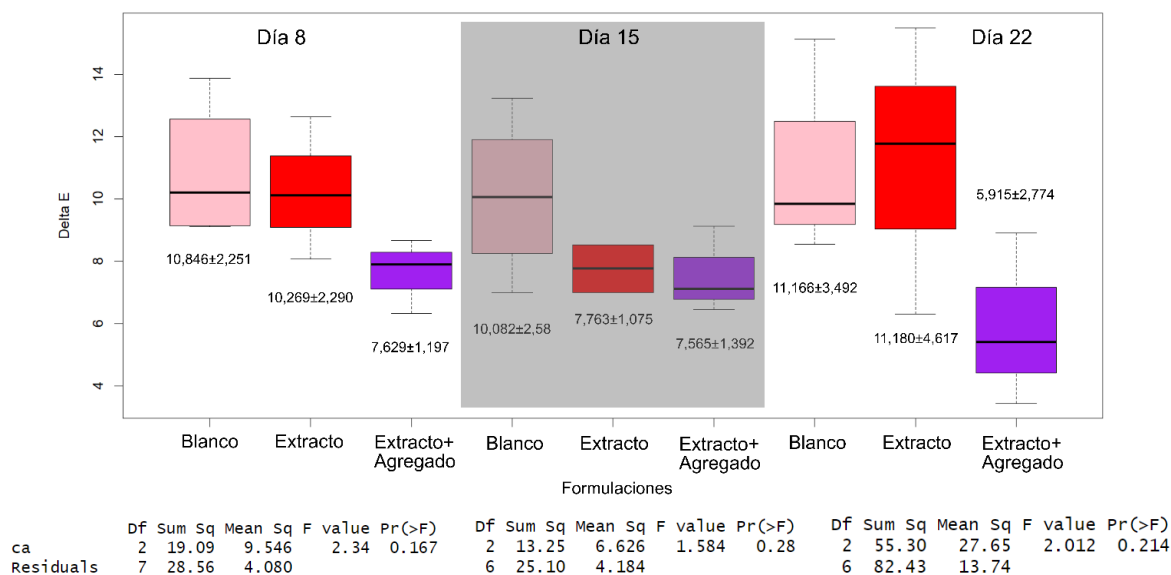


Figura 34. Boxplot y ANOVA para ΔE , para los distintos ungüentos contruidos con agua (blanco), extracto y el extracto con el agregado de plata en distintos días, día 8 después de su construcción, día 15 y día 22.

Estudiada la estabilidad a condiciones del laboratorio de Biocalorimetría en Pamplona, se procedió a hacer un estudio a diferentes condiciones.

4.6.4 Estabilidad de los ungüentos en distintos ambientes

También se evaluaron los ungüentos en distintos ambientes, como humedad, ambiente cerrado y cálido, ambiente oscuro y a temperatura ambiente, donde se

hizo un seguimiento por pérdida o ganancia de peso y espectros ATR-FTIR cada 8 días.

4.6.4.1 Control de peso en distintos ambientes

En la figura 34 se puede apreciar los cambios de los pesos de las formulaciones a lo largo de 16 días, como se explica en la descripción de la imagen, donde se pudo observar que en un ambiente de humedad al 70% hecho con KBr, las formulaciones no se estabilizaron incluso 16 días después de su elaboración, sino que fueron perdiendo peso, debido a que estas muestras se equilibraron con la humedad de este ambiente, perdiendo humedad, y así cambiando su peso, pero a pesar que perdió agua no se separaron las fases ni cambio su homogeneidad, también esta atmósfera pudo oxidar ciertos componentes dentro de la formulación (Shafaat et al., 2013). En un ambiente a 19°C oscuro, se vio una estabilización, después de 10 días, en cambio en un ambiente cerrado y cálido los ungüentos se estabilizaron mejor después de 9 días. Lo anterior demuestra que la formulación prefiere condiciones cálidas y de baja humedad.

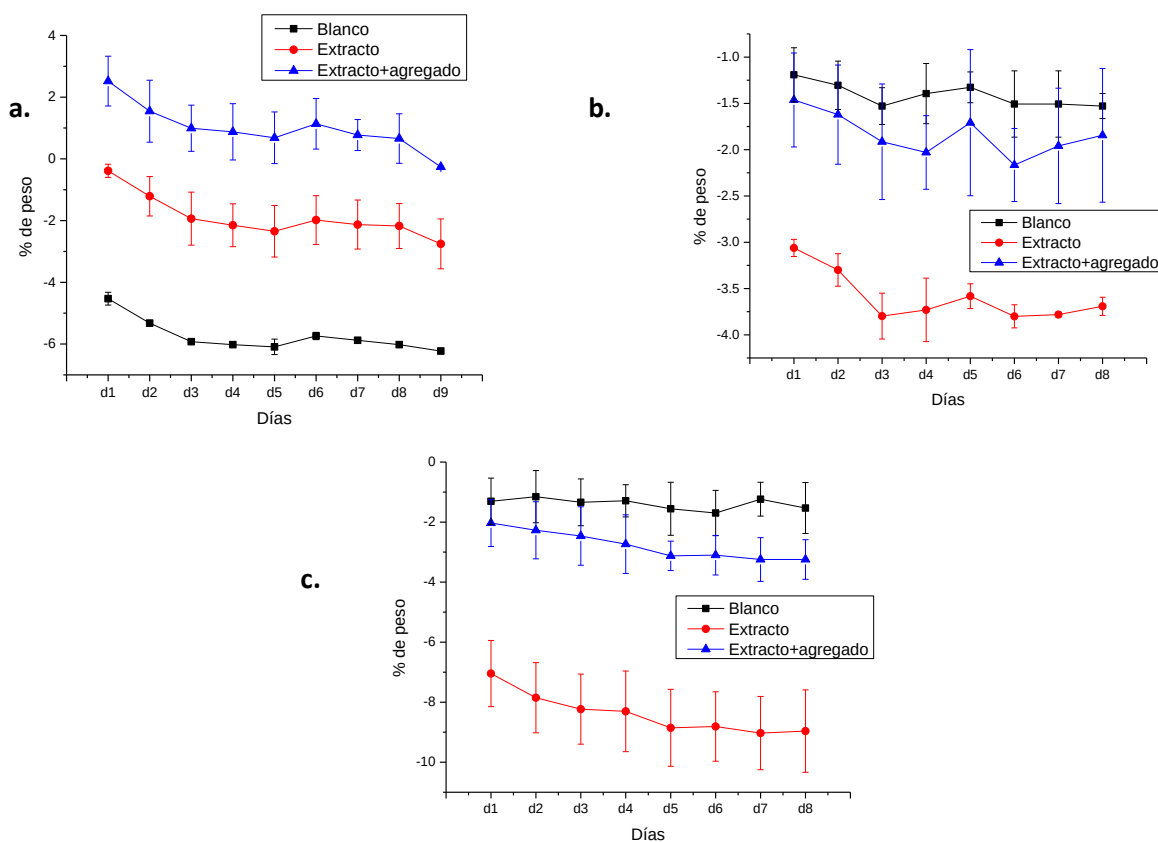


Figura 35. (a) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a un ambiente húmedo con KBr. (b) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a temperatura ambiente de 19°C, en un lugar oscuro. (c) Porcentaje de peso perdido o ganado de las formulaciones sometidas a un ambiente cerrado herméticamente y caliente. En humedad d1: peso después de 2 días de la construcción del ungüento, d2: 3 días, d3: 4 días, d4: 7 días, d5: 8 días, d6: 9 días, d7: 10 días, d8: 15 días, d9: 16 días. Para temperatura ambiente y ambiente cerrado d1: 3 días después de construida la formulación, d2: 4 días, d3: 7 días, d4: 8 días, d5: 9 días, d6: 10 días, d7: 15 días, d8: 16 días.

Para continuar con el estudio, se procedió al análisis por ATR-FTIR.

4.6.4.2 PCA en distintos ambientes

En la figura 35. se muestra el PCA donde muestra la diferencia de los espectros de los ungüentos con los agregados de plata, en diferentes ambientes. Donde las regiones utilizadas para este análisis estadístico, se redujeron a dos componentes principales, los cuales para el ambiente con temperatura de 19°C representan el 36,4% y el 21,5%, de la varianza respectivamente. Para el ambiente húmedo representó el 41,3% y 19,9%; para el ambiente cerrado el 39,3% y 28,7% para las dos primeras componentes, donde se puede ver una clara separación por los días en que se tomaron los espectros, los cuales tienden a agruparse por días, este mismo tratamiento estadístico se realizó para el blanco y el ungüento con extracto, sus PCA se pueden ver en los anexos O, P y Q.

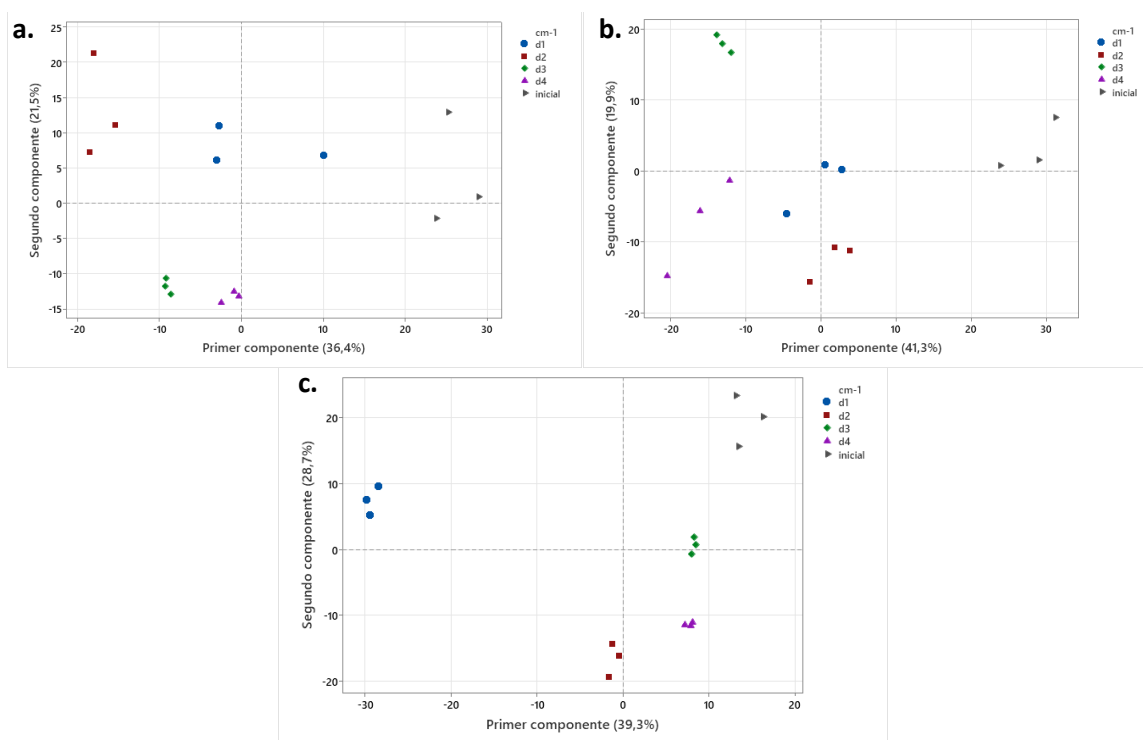


Figura 36. (a) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente con temperatura de 19°C y oscuridad, en diferentes días. (b) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente húmedo con KBr. (c) PCA del ungüento construido con extracto + agregado de plata en un ambiente cerrado y cálido. (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después), en las regiones de 3700-2700 cm^{-1} y 1800-550 cm^{-1} de la segunda derivada de los espectros IR.

En la figura 36 se puede ver el dendograma, el cual en los tres ambientes logró separar el ungüento antes de empezar el ensayo de los distintos ambientes (inicial), de los espectros del ungüento después de someterlo a los ambientes antes mencionados. En el caso del ambiente a 19°C, logró agrupar el d1 y el d4 (ver

códigos “d”, en la descripción de la figura 35), y el d2 con d3; en ambiente húmedo, se agruparon d1 con d2 y d3 con d4; en ambiente cerrado tuvieron la misma agrupación. Esto se repitió para el blanco y el ungüento con extracto (en anexo O, P y Q).

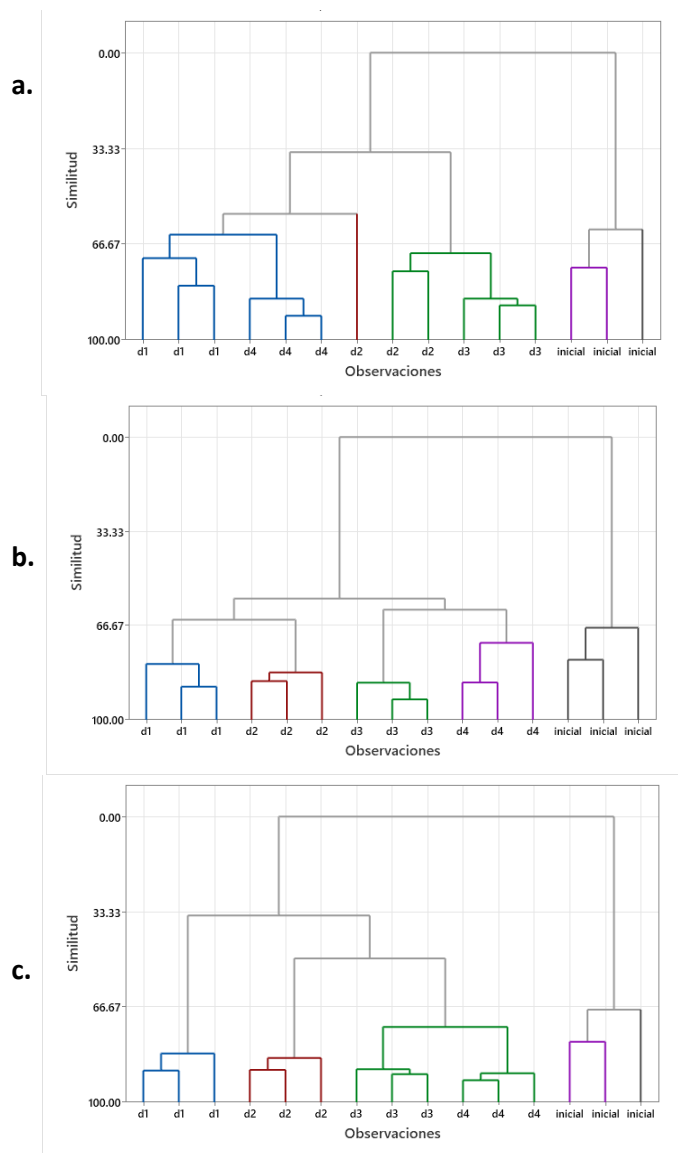


Figura 37. (a) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente con temperatura de 19°C y oscuridad. (b) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente húmedo con KBr. (c) Dendograma del ungüento con extracto + agregado de plata en un ambiente cerrado y cálido. En las regiones de $3700\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ y $1800\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ de la segunda derivada de los espectros IR.

