

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE AGREGADOS DE
PLATA A PARTIR DE EXTRACTOS DE NIDOS DE AVISPAS (*Polistes*
sp. y *Vespula sp.*)**

ROSNAIRA ISELA MIRANDA CARRASCAL



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

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE AGREGADOS DE PLATA A
PARTIR DE EXTRACTOS DE NIDOS DE AVISPAS (Polistes sp. y Vespula sp.)**

ROSNAIRA ISELA MIRANDA CARRASCAL

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

Tutores

Mag. JOSÉ HERNANDO QUINTANA MENDOZA

Dra. DIANA ALEXANDRA TORRES SÁNCHEZ



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

DEDICATORIA

Este trabajo de grado está dedicado en primer lugar a mis padres, quienes han sido el sólido fundamento y la fuente de inspiración a lo largo de mi vida. Su amor incondicional y sus sabios consejos han sido mi motor, brindándome apoyo constante hasta alcanzar el punto en el que me encuentro hoy. Aprecio profundamente la confianza que siempre han depositado en mí y el orgullo que sienten por mis logros. Es gracias a ellos que estoy a punto de concluir esta etapa tan significativa y valiosa de mi vida.

A mis hermanos y familia, quienes son mi razón de continuar avanzando y mi principal respaldo emocional, cada esfuerzo que he dedicado ha sido impulsado por el deseo de hacerlos sentir orgullosos cada día más de mí.

Por último, pero con un valor inmenso, quiero dedicar este trabajo a mis amigos. Su amor, apoyo constante y la alegría de su compañía han sido la chispa que iluminó este camino hacia el título, convirtiendo lo que podría haber sido tedioso en una travesía inspiradora.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento a Dios y a la vida misma por permitirme alcanzar este punto, colmado de aprendizajes y logros. Agradezco la paciencia y sabiduría que me han brindado, guiándome y no dejándome desistir a través de este camino hacia la consecución de mis objetivos.

Agradezco sinceramente a mis tutores, José Hernando Quintana Mendoza y Diana Alexandra Torres Sánchez, que han sido de guía experta en mi trabajo de grado, por la paciencia y dedicación en cada etapa de este proyecto académico. Valorando asimismo enormemente sus conocimientos y aportes, reconozco que fueron elementos fundamentales para la calidad final de este trabajo.

Expreso mi sincero agradecimiento a todos mis profesores que han sido parte integral de mi trayectoria académica, brindándome los conocimientos necesarios para llevar a cabo este trabajo. Su dedicación y enseñanzas han sido una fuente invaluable de inspiración y formación a lo largo de mi recorrido académico. Al igual agradezco a la Universidad de Pamplona por brindarme los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación y alcanzar mis metas académicas.

Quiero agradecer en especial a mis queridos padres por su apoyo incondicional, que con sus palabras llenas de amor me ha brindado aliento. Reconozco el sacrificio que ha hecho para que yo esté aquí y valoro enormemente su dedicación. Su creencia constante en mí y la confianza que deposita han sido los pilares que me han impulsado a alcanzar esta etapa significativa de mi vida. Sin ella, este logro no hubiera sido posible.

Además, quiero expresar mi gratitud también mis amigos, Tatiana, Michelle, Luisa, Sarwing y Saúl quienes confiaron en mí, no me dejaron, me brindaron aliento, comprensión y momentos de distracción necesarios para sobrellevar las presiones de esta investigación.

Finalmente, quiero agradecer a mi pareja, quien estuvo a mi lado brindando comprensión, paciencia y amor durante las extensas horas dedicadas a este proyecto.

CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	3
Agradecimientos	4
Lista de tablas	8
Lista de figuras	9
Lista de ecuaciones	11
Lista de abreviaturas	12
RESUMEN	13
Abstract	14
INTRODUCCION	15
MARCO REFERENCIAL	16
2. objetivos	30
2.1 Objetivo General	30
2.2 Objetivos Específicos	30
3. Metodología	30
3.1 Reactivos	30
3.2 Materiales y Equipos	30
3.3 Procedimiento	31
3.4 Tratamiento de los Nidos de Avispas	32
3.4.1 Recolección de Nidos de Avispas	32
3.4.2 Preparación a los Nidos de Avispas	32
3.5 Extractos de Solventes Polares.	33
3.5.1 Preparación de los Extractos de los Nidos de Avispas	33

3.5.2 Caracterización de los extractos sólidos y líquidos. _____	34
3.6 Síntesis de los Agregados de Plata _____	34
3.7 Estabilización de las nanopartículas _____	35
3.7.1 Preparación de los Ungüentos _____	35
3.7.2 Caracterización de los Ungüentos _____	36
4. Resultados y análisis _____	37
4.1 Tratamiento de los Diferentes Nidos de Avispas. _____	37
4.1.1 Análisis Morfológico _____	37
4.1.2 Espectroscopia FTIR-ATR _____	42
4.2 Extracción _____	44
4.2.1 Caracterización. _____	46
4.3 Síntesis de los Agregados de Plata _____	57
4.3.1 Caracterización _____	58
4.4 Preparación de los Ungüentos _____	62
4.4.1 Colorimetría y pH del Ungüento _____	65
4.4.2 Caracterización _____	70
Conclusiones _____	83
RECOMENDACIONES _____	84
Bibliografía _____	85
ANEXOS _____	100
ATR-FTIR de las Réplicas de las Fases Solidas Resultantes de las Extracciones no Reportadas en el Documento. _____	100
Valores de L, b y a en Colorimetría CIELAB _____	102

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación de avispas sociales ^{10,12}</i>	16
<i>Tabla 2. Subfamilia, especies, imagen ilustrativa de los nidos y la composición química de estos mismos por medio de un análisis XRD.</i>	20
<i>Tabla 3. Definición sugerida de formas farmacéuticas tópicas ⁵⁶⁻⁵⁹.</i>	26
<i>Tabla 4. Condiciones trabajadas para la extracción de los compuestos bioactivos.</i>	33
<i>Tabla 6. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para los nidos pulverizados antes de la extracción.</i>	43
<i>Tabla 7. Porcentaje de recuperación</i>	45
<i>Tabla 8. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para los nidos pulverizados después del proceso de extracción.</i>	47
<i>Tabla 9. Explicación de las abreviaturas de las Fig 15 y Fig 16.</i>	49
<i>Tabla 11. Picos característicos de cada compuesto encontrado en el GC-MS para los extractos líquidos.</i>	51
<i>Tabla 14. Longitudes de onda (nm) de los distintos agregados de plata</i>	59
<i>Tabla 15. Estimación del diámetro de los agregados de plata a partir de los diferentes nidos de avispas.</i>	61
<i>Tabla 18. Valores de la colorimetría CIELAB L, a y b de los ungüentos.</i>	65
<i>Tabla 16. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para las materias primas usadas</i>	72
<i>Tabla 17. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR de las tres diferentes ceras de abeja.</i>	75
<i>Tabla 19. Asignaciones para los ungüentos con las distintas ceras de abejas.</i>	78
<i>Tabla 20. Resultados de los Análisis termogravimétrico (TGA) para los ungüentos</i>	81
<i>Tabla 21. Tabla de asignaciones de las bandas características de Fig 40 y Fig 41</i>	102
<i>Tabla 22. Valores de L, a y b para los ungüentos.</i>	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Componentes bioactivos presentes en los nidos de avispas.....	19
Figura 2. Actividades antibacterianas de las nanopartículas de plata ⁴⁴	23
Figura 3. Estabilización de las actividades antimicrobianas.....	24
Figura 4. Árbol de decisión sobre la nomenclatura de formas farmacéuticas tópicas.	25
Figura 5. Esquema metodológico.	31
Figura 6. Tratamiento del nido de Vv (<i>Vespula vulgaris</i>). A) Nido previo a la moltura. B) Nido visto desde un estereoscopio. C) Características morfológicas notables. D) Nido después del proceso de molturación. D1) Vv molturado visto desde un microscopio con lente E A 0.10. D2) visto desde un microscopio con lente E A 0.25 y D3) visto desde un microscopio con lente E A 0.65.....	38
Figura 7. Tratamiento del nido de Pe (<i>Polistes erythrocephalus</i>). A) Nido abandonado de Pe. B) Características morfológicas notables. C) Nido visto desde un estereoscopio. D) Nido previo a la moltura. E) Nido después del proceso de molturación. E1) Muestra de Pe pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. E2) Pe visto con un lente E A 0.25. E3) Pe visto con un lente E A 0.65.	39
Figura 8. Tratamiento del nido de Pv (<i>Polistes versicolor</i>). A) Nido previo a la moltura. B) Características morfológicas notables. C) Nido después del proceso de molturación. C1) Muestra de Pv pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. C2) Pv visto con un lente E A 0.25. C3) Pv visto con un lente E A 0.65.....	40
Figura 9. Tratamiento del nido de <i>Vespula germanica</i> . A) Nido previo a la moltura. B) Características morfológicas notables. C) Nido visto desde un estereoscopio. D) Nido después del proceso de molturación. D1) Muestra de Vg pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. D2) Vg visto con un lente E A 0.25. D3) Vg visto con un lente E A 0.65.	41
Figura 10. Espectro IR de los nidos pulverizados.	42
Figura 11. Proceso de la extracción para cada nido pulverizado.....	44
Figura 12. Extractos a interés donde a) FLN4D es FLVg, b) FLN3D es FLPv, c) FLN2D es FLPe, y d) FLN1D es FLVv	44
Figura 13. Comparativa de los distintos espectros FTIR (Número de onda (cm ⁻¹) / Absorbancia) obtenidos de los nidos pulverizados. Siendo a) los nidos antes del proceso de extracción y b) las muestras pulverizadas después del proceso de extracción.	46
Figura 14. PCA para los nidos pulverizados antes y después de la extracción. a) <i>Vespula vulgaris</i> . b) <i>Polistes erythrocephalus</i> . c) <i>Polistes versicolor</i> . d) <i>Vespula germanica</i>	48
Figura 16. Dendograma para los nidos pulverizados antes y después de la extracción	49
Figura 15. PCA para los nidos pulverizados antes y después de la extracción.....	49
Figura 17. Cromatogramas de los extractos líquidos siendo FLVv el de Vv, FLVg el de Vg, FLPv el de Pv y FLPe el de Pe.	50
Figura 18. Compuestos con mayor abundancia relativa (%) para cada especie.....	54
Figura 19. Espectro UV-Vis de los extractos líquidos.	56

Figura 20. Seguimiento de la síntesis de agregados de plata para el nido de <i>Vespula vulgaris</i> (FLVvAg).....	57
Figura 21. Agregados de plata formados. a) FLPeAg, b) FLPvAg y c) FLVgAg	58
Figura 22. espectro UV-Vis con zoom en 400 nm para todas las muestras. a) FLVvAg, b) FLPeAg, c) FLPvAg y d) FLVgAg.....	59
Figura 23. Cálculo del diámetro de los agregados de plata por medio de la espectroscopia UV-Vis.....	61
Figura 24. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido <i>Vespula vulgaris</i>	62
Figura 25. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido <i>Polistes erthrocephalus</i>	63
Figura 26. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido <i>Polistes versicolor</i>	63
Figura 27. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido <i>Vespula germánica</i>	64
Figura 28. Sistema de color tipo modelo CIELAB ⁹⁶	65
Figura 29. Gráfico de barras para los valores tomados de L para las diferentes ceras de abeja utilizadas.	67
Figura 30. valores de a tomados para los diferentes ungüentos con los tres tipos de ceras de abeja.	68
Figura 31. Valores de b tomados para los diferentes ungüentos con los tres tipos de ceras de abeja	68
Figura 32. Diagrama de cajas del pH de los ungüentos con los extractos líquidos. Siendo a) pH de los ungüentos a partir del FLVv con las diferentes ceras de abeja, b) pH de los ungüentos a partir del FLPe con las diferentes ceras de abeja, c) pH de los ungüentos a partir del FLVg con las diferentes ceras de abeja y d) pH de los ungüentos a partir del FLPv con las diferentes ceras de abeja.	69
Figura 33. Diagrama de cajas del pH de los ungüentos con agregados de plata. Siendo a) pH de los ungüentos a partir del VvAg con las diferentes ceras de abeja, b) pH de los ungüentos a partir del PeAg con las diferentes ceras de abeja, c) pH de los ungüentos a partir del PvAg y d) pH de los ungüentos a partir del VgAg con las diferentes ceras de abeja.....	70
Figura 34. Espectros IR (Número de onda (cm ⁻¹) / Absorbancia) de a) aceite mineral, b) alcohol cetílico, c) manteca karité y d) polisorbato 80.....	72
Figura 35. Espectros IR (Número de onda (cm ⁻¹) / Absorbancia) los tres tipos de cera de abeja utilizados para la preparación de los ungüentos.	75
Figura 36. PCA para las ceras de abeja.	76
Figura 37. Espectros IR (Número de onda (cm ⁻¹) / Absorbancia) de los ungüentos.	77
Figura 38. TGA de las tres variantes de los ungüentos a partir del extracto y agregado de plata de los nidos de las 4 especies de avispas trabajadas.	80
Figura 39. Gráficos comparativos para la T (°C) y % de pérdida de masa para la descomposición química de los ungüentos con y sin agregados de plata.....	80
Figura 40. Espectro IR replica 1 de las fases sólidas de la extracción.	100
Figura 41. Espectro IR replica 2 de las fases sólidas de la extracción.	101

LISTA DE ECUACIONES

*Ecuación 1.*⁶⁰ 35

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
<i>Vv</i>	<i>Vespula vulgaris</i>
<i>Pv</i>	<i>Polistes erythrocephalus</i>
<i>Pe</i>	<i>Polistes versicolor</i>
<i>Vg</i>	<i>Vespula germánica</i>
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy
ATR	Attenuated total reflectance
GC	Cromatografía de gases
MS	Espectroscopia de masas
TGA	Thermogravimetric analysis

RESUMEN

La presente investigación se enfoca en la utilización de nidos abandonados de avispas pertenecientes a especies como: *Vespula vulgaris*, *vespula germánica*, *Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor*. Para realizar extractos con solventes polares (etanol-metanol-agua), con el objeto de aprovechar sus compuestos bioactivos ricos en proteínas que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas, antifúngicas, anticoagulantes y trombolíticas. Estas características se atribuyen al uso de fluidos salivales durante la construcción de dichos nidos. El alcance de la investigación incluye la síntesis de agregados de plata, partículas altamente reactivas con diversas aplicaciones biomédicas, como principios activos en medicamentos que han mostrado actividad antimicrobiana, contribuyendo a prevenir infecciones al destruir virus, hongos y bacterias. Para reforzar estas aplicaciones con prospecto de uso en la piel se estabilizó la síntesis y el extracto líquido de cada nido en una formulación tipo ungüento.

La investigación planteada muestra la caracterización morfológica de los nidos, la caracterización espectroscópica y cromatográfica de los extractos, posterior síntesis de los agregados y su seguimiento de tamaño por UV-Vis, y por último la determinación de grupos funcionales por ATR-FTIR y estabilidad térmica de los ungüentos por TGA. Estos análisis permitieron confirmar la extracción efectiva de metabolitos en cada nido, su capacidad para generar la reducción de la plata de +1 a 0, la formación de agregados y su estabilización en ungüentos homogéneos.

ABSTRACT

The present research focuses on the use of abandoned wasp nests belonging to species such as: *Vespula vulgaris*, *Germanic vespula*, *Polistes erythrocephalus* and *Polistes versicolor*. To make extracts with polar solvents (ethanol-methanol-water), in order to take advantage of their bioactive compounds rich in proteins that have been shown to have antimicrobial, antifungal, anticoagulant and thrombolytic properties. These characteristics are attributed to the use of salivary fluids during the construction of said nests. The scope of the research includes the synthesis of silver aggregates, highly reactive particles with various biomedical applications, as active ingredients in medications that have shown antimicrobial activity, contributing to preventing infections by destroying viruses, fungi and bacteria. To reinforce these applications with prospect for use on the skin, the synthesis and liquid extract of each nest were stabilized in an ointment-type formulation.

The proposed research shows the morphological characterization of the nests, the spectroscopic and chromatographic characterization of the extracts, subsequent synthesis of the aggregates and their size monitoring by UV-Vis, and finally the determination of functional groups by ATR-FTIR and thermal stability of ointments by TGA. These analyzes allowed us to confirm the effective extraction of metabolites in each nest, their ability to generate the reduction of silver from +1 to 0, the formation of aggregates and their stabilization in homogeneous ointments.

INTRODUCCION

En Colombia, se han identificado más de 250 especies de avispas sociales pertenecientes a la familia Vespidae. A pesar de su diversidad, la investigación sobre estas especies es limitada. Algunas especies, como *Vespula* y *Polistes* presentan nidos con un potencial excepcional en el ámbito biomédico, gracias a sus componentes bioactivos que tienen efectos anticancerígenos, antimicrobianos y antiinflamatorios ¹. Siendo así una alternativa para el tratamiento de heridas. Estos nidos, una vez extraídos y procesados, proporcionan una estructura tridimensional que actúa como una matriz natural favorecedora de la regeneración y cicatrización de tejidos ^{2,3} contribuyendo a la prevención de infecciones en heridas y fomentando un entorno de curación óptimo.

Este enfoque combina beneficios terapéuticos con prácticas sostenibles, aprovechando recursos naturalmente abandonados por las avispas y promoviendo una perspectiva eco-amigable en la medicina regenerativa. A nivel mundial, más de 1'400.000 personas sufren de infecciones hospitalarias, y en Colombia se reportaron 1560 casos en 2021, según el Ministerio de Salud ⁴.

En respuesta a este desafío, se ha trabajado en biopolímeros como una alternativa viable y sostenible a los antibióticos convencionales para inhibir el crecimiento bacteriano y prevenir posibles infecciones en heridas. Estos materiales biocompatibles se derivan de fuentes naturales como plantas y microorganismos, poseyendo propiedades antimicrobianas que facilitan la regeneración de tejidos y células, favoreciendo la cicatrización ^{2,3}.

En este contexto, se emplearon agregados de plata utilizando extractos provenientes de nidos deshabitados de avispas, incluyendo especies alemanas como *Vespula vulgaris* y *Vespula germanica*, y colombianas como *Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor*. Se planteó una ruta sintética para estos materiales, los cuales fueron caracterizados mediante técnicas como ATR-FTIR, TGA y CG-MS.

MARCO REFERENCIAL

Las avispas pertenecen a la familia Vespidae, un grupo de insectos himenópteros que comprende alrededor de 5000 especies distribuidas en 269 géneros y 7 subfamilias ⁵. Estos insectos sociales se caracterizan por su estructura corporal delgada, antenas cónicas y una cintura estrecha entre el tórax y el abdomen ^{6,7}. Los trópicos tienen la mayor diversidad; Suramérica por ejemplo cuenta con el 64 % de las especies sociales y en Colombia se conocen 239 ^{8,9}.

Las avispas de la familia Vespidae se clasifican en tres subfamilias claramente definidas, siendo la más extensa dividida a su vez en tres tribus notablemente diferentes. Esta disposición se presenta a continuación, junto con los géneros, y algunos ejemplos representativos de especies en cada una de estas categorías ^{10,11}

Tabla 1. Clasificación de avispas sociales ^{10,12}.

Familia	Subfamilia	Género	Ejemplos de especies
Vespidae	<i>Vespinae</i>	<i>Vespula</i> , <i>Dolichovespula</i> , <i>Vespa</i>	<i>Vespula</i> <i>germánica</i> , <i>Vespa</i> <i>crabro</i>
	<i>Polistinae</i>	<i>Polistes</i> , <i>Ropalidia</i> , <i>Vespa</i>	<i>Polistes</i> <i>dominula</i> , <i>Ropalidia</i> <i>marginata</i>
	<i>Eumeninae</i>	<i>Delta</i> , <i>Ancistrocerus</i> , <i>Eumenes</i>	<i>Ancistrocerus</i> <i>gazella</i> , <i>Eumenes</i> <i>fraternus</i>
	<i>Masarinae</i>	<i>Anterhynchium</i> , <i>Eumenes</i> , <i>Priscilla</i>	<i>Eumenes</i> <i>bollii</i> , <i>Priscilla</i>
	<i>Stenogastrinae</i>	<i>Stenogaster</i> , <i>Liostenogaster</i>	<i>Stenogaster</i> <i>concinna</i> , <i>Liostenogaster</i> <i>flavolineata</i>
	<i>Euparagiinae</i>	<i>Euparagia</i> , <i>Anterhynchium</i>	<i>Euparagia</i> <i>nasonii</i> , <i>Anterhynchium</i> <i>mellyi</i>
	<i>Zethinae</i>	<i>Zethus</i> , <i>Synoeca</i> , <i>Epsilon</i>	<i>Zethus</i> <i>slossonae</i> , <i>Synoeca</i> <i>virginea</i>

Dentro de esta familia, dos subfamilias, *Vespinae* y *Polistinae*, las subfamilias *Polistinae* y *Vespinae* están caracterizadas por la presencia predominante de especies con comportamiento eusocial, en contraste con las subfamilias *Eumeninae*, *Euparagiinae* y *Masarinae*, que albergan avispas solitarias. Se reconoce que las avispas *Stenogastrine* exhiben un comportamiento facultativamente eusocial¹³. Estas dos subfamilias, *Vespinae* y *Polistinae*, emergen como destacadas, cada una presentando características únicas en su comportamiento social y en la construcción de sus nidos, elementos que poseen una relevancia química sustancial¹⁴.

Las avispas de la subfamilia ***Vespinae***, conocidas como avispas sociales "verdaderas", manifiestan un notable interés en su entorno, empleando señales químicas para la comunicación intracolonia¹⁵. Estos insectos presentan patrones de comportamiento altamente organizados en la construcción de sus nidos, los cuales, de manera distintiva, son elaborados utilizando papel¹⁶. La composición química de las feromonas que utilizan para la comunicación y el reconocimiento intraespecífico, así como la de los materiales empleados en la construcción de los nidos, constituyen áreas de estudio esenciales para comprender a fondo la dinámica social de estas colonias y las propiedades químicas únicas de sus estructuras ¹³.

Mientras que, las avispas de la subfamilia ***Polistinae***, también denominadas avispas sociales "papeleras", sobresalen por su habilidad única para construir nidos de papel^{17,18}. La composición química de estos nidos, compuestos por fibras de madera mezcladas con saliva, ofrece un terreno fértil para la investigación química aplicada ¹⁹. El análisis detallado de los materiales de construcción de los nidos podría arrojar luz sobre las propiedades químicas que contribuyen a la resistencia y durabilidad de estas estructuras ^{18,20}.

Un estudio reveló que tanto los nidos de las avispas sociales *Polistinae* como los de las *Vespinae* compartían la característica de tener nidos contruidos con papel que presentaban células hexagonales¹⁷. Las avispas de papel se destacan por construir nidos complejos suspendidos, con una elaborada arquitectura²¹. La investigación ha demostrado que su fabricación implica recolectar fibras vegetales, que las avispas se mezclan con saliva para formar el material de construcción. Una vez que encuentren una base adecuada como una rama, iniciarán la construcción del nido agregando pulpa de celulosa, que se seca convirtiéndose en un papel fuerte y duradero. Este

fascinante proceso ha llevado a los científicos a explorar no solo la estructura compleja de los nidos, sino también la función social y de comunicación dentro de las colonias ²².