Como se explicó anteriormente, existe una clasificación de los datos por días, para tratar de hacer un seguimiento y una explicación al ordenamiento del PCA, se propone, hacer seguimiento mediante la segunda derivada de dos regiones de $2940\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ y $1076\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$. La primera es típica de ungüentos, ya que corresponden a enlaces carbono-hidrógeno, esta región, como se ve en la figura 37,

no hubo mucha variación de las áreas en los días en el que se tomaron los ensayos, en cambio en la segunda región, correspondiente a vibraciones de estiramiento de enlaces carbono-oxígeno, si se pueden observar pequeñas variaciones en el área. Se eligió esta región, ya que, si había, una variación, se podía atribuir a cambios en los flavonoides presentes en el ungüento, donde estos se podrían estar degradando o agregándose, incluso su exposición a la luz (Chaaban et al., 2017). En el ungüento con el extracto y el agregado de plata, presentaron variaciones en el área sobre todo a temperatura ambiente, las cuales se pueden atribuir a varias hipótesis sobre todo en lo que se refiere a la interacción plata-flavonoides dentro del ungüento, los cuales podrían ayudar al crecimiento de los agregados de plata, o la presencia de esta estar alterando los flavonoides como oxidándolos. Estas interacciones, sería muy interesante estudiarlas a posterior. Cabe resaltar que se tomaron picos hacia abajo, por lo tanto, se aplicó la metodología de 1+ área de la segunda derivada.

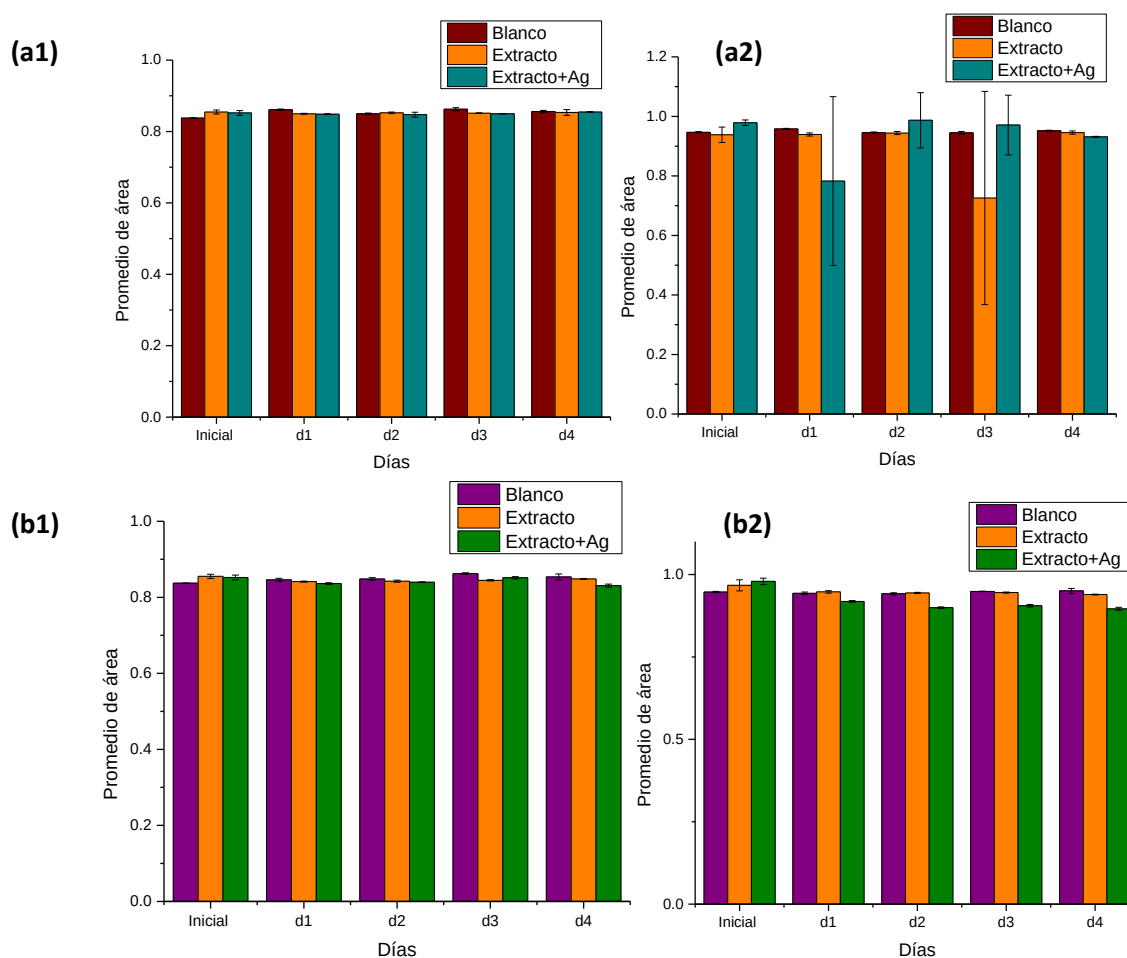


Figura 38. Días vs área de las regiones o picos seleccionados, para hacer seguimiento de áreas. Temperatura ambiente de 19°C en (a1) región de 2940-2900 cm⁻¹, (a2) región 1076-1050 cm⁻¹. Ambiente húmedo con KBr en (b1) región de 2940-2900 cm⁻¹, (b2) región 1076-1050 cm⁻¹. (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después).

CONCLUSIONES

A partir de la cebolla cabezona roja (*Allium Cepa L.*) se logró establecer que presenta diferentes porcentajes de proporción en peso para cada capa y que la composición química en cuanto al contenido de flavonoides, en especial quercetinas en su forma glucosilada presenta diferencias para las capas 1 y 2 siendo distintas al resto de capas, esto por los espectros UV-vis, y diferencia entre la capa 1 y las capas 3, 4, 5, 6, 7 y 8, por ATR-FTIR, mostrándose una separación en el PCA.

La extracción de compuestos bioactivos del tipo quercetina y sus derivados glicosilados se logró para los métodos de extracción mecánica, microondas y ultrasonido, las cuales mostraron abundancia relativa en GC-MS y UV-vis similares para cada uno de los métodos estudiados, lo cual llevó a la investigación a elegir la extracción mecánica por su facilidad instrumental de escalado.

A partir de los extractos de cebolla roja para la capa 1 se logró sintetizar agregados de plata con un tamaño de 17,76, 52,42 y 95,79 nm, de acuerdo a su característica de absorción en UV-vis ocasionado por el plasmon.

Se logró la construcción de formulación tipo ungüento con extracto de cebolla roja, con extracto + agregados de plata y sin ninguno de los dos (Blanco), obteniendo un material ceroso, homogéneo en color y textura densa, con un pH alrededor de 5,6, con una estabilidad química variable para el material con agregados de plata en aspectos como el color por en un periodo de observación de 38 días.

RECOMENDACIONES

Se recomienda estudiar la evolución del tamaño de los agregados de plata por técnicas de análisis como microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Hacer un estudio de la mejor forma para empacar la formulación, ya que, tanto flavonoides como el agregado de plata son fotosensibles y con la luz podrán llegar a tener cambios e interacciones químicas dentro de la formulación.

Hacer pruebas microbiológicas del tipo bactericidas y/o antibacteriales a los ungüentos en especial el ungüento con el extracto y el agregado de plata, tanto para una bacteria Grampositiva como Gramnegativa.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, N., Ghaneialvar, H., Moradi, R., Zangeneh, M. M., & Zangeneh, A. (2021). Formulation and characterization of a novel cutaneous wound healing ointment by silver nanoparticles containing *Citrus lemon* leaf: A chemobiological study. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7), 103246. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103246>
- Agronet inicio.* (s/f). Recuperado el 16 de noviembre de 2023, de <https://www.agronet.gov.co/Paginas/inicio.aspx>
- Aguilar, L., Hernández, J., López-Giraldo, L. J., & Mercado, R. (2023). Effect of Incorporating a Biowax Derived from Hydroprocessing of Crude Palm Oil in a Facial Cream and a Blemish Balm Cream. *Cosmetics*, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10050123>
- Akombaetwa, N., Muungo, L. T., Nyirenda, J., Muwowo, S., Chichonyi, A. K., Mukosha, M., & Mwila, C. (2023). Formulación y evaluación de la eficacia y estabilidad de un ungüento que contiene extracto de *Ocimum americanum* L. *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 3(1), 100078. <https://doi.org/10.1016/j.ccmp.2022.100078>
- Alemzadeh, E., Karamian, M., Abedi, F., & Hanafi-Bojd, M. Y. (2022). Topical treatment of cutaneous leishmaniasis lesions using quercetin/ Artemisia-capped silver nanoparticles ointment: Modulation of inflammatory response. *Acta Tropica*, 228, 106325. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106325>
- Ali, G., Khan, A., Shahzad, A., Alhodaib, A., Qasim, M., Naz, I., & Rehman, A. (2022). Phytogetic-mediated silver nanoparticles using *Persicaria hydropiper* extracts and its catalytic activity against multidrug resistant bacteria. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(9), 104053. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104053>

- Ali, N. B., Abdelhamid Ibrahim, S. S., Alsherbiny, M. A., Sheta, E., El-Shiekh, R. A., Ashour, R. M., El-Gazar, A. A., Ragab, G. M., El-Gayed, S. H., Li, C. G., & Abdel-Sattar, E. (2024). Gastroprotective potential of red onion (*Allium cepa* L.) peel in ethanol-induced gastric injury in rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and HMGB-1/NF- κ B trajectories. *Journal of Ethnopharmacology*, 319, 117115. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117115>
- Allium cepa* L. (s/f). Recuperado el 19 de noviembre de 2023, de <https://www.gbif.org/species/2857697>
- Alshahrani, A. A., Alqarni, L. S., Alghamdi, M. D., Alotaibi, N. F., Moustafa, S. M. N., & Nassar, A. M. (2024a). Phytosynthesis via wasted onion peel extract of samarium oxide/silver core/shell nanoparticles for excellent inhibition of microbes. *Heliyon*, 10(3), e24815. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24815>
- Alshahrani, A. A., Alqarni, L. S., Alghamdi, M. D., Alotaibi, N. F., Moustafa, S. M. N., & Nassar, A. M. (2024b). Phytosynthesis via wasted onion peel extract of samarium oxide/silver core/shell nanoparticles for excellent inhibition of microbes. *Heliyon*, 10(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24815>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Baertschi, S. W., Clapham, D., Foti, C., Kleinman, M. H., Kristensen, S., Reed, R. A., Templeton, A. C., & Tønnesen, H. H. (2015). Implications of In-Use Photostability: Proposed Guidance for Photostability Testing and Labeling to Support the Administration of Photosensitive Pharmaceutical Products, Part 2: Topical Drug Product. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(9), 2688–2701. <https://doi.org/10.1002/jps.24396>

- Bains, A., Sridhar, K., Singh, B. N., Kuhad, R. C., Chawla, P., & Sharma, M. (2023). Valorization of onion peel waste: From trash to treasure. *Chemosphere*, 343, 140178. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140178>
- Balavandy, S. K., Shameli, K., Biak, D. R. B. A., & Abidin, Z. Z. (2014). Stirring time effect of silver nanoparticles prepared in glutathione mediated by green method. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 11. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-11>
- Bao, Q., & Burgess, D. J. (2018). Perspectives on Physicochemical and In Vitro Profiling of Ophthalmic Ointments. *Pharmaceutical Research*, 35(12), 234. <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2513-3>
- Ben-Ali, S., Akermi, A., Mabrouk, M., & Ouederni, A. (2018). Optimization of extraction process and chemical characterization of pomegranate peel extract. *Chemical Papers*, 72(8), 2087–2100. <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0427-5>
- Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., López-Andréu, F. J., Cools, K., Terry, L. A., & Esteban, R. M. (2011). Characterization of industrial onion wastes (*Allium cepa* L.): Dietary fibre and bioactive compounds. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 66(1), 48–57. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0212-x>
- Benito-Román, Ó., Blanco, B., Sanz, M. T., & Beltrán, S. (2021). Extracto liofilizado de residuos cutáneos de cebolla (*Allium cepa* cv. Horcal): Intensificación de la extracción e identificación de flavonoides. *Food and Bioproducts Processing*, 130, 92–105. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.005>
- Bergfreund, J., Bertsch, P., & Fischer, P. (2021). Effect of the hydrophobic phase on interfacial phenomena of surfactants, proteins, and particles at fluid interfaces. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 56, 101509. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101509>

- Bharadwaj, K. K., Rabha, B., Pati, S., Choudhury, B. K., Sarkar, T., Gogoi, S. K., Kakati, N., Baishya, D., Kari, Z. A., & Edinur, H. A. (2021). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Diospyros malabarica Fruit Extract and Assessments of Their Antimicrobial, Anticancer and Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol (4-NP). *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(8), 1999. <https://doi.org/10.3390/nano11081999>
- Boccalon, E., Sassi, P., Pioppi, L., Ricci, A., Marinozzi, M., Gorrasi, G., & Nocchetti, M. (2022). Onion skin extract immobilized on Halloysite-layered double hydroxide filler as active pH indicator for food packaging. *Applied Clay Science*, 227, 106592. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2022.106592>
- Bosa, G., Silva, C., Brito, B., Terzi, C., Wypych, F., & Nakagaki, S. (2023). Revisiting the Synthesis of Gibbsite, a Precursor for Li/Al LDH Synthesis and Its Use as a Support for Porphyrin Immobilization. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 35. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230095>
- Bouqellah, N. A., Mohamed, M. M., & Ibrahim, Y. (2019). Synthesis of eco-friendly silver nanoparticles using Allium sp. And their antimicrobial potential on selected vaginal bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1789–1794. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.001>
- Burbano Morales, J. E. (2022). *Descripción de las principales enfermedades en cultivo cebolla (Allium cepa L.) y sus métodos de control* [bachelorThesis, BABAHOYO: UTB, 2022]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/13360>
- Butter, S., Sci, P., Biophy, lyasele, J., Oseni, N., & Oe, U. (2019). *Physical Science & Biophysics Journal Rheological and Microstructural Properties of Thermal and Mechanically Treated Rheological and Microstructural Properties of Thermal and Mechanically Treated Shea Butter.*