Las investigaciones sobre el comportamiento de avispas sociales han subrayado la importancia del primer contacto, donde las sustancias químicas presentes en la cutícula y saliva del insecto desempeñan un papel crucial. Estos componentes cuticulares, principalmente hidrocarburos, no solo previenen la desecación, sino que también ofrecen defensa contra microorganismos y productos químicos inorgánicos ²³. En particular, donde según un estudio de Hoggard et al., (2011) las especies con nidos de papel mostraron una actividad antimicrobiana significativamente mayor que aquellas que excavaron madrigueras o utilizan nidos de barro ²⁴, esto se debe a que contienen una fascinante riqueza de componentes químicos provenientes de sus fluidos salivales, compuesta principalmente por carbohidratos, proteínas y aminoácidos en concentraciones excepcionalmente altas, emerge como un frente de defensa inicial contra infecciones ²⁰ proporcionando a estos nidos una posible utilidad como agentes de "inmunidad colectiva" ²⁵, ya que han demostrado en un estudio más reciente publicado por Lateef et al., (2016) poseer propiedades antimicrobianas, antifúngicas, anticoagulantes y trombolíticas, confirmando lo expuso anteriormente por Hoggard et al., (2011) ^{1,19,21,26}

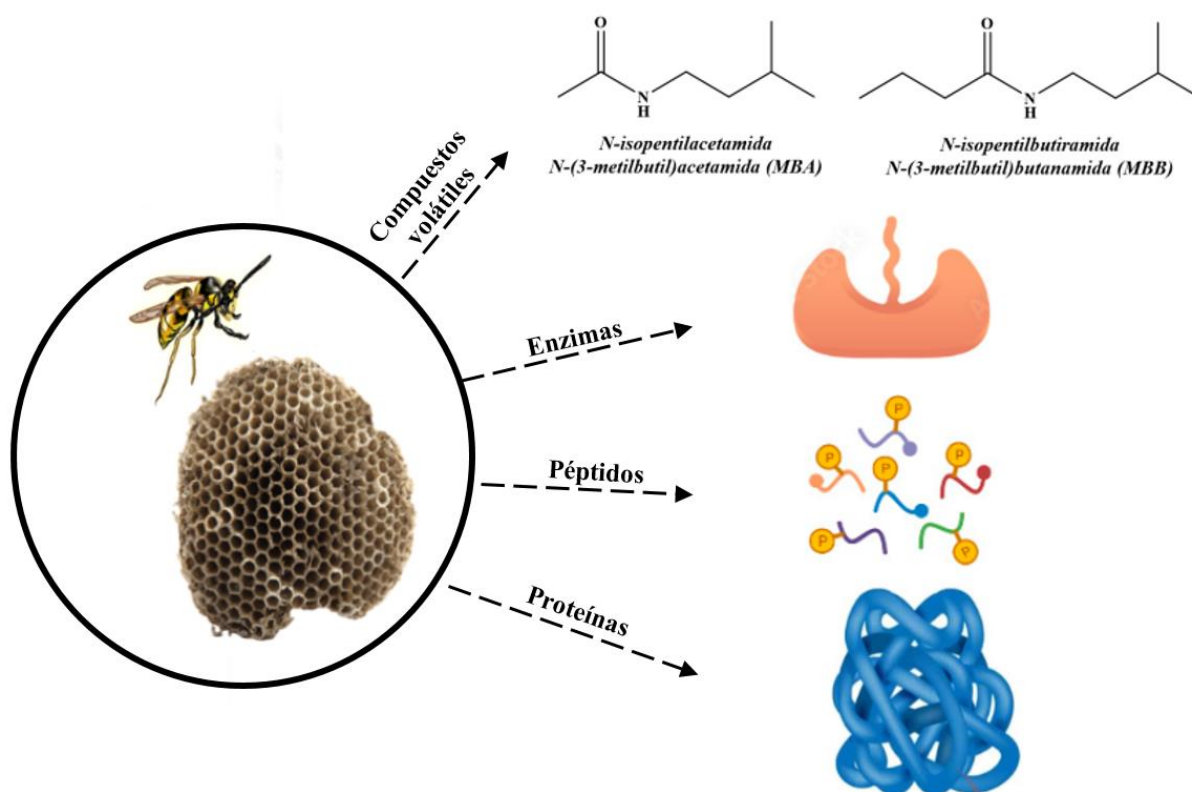


Figura 1. Componentes bioactivos presentes en los nidos de avispas

El interés particular en las avispas dentro del contexto de los himenópteros se justifica por su relación evolutiva con abejas y hormigas, así como por la diversidad en hábitos de anidación y complejidad social²⁷. La identificación de péptidos antibacterianos en la cutícula y veneno de avispas sociales refuerza su potencial para investigaciones destinadas a desarrollar agentes antimicrobianos²⁸.

En el presente trabajo, se recolectaron nidos abandonados de las especies: *Vespula vulgaris* y *Vespula germánica* de Berlín Alemania; y *Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor*, de Colombia, perteneciendo a la subfamilia *Vespinae* y *Polistinae* respectivamente. A continuación, se presentan las subfamilias y especies abordadas en esta investigación, acompañadas de imágenes ejemplificadoras de sus nidos y la respectiva composición química. Esta información se obtuvo de una investigación previa realizada por Zahid et al. (2018), que detalla el análisis XRD de los nidos, proporcionando valiosa información sobre su composición química.

Tabla 2. Subfamilia, especies, imagen ilustrativa de los nidos y la composición química de estos mismos por medio de un análisis XRD.

	Subfamilia	Especie	Nido	Composición química de los nidos ¹⁷
a	Vespinae	Vespula vulgaris		• Oligómero de nailon 6 de 9-amida ($C_{59}H_{111}N_9O_9$) • 4,4´-Bis(p-etoxibercilidenamino)bifenil ($C_{29}H_{26}N_2O_2$) • Metanamina ($C_6H_{12}N_4$)
B		Vespula germánica		
c	Polistinae	Polistes erythrocephalus		• Oxalato de metileno ($C(HCO_2)_2$) • Hidrato de silicato de calcio ($Ca_3Si_3O_9H_{20}$) • Ácido adenílico maleico ($C_9H_9N_5O_4$) • Nomifansina ($C_{16}H_{18}N_2$) • Termospina ($C_{15}H_{20}N_2O$) • Nitruro de calcio (Ca_3N_2)

D		Polistes versicolor		
Referencias imágenes a- 29 b- 30 c- 31 d- 32				

Al explorar más a fondo la composición de los nidos de avispas, se puede conocer el perfil de aminoácidos presente en estas estructuras. Los aminoácidos, como bloques fundamentales de las proteínas, revelan una red intrincada de interacciones bioquímicas que sustentan la formación y función de los nidos ^{14,33}.

Esta investigación se apoya además también en el estudio de Shikha Chawla (2020), que previamente informó sobre la composición de aminoácidos por medio de un análisis de HPLC para dilucidar la composición química de los nidos de avispa, en la cual se identificaron picos significativos para aminoácidos como alanina, serina, ácido glutámico y glicina ³⁴. Además, el estudio de Ermukhambetova (2023) destacó la presencia prominente de glicina, serina, alanina, prolina y valina, con implicaciones biorreductoras para la síntesis verde de nanopartículas ³⁵.

Las nanopartículas (NPs) son partículas con una dimensión característica en el rango de 1-100 nanómetros. Estas partículas presentan propiedades únicas que las diferencian de los

materiales a escala macroscópica, lo que las hace atractivas para una amplia gama de aplicaciones, incluyendo la medicina, la electrónica, la catálisis y la nanotecnología ³⁶.

Entre las NPs metálicas, las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido las más estudiadas debido a su versatilidad y a sus propiedades antimicrobianas y anticancerígenas ^{37–39}. Las AgNPs son eficaces contra una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, virus y hongos. También han demostrado ser efectivas en el tratamiento del cáncer, inhibiendo el crecimiento de las células tumorales ^{1,40}.

Los nidos y venenos de avispas son una fuente potencial de proteínas que pueden utilizarse para la síntesis de AgNPs. Estas proteínas presentan una alta afinidad por los grupos tiol y tio, así como por los grupos amino y carboxilato de residuos proteicos ⁴¹. Esta afinidad puede utilizarse para la estabilización de las AgNPs, lo que puede mejorar sus propiedades y sus aplicaciones ^{37,41}. Estudios como el de Lateef et al., (2016) y Ermukhambetova et al., (2023) demostraron que las AgNPs a base de nidos de avispas son eficaces contra una amplia gama de bacterias, incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas. Los investigadores encontraron que las AgNPs interactuaban con las membranas celulares, componentes internos y material genético de las bacterias, lo que les confería sus propiedades antimicrobianas ⁴².

El mecanismo de acción antimicrobiano de las AgNPs aún no se comprende completamente, pero se cree que involucra los siguientes mecanismos ⁴³:

- 1) Interacción con la membrana celular: las AgNPs pueden unirse a la membrana celular bacteriana, alterando su permeabilidad y causando la pérdida de citoplasma.
- 2) Inhibición de la respiración celular: las AgNPs pueden inhibir la respiración celular bacteriana, interfiriendo con la cadena de transporte de electrones.
- 3) Inhibición de la síntesis de ADN: las AgNPs pueden inhibir la síntesis de ADN bacteriana, interfiriendo con la enzima ADN

polimerasa. 4) Inducción de la apoptosis: las AgNPs pueden inducir la apoptosis, o muerte celular programada, en las células bacterianas.

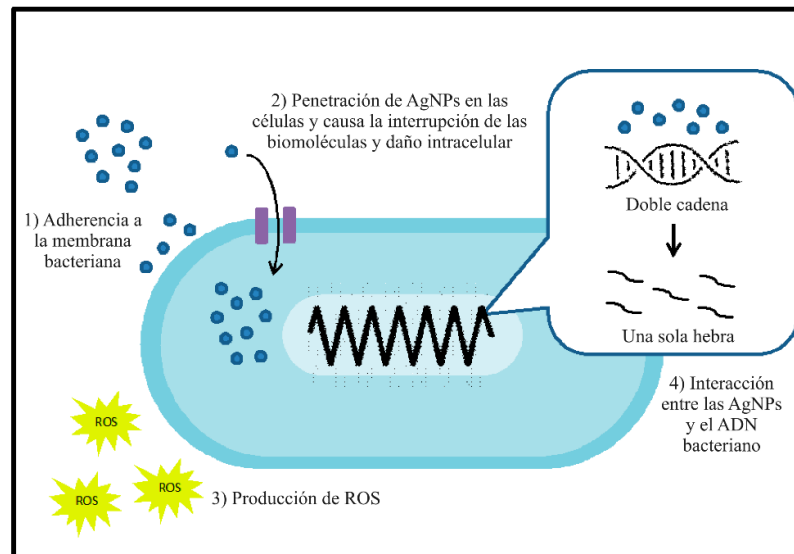


Figura 2. Actividades antibacterianas de las nanopartículas de plata ⁴⁴.

Las AgNPs se adhieren a las membranas celulares de los microbios ⁴⁴. Esta adhesión es posible debido a la atracción electrostática entre los iones de plata positivos de las AgNPs y la carga negativa de las membranas celulares ⁴⁵. Las AgNPs también tienen una afinidad por las proteínas que contienen azufre en la pared celular microbiana ⁴⁶, lo que puede contribuir a su adhesión, dicha unión provoca cambios irreversibles en la estructura de la membrana, lo que puede causar la pérdida de la integridad de la bicapa lipídica y la permeabilidad de la membrana bacteriana ⁴⁷. Por último, la pérdida de la integridad de la membrana celular puede provocar una serie de problemas para la célula. Por ejemplo, la célula puede perder la capacidad de regular su actividad, lo que puede afectar a su supervivencia. Además, la pérdida de la integridad de la membrana celular puede permitir que los contenidos celulares, como el citoplasma, las proteínas, los iones y el ATP, se escapen provocando así la muerte celular ⁴⁸.

En este ámbito, los ungüentos que contienen nanopartículas de plata (AgNPs) pueden desempeñar un papel crucial en la estabilización de las propiedades antimicrobianas de la plata ^{49,50}. Esto se logra mediante diversas estrategias que optimizan la eficacia y durabilidad de las AgNPs.

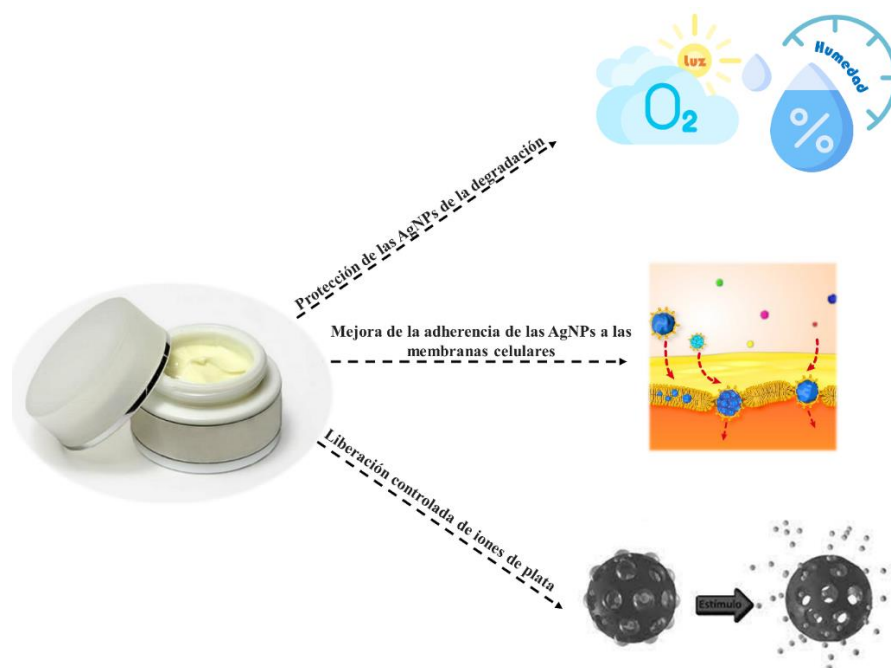


Figura 3. Estabilización de las actividades antimicrobianas

(i) Preservación de la estabilidad de las nanopartículas de plata (AgNPs): Los ungüentos desempeñan un papel crucial al proteger las AgNPs contra la degradación causada por factores ambientales como la luz, el oxígeno y la humedad ⁵¹. (ii) Mejora en la unión de las AgNPs a las membranas celulares: Los ungüentos se revelan como facilitadores en la mejora de la adhesión de las AgNPs a las membranas celulares, lo que a su vez potencia su actividad antimicrobiana de manera considerable ^{52,53}. (iii) Regulación precisa de la liberación de iones de plata: Los ungüentos desempeñan un papel fundamental en el control de la liberación de iones de plata, contribuyendo a prevenir la toxicidad de estos iones para las células humanas, este enfoque garantiza una liberación controlada que maximiza la eficacia sin comprometer la seguridad ^{54,55}.

Los productos dermatológicos tópicos son sustancias líquidas o semisólidas, como cremas, ungüentos, lociones y geles, diseñados para administrar medicamentos a diversas capas de la piel con el propósito de prevenir o tratar enfermedades cutáneas. La efectividad de cualquier formulación tópica en términos de inicio, duración y magnitud de la respuesta terapéutica está condicionada por la eficacia relativa de tres procesos secuenciales: la liberación del principio activo desde la forma farmacéutica (liberación del fármaco), la penetración/difusión del fármaco a través del estrato córneo y otras capas cutáneas, antes de inducir el efecto farmacológico deseado

en el lugar de acción ^{56,57}. En la figura 4 se muestra un diagrama de flujo de los métodos distintivos y una tabla de definición (Tabla 4) donde se determina las formas de dosificación

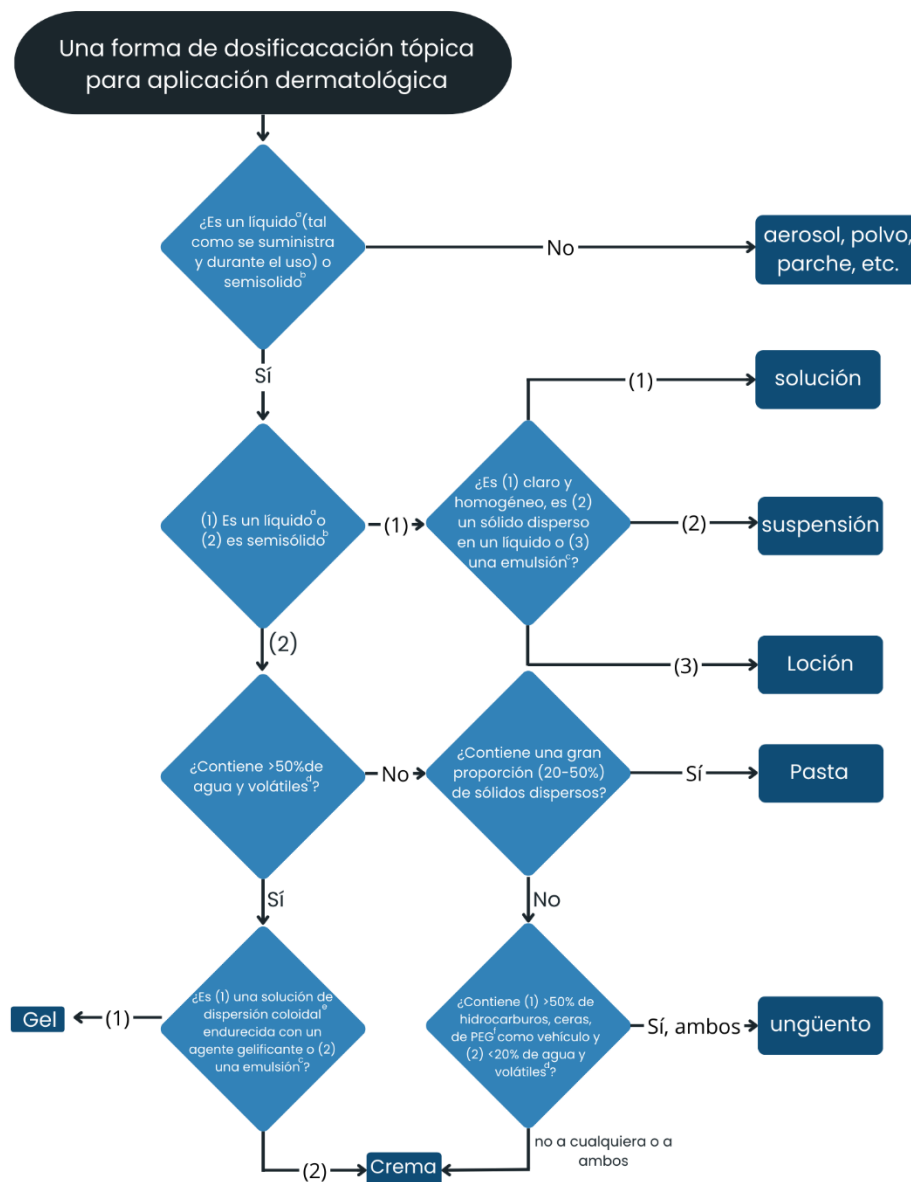


Figura 4. Árbol de decisión sobre la nomenclatura de formas farmacéuticas tópicas.

De acuerdo con el diagrama de flujo, se menciona que (a) un líquido tiene la capacidad de verse, fluir y adaptarse a su recipiente a temperatura ambiente, exhibiendo un comportamiento de flujo newtoniano o pseudoplástico. Por otro lado, (b) un semisólido no tiene la capacidad de verse, no fluye ni se adapta a su recipiente a temperatura ambiente, y su comportamiento generalmente es de flujo plástico, ya que no fluye fácilmente con un esfuerzo cortante bajo. En

cuanto a (c), una emulsión se define como un sistema de dos fases compuesto por al menos dos líquidos inmiscibles, donde uno de ellos se dispersa en forma de glóbulos (fase interna o dispersa) en la otra fase líquida (fase externa o continua), generalmente estabilizado por un agente emulsionante. En relación con (d), la medición de agua y volátiles se realiza mediante la prueba de pérdida por secado (LOD), calentando a 105 °C hasta alcanzar un peso constante. (e) Una dispersión coloidal se refiere a un sistema en el cual partículas de tamaño coloidal (entre 1 nm y 1 µm) se distribuyen de manera uniforme en un líquido. Por último, (f) se menciona el polietilenglicol ^{56,57}.

Tabla 3. Definición sugerida de formas farmacéuticas tópicas ⁵⁶⁻⁵⁹.

Forma de dosificación^a	Definición	Formulación	Apariencia y sensación	propiedades físicas
Solución tópica	Una forma farmacéutica líquida ^b transparente y homogénea para aplicación externa sobre la piel.	Generalmente contiene un vehículo acuoso o alcohólico; aunque un aceite también puede servir como vehículo. Puede contener un agente gelificante para espesar la solución.	Clara, delgada	
Suspensión tópica	Una forma farmacéutica líquida ^b , que consiste en un sólido suspendido en un vehículo líquido en un	Generalmente contiene un vehículo acuoso o alcohólico.	El sólido a menudo se sedimenta con el tiempo, por lo que es necesario	

	sistema de dos fases para aplicación externa sobre la piel.		agitarlo antes de usarlo.	
Loción	Una forma farmacéutica líquida ^b en emulsión ^c para aplicación externa sobre la piel.	Generalmente contiene un vehículo acuoso y >50% de agua y volátiles ^d .	Opaco, fino, no graso; tiende a evaporarse rápidamente con una sensación refrescante cuando se frota sobre la piel	Muestra un comportamiento de flujo newtoniano o pseudoplástico.
Gel	Una forma de dosificación semisólida ^e que contiene un agente gelificante para proporcionar rigidez a una solución o dispersión ^f coloidal para aplicación externa a la piel. Un gel puede contener partículas en suspensión.	Generalmente contiene un vehículo acuoso o alcohólico y un agente gelificante como almidón, derivados de celulosa, carbómeros, silicato de magnesio y aluminio, goma xantana, sílice coloidal, jabones de aluminio o zinc.	Generalmente transparente o translúcido en un sistema monofásico; espeso, no graso; Proporciona una sensación refrescante cuando se aplica sobre la piel.	Suele presentar una única transición en TGA ^h correspondiente a pérdida del vehículo; no fluye bajo esfuerzo cortante y generalmente muestra un comportamiento de flujo plástico
Crema	Una forma de dosificación	Contiene >20% de agua y volátiles ^d	Opaco o translúcido,	Muestra dos o más transiciones

	semisólida ^e en emulsión que contiene >20 % de agua y volátiles ^d y/o <50 % de hidrocarburos, ceras o polietilenglicoles como vehículo para aplicación externa en la piel.	y/o <50% de hidrocarburos, ceras o polietilenglicoles como vehículo. Existen dos tipos de cremas: una crema de aceite-en-agua con agua como fase continua y una crema de agua-en-aceite con aceite como fase continua	viscoso, grasoso, tiende a no evaporarse ni absorberse cuando se frota sobre la piel.	en TGA ^h indicativas de al menos un sistema de dos fases; muestra el comportamiento de flujo plástico
Ungüento	Una forma farmacéutica semisólida ^e en suspensión o emulsión que contiene <20 % de agua y volátiles ^d y >50 % de hidrocarburos, ceras o polietilenglicoles como vehículo para aplicación externa en la piel.	Contiene una gran proporción (20-50%) de sólidos dispersos en un vehículo graso.	Opaco, viscoso, grasoso o ligeramente grasoso; Se adhiere bien a la piel, formando una capa protectora.	
Pasta	Una forma farmacéutica	Contiene una gran proporción (20-	Opaco, viscoso, graso a	

	semisólida ^e que contiene una gran proporción (20-50 %) de sólidos finamente dispersos en un vehículo graso para aplicación externa en la piel.	50%) de sólidos dispersos en un vehículo graso.	ligeramente graso; Se adhiere bien a la piel formando una gran capa protectora.	
--	--	---	---	--

***a;** Una forma de dosificación es un producto farmacéutico que contiene una sustancia activa, que puede ser un ingrediente farmacéutico activo (API), y uno o más excipientes.