- Carine Raddatz, G., Sonza Pinto, V., Queiroz Zepka, L., Smanioto Barin, J., José Cichoski, A., de Bona da Silva, C., Lozano-Sánchez, J., Gomes da Cruz, A., & Ragagnin de Menezes, C. (2022). Use of red onion (*Allium cepa* L.) residue extract in the co-microencapsulation of probiotics added to a vegan product. *Food Research International*, 161, 111854. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111854>
- Carneiro, R. L., & Poppi, R. J. (2012). Homogeneity study of ointment dosage forms by infrared imaging spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 58, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.09.031>
- Carpentieri, S., Soltanipour, F., Ferrari, G., Pataro, G., & Donsì, F. (2021). Emerging Green Techniques for the Extraction of Antioxidants from Agri-Food By-Products as Promising Ingredients for the Food Industry. *Antioxidants*, 10, 1417. <https://doi.org/10.3390/antiox10091417>
- CFR - Code of Federal Regulations Title 21. (s/f). Recuperado el 19 de octubre de 2023, de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=347&showFR=1>
- Chaaban, H., Ioannou, I., Paris, C., Charbonnel, C., & Ghoul, M. (2017). The photostability of flavanones, flavonols and flavones and evolution of their antioxidant activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 336, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.12.027>
- Chadorshabi, S., Hallaj-Nezhadi, S., & Ghasempour, Z. (2022). Red onion skin active ingredients, extraction and biological properties for functional food applications. *Food Chemistry*, 386, 132737. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132737>
- Charles, D. J. (2013). Onion. En D. J. Charles (Ed.), *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources* (pp. 435–448). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4310-0_42

- Chebbi, S., Allouache, A., Schwarz, M., Rabhi, S., Belkacemi, H., & Merabet, D. (2018). Treatment of produced water by induced air flotation: Effect of both TWEEN 80 and ethanol concentrations on the recovery of PAHS. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 17, 181–192. <https://doi.org/10.2478/nbec-2018-0019>
- Chen, L., Cao, H., Huang, Q., Xiao, J., & Teng, H. (2022). Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(28), 7730–7742. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1917508>
- da Cruz, E. P., Jansen, E. T., Costa, L. de V., Souza, E. J. D. de, Fonseca, L. M., Gandra, E. A., Zavareze, E. da R., & Dias, A. R. G. (2023). Uso de piel de cebolla morada (*Allium cepa* L.) en la producción de extracto bioactivo y aplicación en criogeles absorbentes de agua a base de almidón de maíz. *Food Hydrocolloids*, 145, 109133. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109133>
- Darweesh, M. A., Emam, S. M., Wahba, A. M., Ayad, M. I., El-Nahass, M. N., Abd-Elhamied, A. S., & Hammad, W. A. (2024). Onion peel Extract/Copper oxide nanoparticles as corrosion inhibitors for carbon steel in hydrochloric Acid: Extraction, Characterization, electrochemical Study, and theoretical explorations. *Results in Chemistry*, 101626. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101626>
- Dhaka, A., Chand Mali, S., Sharma, S., & Trivedi, R. (2023). A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. *Results in Chemistry*, 6, 101108. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101108>
- Ehtesabi, H., Fayaz, M., Hosseini-Doabi, F., & Rezaei, P. (2023). The application of green synthesis nanoparticles in wound healing: A review. *Materials Today Sustainability*, 21, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2022.100272>

- Elattar, M. M., Darwish, R. S., Hammoda, H. M., & Dawood, H. M. (2024). An ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological overview of onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 324, 117779. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.117779>
- Estevan, D. B., Martínez, C. R. M., & Tomé, M. J. M. (s/f). *TRABAJO FIN DE GRADO*.
- Etienne, G., Vian, A., Biočanin, M., Deplancke, B., & Amstad, E. (2018). Cross-talk between emulsion drops: How are hydrophilic reagents transported across oil phases? *Lab on a Chip*, 18(24), 3903–3912. <https://doi.org/10.1039/C8LC01000E>
- F, F. P., V, K. P., T, A. R., N, E. J., F, F. L., O, L. M., A, K. V., & M, A. D. (s/f). SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA USANDO EL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE AJO (*Allium sativum*). *infoANALÍTICA*, 7(2), 41–55.
- FAOSTAT. (s/f). Recuperado el 16 de noviembre de 2023, de <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Faraji, N., Parizad, N., Goli, R., Nikkhah, F., & Golhkar, M. (2023). Fighting diabetic foot ulcer by combination therapy, including larva therapy, Medi honey ointment, and silver alginate dressings: A case report. *International Journal of Surgery Case Reports*, 113, 109055. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2023.109055>
- Félix, G., Soto-Robles, C. A., Nava, E., & Lugo-Medina, E. (2021). Principal Metabolites in Extracts of Different Plants Responsible for Antibacterial Effects. *Chemical Research in Toxicology*, 34(9), 1970–1983. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00161>
- Ferreira, M. R. A., Santiago, R. R., de Souza, T. P., Egito, E. S. T., Oliveira, E. E., & Soares, L. A. L. (2010). Development and Evaluation of Emulsions from Carapa guianensis (Andiroba) Oil. *AAPS PharmSciTech*, 11(3), 1383–1390. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9491-z>
- Firoozi, S., Jamzad, M., & Yari, M. (2016). Biologically synthesized silver nanoparticles by aqueous extract of *Satureja intermedia* C.A. Mey and the evaluation of total phenolic and flavonoid

- contents and antioxidant activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6(4), 357–364.
<https://doi.org/10.1007/s40097-016-0207-0>
- Gadhve, A. (2014). *Determination of Hydrophilic-Lipophilic Balance Value*. 3(4).
- Gescher, A. (2002, mayo 1). *Metabolism of N,N-dimethylformamide: Key to the understanding of its toxicity* (world). ACS Publications; American Chemical Society.
<https://doi.org/10.1021/tx00033a001>
- Gibbons, S. (2008). Phytochemicals for bacterial resistance—Strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Medica*, 74(6), 594–602. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1074518>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1-F1.2.13.
<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Golonka, I., Wilk, S., & Musial, W. (2020). The Influence of UV Radiation on the Degradation of Pharmaceutical Formulations Containing Quercetin. *Molecules*, 25, 5454.
<https://doi.org/10.3390/molecules25225454>
- González-Peña, D., Dudzik, D., Colina-Coca, C., de Ancos, B., García, A., Barbas, C., & Sánchez-Moreno, C. (2015). Evaluation of onion as a functional ingredient in the prevention of metabolic impairments associated to diet-induced hypercholesterolaemia using a multiplatform approach based on LC-MS, CE-MS and GC-MS. *Journal of Functional Foods*, 19, 363–375. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.033>
- Griffiths, G., Trueman, L., Crowther, T., Thomas, B., & Smith, B. (2002). Onions—A global benefit to health. *Phytotherapy Research: PTR*, 16(7), 603–615. <https://doi.org/10.1002/ptr.1222>
- Gupta, A., Briffa, S. M., Swingler, S., Gibson, H., Kannappan, V., Adamus, G., Kowalczyk, M., Martin, C., & Radecka, I. (2020). Synthesis of Silver Nanoparticles Using Curcumin-Cyclodextrins

- Loaded into Bacterial Cellulose-Based Hydrogels for Wound Dressing Applications. *Biomacromolecules*, 21(5), 1802–1811. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01724>
- Gupta, A. J., Benke, A. P., Mahajan, V., Chauhan, H., & Singh, M. (2024). Assessment of genetic diversity and stability performance of 38 genotypes of onion (*Allium cepa* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1080/14620316.2024.2315941>
- Hadjadj, Y., Ghunem, R., & Fofana, I. (2021). *Decomposition Kinetics of Natural Ester and Mineral Oil from Thermogravimetric Analyses* (p. 142). <https://doi.org/10.1109/CEIDP50766.2021.9705355>
- Haiss, W., Thanh, N. T. K., Aveyard, J., & Fernig, D. G. (2007). Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV–Vis Spectra. *Analytical Chemistry*, 79(11), 4215–4221. <https://doi.org/10.1021/ac0702084>
- Hasan, Md. M. & Fatema-Tuj-Zohra. (2024). Residuos valorizados de cáscara de cebolla (*Allium cepa*) y palo de yute (*Chorchorus olitorius*) tratados con ácido oxálico para la eliminación de colorantes de efluentes de curtiembres. *Desalination and Water Treatment*, 319, 100554. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100554>
- Headlee, C. P. (1958). Ointment bases. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Practical Pharmacy ed.)*, 19(7), 426–427. [https://doi.org/10.1016/S0095-9561\(15\)30238-3](https://doi.org/10.1016/S0095-9561(15)30238-3)
- Huang, X., Alva, G., Liu, L., & Fang, G. (2017). Microstructure and thermal properties of cetyl alcohol/high density polyethylene composite phase change materials with carbon fiber as shape-stabilized thermal storage materials. *Applied Energy*, 200, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.05.074>
- Huynh Luu, N.-D., Dang, L. H., Vo Le, T.-V., Ngoc Do, T.-D., Thi Nguyen, T.-T., Thi Nguyen, T. T., Nguyen, T. P., Hoang, L. S., & Tran, N. Q. (2023). Topical cream based on nanoformulation

- of *Chromolaena odorata* extract for accelerating burn wound healing. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 82, 104360. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104360>
- Irfan, M., Moniruzzaman, M., Ahmad, T., Mandal, P. C., Bhattacharjee, S., & Abdullah, B. (2017). Extracción iónica líquida de flavonoides de hojas de *Elaeis guineensis* y sus aplicaciones para la síntesis de nanopartículas de oro. *Journal of Molecular Liquids*, 241, 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.05.151>
- Jain, S., & Mehata, M. S. (2017). Medicinal Plant Leaf Extract and Pure Flavonoid Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and their Enhanced Antibacterial Property. *Scientific Reports*, 7(1), 15867. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15724-8>
- Jo, S., Song, Y., Jeong, J.-H., Hwang, J., & Kim, Y. (2020). Geographical discrimination of *Allium* species (garlic and onion) using ¹H NMR spectroscopy with multivariate analysis. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 241–254. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1722160>
- Khalilzadeh, M. A., & Borzoo, M. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using onion extract and their application for the preparation of a modified electrode for determination of ascorbic acid. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(4), 796–803. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.05.004>
- Khandagale, K., & Gawande, S. (2019). Genetics of bulb colour variation and flavonoids in onion. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(4), 522–532. <https://doi.org/10.1080/14620316.2018.1543558>
- Kiani, B. H., Arshad, I., Najeeb, S., Okla, M. K., Almanaa, T. N., Al-Qahtani, W. H., & Abdel-Maksoud, M. A. (2023). Evaluation of Biogenic Silver Nanoparticles Synthesized from Vegetable Waste. *International Journal of Nanomedicine*, 18, 6527–6544. <https://doi.org/10.2147/IJN.S432252>

- Kitagawa, S., Yutani, R., Kodani, R., & Teraoka, R. (2016). Differences in the rheological properties and mixing compatibility with heparinoid cream of brand name and generic steroidal ointments: The effects of their surfactants. *Results in Pharma Sciences*, 6, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.rinphs.2016.02.001>
- Kshetrimayum, V., Chanu, K. D., Biona, T., Kar, A., Haldar, P. K., Mukherjee, P. K., & Sharma, N. (2024). La pomada infundida con extracto caracterizado por *Paris polyphylla* Sm. Acelera la cicatrización de heridas diabéticas en un modelo in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 331, 118296. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118296>
- Kubendiran, L., Theerthagiri, S., Al-Dhabi, N. A., Palaninaicker, S., Subramanian, S. M., Srinivasan, V., & Karuppiiah, P. (2023). In vitro preparation of biosurfactant based herbal-nano topical ointment from *Tridax procumbens* infused oil using gelatin stabilized silver nanoparticle and its efficacy on fibroblastic cell lines. *Applied Nanoscience*, 13(1), 719–734. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01896-3>
- Kumar, M., Barbhai, M. D., Hasan, M., Punia, S., Dhumal, S., Radha, Rais, N., Chandran, D., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Tomar, M., Satankar, V., Senapathy, M., Anitha, T., Dey, A., Sayed, A. A. S., Gadallah, F. M., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2022). Onion (*Allium cepa* L.) peels: A review on bioactive compounds and biomedical activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112498. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112498>
- Kumar, S., Singh, A., & Kumar, B. (2017). Identification and characterization of phenolics and terpenoids from ethanolic extracts of *Phyllanthus* species by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(4), 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.01.005>

- Lukić, M., Pantelić, I., & Savić, S. D. (2021). Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. *Cosmetics*, 8(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8030069>
- Ly, B., Dyer, E., Feig, J., Chien, A., & Bino, S. (2020). Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *The Journal of investigative dermatology*, 140, 3-12.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
- Majhi, S. (2021). Applications of ultrasound in total synthesis of bioactive natural products: A promising green tool. *Ultrasonics Sonochemistry*, 77, 105665. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105665>
- Manjamadha, V. P., & Muthukumar, K. (2016). Ultrasound assisted green synthesis of silver nanoparticles using weed plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(3), 401–411. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1523-3>
- Marquilles Bonet, C., Alexandre Lozano, S., & Real Gatus, J. (2015). Prevalencia de infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en heridas crónicas en atención primaria de Lleida: Estudio retrospectivo. *Gerokomos*, 26(4), 157–161.
- Martínez-Esquivias, F., Guzmán-Flores, J. M., & Perez-Larios, A. (2023). Antimicrobial activity of green synthesized Se nanoparticles using ginger and onion extract: A laboratory and in silico analysis. *Particulate Science and Technology*, 41(3), 319–329. <https://doi.org/10.1080/02726351.2022.2088432>
- McCallum, J. (2007). Onion. En C. Kole (Ed.), *Vegetables* (pp. 331–347). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34536-7_11
- McLoughlin, I. J., Wright, E. M., Tagg, J. R., Jain, R., & Hale, J. D. F. (2022). Skin Microbiome—The Next Frontier for Probiotic Intervention. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(4), 630–647. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09824-1>