***b;** Un líquido es una sustancia que se puede verter a temperatura ambiente. Se adapta a su recipiente y puede fluir de forma laminar o turbulenta.

***c;** Una emulsión es una mezcla de dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales está disperso en forma de glóbulos en el otro líquido. La emulsión se estabiliza por un agente emulsionante.

***d;** El contenido de agua y volátiles de una forma de dosificación se puede determinar mediante la prueba de pérdida por secado (LOD). Esta prueba consiste en calentar la forma de dosificación a 105 °C hasta que alcance un peso constante.

***e;** Un semisólido es una sustancia que no se puede verter a temperatura ambiente. No fluye con un esfuerzo cortante bajo y generalmente exhibe un comportamiento de flujo plástico.

***f;** Una dispersión coloidal es una mezcla de partículas de tamaño coloidal, es decir, entre 1 nm y 1 µm, en un líquido. Las partículas están dispersas de manera uniforme en todo el líquido.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar agregados de plata a partir de extractos de nidos de avispas (*Polistes* sp. y *Vespula* sp.).

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar nidos de avispas y sus extractos mediante FTIR-ATR, TGA y CG-MS.
- Obtener agregados de plata mediante extractos de los nidos de avispas *Vespula vulgaris*, *Vespula germanica*, *Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor*.
- Identificar los agregados de plata mediante UV-Vis.

3. METODOLOGÍA

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

3.1 Reactivos

- Agua destilada (H_2O).
- Metanol (CH_3OH).
- Etanol (C_2H_6O).
- Nitrato de plata ($AgNO_3$)
- Polisorbato 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$)
- Alcohol cetílico ($CH_2(CH_2)_{15}OH$)
- Manteca de karité
- Cera de abeja
- Aceite mineral (Vital)

3.2 Materiales y Equipos

- Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige–21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycine Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante, en el rango de $4000 - 550\text{ cm}^{-1}$ con 24 escaneos por muestra.
- TGA con analizador térmico SDT Q-600 de TA Instruments. Este análisis se realizó en cooperación con el grupo de polímeros de la Universidad Industrial de Santander.

- Los espectros de ultravioleta visible se realizaron en un espectrofotómetro UV-vis marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, en una longitud de onda establecida de 190 nm y 900 nm.
- Balanza analítica de precisión 0,0001g, marca aeADAM.
- Microscopio marca OLYMPUS OPTICAL CO., LTD. Modelo CH3ORF100, equipado con lentes E A10 0.25, E A40 0.65 y E A4 0.10.
- Estereomicroscopio binocular Stemi DV4 marca ZEISS ajustado con un microscope LED light ring MIC-209.
- Para graficar y analizar los diferentes espectros, se usó la licencia académica de aprendizaje del software OriginPro 2023b.

3.3 Procedimiento

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en esta investigación se planteó la siguiente metodología expuesta en la figura 5.

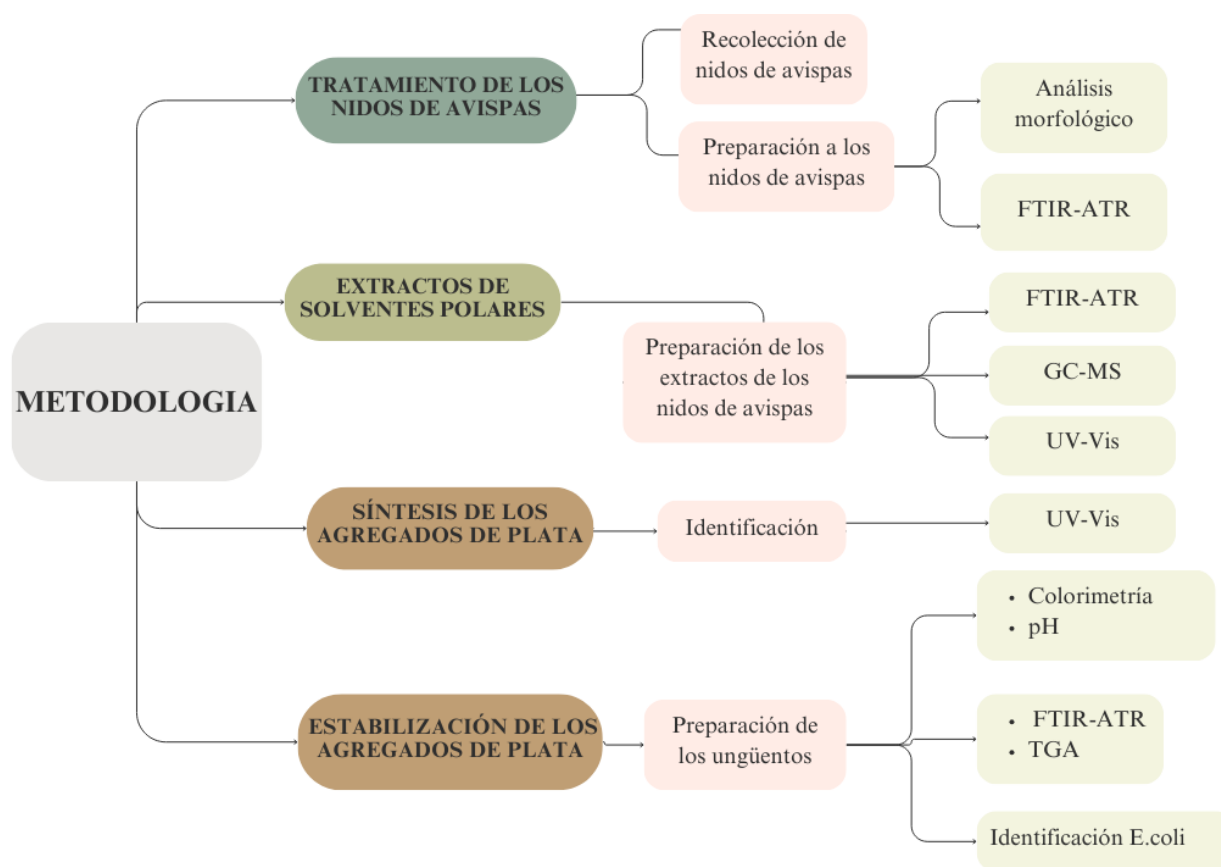


Figura 5. Esquema metodológico.

3.4 Tratamiento de los Nidos de Avispas

3.4.1 Recolección de Nidos de Avispas

Se recolectaron nidos abandonados de las especies: *Vespula vulgaris* y *Vespula germánica* de Berlín Alemania; y *Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor* del departamento de Norte de Santander. Las muestras fueron depositadas en bolsas de plástico de cierre hermético por separado, se rotularon y se transportaron al laboratorio de Biocalorimetría de la Universidad de Pamplona. Una vez en el laboratorio y previo a los análisis se tomaron registros fotográficos de cada uno de los nidos con ayuda de una cámara de iPhone 11 con amplitud de 1x.

3.4.2 Preparación a los Nidos de Avispas

3.4.2.1 Análisis Morfológico. Precedentemente de ser molturados los nidos de cada especie de avispas se estudiaron uno por uno con un estereomicroscopio binocular Stemi DV4 marca ZEISS ajustado con un microscope LED light ring MIC-209 para la observación de sus características físicas, las cuales se les tomo registro fotográfico con la cámara de un iPhone 11 con una amplitud de 1x, seguidamente se llevó a cabo la meticulosa eliminación de cualquier partícula de suciedad, como pupas, larvas, desechos generados por las avispas u otros contaminantes presentes en la superficie del nido, se picó y se molturó cada nido por individual en varias fracciones pequeñas con ayuda de una tijera y un mortero de ágata respectivamente, esto para facilitar y obtener una mejor pulverización de los diferentes nidos de avispas.

Para el tratamiento de los nidos de avispas abandonados, resultando en la obtención de aproximadamente 2 g de cada especie de nido de avispas abandonado, posteriormente a esto, se observaron las distintas muestras de los nidos en el estereomicroscopio y en un microscopio OLYMPUS OPTICAL CO., LTD. Modelo CH3ORF100, equipado con lentes E A10 0.25, E A4 0.10 y E A40 0.65; donde también se tomaron registros fotográficos y consecutivamente se llevaron dichas muestras a su caracterización por ATR-FTIR.

3.4.2.2 Espectroscopía FTIR-ATR. Cada muestra pulverizada fue colocada en la celda predestinada para sólidos del equipo FTIR (SHIMADZU Prestige-21), donde se obtuvo el espectro en el rango de longitudes de onda de 550 a 4000 cm^{-1} , con un número total de 24 Scans y con una resolución de 4.0. El proceso de los espectros infrarrojos se efectuó a través de la técnica de reflexión total atenuada (ATR). Consecutivamente, el procesamiento de los espectros se llevó a cabo mediante el software OriginPro 2023b en su versión de prueba.

3.5 Extractos de Solventes Polares.

3.5.1 Preparación de los Extractos de los Nidos de Avispas

Para la obtención de los extractos se preparó un solvente de agua, metanol y etanol con ayuda de una Balanza de Precisión Pioneer 0,01 g; calibración externa-OHAUS y se siguió el protocolo establecido en la tabla 4.

Tabla 4. Condiciones trabajadas para la extracción de los compuestos bioactivos.

Peso nido (g)	Volumen solvente (ml)	Porcentaje del solvente	Descripción
0,8	100	EtOH 14,3%, MeOH 14,2%, Agua 71,3%	Plancha de calentamiento + agitación por 1 hora

Finalmente, se logró aislar fases sólidas y líquidas durante el proceso de extracción. Los extractos de interés, constituidos por las fases líquidas, fueron diluidos en un balón aforado de 10 ml, empleando 0,4 ml de cada extracto. Estas diluciones se sometieron a análisis mediante espectrofotometría UV-Vis. La evaluación se llevó a cabo en un espectrofotómetro SHIMADZU modelo UV-2401PC, en un rango de longitud de onda establecido de 190 nm a 900 nm. Paralelamente, las fases sólidas fueron sometidas a un proceso de secado a 60 °C en una incubadora de la marca Memmert durante 72 horas, para su posterior caracterización mediante FTIR-ATR.

3.5.2 Caracterización de los extractos sólidos y líquidos.

3.5.2.1 Espectroscopia FTIR-ATR Para la Fase Sólida Resultante de la Extracción.

Cada muestra sólida fue posicionada en la celda destinada a sólidos del equipo FTIR (SHIMADZU Prestige-21), donde se adquirió el espectro en el rango de longitudes de onda de 550 a 4000 cm^{-1} , con un número total de 24 Scans y con una resolución de 4.0. La obtención de los espectros infrarrojos se efectuó a través de la técnica de reflexión total atenuada (ATR). Posteriormente, el procesamiento de los espectros se llevó a cabo mediante el software OriginPro 2023b en su versión de prueba.

3.5.2.2 Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC/MS) Para la Fase Líquida Resultante de la Extracción. Se tomaron 100 μl en 5 ml de acetonitrilo para cada muestra. Se empleó un cromatógrafo de gases Agilent, 6890 acoplado a un espectrómetro de masas 5973a, fase estacionaria apolar HP5MSTM con dimensiones (30m $\times$ 0,25mm $\times$ 0.25 μm), empleando gas de arrastre Helio 0,75mL/min, split 1:20, inyectando 1 μL , empleando una temperatura en puerto de inyección de 250°C, llevando el horno de 60 a 280°C a 3°C/min, detección previa de modo de ionización con impacto de electrones a 70 eV, y acoplado a detector de masas, el equipo usado es del laboratorio de alimentos de la Universidad Industrial de Santander.

3.5.2.3 Análisis por Espectroscopia UV-Vis. Se realizaron diluciones utilizando 0,4 ml de cada muestra en un balón aforado de 10 ml, con el objetivo de realizar su respectivo análisis a través de espectrofotometría UV-Vis utilizando un espectrofotómetro UV-Vis de la marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, que cubre un rango de longitud de onda preestablecido de 190 nm a 900 nm, donde se procesaron los datos en el Software Origin 2023b de prueba para la generación de los gráficos correspondientes.

3.6 Síntesis de los Agregados de Plata

Para ello se tomó 1,7 mL de una solución de nitrato de plata al 10 mM y se mezclaron con 5mL de extracto de nido, luego la mezcla se mantuvo en agitación 250 rpm y protegida por la luz por 2 horas. Para la caracterización Se llevaron a cabo diluciones en un balón aforado de 10 ml, empleando 0,4 ml de cada uno de los agregados de plata, con el propósito de realizar su

identificación mediante un espectrofotómetro UV-Vis de la marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, abarcando un rango de longitud de onda predefinido de 190 nm a 900 nm.

Finalmente, la determinación del tamaño de los agregados de plata se realiza mediante la aplicación de la Ecuación 1, la cual fue propuesta por Haiss como un método eficiente y rápido para evaluar el tamaño y la concentración de nanopartículas. Esta ecuación se basa en la teoría de dispersión multipolar y utiliza datos experimentales para su derivación:

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

*Ecuación 1.*⁶⁰

Donde los parámetros de ajuste se determinan utilizando valores teóricos para $d > 25 \text{ nm}$. En esta formulación, λ_{SPR} representa la longitud de onda en la cual se alcanza la máxima absorción, mientras que λ_0 denota la longitud de onda correspondiente a la mínima absorción al inicio del fenómeno SPR. Los valores asignados a los parámetros son L_1 : 6,53 y L_2 : 0,0216.

Es relevante destacar que, al aplicar esta ecuación y considerando $d > 25 \text{ nm}$, el promedio del error absoluto en la determinación de los diámetros de partículas observados experimentalmente se mantiene en un 3%.

3.7 Estabilización de las nanopartículas

Al momento de finalizar la síntesis de las nanopartículas, una vez consultada la literatura se decidió comprobar la estabilización de estas mediante la preparación de un ungüento, aunque dentro de la propuesta aprobada no se contempló esta actividad, es importante para comprobar que la metodología de síntesis utilizada es la más adecuada.

porqué inicialmente hablaba de agregados y luego de nanopartículas?

en qué rango se tiene una nano partícula?

3.7.1 Preparación de los Ungüentos

En este paso, se elaboraron tres variantes de ungüentos utilizando extractos líquidos y agregados de plata extraídos de los diversos nidos de avispas. Cada fórmula de ungüento consistió en 1 g de alcohol cetílico, 2 g de aceite mineral (VITAL), 1 g de manteca de karité, 0,1 g de polisorbato 80 y 0,25 g de tres tipos distintos de ceras de abejas. Cera de abeja blanca (A), cera de

abeja amarilla (B) y cera de abeja virgen (C), siendo asignada únicamente una variedad de cera de abejas a cada ungüento, obteniéndose un total de 24 ungüentos.

Se procedió a pesar cada una de las materias primas mediante una balanza analítica de alta precisión con una exactitud de 0,0001 g, de la marca aeADAM. Posteriormente, se sometió cada preparación a un baño maría a una temperatura de 70 °C utilizando una plancha de calentamiento ajustada a 250 °C durante un periodo de 6 minutos, logrando así la fusión homogénea de cada ungüento. A continuación, se incorporó 1 ml de extracto líquido, se agitó de manera uniforme con la mano y se reintrodujo en el baño maría para completar un tiempo total de 10 minutos y se midió, seguidamente el pH de cada ungüento, después de la solidificación de estos, se evaluó el color con un colorímetro (FRU ® Model: WR-10QC) y se caracterizaron por medio de espectroscopia FTIR-ATR y TGA.

3.7.2 Caracterización de los Ungüentos

3.7.2.1 Espectroscopia FTIR-ATR. Se tomó con una espátula una pequeña porción de la formulación de cada uno de los ungüentos y luego se colocó en la celda designada para sólidos en el equipo FTIR (SHIMADZU Prestige-21). Se adquirió el espectro en el rango de longitudes de onda de 550 a 4000 cm^{-1} , realizando un total de 24 escaneos con una resolución de 4.0. Los espectros infrarrojos fueron obtenidos utilizando la técnica de reflexión total atenuada (ATR). Posteriormente, se procesaron los espectros utilizando el software OriginPro 2023b en su versión de prueba.

3.7.2.2 Análisis Termogravimétrico TGA. Las evaluaciones termoanalíticas prescindieron de cualquier preparación previa de las muestras; se empleó 1 g de cada muestra, depositándolas en viales específicos destinados para el análisis correspondiente. Este procedimiento se llevó a cabo mediante el uso del analizador térmico SDT Q-600 de TA Instruments, el cual ejecuta de manera simultánea el análisis termogravimétrico (TGA). Este análisis se realizó en cooperación con el grupo de polímeros de la Universidad Industrial de Santander.

3.7.2.3 Identificación de E. Colí. Protocolo Petrifilm: En esta primera etapa se procedió a hacer diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). Se tomaron 10 ml de la muestra de cada muestra tipo ungüento en estado fundido y se homogenizaron con 90 ml de Agua Peptonada Estéril 0,1% (APE), (dilución 10^{-1}). Se prepararon las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} de la siguiente manera, se tomaron 1 ml de

la dilución 10^{-1} y se transfirieron a un tubo con 9 ml de APE (dilución 10^{-2}), posteriormente, se tomaron 1 ml de esta última dilución y se depositó en otro tubo con 9 ml de APE (dilución 10^{-3}). Se empleó la técnica de Petrifilm marca 3M, la cual contienen agar deshidratado de Bilis Rojo Violeta (VRB por sus siglas en inglés), un agente de gelificación soluble en agua fría, un indicador de glucuronidasa para identificar *E. coli*, y un indicador del tetrazolio para facilitar la enumeración de las colonias. En el centro de la placa de Petrifilm *E. coli* se vertió 1 ml de la dilución 10^{-2} y se distribuyó la muestra uniformemente colocando el disco de difusión con el fin de evitar la formación de burbujas, haciendo una leve presión a fin de distribuir todo el inóculo, este procedimiento se repitió para la dilución 10^{-3} . Las láminas se incubaron a 37°C por 24 horas. Aquellas colonias de color azul con presencia de gas se tomaron como indicativo de *E. coli*.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Al aplicar la metodología se obtuvieron los siguientes resultados

4.1 Tratamiento de los Diferentes Nidos de Avispas.

4.1.1 Análisis Morfológico

Para el tratamiento de los nidos de avispas abandonados se obtuvieron las siguientes fotografías (Fig 6, 7, 8 y 9) tomadas en el estereoscopio y microscopio donde se muestran las formas, los colores y los diferentes tamaños de las pulverizaciones de las cuatro muestras de los nidos de avispas.

En la figura 6, se puede observar desde el estereoscopio que el nido de la especie *Vespula vulgaris* es esencialmente de color amarillo, con capas que muestran tonalidades que van desde el gris al beige, siguiendo un patrón característico, como reportó Akre R (1991) ⁶¹. También se destaca que el tejido de papel en este tipo de nidos es más laxo, compuesto por fibras más pequeñas que incluyen aún algunas fibras de aspecto leñoso, donde en estudios previos realizado por Spradbery (1971) comenta que el papel del nido de *Vulgaris* es frágil está compuesto de fibras derivadas de la madera en descomposición ⁶² lo que confirma lo antes expuesto. En las figs 6-D1, D2, D3 se observa la muestra pulverizada se puede apreciar que está compuesta por filamentos delgados con aspecto no uniforme y reminiscente de madera.

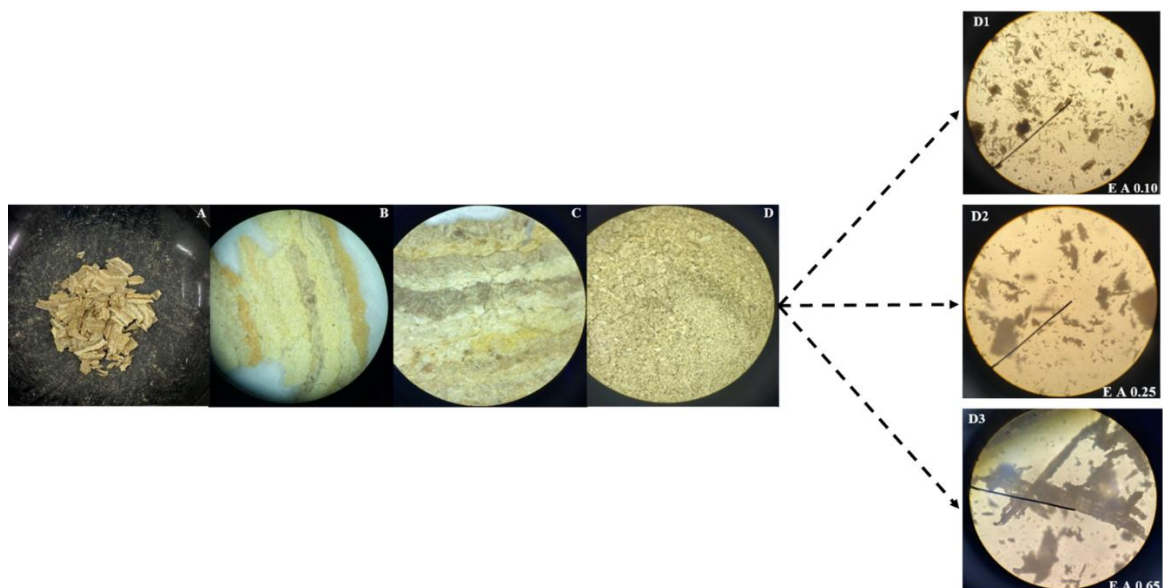


Figura 6. Tratamiento del nido de Vv (*Vespula vulgaris*). A) Nido previo a la moltura. B) Nido visto desde un estereoscopio. C) Características morfológicas notables. D) Nido después del proceso de molturación. D1) Vv molturado visto desde un microscopio con lente E A 0.10. D2) visto desde un microscopio con lente E A 0.25 y D3) visto desde un microscopio con lente E A 0.65.

En la figura 7, observado a través del estereoscopio, el nido de *Pe* exhibe células hexagonales con tonos mayormente grises y sutiles variaciones, como lo expuesto por Matsuura (1990) en su investigación en donde observó que los nidos de *Polistes* pueden ser de color grisáceo, marrón o incluso amarillento, esta variación depende de varios factores como el tipo de material utilizado para la construcción de sus nidos e incluso de factores ambientales como el sol y la humedad ⁶³. Estas variaciones van desde un gris claro hasta tonos más oscuros, ocasionalmente mostrando matices como marrón-gris, amarillo-gris y beige. Sin embargo, a diferencia del caso de la Vv, no se distinguen capas definidas con un claro inicio y final en cada una, su estructura es más compacta en comparación con el Vv. En las figuras E1, E2, E3, se puede observar *Pe* bajo un microscopio a diferentes amplitudes mostrando irregularidades en su forma.