- Megnanou, R.-M., & Niamke, S. (2015). Improving the optimized shea butter quality: A great potential of utilization for common consumers and industrials. *SpringerPlus*, 4, 667. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1454-0>
- Mekjaruskul, C., O'Reilly Beringhs, A., Qin, B., Wang, Y., & Lu, X. (2024). Impacto de las variables de ingredientes farmacéuticos activos y la base oleaginosa en la liberación *in vitro* de ungüentos oftálmicos: Una investigación que utiliza dexametasona como fármaco modelo. *International Journal of Pharmaceutics*, 658, 124184. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124184>
- Miloudi, L., Bonnier, F., Barreau, K., Bertrand, D., Perse, X., Yvergnaux, F., Byrne, H. J., Chourpa, I., & Munnier, E. (2018). ATR-IR coupled to partial least squares regression (PLSR) for monitoring an encapsulated active molecule in complex semi-solid formulations. *Analyst*, 143(10), 2377–2389. <https://doi.org/10.1039/C8AN00547H>
- Miyasaka, K., Imai, Y., & Tajima, K. (2023). Formation of W/O emulsion using hydrophilic nanoparticles by three-phase emulsification and its energetic analysis. *Heliyon*, 9(4), e14798. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14798>
- Morrison, S., Sutton, K., Lister, C., & Mullen, W. (2003). *Identification of quercetin-4'-glucoside metabolites in rats using radiolabelling*.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & ur Rehman, Dr. I. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Musthaba, M., Baboota, S., Athar, T. M. D., Thajudeen, K. Y., Ahmed, S., & Ali, J. (2010). Patented herbal formulations and their therapeutic applications. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 4(3), 231–244. <https://doi.org/10.2174/187221110793237538>

- Nandiyanto, A., Ragadhita, R., Fiandini, M., & Ijost, I. (2023). Interpretation of Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR): A Practical Approach in the Polymer/Plastic Thermal Decomposition. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 8, 113–126. <https://doi.org/10.17509/ijost.v8i1.53297>
- Nemeth, K., & Piskula, M. K. (2007). Food Content, Processing, Absorption and Metabolism of Onion Flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 397–409. <https://doi.org/10.1080/10408390600846291>
- New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis.* (s/f). Recuperado el 13 de noviembre de 2023, de <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
- Nguyen, T. T. B., Nguyen, T. H., & Nguyen, X. T. (2022). Preparation and Antibacterial Evaluation of Polyethylene Glycol Ointment Containing In Situ Silver Chloride Nanoparticles. *BioNanoScience*, 12(1), 203–209. <https://doi.org/10.1007/s12668-021-00935-1>
- Nirmala, C., Bajwa, H. K., & Oinam, S. (2024). Bamboo mediated green synthesis of silver nanoparticles-A new approach towards utilization of an underutilized plant. *Advances in Bamboo Science*, 6, 100061. <https://doi.org/10.1016/j.bamboo.2024.100061>
- Ö, T., M.K. Ü., & yldırım, Z. (2003). HPLC-UV and GC-MS Characterization of the Flavonol Aglycons Quercetin, Kaempferol and Myricetin in Tomato Pastes and Other Tomato-Based Products. *Acta Chromatographica*, 13, 196–207.
- Pasquali, R., Sacco, N., & Bregni, C. (2009). The Studies on Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB): Sixty Years after William C. Griffin's Pioneer Work (1949-2009). *Latin American Journal of Pharmacy*, 28.

- Patra, J. K., Kwon, Y., & Baek, K.-H. (2016). Green biosynthesis of gold nanoparticles by onion peel extract: Synthesis, characterization and biological activities. *Advanced Powder Technology*, 27(5), 2204–2213. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2016.08.005>
- Peña-Juarez, M. G., Mayorga-Colunga, P. C., Rivera-Hernandez, C. A., Gutierrez-Castañeda, E. J., Navarrete-Damián, J., Pérez, E., & Gonzalez-Calderon, J. A. (2021). Feasibility of quercetin dietary supplement as reducing and stabilizing agent: Green route of silver nanoparticles using a bioactive flavonoid. *MRS Communications*, 11(4), 498–503. <https://doi.org/10.1557/s43579-021-00063-7>
- Perera, K. D. C., Weragoda, G. K., Haputhanthri, R., & Rodrigo, S. K. (2021). Study of concentration dependent curcumin interaction with serum biomolecules using ATR-FTIR spectroscopy combined with Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Square Regression (PLS-R). *Vibrational Spectroscopy*, 116, 103288. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2021.103288>
- Pérez-Gregorio, M. R., Regueiro, J., González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., & Simal-Gándara, J. (2011). Changes in antioxidant flavonoids during freeze-drying of red onions and subsequent storage. *Food Control*, 22(7), 1108–1113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.006>
- Pérez-Gregorio, M. R., Regueiro, J., Simal-Gándara, J., Rodrigues, A. S., & Almeida, D. P. F. (2014). Increasing the Added-Value of Onions as a Source of Antioxidant Flavonoids: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(8), 1050–1062. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.624283>
- Pérez-Gregorio, R. M., García-Falcón, M. S., Simal-Gándara, J., Rodrigues, A. S., & Almeida, D. P. F. (2010). Identification and quantification of flavonoids in traditional cultivars of red and white onions at harvest. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 592–598. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.013>

- Peter Wuelfing, W., Kosuda, K., Templeton, A. C., Harman, A., Mowery, M. D., & Reed, R. A. (2006). Polysorbate 80 UV/vis spectral and chromatographic characteristics – defining boundary conditions for use of the surfactant in dissolution analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(3), 774–782. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.020>
- Piroozi, M., Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Jooyandeh, H. (2023). Preparation of onion powder by freeze-thaw pretreatments: Influence of different thawing methods on drying kinetics and quality properties. *Food Chemistry Advances*, 2, 100325. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100325>
- Plan Nacional de Desarrollo 2022-2026. (s/f). Recuperado el 19 de octubre de 2023, de <https://www.dnp.gov.co:443/plan-nacional-desarrollo/pnd-2022-2026>
- PubChem. (s/f). *Quercetin 3,4'-diglucoside*. Recuperado el 25 de julio de 2024, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5320835>
- Química verde: Un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente. (s/f). Recuperado el 16 de noviembre de 2023, de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2009000400004
- Rahman, M. M., Koh, J., & Hong, K. H. (2022). Coloration and multi-functionalization of cotton fabrics using different combinations of aqueous natural plant extracts of onion peel, turmeric root, and pomegranate rind. *Industrial Crops and Products*, 188, 115562. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115562>
- Rahul, R., Maheswary, D., Damodharan, N., & Leela, K. V. (2023). Unveiling global public interest and seasonal patterns of antibiotics and antibiotic resistance: An infodemiology study with implications for public health awareness and intervention strategies. *International Journal of Medical Informatics*, 179, 105231. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2023.105231>

- Reddy, J. R. S. M., Kannan, K. P., Sankaran, K., Rengasamy, G., Priya, V. V., & Sathishkumar, P. (2023). Eradication of dental pathogens using flavonoid rutin mediated silver-selenium nanoparticles. *Inorganic Chemistry Communications*, 157, 111391. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111391>
- Requena, J., & Haydon, D. A. (1997). Van der Waals forces in oil—Water systems from the study of thin lipid films—II. The dependence of the van der Waals free energy of thinning on film composition and structure. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 347(1649), 161–177. <https://doi.org/10.1098/rspa.1975.0203>
- Ringnér, M. (2008). What is principal component analysis? *Nature Biotechnology*, 26(3), 303–304. <https://doi.org/10.1038/nbt0308-303>
- Rodríguez García, S. L., & Raghavan, V. (2022). Green extraction techniques from fruit and vegetable waste to obtain bioactive compounds—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(23), 6446–6466. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1901651>
- Rullán, G. J. F. (2012). CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA2. *Estación experimental agrícola universidad de Puerto Rico*, 156(1), 10.
- Ruta sonoquímica para la producción verde de nanopartículas de plata.* (s/f). Hielscher Ultrasonics. Recuperado el 18 de diciembre de 2023, de <https://www.hielscher.com/es/green-sonochemical-route-to-silver-nanoparticles.htm>
- Saengsorn, K., & Jimtaisong, A. (2017). Determination of hydrophilic–lipophilic balance value and emulsion properties of sachai oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1092–1096. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.10.011>
- Sagar, N. A., Kumar, Y., Singh, R., Nickhil, C., Kumar, D., Sharma, P., Om Pandey, H., Bhoj, S., & Tarafdar, A. (2022). Onion waste based-biorefinery for sustainable generation of value-

- added products. *Bioresource Technology*, 362, 127870.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127870>
- Salimi Shahraki, H., Qurtulen, & Ahmad, A. (2023). Synthesis, characterization of carbon dots from onion peel and their application as absorbent and anticancer activity. *Inorganic Chemistry Communications*, 150, 110514. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110514>
- Sanad, R. A. el B., & Mabrouk, M. I. (2016). Development and assessment of stable formulations containing two herbal antimicrobials: *Allium sativum* L. and *Eruca sativa* miller seed oils. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(6), 958–968.
<https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1096280>
- Santhosh, A., Theertha, V., Prakash, P., & Smitha Chandran, S. (2021). From waste to a value added product: Green synthesis of silver nanoparticles from onion peels together with its diverse applications. *Materials Today: Proceedings*, 46, 4460–4463.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.09.680>
- Salem, E., Mekky, A. F., Hassanein, W. A., Reda, F. M., & Selim, Y. A. (2022). Antibacterial and antibiofilm effects of silver nanoparticles against the uropathogen *Escherichia coli* U12. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(11), 103457.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103457>
- Sgroppo, S. C., de ANCOS, B., & Cano, M. P. (2005). *MODIFICACIONES DEL CONTENIDO EN QUERCETINA EN CEBO-LLAS POR ACCION DE MICROONDAS*. 21.
- Shafaat, K., Hussain, A., Kumar, B., Hasan, R., Prabhat, P., & Yadav, V. (2013). AN OVERVIEW: STORAGE OF PHARMACEUTICAL PRODUCTS. *WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES*, 2, 2499–2515.

- Shi, Y., Jin, H.-F., Wu, Y.-W., Zhu, S.-C., & Cao, J. (2024). β -Cyclodextrin-assisted mechanical inclusion extraction of lipophilic flavonoids and hydrophilic terpenoids from functional food. *Food Chemistry*, 437, 137829. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137829>
- Shittu, O. K., Oluyomi, O. I., & Gara, T. Y. (2021). Safety assessment of bio-synthesized iodine-doped silver nanoparticle wound ointment in experimental rats. *Clinical Phytoscience*, 7(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s40816-021-00314-z>
- Sifontes, Á. B., Melo, L., Maza, C., Mendes, J. J., Mediavilla, M., Brito, J. L., Zoltan, T., & Albornoz, A. (2010). Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polimeros estabilizantes. *Química Nova*, 33, 1266–1269. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600009>
- Sim, K. S., Kim, H., Hur, S. H., Na, T. W., Lee, J. H., & Kim, H. J. (2024). Geographical origin discriminatory analysis of onions: Chemometrics methods applied to ICP-OES and ICP-MS analysis. *Food Research International*, 175, 113676. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113676>
- Slewa, L. H. (2024). Antifungal films for strawberry packaging using carbon quantum dots derived from lemon and onion juice via green hydrothermal method. *Food Bioscience*, 61, 104653. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104653>
- Stoica, F., Rațu, R. N., Veleșcu, I. D., Stănciuc, N., & Râpeanu, G. (2023). A comprehensive review on bioactive compounds, health benefits, and potential food applications of onion (*Allium cepa* L.) skin waste. *Trends in Food Science & Technology*, 141, 104173. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104173>
- Tabassum, N., & Hamdani, M. (2014). Plants used to treat skin diseases. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15), 52–60. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125531>

- Tan, G., Tevlek, A., & Aydin, H. M. (2023). Comparison of garlic and onion extract-derived gold nanoparticles: Characterization and anticancer activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 84, 104542. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104542>
- Tan Sian Hui Abdullah, H. S., Aqlili Riana Mohd Asseri, S. N., Khursyiah Wan Mohamad, W. N., Kan, S.-Y., Azmi, A. A., Yong Julius, F. S., & Chia, P. W. (2021). Green synthesis, characterization and applications of silver nanoparticle mediated by the aqueous extract of red onion peel. *Environmental Pollution*, 271, 116295. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116295>
- Tang, Q., Chen, C., Jiang, Y., Huang, J., Liu, Y., Nthumba, P. M., Gu, G., Wu, X., Zhao, Y., & Ren, J. (2020). Engineering an adhesive based on photosensitive polymer hydrogels and silver nanoparticles for wound healing. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(26), 5756–5764. <https://doi.org/10.1039/D0TB00726A>
- Tarannum, N., Pooja, Km., Jakhar, S., & Mavi, A. (2024). Nanoparticles assisted intra and transdermic delivery of antifungal ointment: An updated review. *Discover Nano*, 19(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s11671-023-03932-3>
- Tesfaye, M., Gonfa, Y., Tadesse, G., Temesgen, T., & Periyasamy, S. (2023). Síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando extracto de la planta *Vernonia amygdalina* y sus actividades antimicrobianas. *Heliyon*, 9(6), e17356. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17356>
- Teshika, J. D., Zakariyyah, A. M., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K. R., Pandian, S. K., & Fawzi, M. M. (2019). Traditional and modern uses of onion bulb (*Allium cepa* L.): A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(sup1), S39–S70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1499074>
- Tewani, G. R., Silwal, K., Kriplani, S., Kodali, P. B., Sharma, H., & Nair, P. M. K. (2023). Role of raw onion juice therapy in improving sleep, quality of life and alleviating fatigue among older