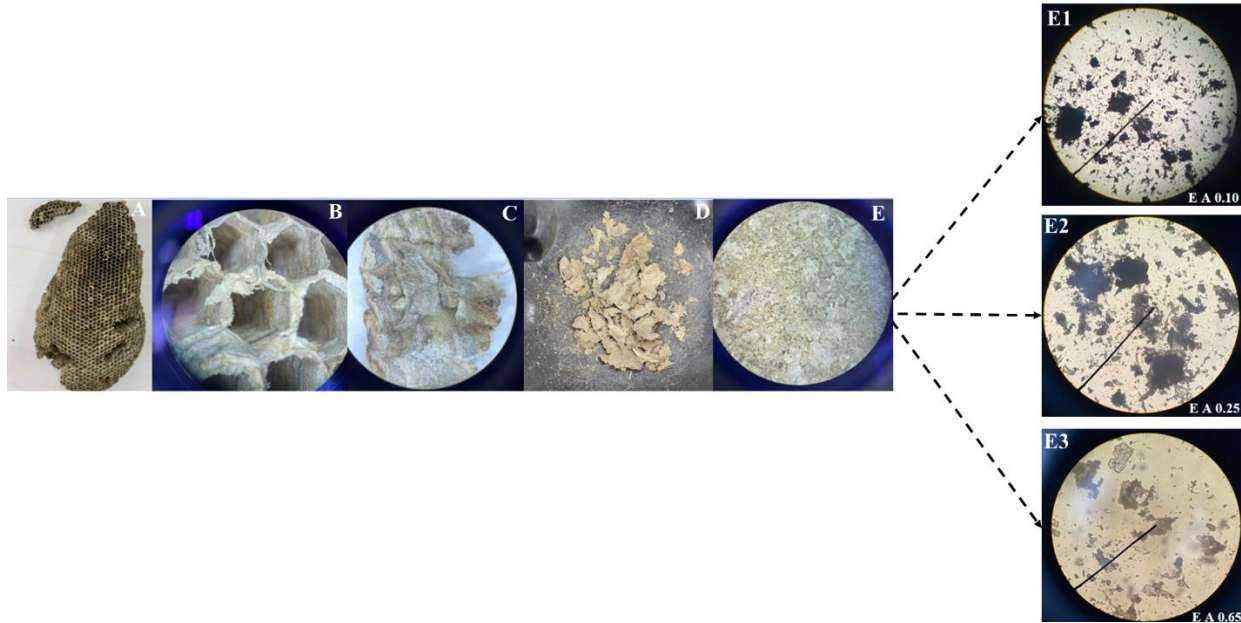


Figura 7. Tratamiento del nido de *Pe* (*Polistes erythrocephalus*). A) Nido abandonado de *Pe*. B) Características morfológicas notables. C) Nido visto desde un estereoscopio. D Nido previo a la moltura. E) Nido después del proceso de molturación. E1) Muestra de *Pe* pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. E2) *Pe* visto con un lente E A 0.25. E3) *Pe* visto con un lente E A 0.65.

En la figura 8, *Pv* comparte características físicas similares con *Pe*, ya que ambos presentan células hexagonales dispuestas en un patrón regular con tonalidades que van desde grises hasta beige, exhibiendo sutiles variaciones que van desde un gris claro hasta tonos más oscuros. Se aprecia una amalgama de estos colores característicos en su estructura, tal como se evidencia en fotografías documentadas en estudios como el realizado por Peck (1998) y otro llevado a cabo por Oliveira S (2010) ^{64,65}.

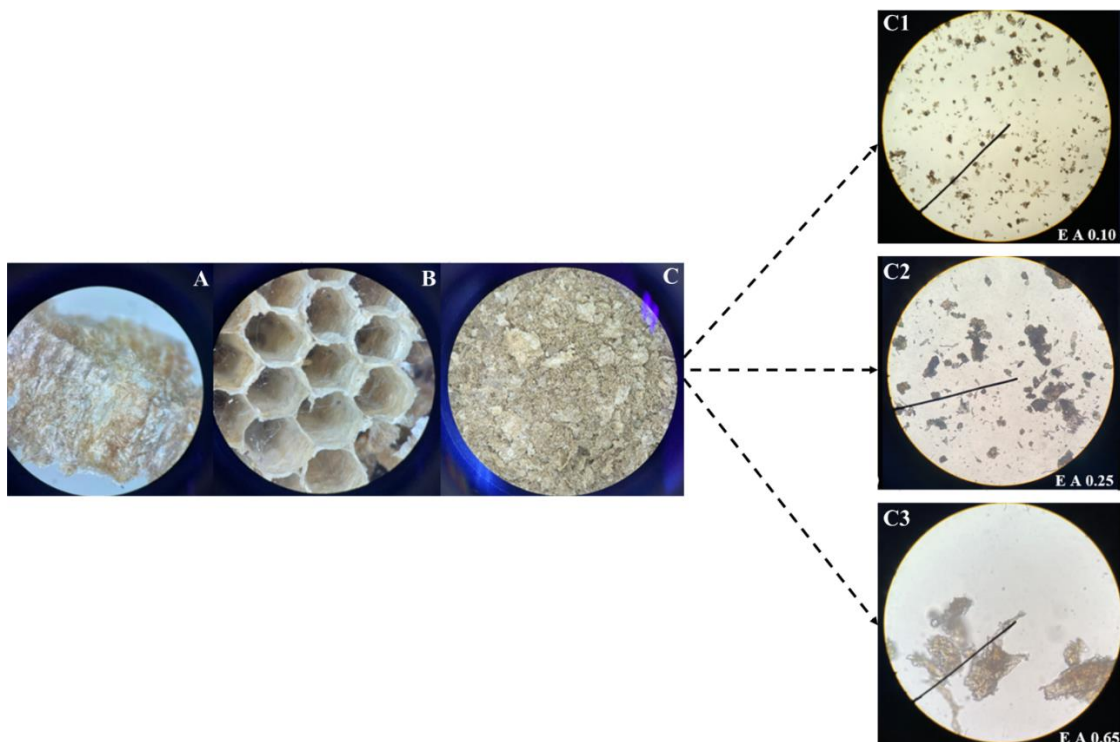


Figura 8. Tratamiento del nido de *Pv* (*Polistes versicolor*). A) Nido previo a la moltura. B) Características morfológicas notables. C) Nido después del proceso de molturación. C1) Muestra de *Pv* pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. C2) *Pv* visto con un lente E A 0.25. C3) *Pv* visto con un lente E A 0.65.

Es evidente que los nidos exhiben tonalidades de gris con variaciones sutiles, que van desde gris claro hasta tonos más oscuros, ocasionalmente presentando matices como marrón-gris, amarillo-gris y beige. En contraste, en la figura 9, el nido de *Vespula germánica* suele estar compuesto por un papel gris más flexible y homogéneo de fibras de madera sólida, donde Spradbery J (1971) y colaboradores describieron el color de papel del nido *Vg* como marrón claro o pulido ⁶² u otro estudio por MacDonald (1980) lo describió como bronceado ⁶⁶. Sin embargo, en esta investigación *Vg* destaca por la presencia notable de un color particular, el azul, además de revelar fibras maderosas con trazas de color verde en su estructura. En las figs D1, D2, D3 se observa el nido *Vg* pulverizado desde un microscopio a diferentes amplitudes mediante un microscopio, se nota que *Vg* presenta una pulverización más pronunciada, con partículas de forma irregular dentro de dicho polvo.

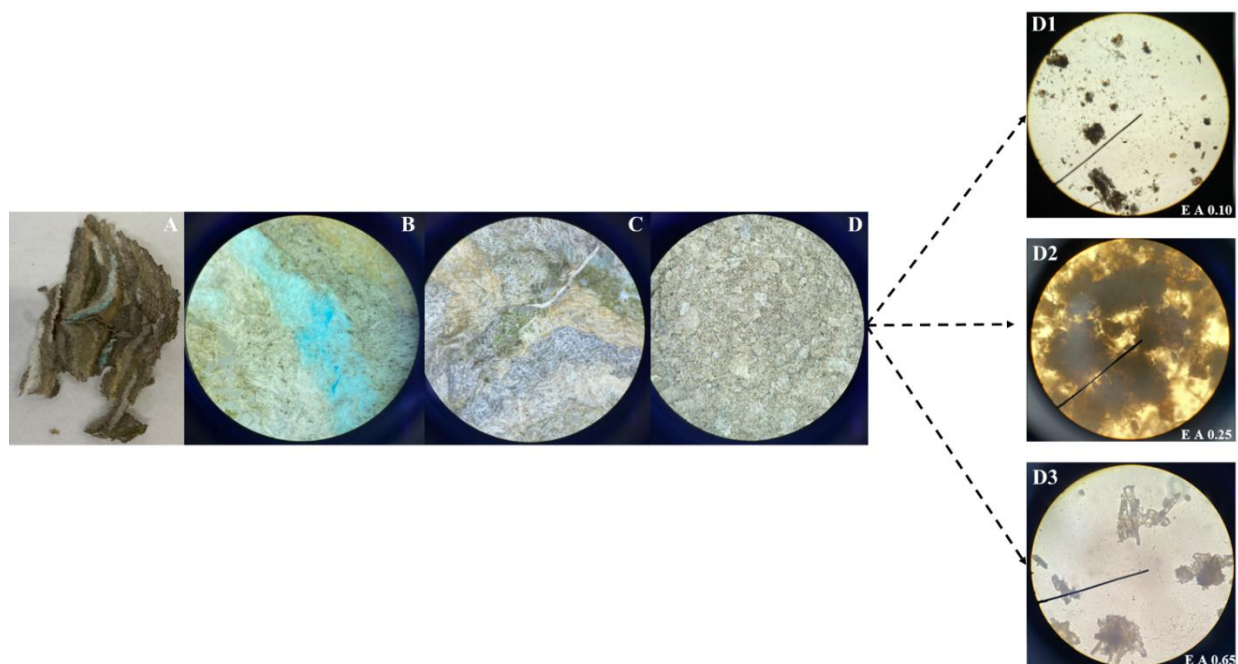


Figura 9. Tratamiento del nido de *Vespula germanica*. A) Nido previo a la moltura. B) Características morfológicas notables. C) Nido visto desde un estereoscopio. D) Nido después del proceso de molturación. D1) Muestra de *Vg* pulverizada vista desde un microscopio con lente E A 0.10. D2) *Vg* visto con un lente E A 0.25. D3) *Vg* visto con un lente E A 0.65.

Akre R (1991) discute cómo la tonalidad de la coloración de los nidos está influenciada por varios factores, como la variedad de maderas presentes en diferentes regiones del mundo, el entorno en el que viven las avispas y la selección de las fibras disponibles realizada por estos insectos. Este fenómeno se puede observar claramente en el caso de *Vg*, donde los informes anteriores describen el color del papel del nido como marrón claro o pulido, pero no mencionan los colores característicos (azul y verde) encontrados en esta investigación⁶¹.

Seguidamente las muestras pulverizadas se caracterizaron por FTIR-ATR.

4.1.2 Espectroscopia FTIR-ATR

Se inició con la comparación de los espectros infrarrojos (IR) de las muestras pulverizadas de nidos abandonados de avispas (Vaya a Figura 10). Se presenta, además, su correspondiente tabla (Tabla 6) para la interpretación básica de las frecuencias infrarrojas, facilitando la identificación de los posibles grupos funcionales presentes en las muestras analizadas, en la cual se reflejan las bandas características de las muestras y se indican los modos vibracionales con su respectiva asignación (tipos de enlace) acorde con el número de onda (cm^{-1}).

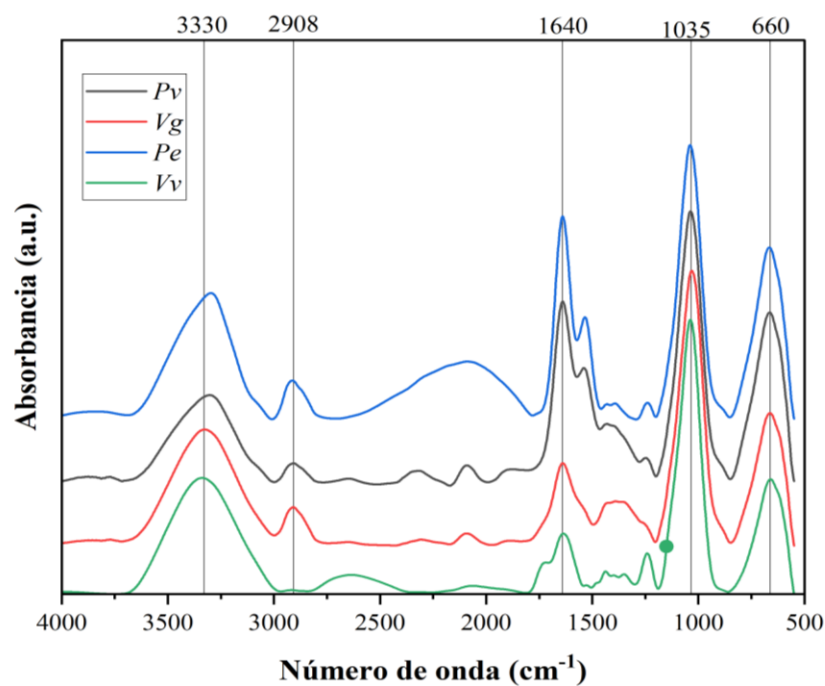


Figura 10. Espectro IR de los nidos pulverizados.

Tabla 5. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para los nidos pulverizados antes de la extracción.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Vibración	Ref
3285–3330	O-H (Celulosa)	Estiramiento	67–69
2908–2921	CH ₂	Estiramiento asimétrico	23,68,70
2093	CH (CH ₃)	Estiramiento simétrico	23,67,70
1627–1640	C=C C=N	Estiramiento asimétrico	23,71
1520–1540	N-H	Flexión del enlace	71,72
1230–1259	C-O, C=O, C- C	Estiramiento o flexión de diferentes grupos presentes en la lignina	67,72,73
1030–1035	C-O	Estiramiento de alcohol	67,72
660	C-H	Flexión fuera del plano	72

Se evidencia que cada especie comparte rasgos distintivos en distintas regiones espectrales: en torno a los 3330 cm⁻¹, se identifican bandas asociadas a grupos -OH, cuya intensidad sugiere la presencia de puentes de hidrógeno entre moléculas; las bandas cercanas a los 2908 cm⁻¹ se relacionan con los estiramientos de enlaces CH, CH₂ y CH₃; alrededor de los 1640 cm⁻¹, se encuentran estiramientos asimétricos característicos de grupos -C=C; en los 1035 cm⁻¹ se presentan picos típicos de enlaces -C-O, y en la región de los 660 cm⁻¹ se observa flexión fuera del plano de los enlaces CH. Adicionalmente es de importancia destacar que *Pe* y *Pv* comparten una banda característica bastante definida en la región 1540 cm⁻¹ lo cual se le puede atribuir a la presencia de grupos NH.

Luego de dicha caracterización FTIR-ATR se procedió a la extracción.

4.2 Extracción

En este apartado se obtuvieron extractos de los nidos pulverizados bajo las condiciones mencionadas en la metodología. En la figura 11, se muestra esquemática dicho proceso en el cual se obtuvo una fase sólida que se llevó a caracterizar por FTIR-ATR por otro lado, la fase líquida, se sometió a GC-MS y UV-Vis.



Figura 11. Proceso de la extracción para cada nido pulverizado.

En la figura 12 se presentan los extractos obtenidos después del proceso de extracción. Es evidente que todos ellos exhiben tonos amarillos, algunos más oscuros que otros. Esta variación en la tonalidad podría deberse tanto a las diferencias entre las especies de las que se extrajeron como al porcentaje de recuperación específico obtenido en cada caso. Los valores de estos porcentajes se detallan en la tabla 7.

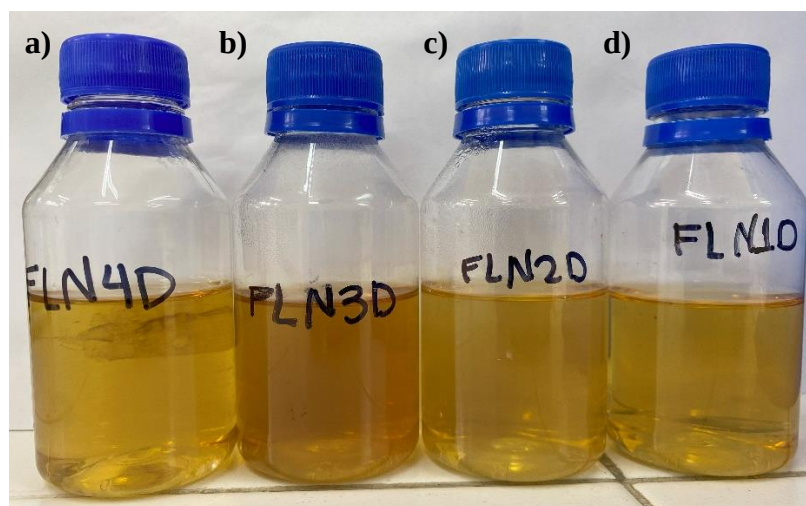


Figura 12. Extractos a interés donde a) FLN4D es FLVg, b) FLN3D es FLVp, c) FLN2D es FLPe, y d) FLN1D es FLVv

Tabla 6. Porcentaje de recuperación

Nido	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Porcentaje de recuperación (%)
<i>Vespula vulgaris</i> (Vv)	0,8000	0,6430	80,38
<i>Polistes erythrocephalus</i> (Pe)	0,8008	0,5450	68,06
<i>Polistes versicolor</i> (Pv)	0,8020	0,5305	66,15
<i>Vespula germanica</i> (Vg)	0,8105	0,5537	68,32

Los datos presentados en la tabla 7 revelan la efectividad de la extracción de los compuestos bioactivos de cada nido. Se destaca una mayor eficiencia en la extracción de estos compuestos en el caso de la especie Vv, como se evidencia en los porcentajes de recuperación más altos. En contraste, el nido de la especie Pv muestra el menor porcentaje de recuperación. Sin embargo, es importante señalar que esto no implica necesariamente una extracción menos eficaz de los compuestos bioactivos presentes en cada nido.

Luego, se llevó a cabo la caracterización de los extractos líquidos utilizando GC-MS y UV-Vis, mientras que, tras secar las fases sólidas, se procedió a molienda para su análisis mediante FTIR-ATR.

4.2.1 Caracterización.

4.2.1.1 Espectroscopia FTIR-ATR. En esta sección, se realizó una comparación entre las muestras pulverizadas antes y después del proceso de extracción. Cada comparación se acompaña de una tabla correspondiente que permite una interpretación básica de las frecuencias infrarrojas. Esto facilita la identificación de los posibles grupos funcionales presentes en las muestras analizadas, mostrando las bandas características y proporcionando la asignación de los modos vibracionales según el número de onda (cm^{-1}).

Los espectros FTIR para las distintas muestras de los nidos de las avispas de las especies *Vv*, *Vg*, *Pv* y *Pe* pueden observarse en la figura comparativa 13.

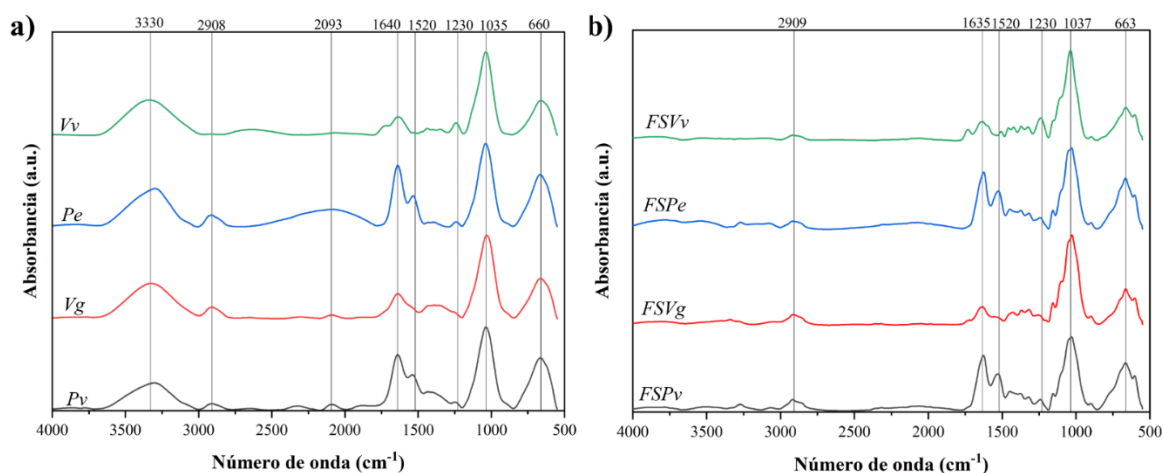


Figura 13. Comparativa de los distintos espectros FTIR (Número de onda (cm^{-1}) / Absorbancia) obtenidos de los nidos pulverizados. Siendo a) los nidos antes del proceso de extracción y b) las muestras pulverizadas después del proceso de extracción.

En el caso de la gráfica *a*), las bandas características de las muestras de los nidos pulverizados se encuentran entre las regiones de número de onda de $3285\text{--}3330\text{ cm}^{-1}$, $2908\text{--}2921\text{ cm}^{-1}$, 2093 cm^{-1} , $1627\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$, $1520\text{--}1534\text{ cm}^{-1}$, 1230 cm^{-1} , $1030\text{--}1035\text{ cm}^{-1}$, $660\text{--}667\text{ cm}^{-1}$.

En el gráfico *b*) se pueden observar bandas características en las de regiones de número de onda como, 2909 cm^{-1} , 1635 cm^{-1} , 1520 cm^{-1} , 1230 cm^{-1} , 1037 cm^{-1} , 663 cm^{-1} . A continuación, en la tabla 8 se exhiben las vibraciones de los diferentes tipos de enlaces con respecto al número de onda (cm^{-1}) para el caso post-extracción.

Tabla 7. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para los nidos pulverizados después del proceso de extracción.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Vibración	Ref
2909	CH ₂	Estiramiento asimétrico	23,68,73
1635	C=C C=N	Estiramiento asimétrico	23,71
1520	N-H	Flexión del enlace	71,72
1230	C-O, C=O, C-C (Lignina)	Estiramiento o flexión de diferentes grupos presentes en la lignina	67,72,73
1037	C-O	Estiramiento de alcohol	69,72
663	C-H	Flexión fuera del plano	72

De lo que se logra evidenciar con los espectros anteriores (ver figura 13) de manera significativa una pérdida o disminución de intensidad en una banda característica en la región de 3285–3330 cm⁻¹ en los espectros IR post-extracción, que se puede explicar por la pérdida de compuestos con estructura alifática y solubles en la mezcla de etanol: metanol: agua, que se logran identificar más adelante en el GC-MS.

La región de 3285–3330 cm⁻¹ está comúnmente asociada con las vibraciones de estiramiento de los grupos -OH (hidroxilos). Según literatura, la disminución de intensidad en esta región sugiere la posible solubilización y extracción de compuestos solubles en la mezcla de solventes que contenían grupos hidroxilo ⁷⁴.

Adicional a esto, se realizó la generación de gráficos de Análisis de Componentes Principales (PCA) con el fin de examinar posibles diferencias en la composición química de los

nidos de avispas antes de la extracción y post-extracción. Durante el tratamiento de los espectros, se identificaron 4 componentes comparativos, de los cuales se eligieron 8 bandas espectrales. Se consideraron las bandas C1 (OH/C=O) y C2 (NH/CH) en los espectros IR en su forma original, mientras que C3 (C=O/CH) y C4 (CO/NH) fueron derivadas de los espectros IR originales para analizar el área correspondiente a cada una. Esto se puede evidenciar en la figura 14.