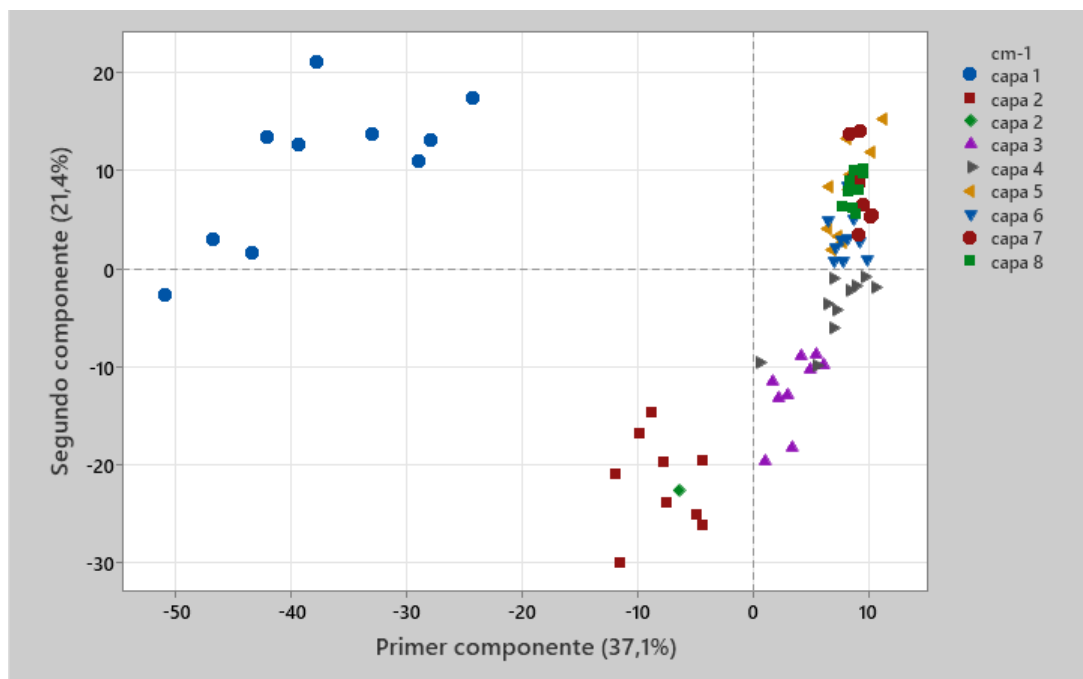
- adults: A triple blinded randomized placebo controlled trial. *Brain Behavior and Immunity Integrative*, 4, 100026. <https://doi.org/10.1016/j.bbii.2023.100026>
- Upadhyay, P., Mishra, S. K., Purohit, S., Dubey, G. P., Singh Chauhan, B., & Srikrishna, S. (2019). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of silver nanoparticles synthesized using flavonoid rich alcoholic leaves extract of *Reinwardtia indica*. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(1), 65–75. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1488859>
- Verma, M., Gahlot, N., Singh, S. S. J., & Rose, N. M. (2021). UV protection and antibacterial treatment of cellulosic fibre (cotton) using chitosan and onion skin dye. *Carbohydrate Polymers*, 257, 117612. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117612>
- Virk, P., Awad, M. A., Saleh Abdu-Ilah Alsaif, S., Hendi, A. A., Elobeid, M., Ortashi, K., Qindeel, R., El-Khadragy, M. F., Yehia, H. M., Ferkry Serag EL-DIN, M., & Ali Salama, H. (2023). Green synthesis of *Moringa oleifera* leaf nanoparticles and an assessment of their therapeutic potential. *Journal of King Saud University - Science*, 35(3), 102576. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102576>
- Wang, Z., Zhao, X., Zhao, D., Zu, Y., Wang, L., Wu, M., Wang, L., Liu, Y., & Zhang, Q. (2021). Ultrasonic microwave-assisted micellar extraction and purification of flavonoids from licorice by metal complex and antisolvent recrystallization. *LWT*, 147, 111501. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111501>
- Wu, H., Zhao, W., Zhou, J., Xie, X., Zhong, X., Liu, Y., & Shi, L. (2024). Extracción, análisis de actividades antioxidantes y características estructurales de flavonoides en frutos de *Diospyros lotus* L. *LWT*, 201, 116248. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116248>
- Yang, L., Li, P., Gao, Y., & Wu, D. (2010). Qualitative observation of chemical change rate for quercetin in basic medium characterized by time resolved UV–vis spectroscopy. *Journal of Molecular Liquids*, 151(2), 134–137. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2009.12.006>

- Yoo, K. S., Leskovar, D., Patil, B. S., & Lee, E. J. (2019). Effects of leaf cutting on bulb weight and pungency of short-day onions after lifting the plants. *Scientia Horticulturae*, 257, 108720. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108720>
- Yüce-tepe, M., Tuğba Özaslan, Z., Karakuş, M. Ş., Akalan, M., Karaaslan, A., Karaaslan, M., & Başıyigit, B. (2024). Unveiling the multifaceted world of anthocyanins: Biosynthesis pathway, natural sources, extraction methods, copigmentation, encapsulation techniques, and future food applications. *Food Research International*, 187, 114437. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114437>
- Yusoff, I. M., Mat Taher, Z., Rahmat, Z., & Chua, L. S. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, 157, 111268. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111268>
- Zafar, A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2019). Biofabrication of silver nanoparticles from various plant extracts: Blessing to nanotechnology. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 99(14), 1434–1445. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1622698>
- Zhang, S., Deng, P., Xu, Y., Lü, S., & Wang, J. (2016). Quantification and analysis of anthocyanin and flavonoids compositions, and antioxidant activities in onions with three different colors. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 2175–2181. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61385-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61385-0)
- Zhang, Y.-W., Wang, L.-K., Fang-Zhou, L., Yuan, B.-H., Zou, X.-M., & Wang, R.-T. (2022). Synthesis and characterization of silver nanoparticles green-formulated by *Allium stipitatum* and treat the colorectal cancer as a modern chemotherapeutic supplement. *Inorganic Chemistry Communications*, 143, 109781. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2022.109781>

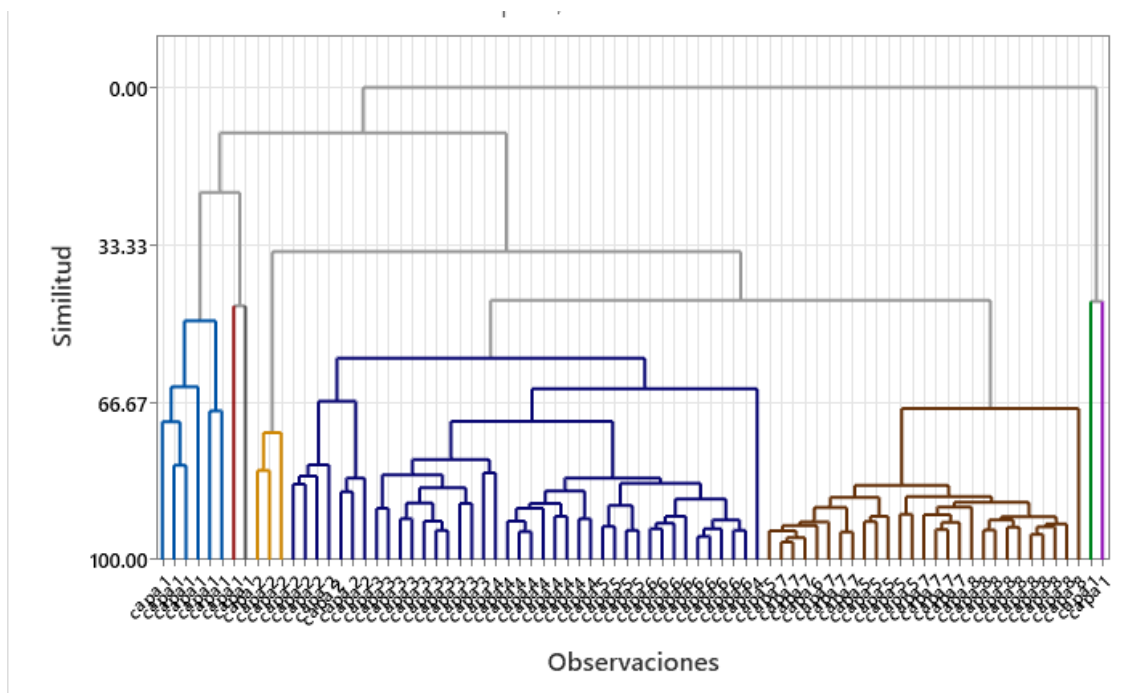
Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

ANEXOS

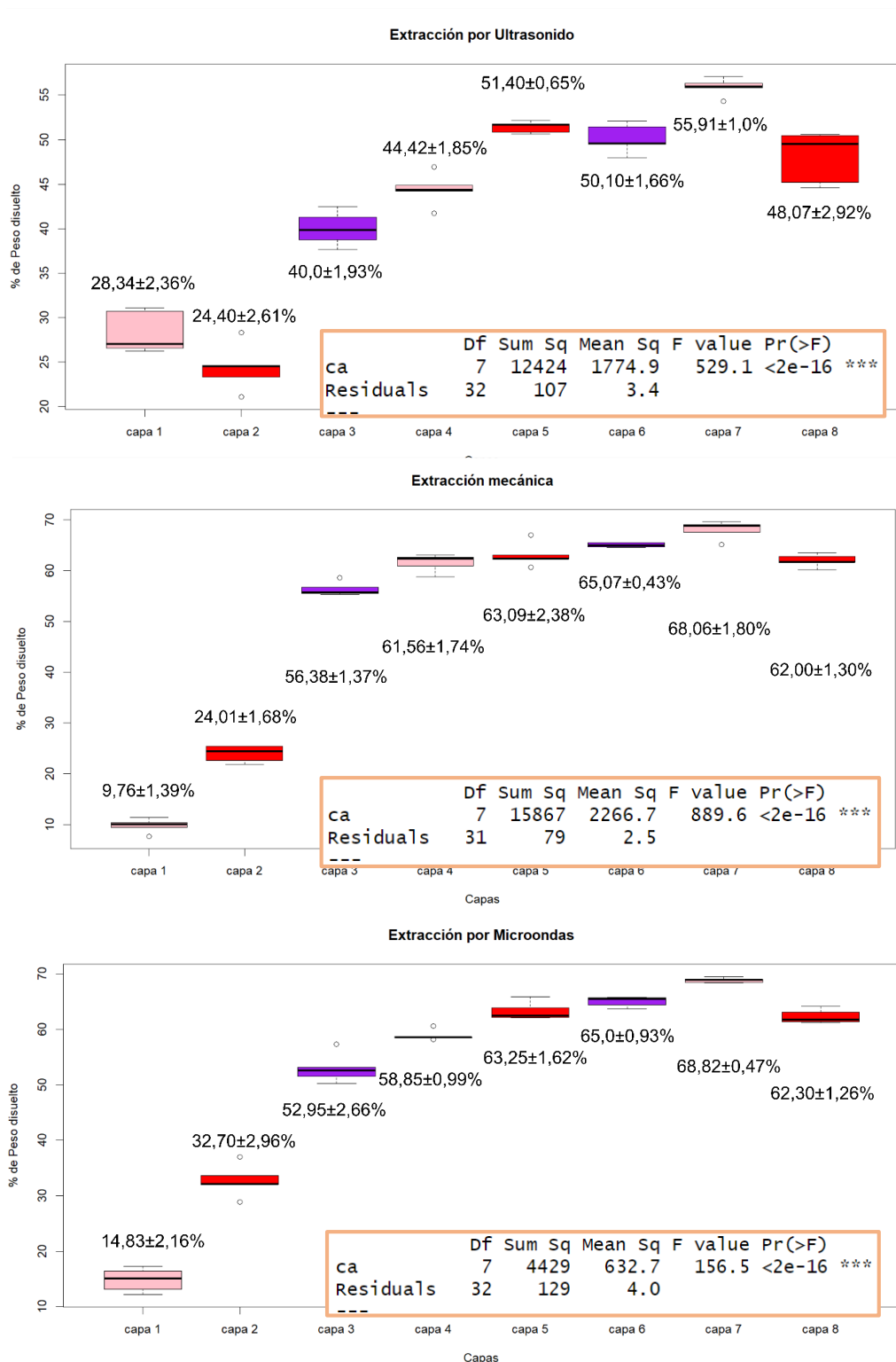
	A(X)	H21(Y)	H22(Y)	H23(Y)	H24(Y)	H25(Y)	H26(Y)	H27(Y)	H28(Y)	H29(Y)	H30(Y)	H31(Y)	H32(Y)	H33(Y)	H34(Y)	H35(Y)	H36(Y)
Long Name	cm-1	549.71256	551.641376	553.570192	555.499008	557.427824	559.35664	561.285456	563.214272	565.143088	567.071904	569.00072	570.929536	572.858352	574.787168	576.715984	578.6448
Units																	
Comments																	
5 capa 1		0.02361	-0.01136	-0.03424	-0.0238	-0.00694	-0.00768	-0.01993	-0.02412	-0.0048	0.01777	0.01772	0.01598	0.02621	0.03653	0.04105	0.03988
6 capa 1		0.054	-0.02625	-0.05441	-0.0158	0.02796	-0.02479	-0.07681	-0.04428	0.03023	0.059	0.03078	-0.00655	-0.01973	0.02084	0.06681	0.04116
7 capa 1		0.00805	0.0302	0.02843	-0.00972	-0.0419	-0.03415	-0.01383	-0.00627	-0.00311	0.00357	0.01668	0.03757	0.04445	0.01288	-0.01306	0.00232
8 capa 1		0.00485	0.02127	0.00868	-0.03807	-0.05558	-0.01268	0.01523	0.00115	-0.00141	0.00502	-0.00135	0.00929	0.03413	0.02481	0.00869	0.01921
9 capa 1		-0.01809	0.01549	0.0276	-0.01143	-0.04815	-0.03793	-0.01501	#####	0.01813	0.02432	0.01607	0.01679	0.0248	0.01663	#####	-0.01949
10 capa 1		0.04108	0.03513	-0.00366	-0.04107	-0.0394	-0.01945	-0.02316	-0.0168	0.02038	0.02401	-0.00413	0.01157	0.0468	0.02406	0.00208	0.03617
11 capa 2		0.00314	0.00471	0.00628	0.00628	0.00628	0.00628	-0.0084	-0.02036	0.00577	0.03781	0.04904	0.04996	0.04492	0.03989	0.0234	#####
12 capa 2		0.00348	0.00522	0.00696	0.00696	0.00696	0.00696	-0.00592	-0.01555	0.00797	0.0327	0.03866	0.0418	0.04543	0.04239	0.0247	0.00264
13 capa 2		6.1965E-4	#####	0.00124	0.00124	0.00124	0.00124	-0.01703	-0.0321	#####	0.04062	0.05552	0.06039	0.05544	0.03987	0.01754	-0.00337
14 capa 2		-0.00379	-0.00568	-0.00757	-0.00757	-0.00757	-0.00757	-0.01412	-0.02046	-0.01049	0.00149	0.00906	0.02424	0.03944	0.04342	0.04285	0.04442
15 capa 2		-0.00316	-0.00474	-0.00631	-0.00631	-0.00631	-0.00631	-0.01399	-0.02308	-0.01688	0.00389	0.02378	0.03445	0.05034	0.06088	0.04969	0.03246
16 capa 2		1.3393E-4	#####	2.6786E-4	2.6786E-4	2.6786E-4	2.6786E-4	-0.00865	-0.01561	#####	0.0147	0.0198	0.02892	0.03724	0.04062	0.04126	0.03562
17 capa 2		-1.29419E-5	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00372	-0.00691	-0.00268	#####	0.00379	0.02215	0.04274	0.04964	0.04406	0.03481
18 capa 2		4.79163E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00865	-0.01871	-0.00171	0.02653	0.03833	0.03147	0.01513	0.00573	0.01105	0.02467
19 capa 2		0.00596	0.00894	0.01192	0.01192	0.01192	0.01192	0.0021	-0.00387	0.01727	0.03558	0.0328	0.02981	0.0304	0.02351	0.01138	0.00423
20 capa 2		3.00273E-4	4.5041E-4	#####	#####	#####	#####	-0.0095	-0.01747	#####	0.01793	0.02301	0.03081	0.03719	0.03049	0.02035	0.0239
21 capa 3		0.00365	0.00547	0.00729	0.00729	0.00729	0.00729	-0.00107	-0.00629	0.00965	0.02229	0.02312	0.02892	0.03476	0.03126	0.02343	0.01954
22 capa 3		-0.00143	-0.00215	-0.00287	-0.00287	-0.00287	-0.00287	-0.01062	-0.01753	-0.00392	0.01397	0.02056	0.02429	0.02886	0.03052	0.0283	0.02553
23 capa 3		-0.00213	-0.00319	-0.00425	-0.00425	-0.00425	-0.00425	-0.01808	-0.03013	-0.00591	0.02551	0.0372	0.03969	0.03755	0.03293	0.02943	0.02751
24 capa 3		3.17374E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.0073	-0.01336	#####	0.01616	0.02025	0.02475	0.02976	0.03637	0.0276	0.0242
25 capa 3		0.001	0.0015	0.002	0.002	0.002	0.002	-0.00657	-0.01372	-0.00141	0.01953	0.02591	0.0299	0.03332	0.03478	0.03347	0.02812
26 capa 3		-0.00164	-0.00245	-0.00327	-0.00327	-0.00327	-0.00327	-0.01119	-0.01909	-0.00759	0.01065	0.02438	0.03399	0.03657	0.03829	0.03829	0.03045
27 capa 3		0.00103	0.00154	0.00205	0.00205	0.00205	0.00205	-0.00404	-0.00996	-0.0018	0.00933	0.0185	0.03169	0.04134	0.04087	0.03127	0.01772
28 capa 3		8.22673E-4	0.00123	0.00165	0.00165	0.00165	0.00165	-0.01014	-0.0191	0.00254	0.02664	0.03335	0.0344	0.03398	0.03422	0.03186	0.02241
29 capa 3		4.90498E-5	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00849	-0.01583	#####	0.01841	0.02587	0.02928	0.03178	0.03447	0.03372	0.02581
30 capa 3		8.42754E-4	0.00126	0.00169	0.00169	0.00169	0.00169	-0.00623	-0.01394	-0.00143	0.01754	0.0282	0.03385	0.03619	0.03601	0.03194	0.02333
31 capa 4		6.69363E-5	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00878	-0.01622	#####	0.01906	0.02814	0.02949	0.02996	0.0319	0.03074	0.02344
32 capa 4		3.79104E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00843	-0.01765	-0.00379	0.01923	0.03532	0.04324	0.04255	0.03973	0.03457	0.02224
33 capa 4		1.84002E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00743	-0.01437	#####	0.01728	0.02382	0.02594	0.02987	0.0352	0.03445	0.02422
34 capa 4		-0.00205	-0.00307	-0.00409	-0.00409	-0.00409	-0.00409	-0.01418	-0.02324	-0.00511	0.01888	0.02675	0.02814	0.03058	0.03446	0.03402	0.02469
35 capa 4		-4.28027E-4	-6.4204E-4	#####	#####	#####	#####	-0.01261	-0.02498	-0.00636	0.02561	0.04306	0.04498	0.04006	0.03832	0.03679	0.02738
36 capa 4		1.60565E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00654	-0.01133	0.00267	0.01682	0.01831	0.01833	0.02159	0.02716	0.0316	0.02988
37 capa 4		-2.62547E-5	#####	#####	#####	#####	#####	-0.00537	-0.01013	-0.00172	0.00868	0.01433	0.02221	0.0306	0.03615	0.03763	0.03276
38 capa 4		-3.4477E-4	#####	#####	#####	#####	#####	-0.008	-0.0158	-0.00521	0.01348	0.02587	0.03375	0.03801	0.03906	0.03225	0.02165
39 capa 4		0.00134	0.002	0.00267	0.00267	0.00267	0.00267	-0.00312	-0.00674	0.00155	0.00469	0.00792	0.02316	0.03856	0.0507	0.05716	0.0487