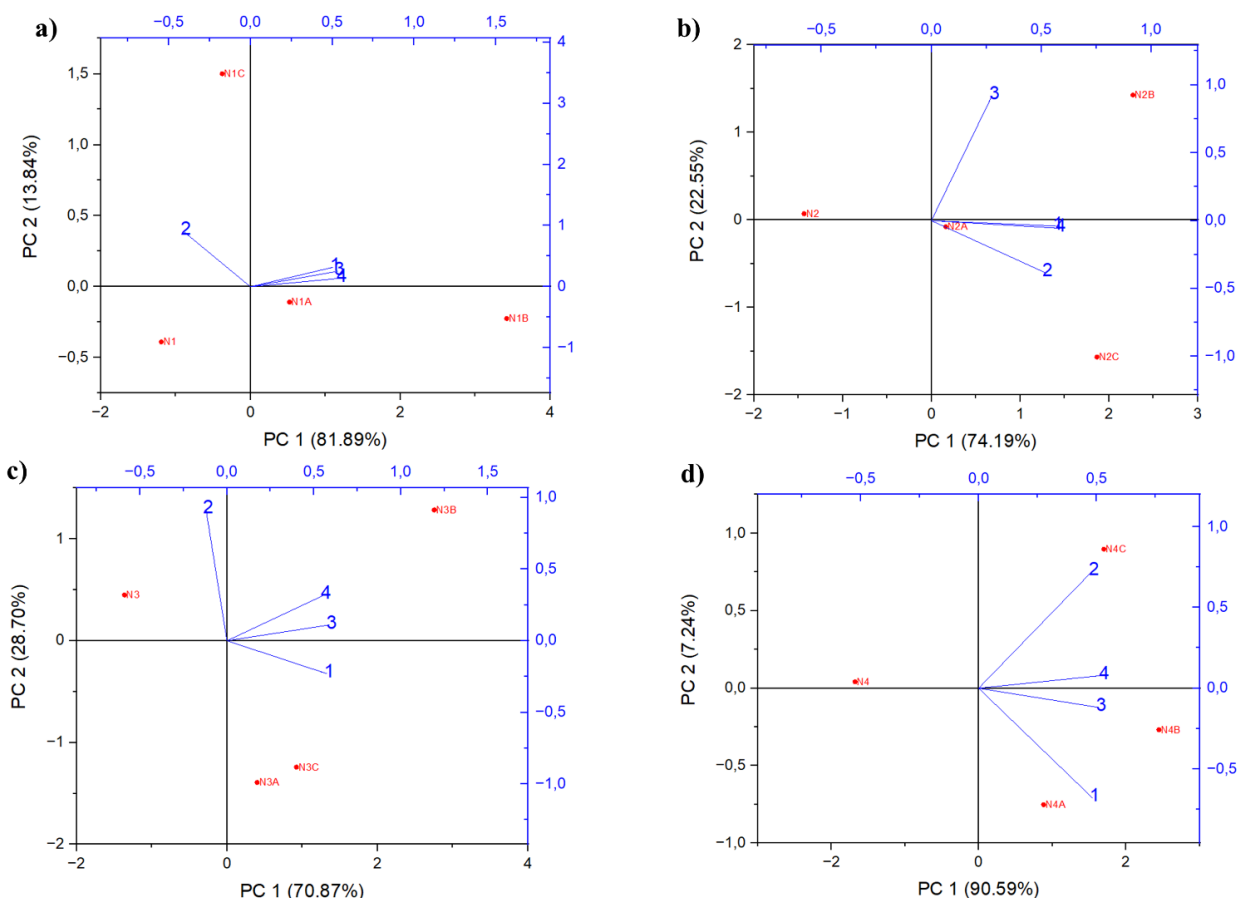


Figura 14. PCA para los nidos pulverizados antes y después de la extracción. a) *Vespula vulgaris*. b) *Polistes erythrocephalus*. c) *Polistes versicolor*. d) *Vespula germanica*.

De los 4 diagramas de PCA (figura 15) se puede observar que existe un impacto en los resultados de los infrarrojos después de la extracción siendo estos diferenciables para las 4 muestras de los nidos pulverizados antes de la extracción, donde las observaciones de las muestras revelan patrones distintivos en el espacio de los componentes principales. Específicamente donde cada replica mostró una cercanía entre sí, lo que demuestra la reproducibilidad del ensayo,

adicionalmente también se logra diferenciar la composición de grupos funcionales en cada nido, demostrando la particularidad que cada especie tiene para escoger materiales específicos para construir sus nidos.

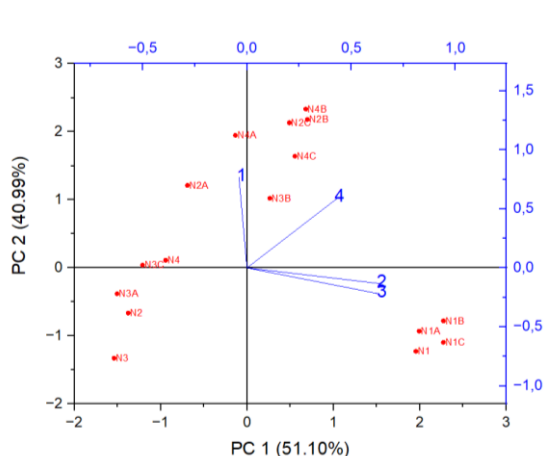


Figura 16. PCA para los nidos pulverizados antes y después de la extracción

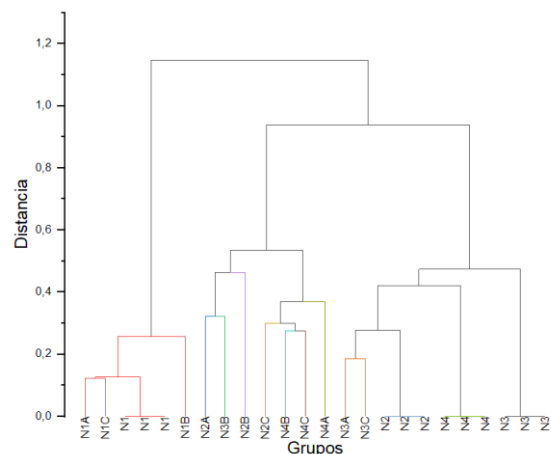


Figura 15. Dendrograma para los nidos pulverizados antes y después de la extracción

Tabla 8. Explicación de las abreviaturas de las Fig 15 y Fig 16.

	Especies nidos pulverizados (antes de la extracción)	Extracciones (Fase Sólida)
N1	<i>Vespula vulgaris</i> (Vv)	N1A, N1B, N1C
N2	<i>Polistes erythrocephalus</i> (Pe)	N2A, N2B, N2C
N3	<i>Polistes versicolor</i> (Pv)	N3A, N3B, N3C
N4	<i>Vespula germánica</i> (Vg)	N4A, N4B, N4C
*A, B y C se refiere al número de replicas realizadas		

4.2.1.2 Resultados y Análisis de GC-MS. En esta sección se presentan los cromatogramas correspondientes a los hidrolizados o extractos líquidos de los nidos abandonados de avispas de diversas especies: *Vespula vulgaris*, *Polistes erythrocephalus*, *Vespula germánica* y *Polistes versicolor*. Cada cromatograma exhibe los tiempos de retención asociados a las señales detectadas. Es importante señalar que las dos señales iniciales en cada cromatograma corresponden a los solventes utilizados, siendo el etanol y el metanol respectivamente.

En el caso de *Vespula vulgaris*, se identificaron un total de 13 señales, mientras que para *Polistes erythrocephalus* se registraron 14 señales. *Vespula germánica* mostró 15 señales, incluyendo una señal no definida, y *Polistes versicolor* presentó 14 señales, todas con una

resolución adecuada para su identificación. El equipo desarrolló un diagrama de fragmentación de masa carga, permitiendo la descripción de la composición de la muestra al buscar estas señales en la base de datos correspondiente.

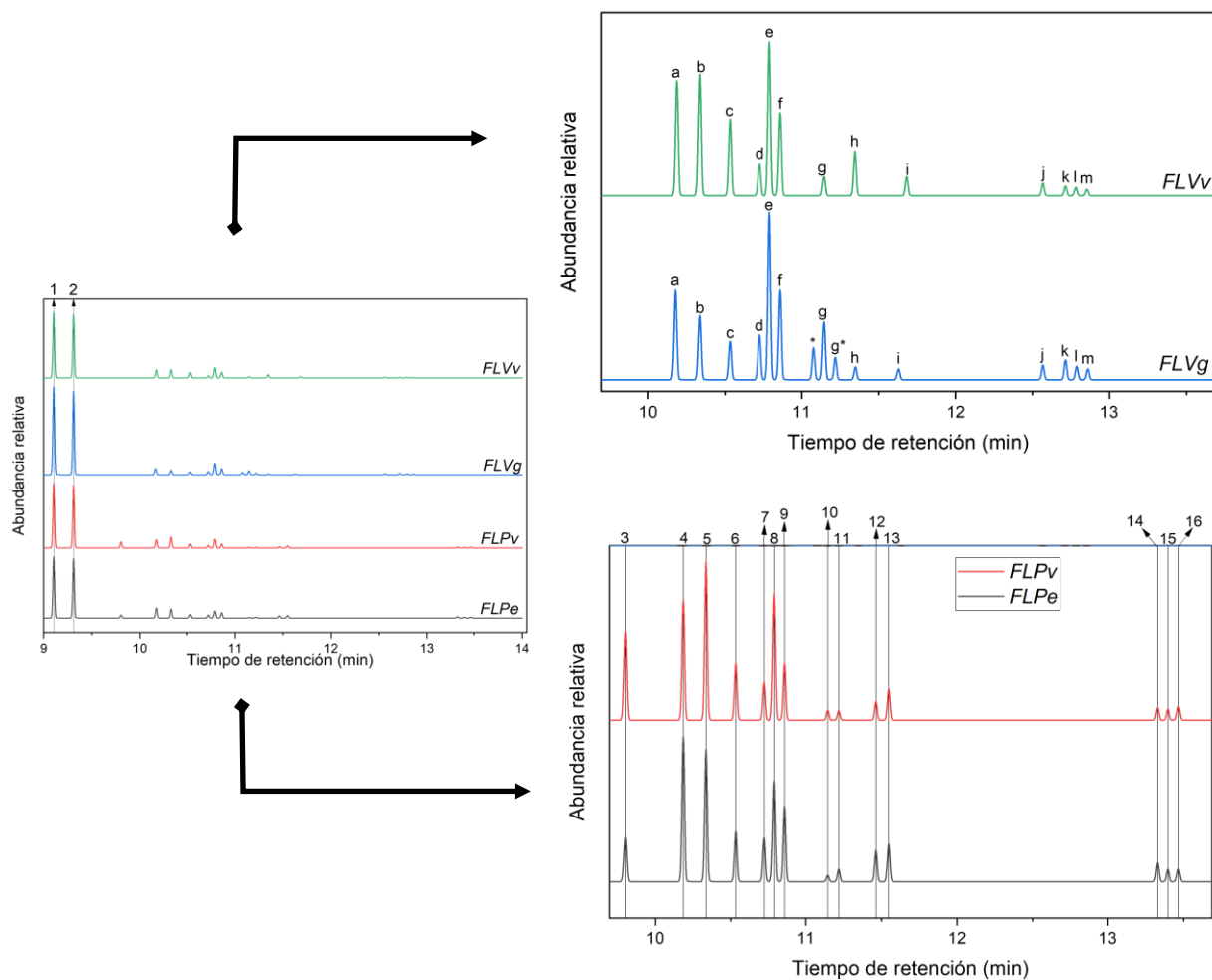
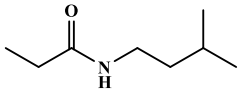
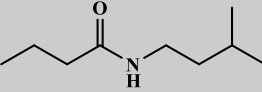
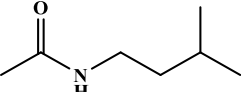
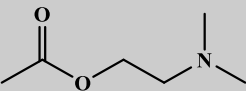
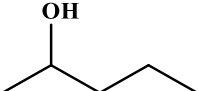
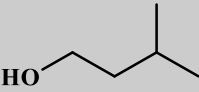
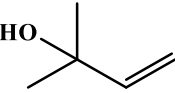
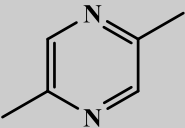
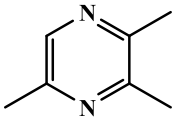
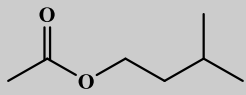
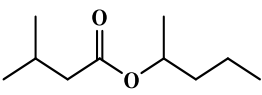
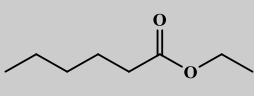
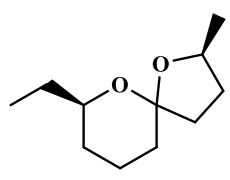
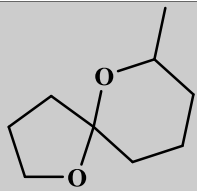
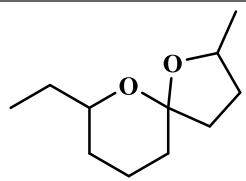
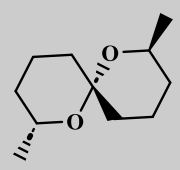
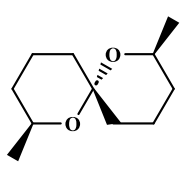
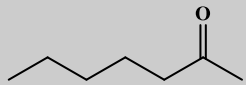
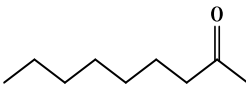
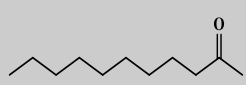


Figura 17. Cromatogramas de los extractos líquidos siendo FLVv el de Vv, FLVg el de Vg, FLPv el de Pv y FLPe el de Pe.

Tabla 9. Picos característicos de cada compuesto encontrado en el GC-MS para los extractos líquidos.

Pico	Nombre	Estructura química	Tiempo de retención (min)	Abundancia relativa (%)			
				<i>FLPe</i>	<i>FLPv</i>	<i>FLVv</i>	<i>FLVg</i>
3	N-(3-metilbutil)propan amida		9,804	6,090	11,755	--	--
4, a	N-(3-metilbutil)butana mida		10,187	20,009	15,947	16,393	13,037
5, b	N-(3-metilbutil)aceta mida		10,335	18,266	20,986	17,305	9,311
6, c	Acetato de dimetilamino etilo		10,533	6,955	7,554	10,929	5,586
7, d	2-pentanol		10,726	6,081	5,034	4,551	6,515
8, e	3-metil-1-butanol		10,791	13,911	16,816	21,857	24,210
9, f	2-metil-3-buten-2-ol		10,859	10,441	7,563	11,855	13,054
10, g	2,5-dimetilpirazina		11,146	0,867	1,342	2,731	8,383
11, g*	Trimetilpirazina		11,220	1,733	1,258	--	3,262

12	Acetato de 3-metilbutilo		11,463	4,346	2,517	--	--
h	3-metilbutanoato de 1-metilbutilo		11,350	--	--	6,372	1,861
13	Hexanoato de etilo		11,550	5,215	4,195	--	--
14	(E,E)-7-etil-2-metil-1,6-dioxaspiro[4.5]decano		13,329	2,607	1,678	--	--
i	7-metil-1,6-dioxaspiro[4,5]decano		11,628	--	--	2,731	1,579
J	7-etil-2-metil-1,6-dioxaspiro[4,5]decano		12,564	--	--	1,821	2,136
15	(E,Z)-2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5.5]undecano		13,398	1,740	1,511	--	--
16	(E,E)-2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5.5]undecano		13,467	1,739	1,847	--	--

k	heptan-2-ona		12,717	--	--	1,365	2,880
L	nona-2-ona		12,793	--	--	1,181	1,952
m	undecan-2-ona		12,861	--	--	0,908	1,578

De acuerdo con los cromatogramas (Fig 17), los dos primeros picos corresponden a los solventes utilizados, que en este caso son etanol y metanol, respectivamente. Las demás señales se identifican en la tabla 11; En la tabla se exhibe el nombre de los compuestos, su estructura química, su abundancia relativa y el tiempo de retención que presentó cada uno.

Para el caso de las especies de la subfamilia Vespinae (*Vespula vulgaris* y *Vespula germánica*) Se identificaron varios compuestos compartidos en ambas especies, incluyendo N-(3-metilbutil)butanamida, N-(3-metilbutil)acetamida, 2,5-dimetilpirazina, 2-metil-3-buten-2-ol, 3-metilbutanoato de 1-metilbutilo, 7-metil-1,6-dioxaspiro[4,5]decano, 7-etil-2-metil-1,6-dioxaspiro[4,5]decano, heptan-2-ona, nona-2-ona, undecan-2-ona, 2-pentanol y acetato de dimetilaminoetilo. La única diferencia significativa observada fue la ausencia de Trimetilpirazina en *Vespula vulgaris*, mientras que se encontró en *Vespula germánica*. Esta diferencia podría indicar variabilidad química en el componente salival de construcción del nido

Mientras que, las especies de la subfamilia Polistinae (*Polistes erythrocephalus* y *Polistes versicolor*) presentaron una gama más amplia de compuestos, incluyendo N-(3-metilbutil)propanamida, 3-metil-1-butanol, Acetato de 3-metilbutilo, Hexanoato de etilo, y diferentes dioxaspirodecanos. Además, se encontraron compuestos específicos con isomería como (E,Z)-2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5.5]undecano y (E,E)-2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5.5]undecano.

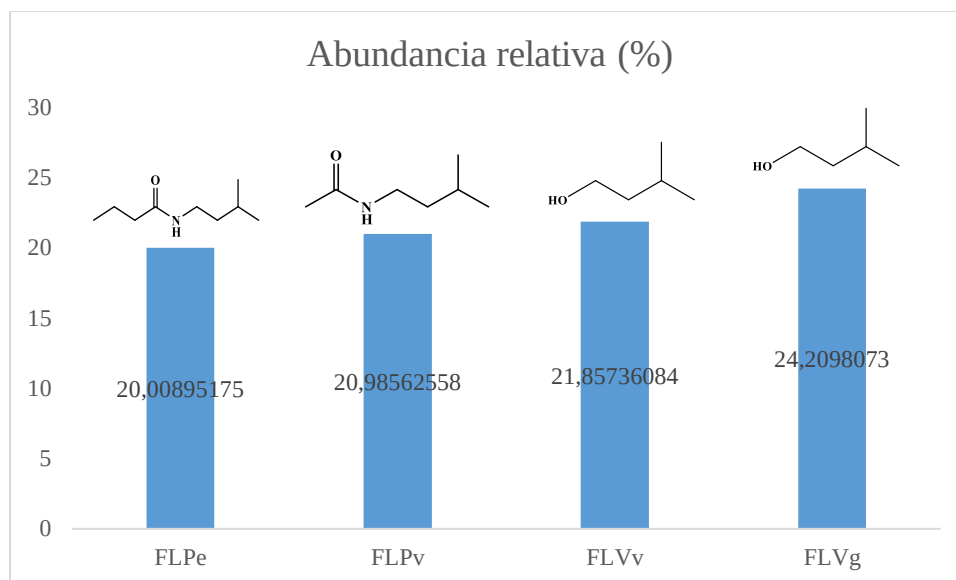


Figura 18. Compuestos con mayor abundancia relativa (%) para cada especie.

En los cromatogramas de los extractos líquidos de los nidos de avispa trabajados, se observa que los compuestos con mayor abundancia relativa son los siguientes: 3-metil-1-butanol, con un 21,86% para *Vespula vulgaris*; N-(3-metilbutil)butanamida, con un 20,01% para *Polistes erythrocephalus*; 3-metil-1-butanol, con un 24,21% para *Vespula germanica*; y N-(3-metilacetamida), con un 20,99% para *Polistes versicolor*. Lo cual se puede observar en la figura 18.

Al comparar estos resultados con los reportes de la literatura, se destaca la ausencia de publicaciones previas bajo el mismo método de extracción. Además, el estudio previo de Lateef (2016), que abordó la síntesis de agregados de plata a partir de nidos, no aplicó este análisis específico. No obstante, se encuentra una correlación interesante en la información, evidenciando la presencia de compuestos que reflejan la naturaleza del nido.

Por ejemplo, compuestos como 7-metil-1,6-dioxaspiro [4,5]decano y 7-etil-2-metil-1,6-dioxaspiro- [4,5]decano, así como N-(3-metilbutil) acetamida (MBA) en *V. vulgaris* y *V. germánica*, son más probablemente reportados en extracciones de veneno. Este hallazgo sugiere que, durante el proceso de masticación y fabricación del nido, hay segregación de veneno, y que

estos compuestos de alto peso molecular son comunes en la estructura del nido. Es importante considerar que el nido, al ser abandonado naturalmente y sometido a procesos de secado, podría contener otros compuestos volátiles que se pierden por acción del sol y que aún no han sido identificados.

Un estudio específico realizado por Jimenez S (2016) identificó siete componentes candidatos de feromonas en avispas, entre ellos dimetilaminoetanol, acetato de dimetilaminoetilo, 2,5-dimetilpirazina, N-3-metilbutilacetamida. Las pruebas de bioensayos sugieren que estos componentes, especialmente aquellos volátiles que contienen nitrógeno y las cetonas menos volátiles, tienen predominantemente una función de alarma para las avispas del género *Polistes* ⁷⁵.

Los compuestos identificados en los extractos de los nidos de avispas no solo ofrecen una perspectiva única sobre la composición química de estos entornos, sino que también revelan similitudes con los informes previos sobre el veneno de avispas. Dichos informes como el de Sayed (2021), indican la presencia de una variada gama de componentes químicos en el veneno de avispas, que abarcan desde pequeños compuestos orgánicos volátiles hasta péptidos, proteínas y enzimas ⁷⁶. En donde en un estudio realizado por Bruschini C (2006) y colaboradores menciona que las principales sustancias encontradas en el veneno de *Polistes* fueron identificadas, como se explica a continuación, espiroacetales, amidas, acetatos y propanoatos de alcoholes secundarios alifáticos ⁷⁷, específicamente espiroacetales, principalmente 2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5.5]undecano, dos amidas, N-(3-metilbutil)acetamida y N-(3-metilbutil)propanamida y acetatos de 2-alcoholes saturados, mono y diinsaturados con un número impar de átomos de carbono en la cadena ⁷⁷ lo que termina de confirmar lo reportado antes. Otro estudio más reciente realizado por Ashraf M. El-Sayed (2021) revelaron que las estructuras N-(3-metilbutil)acetamida (MBA) y N-(3-metilbutil)butanamida (MBB) se encontraron en mayor proporción en el veneno de *Vespula vulgaris* ⁷⁶. Además, resaltar que, en investigaciones previas se ha reportado que los péptidos antimicrobianos (AMP) presentes en el veneno de avispa (los mismos que se han encontrado en los extractos de los nidos) son destacados agentes de defensa contra microorganismos invasores. Estos AMP derivados del veneno de avispa han captado considerable atención como potenciales agentes terapéuticos con novedosos mecanismos de acción contra

agentes infecciosos. Los resultados reportados en investigaciones evidenciaron las altamente efectivas propiedades antibacterianas de las avispas ^{1,19,35,78-81}.

4.2.1.3 Resultados y Análisis de la Espectroscopia UV-Vis. Los resultados obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis de los extractos líquidos (Ver figura 19) revelan la presencia de anillos aromáticos en las muestras analizadas. Estos anillos se caracterizan por presentar bandas específicas en el rango de longitud de onda de 242 nm, lo cual es coherente con la presencia de sistemas aromáticos en la mayoría de las muestras examinadas. Se destaca que las muestras pertenecientes a la subfamilia *Polistinae* (FLPv y FLPe) exhiben una mayor intensidad en estas bandas. Además, se observaron bandas en todas las muestras con longitudes de onda cercanas a 280-290 nm, lo que indica la posible presencia de grupos insaturados y heteroátomos como nitrógeno, azufre y oxígeno. Estos resultados concuerdan con hallazgos previos reportados por Erturk (2019) y B Renuka (2016), donde se describieron rangos espectrales similares. Específicamente, se mencionan bandas en el rango de 200–260 nm y dos bandas adicionales en longitudes de onda de 270 y 350 nm ^{82,83}, las cuales se correlacionan con las características observadas en esta investigación.