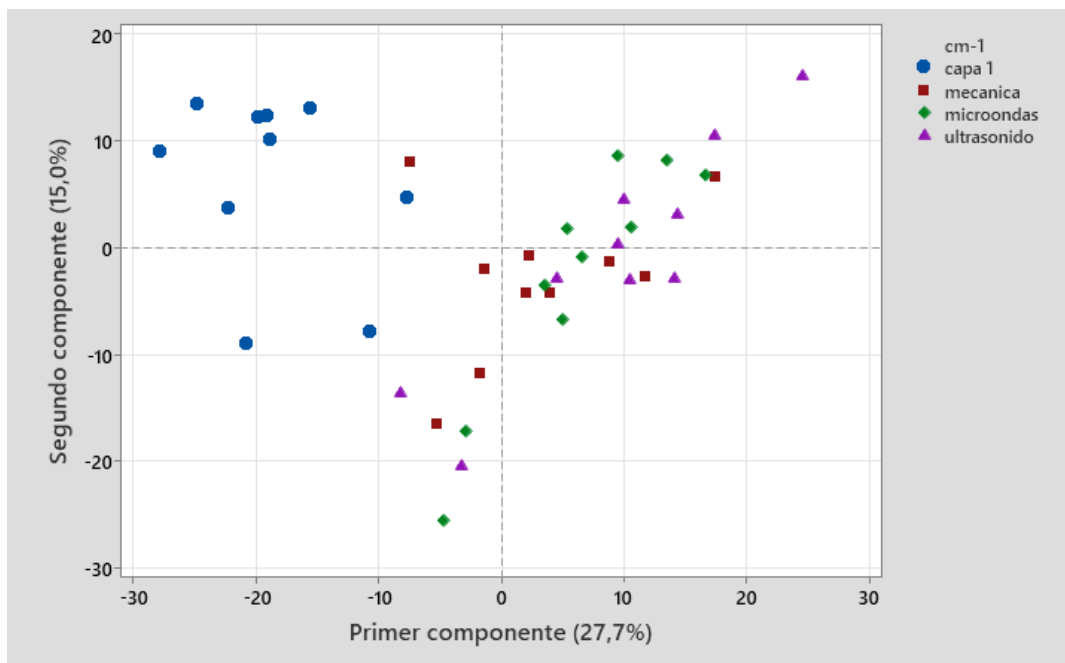
Anexo A. Matriz de datos (pantallazo de OriginPro) y PCA de las diferentes capas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}).



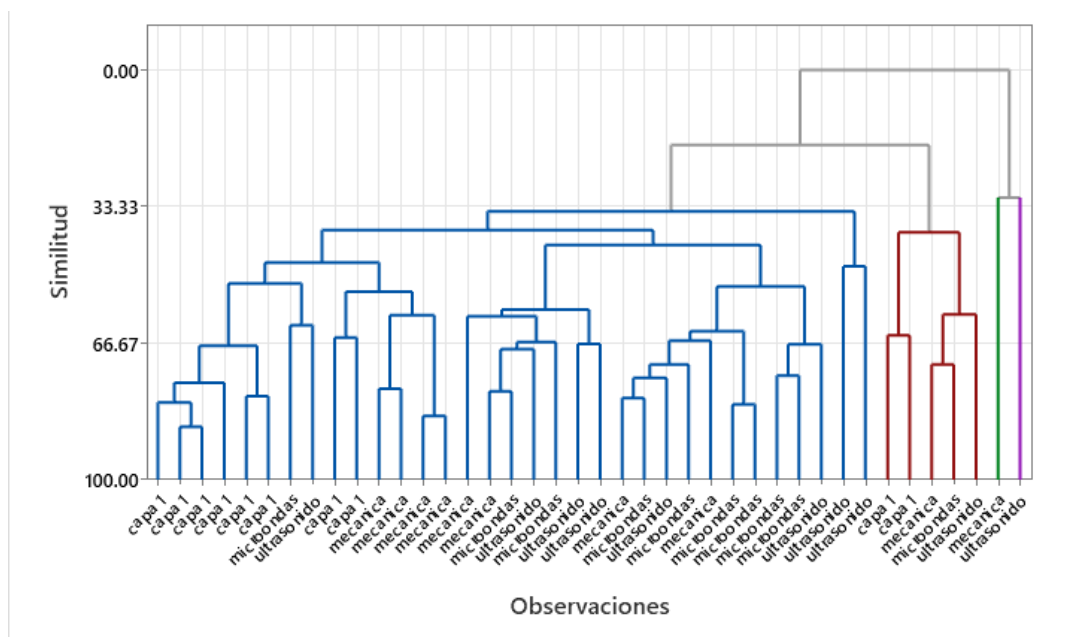
Anexo B. Dendrograma de las diferentes capas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR ($1800-550\text{ cm}^{-1}$).



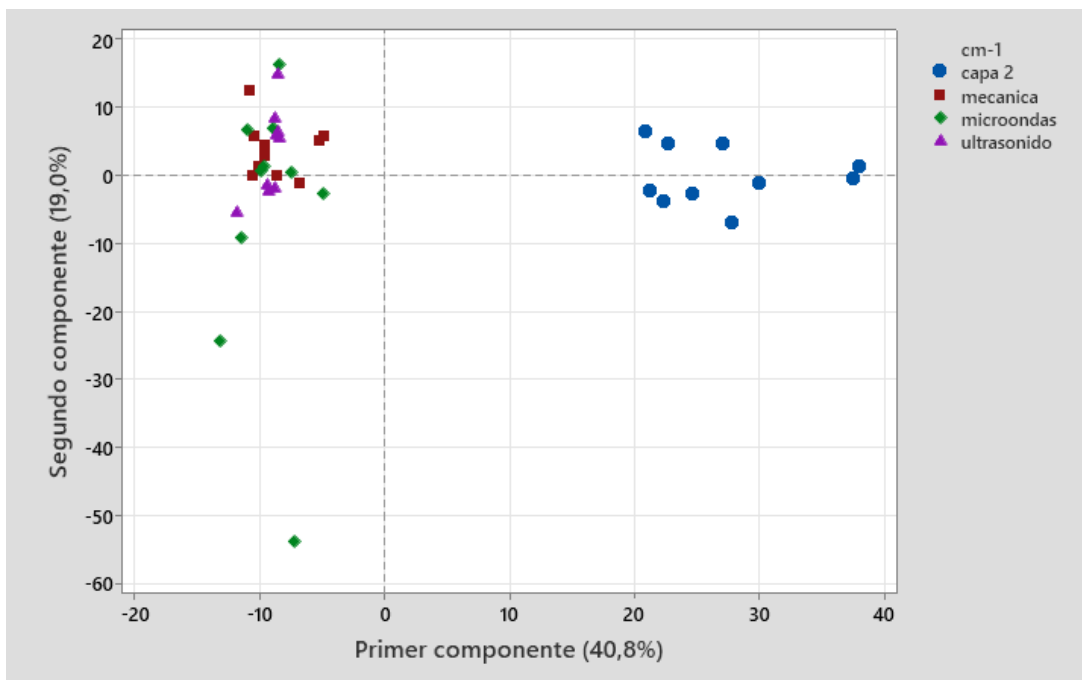
Anexo C. Porcentaje de peso disuelto de las diferentes capas por extracción por los métodos de ultrasonido, mecánica y microondas.



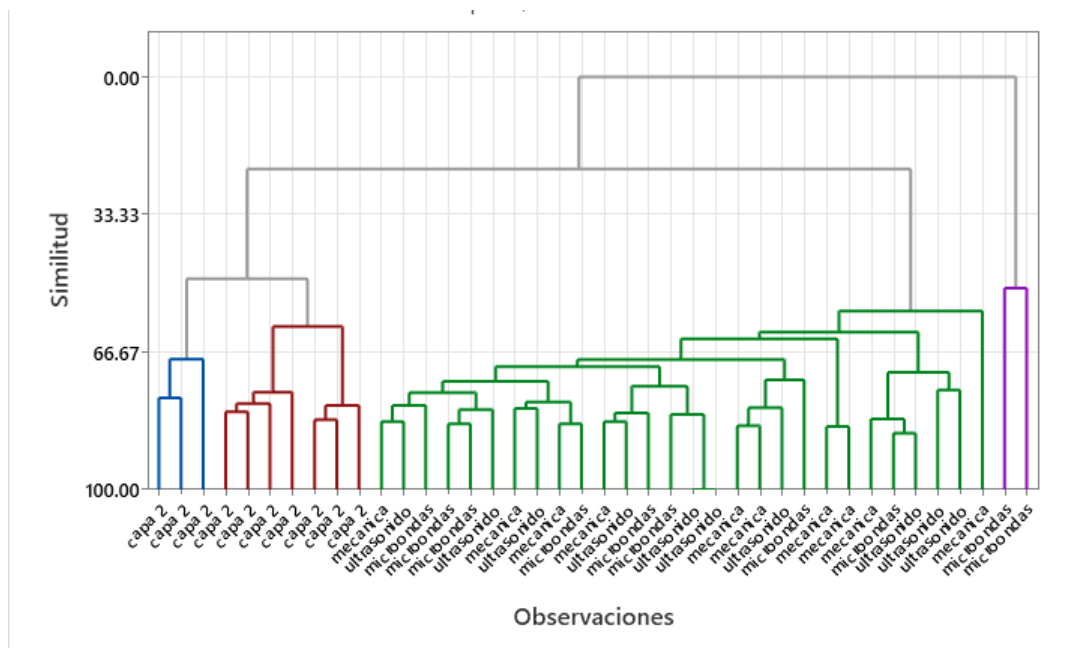
Anexo D. PCA de la capa 1 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas, en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR ($1800-550\text{ cm}^{-1}$).