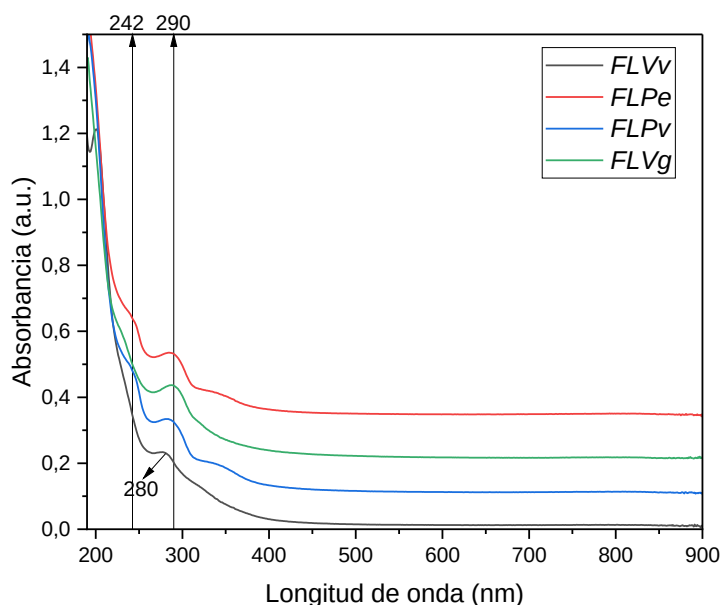


Figura 19. Espectro UV-Vis de los extractos líquidos.

4.3 Síntesis de los Agregados de Plata

En este apartado se exhibe en la Figura 20, el seguimiento de la síntesis de agregados de plata para el nido de *Vespula vulgaris* (Vv) que se llevó a cabo para todas las muestras descrito anteriormente en la metodología.

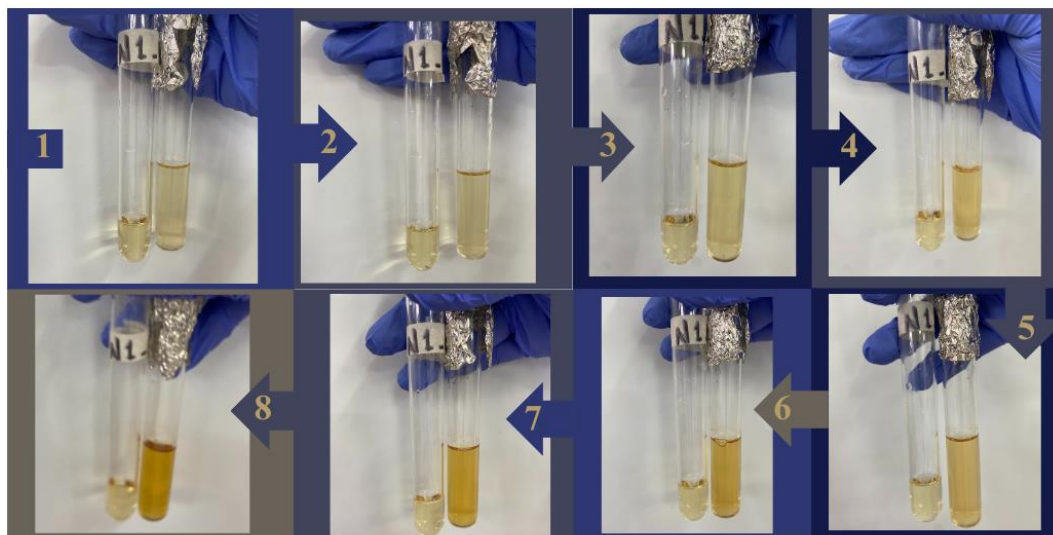


Figura 20. Seguimiento de la síntesis de agregados de plata para el nido de *Vespula vulgaris* (FLVvAg)

Se puede observar como pasa de una coloración amarilla clara a una coloración amarillenta oscura estabilizándose dicho suceso después de los 10 min de reacción, y sin cambios por los 8 días de seguimiento. Esta misma reacción ocurre para la síntesis de agregados de plata para las especies *Polistes erythrocephalus*, *Polistes versicolor* y *Vespula germanica*.

En la figura 21, se puede observar la coloración después de la adición de Ag donde pasa la tonalidad de color desde amarillo claro hasta marrón oscuro. Estudios previos por Martinez (2013) y Ganesh (2023) ^{84,85} sugieren que esto ocurre debido a las variaciones en las moléculas biorreductoras presentes donde se basa en la reducción de iones de plata (Ag^{+1}) a átomos de plata neutros (Ag^0), donde los diversos grupos funcionales son los encargados de dicho proceso tales como amino, hidroxilo, carboxilo y tio, y que están presentes en la superficie de los agregados de plata ³⁵, Estos grupos funcionales, además de agentes de protección, ayudan a reducir la energía superficial y a prevenir la aglomeración de partículas mediante repulsión electrostática y estérica, lo que afecta la resonancia del plasmón superficial. Siendo candidatos prometedores los nidos de

avispa de papel para la síntesis de agregados de plata, gracias a su riqueza en proteínas y aminoácidos ¹.

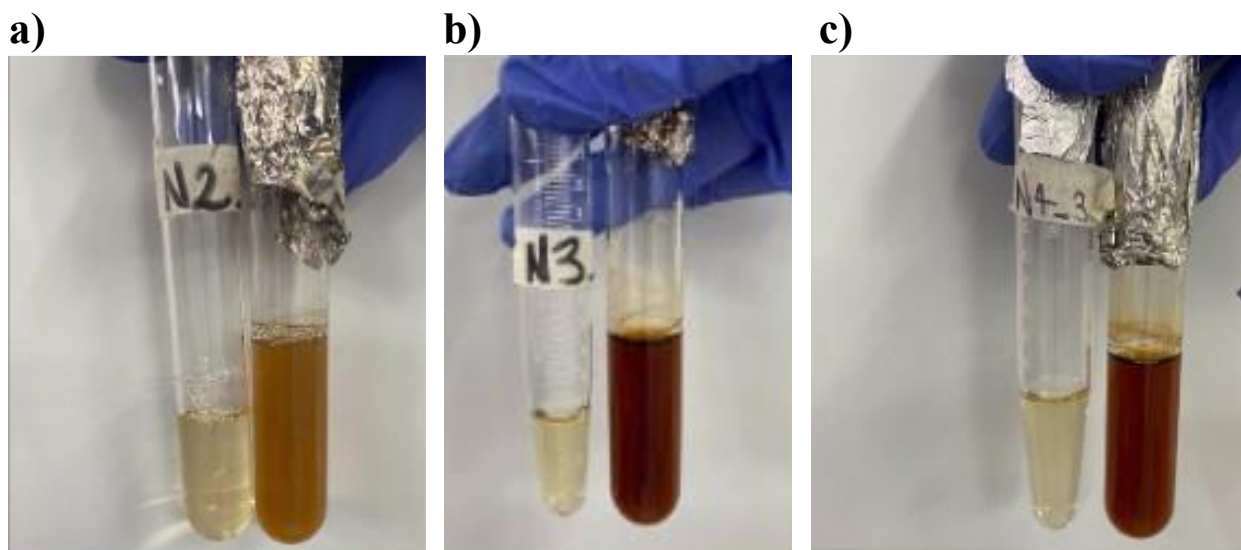


Figura 21. Agregados de plata formados. a) *FLPeAg*, b) *FLPvAg* y c) *FLVgAg*

4.3.1 Caracterización

4.3.1.1 Resultados y Análisis de UV-Vis. La espectroscopia UV-Vis es una técnica comúnmente utilizada para confirmar la formación de nanopartículas. El espectro de absorbancia de las muestras coloidales se adquirió en el rango de 190 a 900 nm utilizando un UV-Vis SHIMADZU, modelo UV-2401PC, y se empleó agua destilada como referencia. En esta sección se presentan los espectros UV-Vis correspondientes a las diluciones de los hidrolizados con y sin agregados de plata de los nidos abandonados de avispas de diversas especies: *Vespula vulgaris*, *Polistes erythrocephalus*, *Vespula germanica* y *Polistes versicolor*.

En la figura 22, se exhibe los espectros UV-vis de la formación de los agregados plata mostrando una banda característica dentro del rango de 400 nm donde en estudios previos ^{86,87} se exhibe resultados entre 400 - 450 nm formándose el típico pico de la resonancia de plasmón superficial. Las muestras obtenidas arrojaron un máximo de absorbancia aproximadas dentro del

rango 421-455 nm, lo cual indica que se encuentra en el rango mencionado, lo que demuestra la presencia de agregados de plata y éxito en el protocolo para la formación de estos agregados de plata.

Los agregados de plata coloidales se absorbieron al máximo en las longitudes (nm) reportadas en la tabla (Tabla 14) con un pico ancho que puede representar nanopartículas polidispersas. La absorbancia máxima observada cae dentro del rango informado previamente en la literatura ^{1,35,88,89}.

Tabla 10. Longitudes de onda (nm) de los distintos agregados de plata

	Longitud de onda (nm)
<i>FLVvAg</i>	426
<i>FLPeAg</i>	455
<i>FLPvAg</i>	422
<i>FLVgAg</i>	421

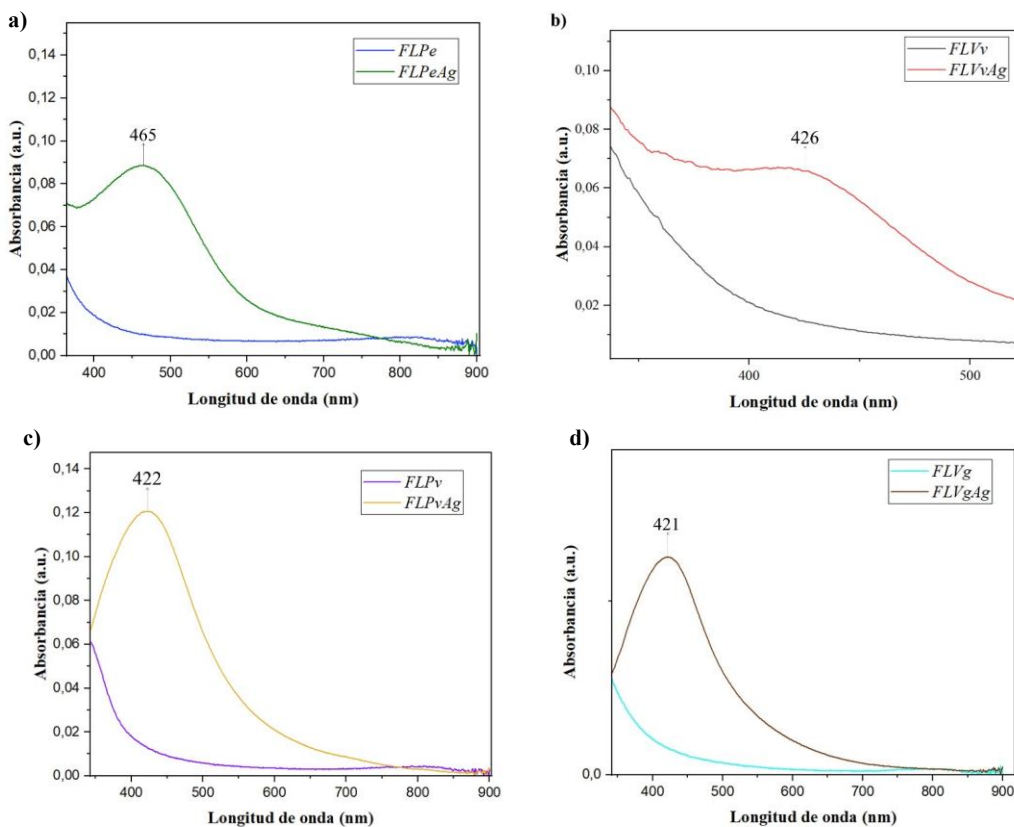


Figura 22. espectro UV-Vis con zoom en 400 nm para todas las muestras. a) FLVvAg, b) FLPeAg, c) FLPvAg y d) FLVgAg.

La observación del cambio de color de la solución de incoloro a marrón oscuro es una indicación visual común de la formación de agregados de plata durante el proceso de reducción. Este cambio de color está relacionado con las propiedades ópticas de las nanopartículas y se debe a la excitación de las partículas en la región de nanopartículas metálicas ^{1,35,88,89}.

Según literatura, cuando las partículas metálicas son pequeñas, en el rango de nanopartículas, absorben y dispersan la luz de manera diferente en comparación con las especies en solución ^{90,91}. En el caso de los agregados de plata, suelen mostrar un color característico, que puede variar desde tonos amarillos hasta marrones o incluso rojos dependiendo del tamaño y forma de las partículas ⁸⁹. Esto se confirma con lo descrito anteriormente en la sección 4.3 y se puede evidenciar en las figuras 20 y 21 para cada uno de los extractos de nidos de avispas trabajados.

De acuerdo a la documentación científica, las nanopartículas metálicas poseen electrones libres que generan una banda de absorción conocida como resonancia de plasmón superficial (SPR). Este fenómeno se produce debido a la vibración colectiva de los electrones en resonancia con la luz incidente. Los picos observados revelan las propiedades características de la resonancia del plasmón superficial en las nanopartículas de plata ^{1,89}. Las nanopartículas de plata de menor tamaño exhiben una resonancia de plasmón superficial (SPR) más estrecha y definida. Por otro lado, las nanopartículas de plata de mayor tamaño presentan una SPR más amplia y suavizada. En el caso de las nanopartículas de plata con formas irregulares, la SPR puede adquirir una complejidad mayor en comparación con las nanopartículas de forma regular. Además, la concentración de las nanopartículas también puede influir en la configuración de la SPR ⁹¹⁻⁹³.

Finalmente, para la determinación del tamaño de los agregados de plata se aplicó la *Ecuación 1* mencionada en la metodología de este trabajo, la cual fue propuesta por Haiss como un método eficiente y rápido para evaluar el tamaño y la concentración de nanopartículas.

Para cálculo del diámetro por medio de la ecuación de Haiss se tomó la longitud de onda en la cual se alcanza la máxima absorción denotada como λ_{SPR} y la longitud de onda correspondiente a la mínima absorción (λ_0) al inicio del fenómeno SPR, teniéndose en cuenta adicionalmente los valores asignados a los parámetros que son L_1 : 6,53 y L_2 : 0,0216. Este proceso se evidencia en la figura 23.

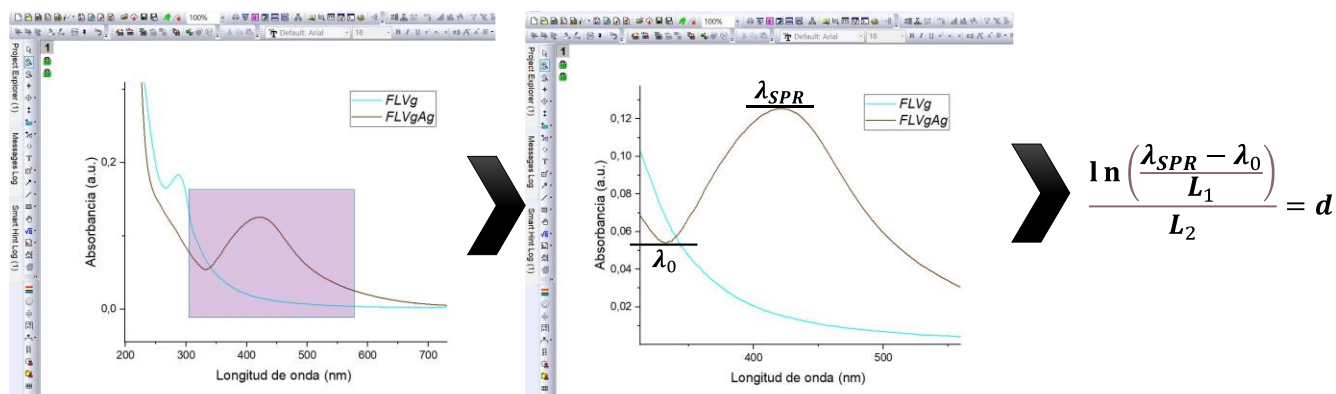


Figura 23. Cálculo del diámetro de los agregados de plata por medio de la espectroscopia UV-Vis.

Antes de calcular el diámetro de los agregados de plata, se aplicó un suavizado de 5 puntos a cada gráfica, posteriormente se le aplicó la línea base y se normalizaron los espectros UV-Vis correspondientes. Los diámetros de cada uno de los agregados de plata se pueden observar en la tabla 15.

Tabla 11. Estimación del diámetro de los agregados de plata a partir de los diferentes nidos de avispa.

	λ_0	λ_{SPR}	d (nm)
FLVvAg	385	426	85,0
FLPeAg	385	455	109,8
FLPvAg	331	422	121,9
FLVgAg	337	421	118,2

En la investigación llevada a cabo por Haiss y su equipo en 2007, se señaló que la concordancia entre los datos experimentales y la teoría corregida del camino libre medio fue sobresaliente. Esto fue especialmente notable dado que la absorción se determinó de manera cuantitativa a partir del tamaño y la concentración de las partículas, sin necesidad de ajustar ningún parámetro. Además, se observó que la posición calculada del pico del plasmón superficial coincidía de manera precisa con los datos experimentales en el caso de partículas con tamaños comprendidos entre 25 y 120 nm⁶⁰. Lo cual hace confiable los resultados obtenidos a partir del uso de este método matemático.

4.4 Preparación de los Ungüentos

Como se mencionó previamente en la metodología, se elaboraron tres variantes de ungüentos, cada una con un tipo distinto de cera de abejas (A, B y C), obteniendo un total de 24 ungüentos. En esta sección, se le tomaron FTIR-ATR a las distintas ceras de abejas incorporadas en los ungüentos desarrollados, asimismo, los ungüentos se les midió el pH y tras su solidificación, se evaluó el color con un colorímetro, posterior a esto se caracterizaron mediante FTIR-ATR y TGA. En las figuras 24, 25, 26 y 27 se observan los distintos ungüentos obtenidos, donde se puede evidenciar una variación de color con respecto a las ceras incorporadas y a su vez a los extractos trabajados tanto los de sin como con la plata añadida.

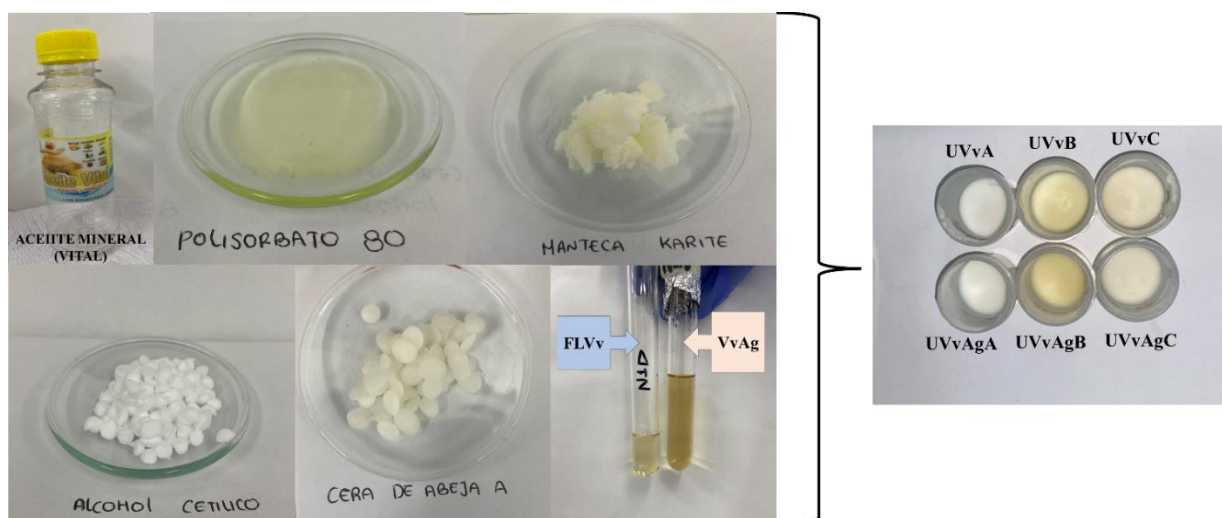


Figura 24. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido *Vespula vulgaris*

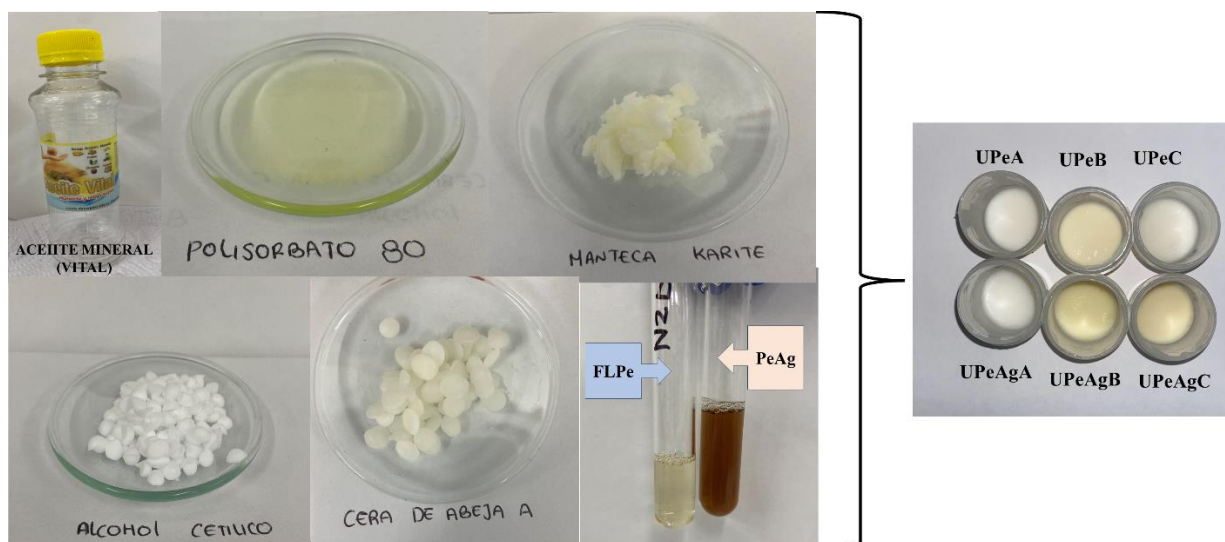


Figura 25. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido *Polistes erthrocephalus*