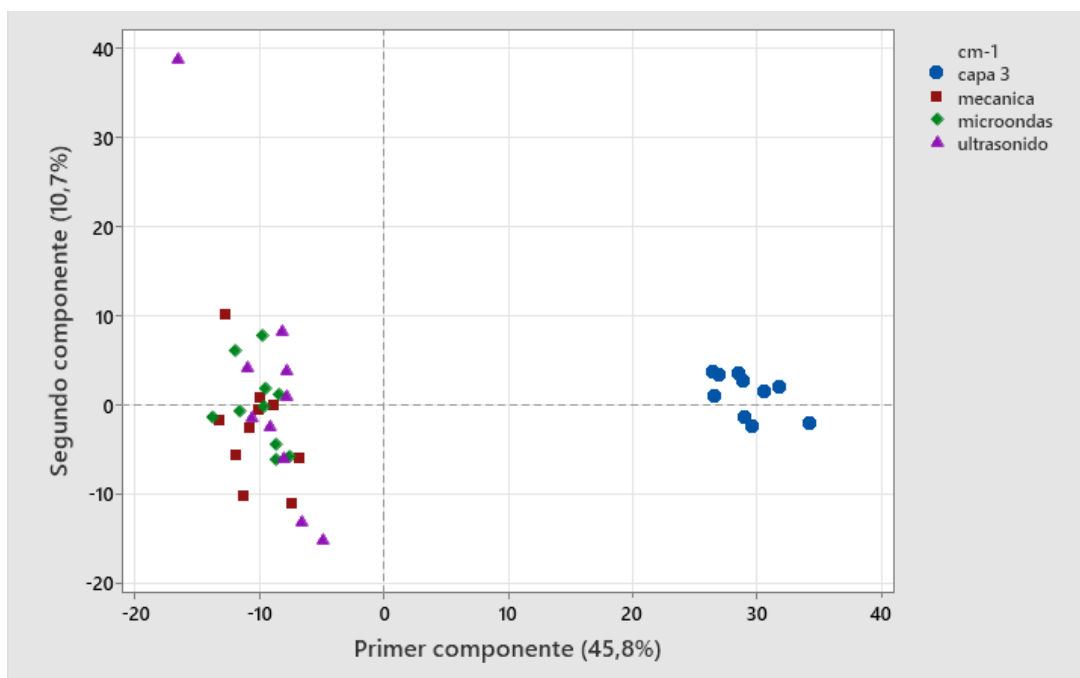
Anexo E. Dendrograma de la capa 1 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR ($1800-550\text{ cm}^{-1}$).



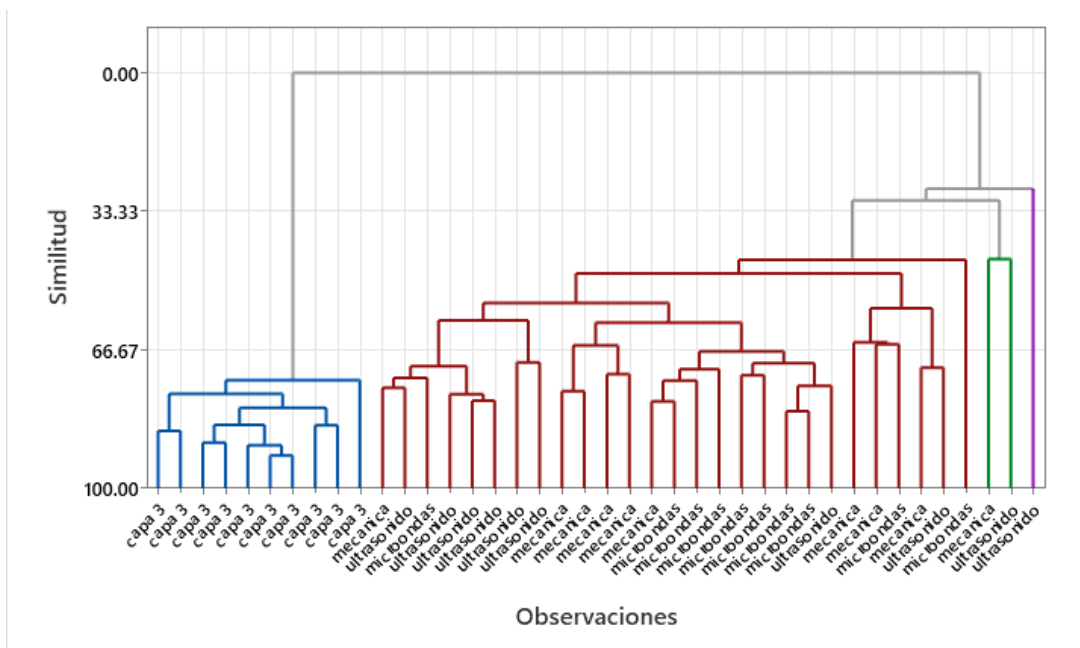
Anexo F. PCA de la capa 2 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas, en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}).



Anexo G. Dendrograma de la capa 2 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}).

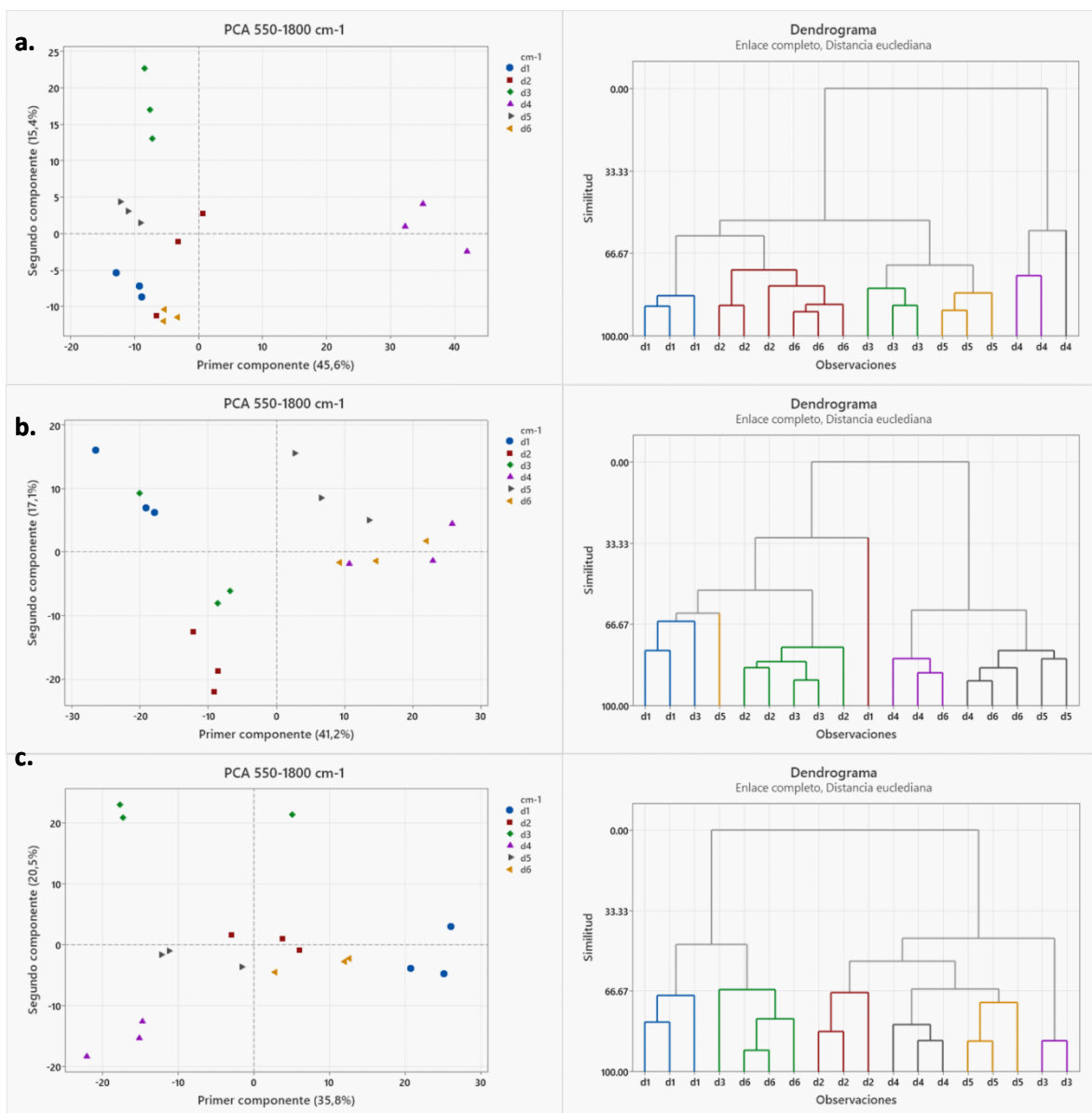


Anexo H. PCA de la capa 3 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas, en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}).

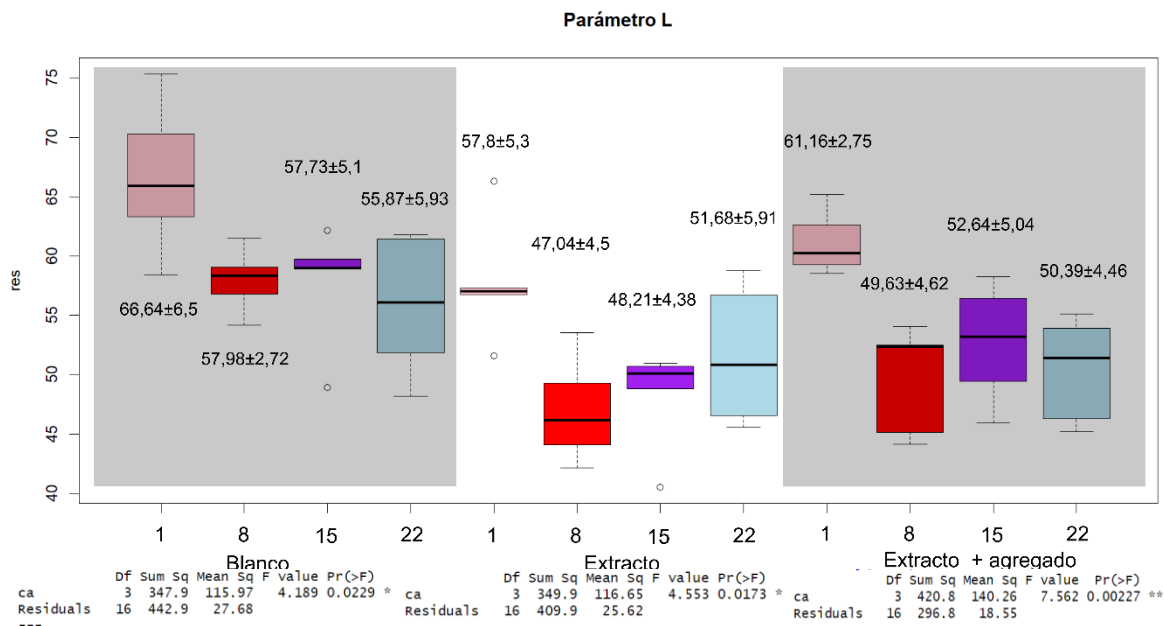


Anexo I. Dendrograma de la capa 1 y los residuos de las extracciones por las diferentes técnicas en la región de huella dactilar de la segunda derivada de los espectros IR (1800-550 cm^{-1}).

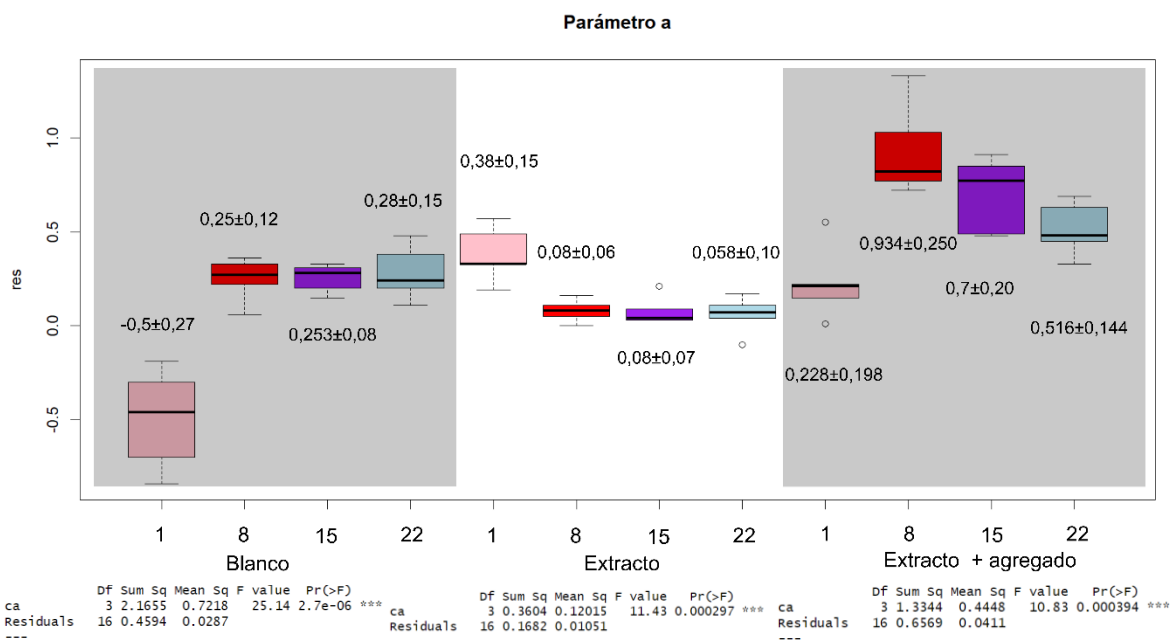
Ungüentos:



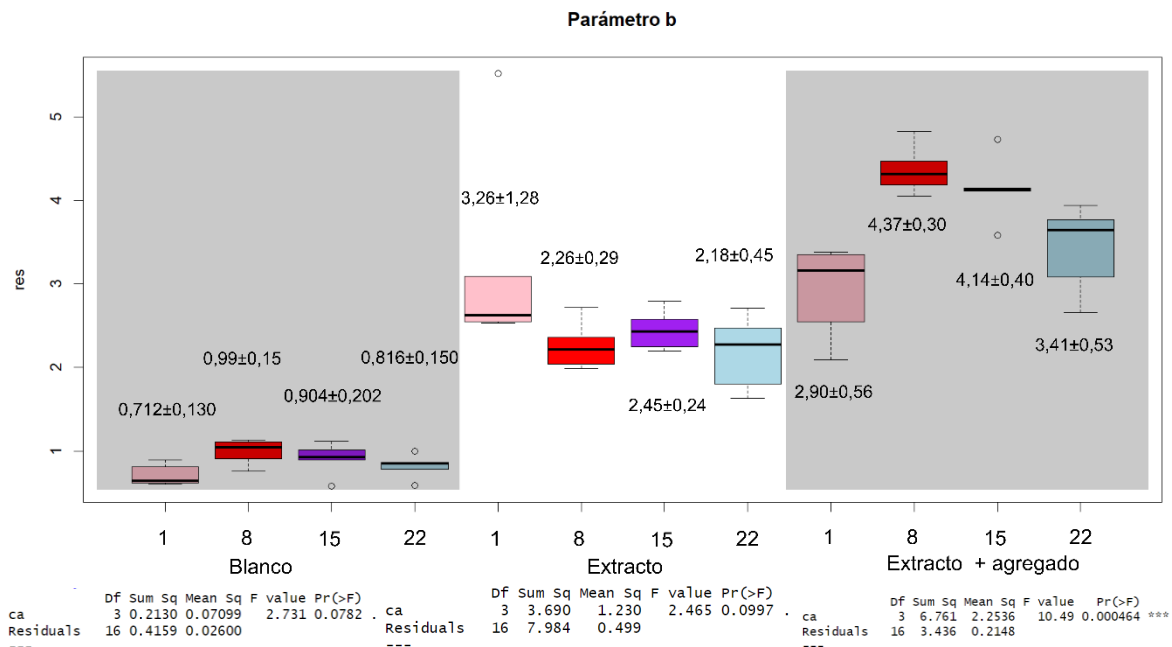
Anexo J. PCA y dendogramas de los ungüentos contruidos con a: agua, b: extracto y c: extracto + agregado de plata, en diferentes días (d1: un día después de construido el ungüento, d2: 4 días después, d3: 11 días después, d3: 18 días después, d4: 25 días después, d5: 32 días después y d6: 39 días después), en las regiones de $3700\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ y $1800\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ de la segunda derivada de los espectros IR.



Anexo K. ANOVA para el parámetro L de la escala Cielab, para los distintos ungüentos contruidos con agua (blanco), extracto y el extracto con el agregado de plata, en distintos días, día 1 después de su construcción, día 8, día 15 y día 22.

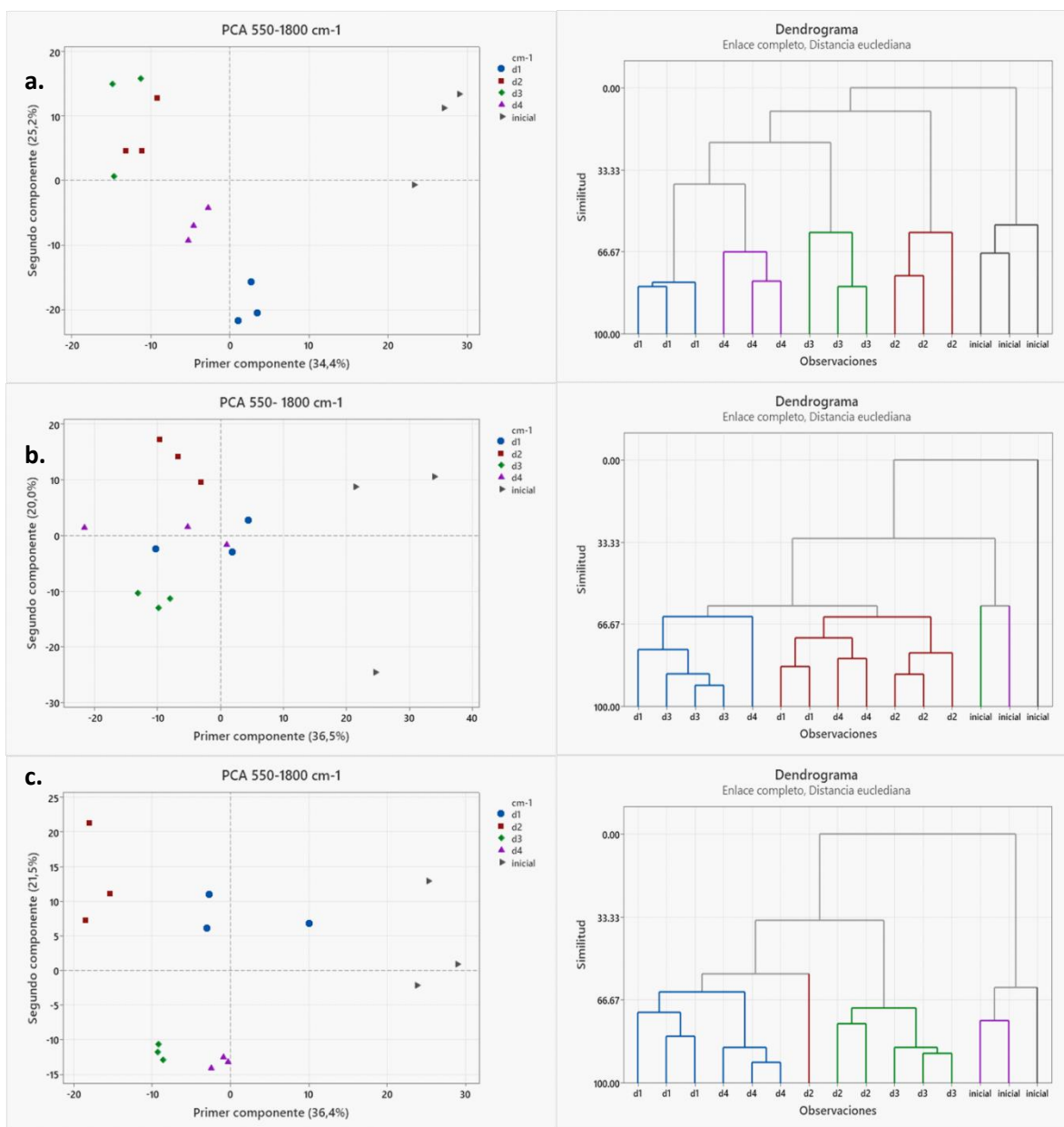


Anexo L. ANOVA para el parámetro a de la escala Cielab, para los distintos ungüentos contruidos con agua (blanco), extracto y el extracto con el agregado de plata en distintos días, día 1 después de su construcción, día 8, día 15 y día 22.

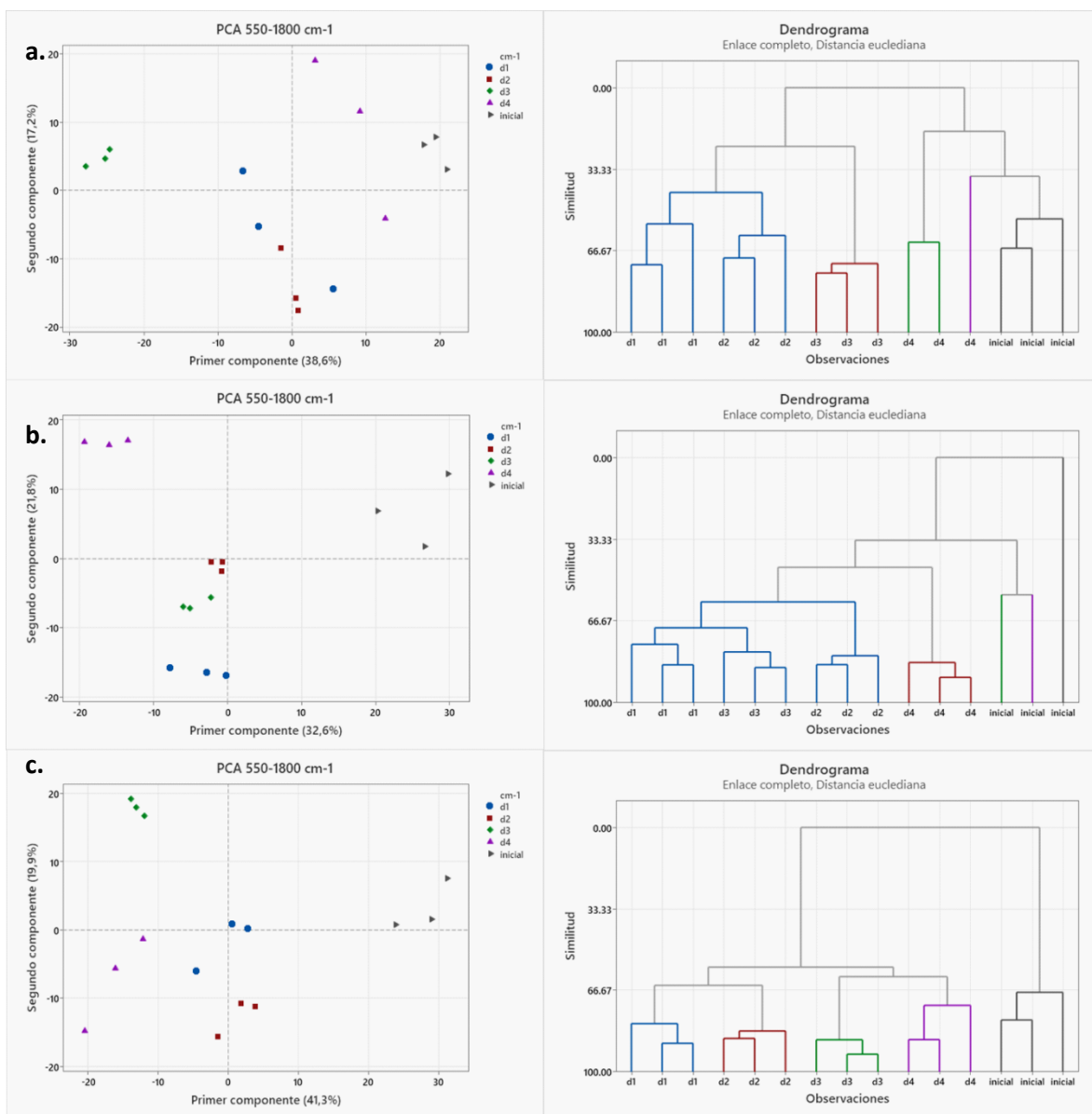


Anexo M. ANOVA para el parámetro b de la escala Cielab, para los distintos ungüentos contruidos con agua (blanco), extracto y el extracto con el agregado de plata en distintos días, día 1 después de su construcción, día 8, día 15 y día 22.

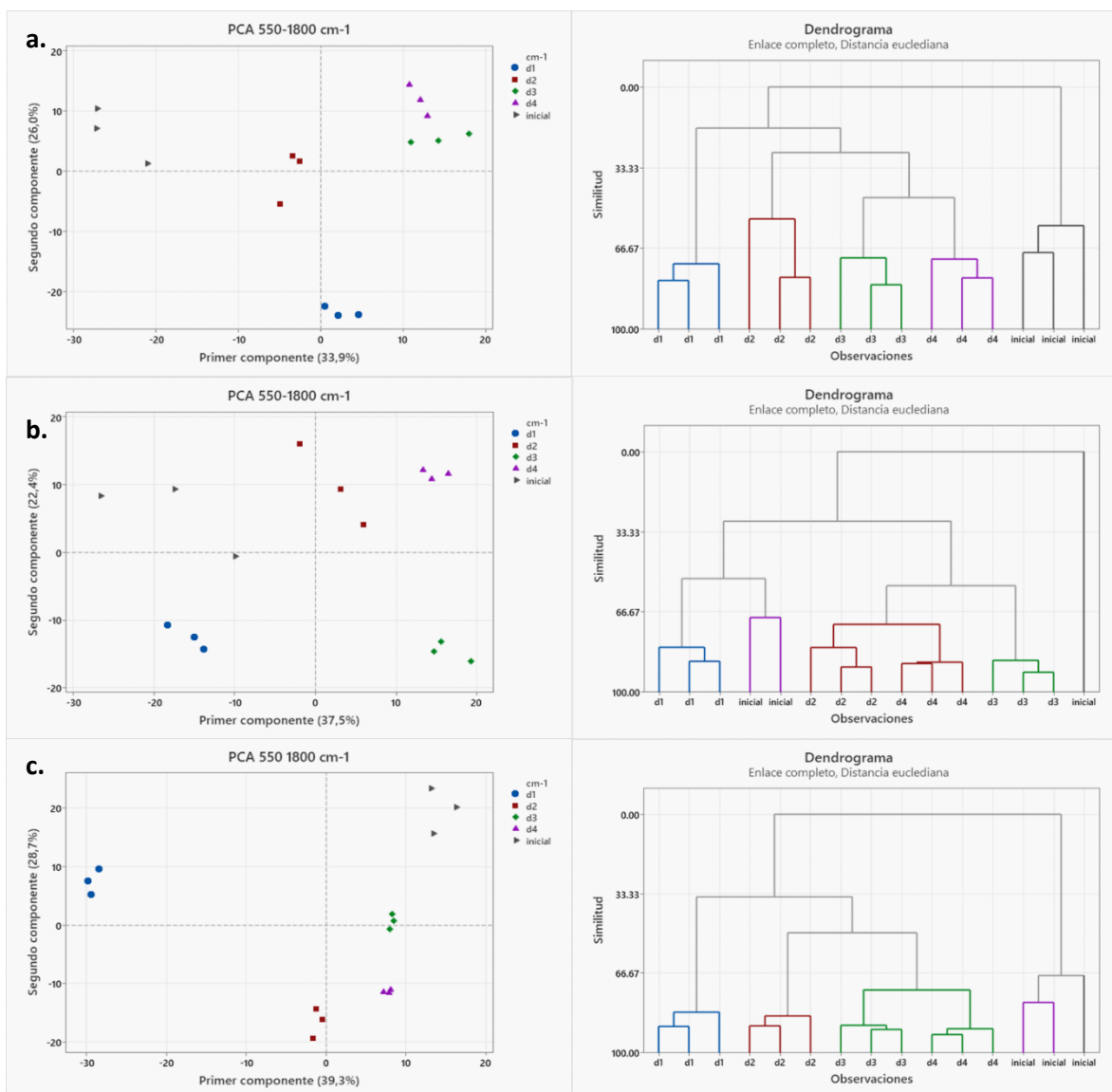
Pruebas de estabilidad:



Anexo O. PCA y dendrograma del ungüento construido con a: agua, b: extracto y c: extracto + agregado de plata en un ambiente con temperatura de 19°C y oscuridad, en diferentes días (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después), en las regiones de 3700-2700 cm⁻¹ y 1800-550 cm⁻¹ de la segunda derivada de los espectros IR.



Anexo P. PCA y dendrograma del ungüento construido con a: agua, b: extracto y c: extracto + agregado de plata en un ambiente húmedo con KBr, en diferentes días (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después), en las regiones de 3700-2700 cm⁻¹ y 1800-550 cm⁻¹ de la segunda derivada de los espectros IR.



Anexo Q. PCA y dendrograma del ungüento construido con a: agua, b: extracto y c: extracto + agregado de plata en un ambiente cerrado y cálido, en diferentes días (inicial: antes del ensayo, d1: 8 días después de iniciar el ensayo, d2: 15 días después, d3: 22 días después, d4: 29 días después), en las regiones de 3700-2700 cm⁻¹ y 1800-550 cm⁻¹ de la segunda derivada de los espectros IR.