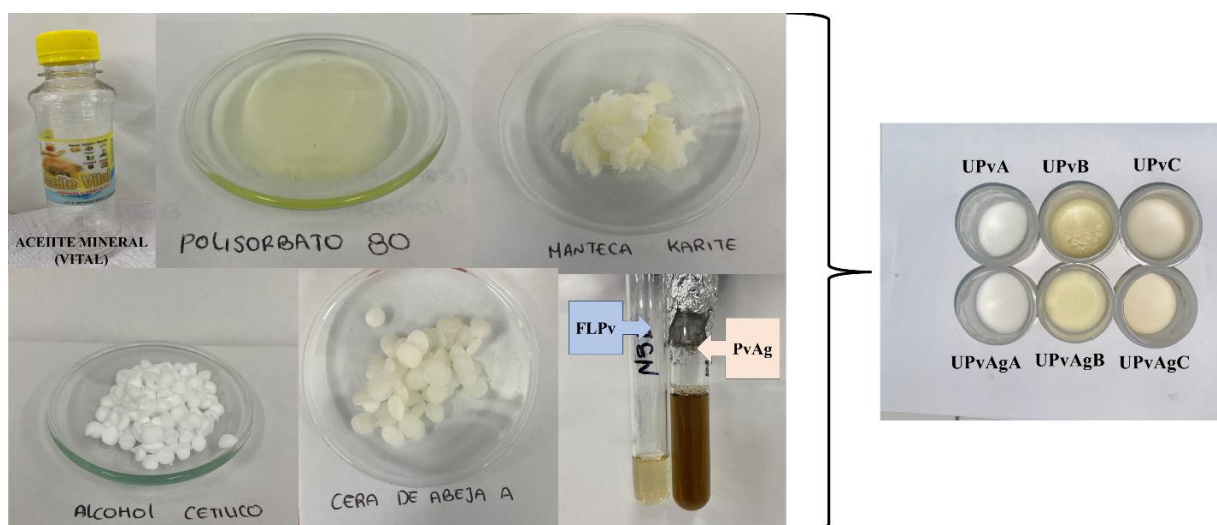


Figura 26. Materias primas utilizadas para la elaboración de las tres variantes de ungüentos a partir del nido *Polistes versicolor*

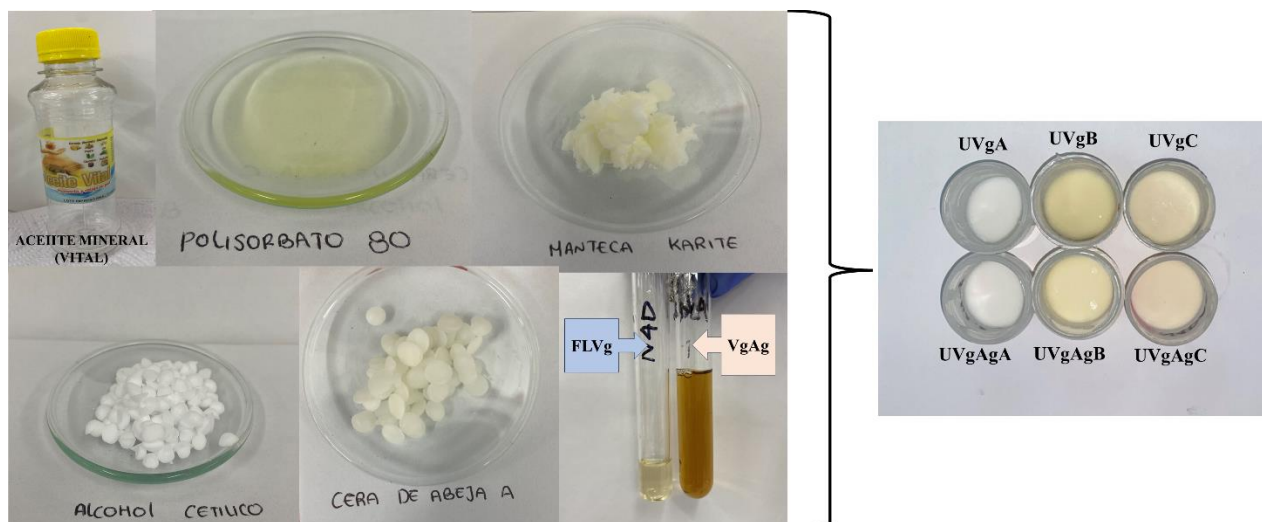


Figura 27. Materias primas utilizadas para la elaboraron de las tres variantes de ungüentos a partir del nido *Vespula germanica*

Se procedió luego a realizar el análisis de colorimetría y pH.

4.4.1 Colorimetría y pH del Ungüento

4.4.1.1 Colorimetría. En este análisis, se empleó el espacio de color CIELAB, reconocido por su exhaustividad en la representación de colores visibles para el ojo humano. Desarrollado por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE), CIELAB ofrece una descripción independiente del dispositivo, asegurando consistencia a través de diferentes medios ⁹⁴. Las coordenadas L^* , a^* y b^* nos permitirán evaluar la luminosidad, así como la posición entre rojo-verde y amarillo-azul, respectivamente. Este enfoque es crucial para interpretar con precisión las tomas de color capturadas en el laboratorio, proporcionando una base sólida para el análisis de la información cromática ⁹⁵.

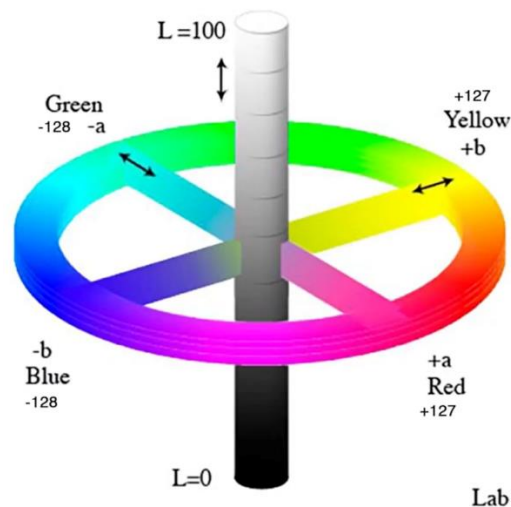


Figura 28. Sistema de color tipo modelo CIELAB ⁹⁶

Los valores para L , a y b se tomaron por duplicado en la cual los resultados se promediaron para obtener un solo resultado, mostrado en la tabla 18,

Tabla 12. Valores de la colorimetría CIELAB L , a y b de los ungüentos.

	L	B	A	L	a	b
	A			$A_g - A$		
UVv	66,295	-1,615	-0,565	73,29	-1,135	0,215
UPe	62,265	-1,33	-1,425	76,365	-1,465	-0,425
UPv	65,255	-0,805	-1,12	68,04	-0,78	-0,49

<i>UVg</i>	60,49	-1,275	-0,53	67,565	-1,125	-0,42
	B			Ag - B		
<i>UVv</i>	60,93	-0,74	7,615	62,55	-0,425	7,495
<i>UPe</i>	56,745	-1,065	6,385	66,785	-0,165	7,495
<i>UPv</i>	57,075	-0,835	7,065	71,925	-0,685	7,725
<i>UVg</i>	58,36	-0,285	6,78	55,755	-0,73	6,22
	C			Ag - C		
<i>UVv</i>	71,185	-0,78	5,41	72,445	0,13	7,15
<i>UPe</i>	65,25	-0,6	5,5	66,135	0,12	3,71
<i>UPv</i>	69,235	-0,125	6,18	70,615	0,02	6,595
<i>UVg</i>	64,44	-0,59	6,6	76,2	-0,315	6,175

En la figura 29, examinando detalladamente las características cromáticas de las muestras de ungüentos, diferenciadas por la presencia de ceras de abeja (A, B, y C) y la inclusión o ausencia de los agregados de plata, podemos notar que, para los valores L (luminosidad) para el tipo de ungüento con **cera de abeja A** existe una variabilidad de oscuro a moderadamente luminoso para los ungüentos con extracto líquido y para la ungüentos con adición de plata (agregados de plata) se exhiben tonos predominantemente luminosos. Para los ungüentos con **cera de abeja B** con únicamente extracto líquido de los nidos se exhibe variación de oscuro a moderadamente luminoso, para el caso de los ungüentos con agregados de plata hay una variación de oscuro a muy luminoso. Por último, para las muestras de ungüentos con **cera de abeja C**, se observa tonos moderadamente luminosos a muy luminosos y para los ungüentos con presencia de plata variaciones de luminoso a muy luminoso.

De lo que se puede concluir para los valores de L tomados que las muestras con adición plata tienden a ser más luminosas en general. Además, se pudo notar que la cera de abeja B muestra variabilidad en luminosidad entre las muestras con y sin plata. Mientras que los ungüentos con la cera de abeja C muestran consistencias en la luminosidad, con y sin plata.

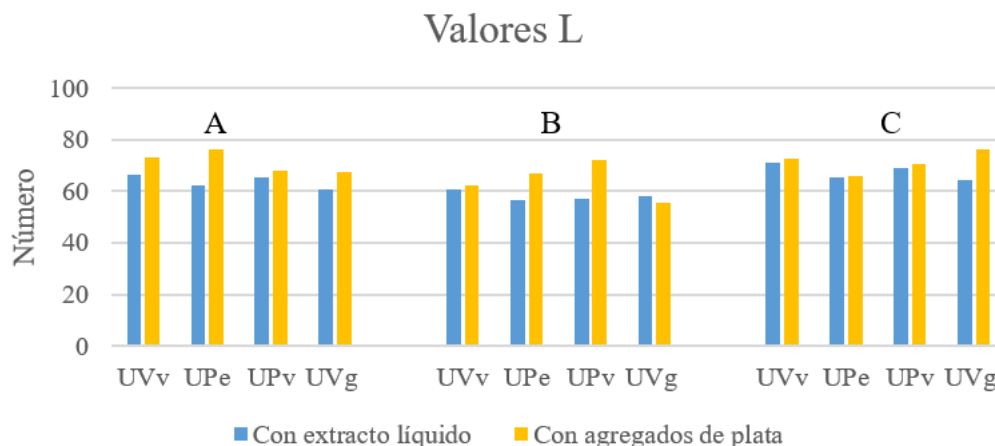


Figura 29. Gráfico de barras para los valores tomados de L para las diferentes ceras de abeja utilizadas.

Se observar en la figura 30 que para la cera de abeja A tanto para el caso de los ungüentos con extracto líquido de los nidos como para los que tienen agregados de plata se exhibe inclinación hacia el verde. Para los ungüentos con cera de abeja B con únicamente extracto líquidos de los nidos se muestra una inclinación hacia el verde, mientras que los que tienen agregados de plata presentan una inclinación leve hacia el rojo. Para los ungüentos con cera de abeja C con extracto líquido predomina en el rango negativo con una inclinación hacia el verde y con los que presentan adición de plata se observa una variación de negativo a positivo con una inclinación hacia el verde o rojo.

De lo que se puede notar las muestras con plata presentan cambios en la inclinación hacia el rojo en comparación con las muestras sin plata. También que, la cera de abeja A y C mantienen una inclinación constante hacia el verde.

Para el caso de los valores de b (figura 31) se exhibe un rango negativo para los ungüentos sin adición de plata con una inclinación hacia el azul, en el caso de los ungüentos con presencia de plata se observa una variación entre -0,49 y 0,215, con tonos azules y rojos. Para los ungüentos con extracto líquido de la cera de abeja B en su mayoría exhibe valores positivos (6,385 a 7,615), inclinación hacia el amarillo y para los que tienen adición de plata resultaron ser predominantemente positivos (6,22 a 7,725) con inclinación hacia el amarillo. Finalmente, para los ungüentos del tipo cera de abeja C sin adición de plata su comportamiento es mayormente positivo (5,41 a 6,60) indicando una inclinación hacia el amarillo, en los ungüentos de este tipo

con agregados de plata presenta en su mayoría valores positivos (3,71 a 7,15) con inclinación hacia el amarillo y rojo.

Concluyendo las muestras sin la adición de plata de cera de abeja A y C tienden a inclinarse hacia el azul, mientras que las muestras con plata de Cera de Abeja B presentan una inclinación clara hacia el amarillo.

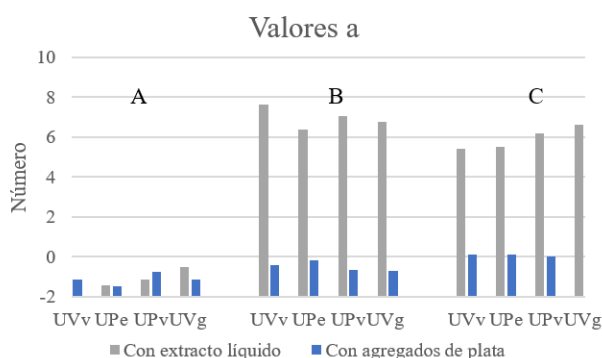


Figura 30. valores de a tomados para los diferentes ungüentos con los tres tipos de ceras de abeja.

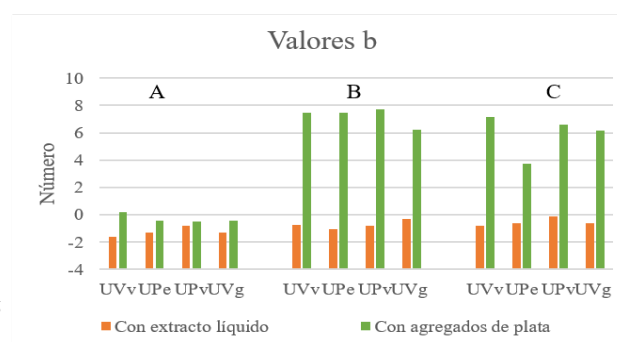


Figura 31. Valores de b tomados para los diferentes ungüentos con los tres tipos de ceras de abeja

4.4.1.2 pH. En las representaciones gráficas 32 y 33, se exhiben las medias de los valores de pH asociados con cada uno de los ungüentos desarrollados. En la fig 32a, se registran los valores respectivos de 9,16, 6,21 y 11,75. La fig32b presenta valores de 6,75, 5,09 y 6,68. La fig32c muestra medias de 3,99, 10,73 y 6,06, mientras que la fig 32d presenta valores de 5,33, 10,78 y 8,18. Por otro lado, la fig 33 exhibe los resultados de las medias de los ungüentos con adiciones de plata. En la fig33a, los valores son 4,42, 9,73 y 8,45. La fig33b muestra 5,66, 6,37 y 6,64, mientras que la fig 33c presenta medias de 5,18, 8,40 y 5,08. Finalmente, la fig33d tiene valores de 6,00, 6,58 y 5,54, respectivamente.

Aunque los autores atribuyen la variación del pH a discrepancias en la formulación, no tuvieron en cuenta posibles reacciones de oxireducción en la descomposición el ungüento-

La variabilidad observada puede atribuirse a discrepancias en la formulación de los ungüentos, dado que se emplean tres variantes de ceras de abeja. Conforme a la literatura, se reconoce que, a mayor longitud de la caja y los bigotes en un diagrama de cajas, mayor es la dispersión de los datos. En este contexto, se puede inferir que, para el caso de la fig32a, los datos

de pH en *UVvA* muestran mayor dispersión en comparación con *UVvB* y *UVvC*. En la fig32b, los datos de *UVvC* presentan mayor dispersión que los de *UVvB*. En la fig32c, los valores más dispersos se encuentran en *UPvB*, seguido por *UPvA*, mientras que *UPvC* muestra los datos menos dispersos. Por último, en la fig32d, se observa que los datos más dispersos se encuentran en *UVgB*, seguidos por *UVgC* y *UVgA*. Y de este mismo modo, se puede interpretar los diagramas de cajas presentados en la figura 33.

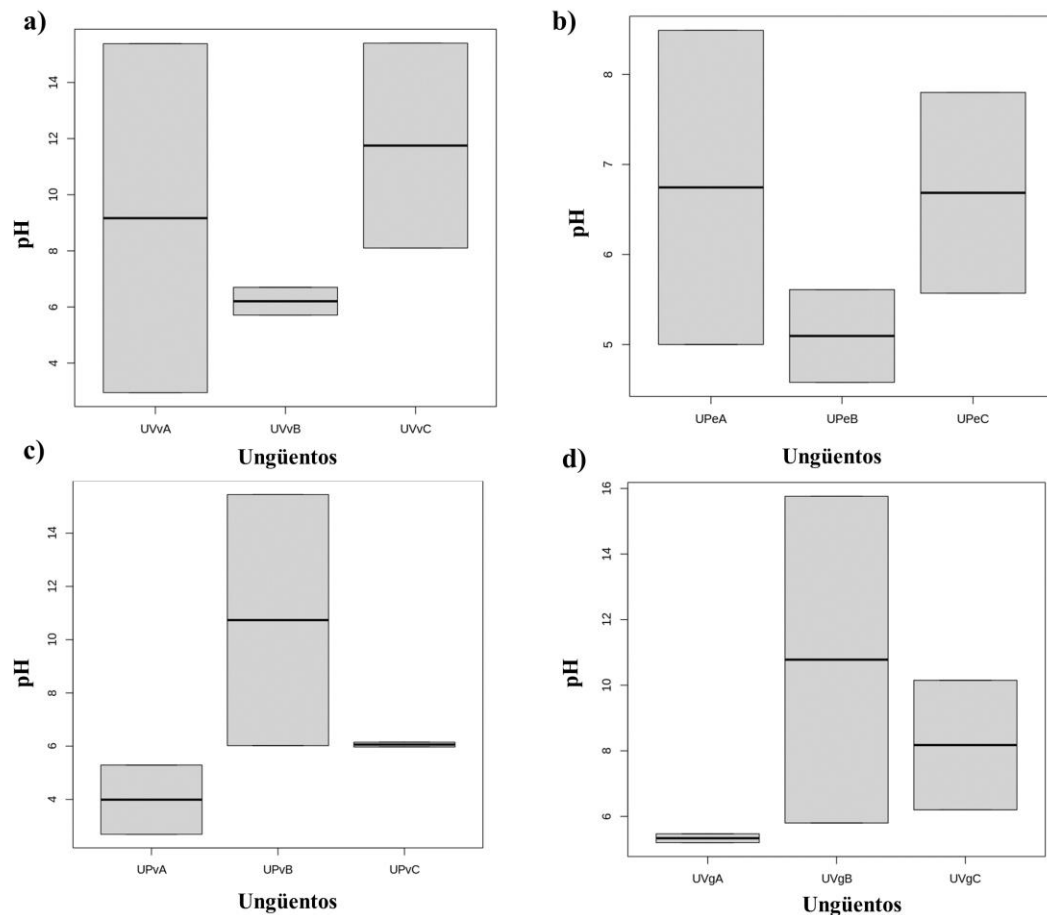


Figura 32. Diagrama de cajas del pH de los ungüentos con los extractos líquidos. Siendo a) pH de los ungüentos a partir del *FLVv* con las diferentes ceras de abeja, b) pH de los ungüentos a partir del *FLPe* con las diferentes ceras de abeja, c) pH de los ungüentos a partir del *FLVg* con las diferentes ceras de abeja y d) pH de los ungüentos a partir del *FLPv* con las diferentes ceras de abeja.

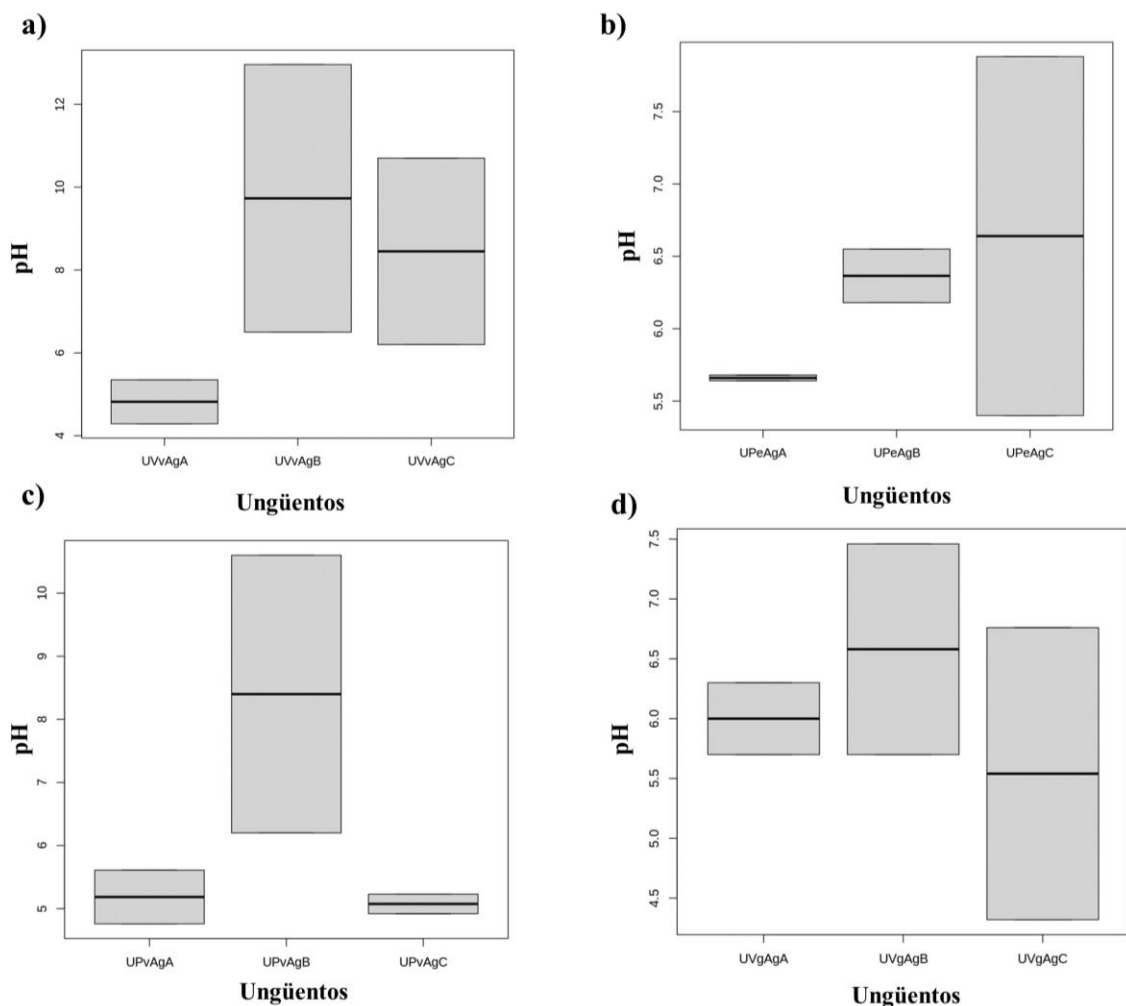


Figura 33. Diagrama de cajas del pH de los ungüentos con agregados de plata. Siendo a) pH de los ungüentos a partir del VvAg con las diferentes ceras de abeja, b) pH de los ungüentos a partir del PeAg con las diferentes ceras de abeja, c) pH de los ungüentos a partir del PvAg y d) pH de los ungüentos a partir del VgAg con las diferentes ceras de abeja.

Seguidamente se procedió a la caracterización de los ungüentos.

4.4.2 Caracterización

En esta sección, se partió inicialmente con la caracterización FTIR-ATR donde se realizó la interpretación de las bandas características de las materias primas usadas para la preparación de los ungüentos finales de interés y por ende también se encuentra la caracterización de estos ungüentos, los espectros IR se procesaron en el software Origin 2023b versión prueba donde a cada espectro IR se les aplicó un suavizado de 20 pts, seguido se le sacó la línea base y finalmente se normalizaron para generación de mejores gráficos y facilitar dicha interpretación. Cada

comparativo se presenta con su correspondiente tabla para la interpretación básica de las frecuencias infrarrojas, simplificando la identificación de los posibles grupos funcionales presentes en las muestras analizadas, en la cual se reflejan las bandas características de las muestras y se indican los modos vibracionales con su respectiva asignación (tipos de enlace) acorde con el número de onda (cm^{-1}). Posteriormente se realizó un análisis termogravimétrico TGA.

4.4.2.1 Resultados y Análisis Espectroscopia FTIR-ATR

4.4.2.1.1 FTIR-ATR de las Materias Primas. En la figura 34 se exhibe los espectros IR de cada una de las materias primas utilizadas para la preparación de los ungüentos, la tabla de interpretación (Tabla 16) de estos se encuentran posterior a estas.

En estudios anteriores se ha reportado que las materias primas utilizadas en este estudio son comúnmente usadas en la preparación de ungüentos debido a sus propiedades beneficiosas para la piel y sus capacidades de formulación ya que algunas tienen propiedades emolientes y humectantes como es caso del polisorbato 80 y el alcohol cetílico tal como lo describen Gutierrez (2011) y Yamaguchi (1979)^{110,111}. Además, Bide (2021) en su estudio corroboró esta información al demostrar la presencia de grupos hidroxilos (-OH), los cuales son indicativos de tales propiedades emolientes y humectantes¹¹², se pueden buscar los picos característicos en el rango de $3320\text{-}3225\text{ cm}^{-1}$ para el alcohol cetílico y 3496 cm^{-1} para el polisorbato 80.

Los estiramientos de enlaces C=O, que generalmente se encuentran en bandas entre rango de $1700\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$, puede indicar la presencia de ésteres, que son comunes en compuestos emolientes como la manteca de karité que se ubica en el espectro IR en el rango de 1738 cm^{-1} , 1747 cm^{-1} en el aceite mineral por vibración de estiramiento del enlace C=O en grupos cetona¹¹³, así como también se encuentra en el rango de 1735 cm^{-1} para el polisorbato 80.

Además, también se lograron identificar bandas características que se encuentran en el rango de $2850\text{-}2920\text{ cm}^{-1}$ para todas las muestras, pueden indicar la presencia de grupos alifáticos y saturados. Cebi (2023) describe que estas bandas son comunes en los lípidos presentes en las materias primas emolientes y humectantes¹¹⁴.

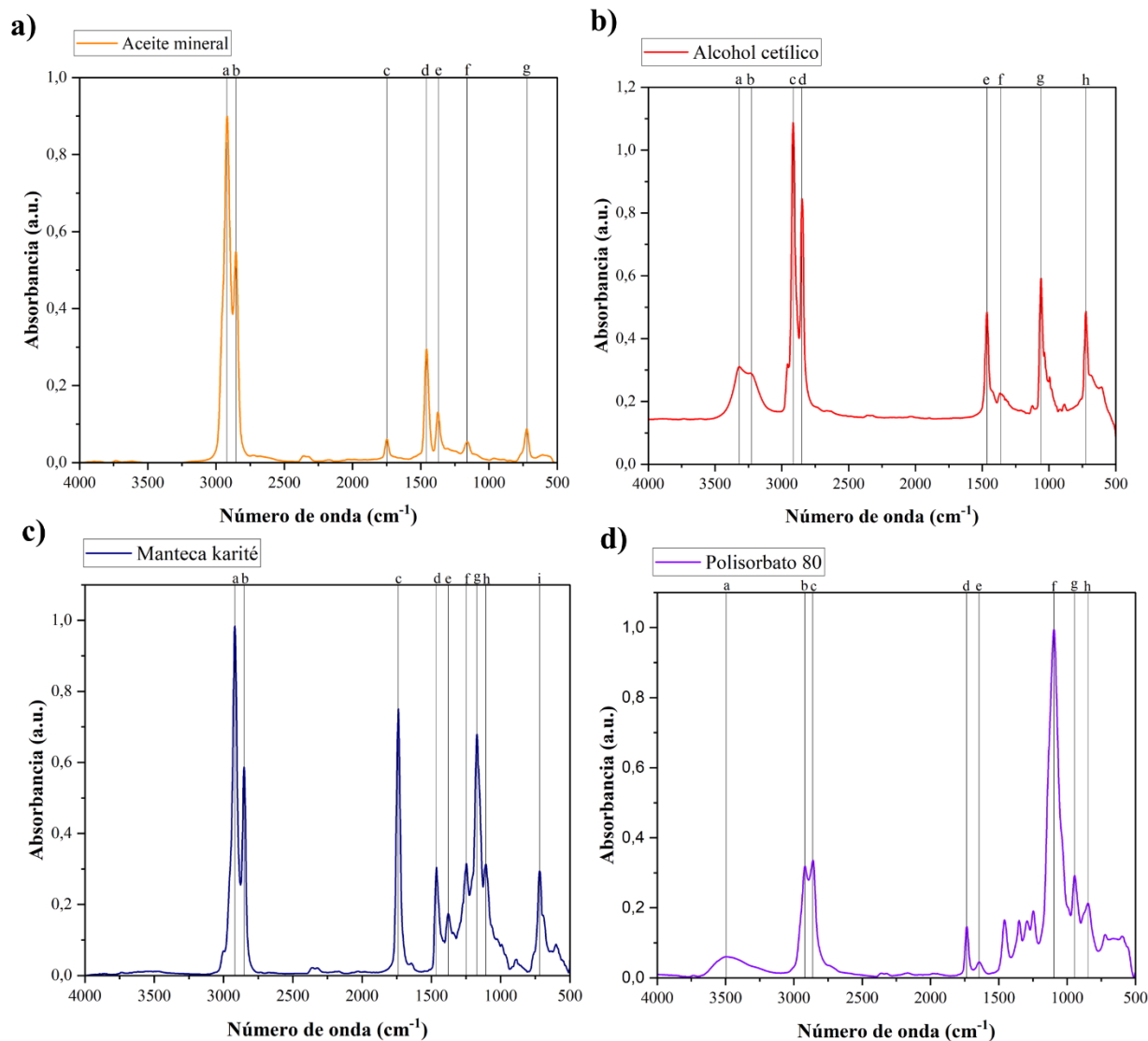


Figura 34. Espectros IR (Número de onda (cm⁻¹) / Absorbancia) de a) aceite mineral, b) alcohol cetílico, c) manteca karité y d) polisorbato 80.

Tabla 13. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR para las materias primas usadas

Nº	Número de onda (cm⁻¹)	Asignación	Vibración	Ref
a) Aceite mineral				97–100
a	2920	CH₂	vibraciones de los enlaces CH₂ en las cadenas alifáticas	
b	2853			
c	1747	C=O	Vibración de estiramiento del enlace C=O en grupos cetona	
d	1457	C-H	Vibraciones de deformación angular de los enlaces C-H	

e	1370	C-H	Vibración de estiramiento del enlace C-H en grupos metil eno (CH ₂)	
f	1161	C-C	vibración de estiramiento del enlace C-C en grupos alifáticos.	
g	721	C-H	vibración de flexión de enlaces C-H	
b) Alcohol cetílico				101– 104
a	3320			
b	3225	O-H	Estiramiento antisimétrico	
c	2914	CH ₃	Estiramiento simétrico	
d	2849	C-H	Vibración simétrica	
e	1463	CH ₂	Estiramiento	
f	1360	-	-	
g	1059	C-O		
h	725	CH ₂	Estiramiento	
c) Manteca karité				71,105, 106
a	2919	C-H	Vibración de estiramiento simétrica y asimétrica del grupo CH ₂	
b	2850	C-H	alifático.	
c	1738	C=O	vibración de estiramiento del grupo funcional éster carbonilo de los triglicéridos.	
d	1464	CH ₂	Vibraciones de flexión de los grupos alifáticos CH ₂ y CH ₃	
e	1377	CH ₃		
f	1246	C-O		
g	1171	C-O	Vibración de estiramiento de los grupos éster	
h	1105	C-O		
i	717	C-H	vibración aromática de flexión C-H	
d) Polisorbato 80				71,107 –109
a	3496	O-H	vibraciones del OH en el sorbitol	
b	2919	CH ₂	vibraciones de estiramiento de enlaces CH	
c	2861	CH ₃		
d	1735	C=O	Estiramiento asimétrico	
e	1644	C=C	vibraciones del doble enlace C=C en el ácido oleico	
f	1096	C-O	vibración de estiramiento de enlace, típica de grupos éter.	
g	945	C-O	vibraciones de enlace C-O en grupos éter	
h	847	C-H	-	

4.4.2.1.2 FTIR-ATR de las Ceras de Abeja.

En estudios anteriores se ha reportado que las materias primas utilizadas en este estudio son comúnmente usadas en la preparación de ungüentos debido a sus propiedades beneficiosas para la piel y sus capacidades de formulación ya que algunas tienen propiedades emolientes y humectantes como es caso del polisorbato 80 y el alcohol cetílico tal como lo describen Gutierrez (2011) y Yamaguchi (1979) ^{110,111}. Además, Bide (2021) en su estudio corroboró esta información al demostrar la presencia de grupos hidroxilos (-OH), los cuales son indicativos de tales propiedades emolientes y humectantes ¹¹², se pueden buscar los picos característicos en el rango de 3320-3225 cm⁻¹ para el alcohol cetílico y 3496 cm⁻¹ para el polisorbato 80.

Los estiramientos de enlaces C=O, que generalmente se encuentran en bandas entre rango de 1700-1750 cm⁻¹, puede indicar la presencia de ésteres, que son comunes en compuestos emolientes como la manteca de karité que se ubica en el espectro IR en el rango de 1738cm⁻¹, 1747 cm⁻¹ en el aceite mineral por vibración de estiramiento del enlace C=O en grupos cetona¹¹³, así como también se encuentra en el rango de 1735 cm⁻¹ para el polisorbato 80.

Además, también se lograron identificar bandas características que se encuentran en el rango de 2850-2920 cm⁻¹ para todas las muestras, pueden indicar la presencia de grupos alifáticos y saturados. Cebi (2023) describe que estas bandas son comunes en los lípidos presentes en las materias primas emolientes y humectantes ¹¹⁴.

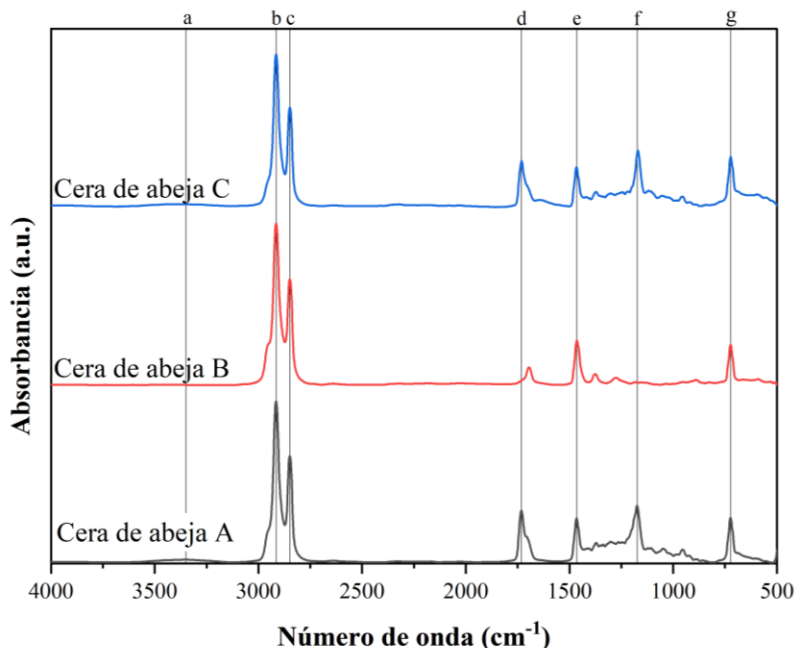


Figura 35. Espectros IR (Número de onda (cm⁻¹) / Absorbancia) los tres tipos de cera de abeja utilizados para la preparación de los ungüentos.

Tabla 14. Asignación y modo vibracional de las bandas más características en el FTIR-ATR de las tres diferentes ceras de abeja.

n°	Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Vibración	Ref
a	3356	O-H	Vibraciones de los enlaces OH	71,118–120
b	2915-2914	CH ₂	vibraciones de estiramiento simétrico y	
c	2848-2847	CH ₃	asimétrico de los enlaces CH	
d	1732-1695	C=O	Vibración correspondiente a ésteres de colesterol	
e	1466-1464	CH ₂	Flexión (vibración de deformación)	
f	1176-1136	C-H		
g	723	CH ₂	balanceo del CH ₂	

Adicional a esto, se realizó la generación de gráficos de Análisis de Componentes Principales (PCA) con el fin de examinar posibles diferencias en la composición química de Las

tres ceras de abejas utilizadas, siendo Cera A, la cera de abeja blanca (A); Cera B, la cera de abeja amarilla (B) y; Cera C, la cera de abeja virgen (C). Durante el tratamiento de los espectros, se identificaron 4 componentes comparativos, de los cuales se eligieron 8 bandas espectrales. Se consideraron las bandas C1 (CH/OH) y C2 (CH/C=O) en los espectros IR en su forma original, mientras que C3 (CH₂/C=O) y C4 (CH₂/CH₃) fueron derivadas de los espectros IR originales para analizar el área correspondiente a cada una. Esto se puede evidenciar en la figura 36.

En la figura 36 el PC1 explica aproximadamente el 66,43% de la varianza total mientras que, PC2 explica aproximadamente el 33,57% de la varianza total.

Las observaciones para las distintas ceras (Cera A, Cera B y Cera C) muestran diferencias en su posición relativa en el espacio de las dos primeras componentes principales, donde las puntuaciones de las observaciones (Cera A, Cera B y Cera C) en el espacio de las dos primeras componentes principales (PC1 y PC2) varían significativamente. Por ejemplo, para el caso de la Cera A tiene una puntuación más alta en PC1 en comparación con Cera B, mientras que Cera B tiene una puntuación más alta en PC2 en comparación con Cera A y Cera C. Donde se puede apreciar diferencias significativas en las puntuaciones lo que se insinúa que hay diferencias en la composición química que están siendo capturadas por las componentes principales.

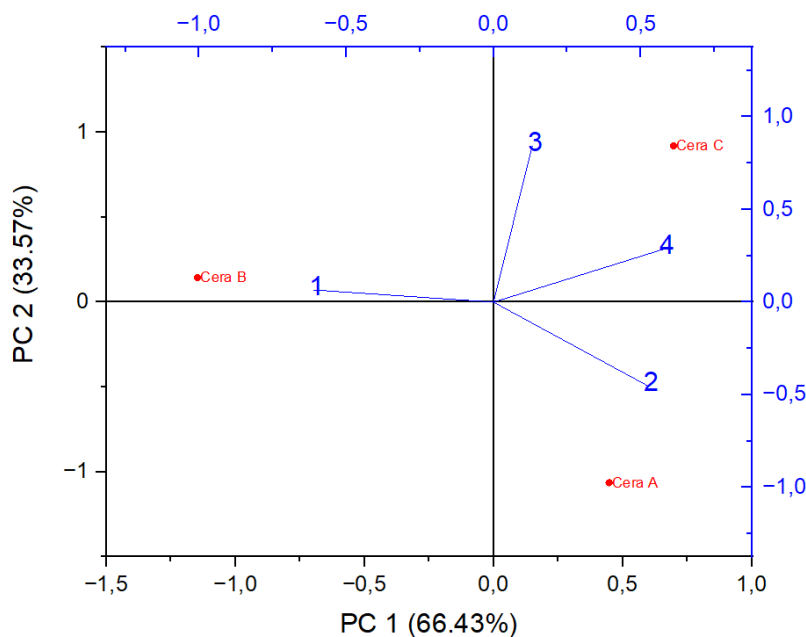


Figura 36. PCA para las ceras de abeja.

4.4.2.1.3 FTIR-ATR de los Ungüentos. En este apartado se realizó la caracterización FTIR-ATR de los ungüentos, donde se puede observar los espectros IR en la figura 37.

Se puede observar que los ungüentos que comparten las mismas ceras de abeja muestran comportamientos similares. En el caso de la Figura 37c), se nota una banda característica de OH más ancha y pronunciada en la mayoría de los ungüentos en comparación con las Figuras 37a) y 37b). Además, se detectan bandas características de grupos -OH en el rango de 3375-3380 cm^{-1} , así como bandas en 2914-2918 cm^{-1} asignadas a CH_2 . También se evidencia un pico característico de $\text{C}=\text{O}$ en el intervalo de 1739-1742 cm^{-1} . Para obtener más detalles sobre las asignaciones de las bandas obtenidas en los espectros IR, se pueden consultar en la tabla 19.

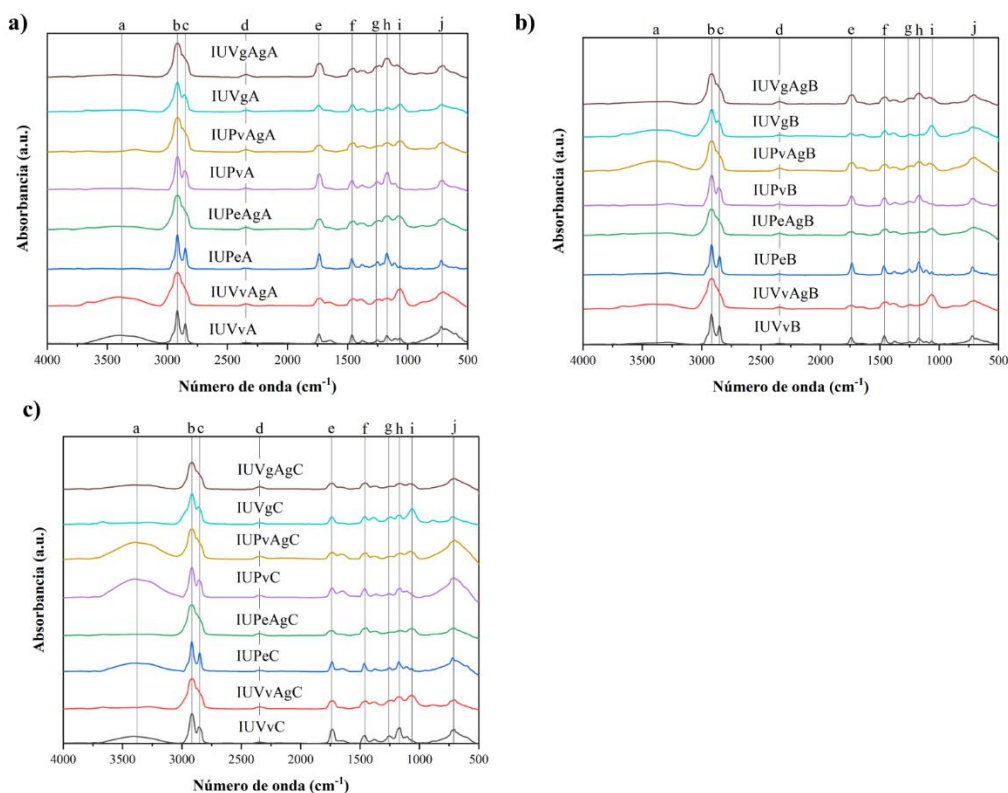


Figura 37. Espectros IR (Número de onda (cm^{-1}) / Absorbancia) de los ungüentos.

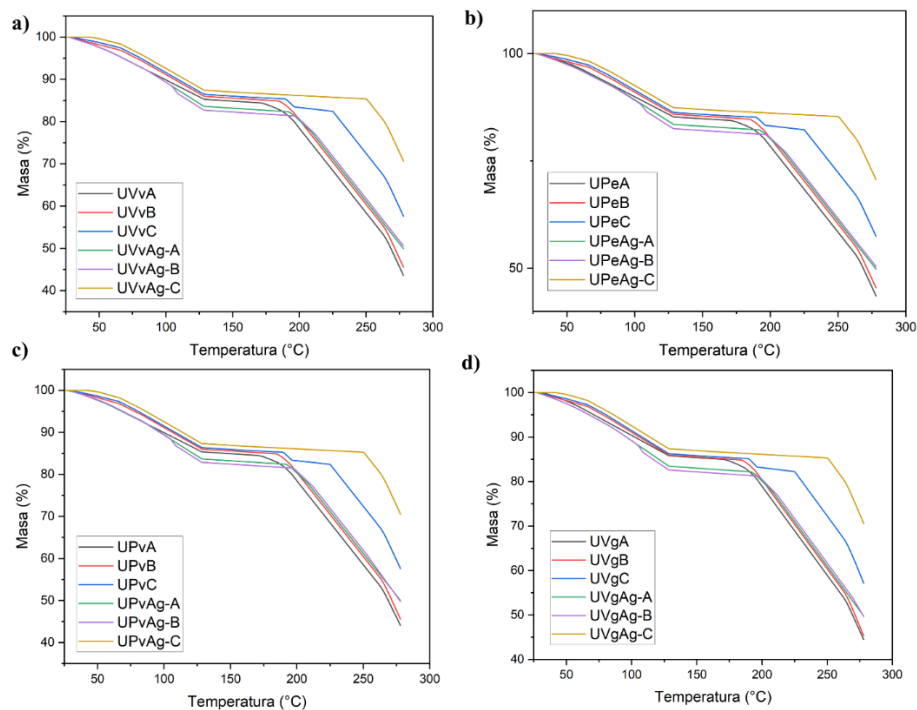
Tabla 15. Asignaciones para los ungüentos con las distintas ceras de abejas.

Nº	Número de onda (cm ⁻¹)	Fig23a	Fig23b	Fig23c	Asignación	Ref
a		3380	3376	3375	O-H	1-3
b		2918	2916	2914	CH ₂	23,68,70
c		2852	2850	2850	CH ₃	23,67,70
d		2347	2346	2345	-	-
e		1742	1739	1741	C=O	71,118-121
f		1462	1459	1462	CH ₂	
g		1262	1258	1261	C-O	
h		1169	1166	1168		
i		1062	1061	1060		
j		713	710	711		

Seguidamente para conocer la estabilidad térmica de estos se procedió a un análisis termogravimétrico TGA.

4.4.1.2 Resultados y Análisis Termogravimétricos TGA. En esta sección, se analizó la estabilidad térmica de los ungüentos elaborados, para ello se realizó un análisis termogravimétrico (TGA) para las tres variantes de ungüentos a base de extractos líquidos y agregados de plata de los nidos de las cuatro especies (*Vespula vulgaris*, *Polistes erythrocephalus*, *Polistes versicolor* y *Vespula germanica*). En la figura 43 se exhiben las respectivas curvas termogravimétricas para cada uno de los casos. Las temperaturas y porcentajes de pérdida de masa se presentan en la tabla 20. La degradación de los ungüentos UVgA, UVgB, y UVgC ocurre principalmente con pérdida de masa inicial en el rango de temperatura de aproximadamente 70-100 °C, seguida de una pérdida de masa más significativa en el rango de 200-250 °C. Esta temperatura es crítica ya que muestra una pérdida sustancial de masa en todas las muestras de ungüentos, lo que se sugiere que en este rango hay procesos de descomposición térmica significativos en esa región. Los porcentajes de pérdida de masa en el rango de temperatura más bajo podrían deberse a la evaporación de componentes volátiles o la descomposición térmica de compuestos orgánicos presentes en los extractos líquidos de nidos de avispas.

Los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) en la figura 38, revelan que tanto los ungüentos con agregados de plata como los que carecen de este aditivo experimentan pérdida de masa a medida que se incrementa la temperatura. Sin embargo, se observa una diferencia significativa en la estabilidad térmica entre ambos tipos de ungüentos. Los ungüentos con agregados de plata exhiben una mayor estabilidad térmica en comparación con aquellos que no contienen plata, este comportamiento se le atribuye a la capacidad que tiene la plata para formar complejos con los compuestos bioactivos presentes en los nidos de avispas, como lo reporta Ermukhambetova (2023) en su investigación ¹⁹. Además, de acuerdo con trabajos previos, estos complejos estabilizadores impiden la descomposición completa de los materiales en los ungüentos, actuando como una barrera protectora que reduce la pérdida de masa durante el calentamiento ^{122,123}.



la cera de abeja funde entre 62 a 65°
Figura 38. TGA de las tres variantes de los ungüentos a partir del extracto y agregado de plata de los nidos de las 4 especies de avispas trabajadas.

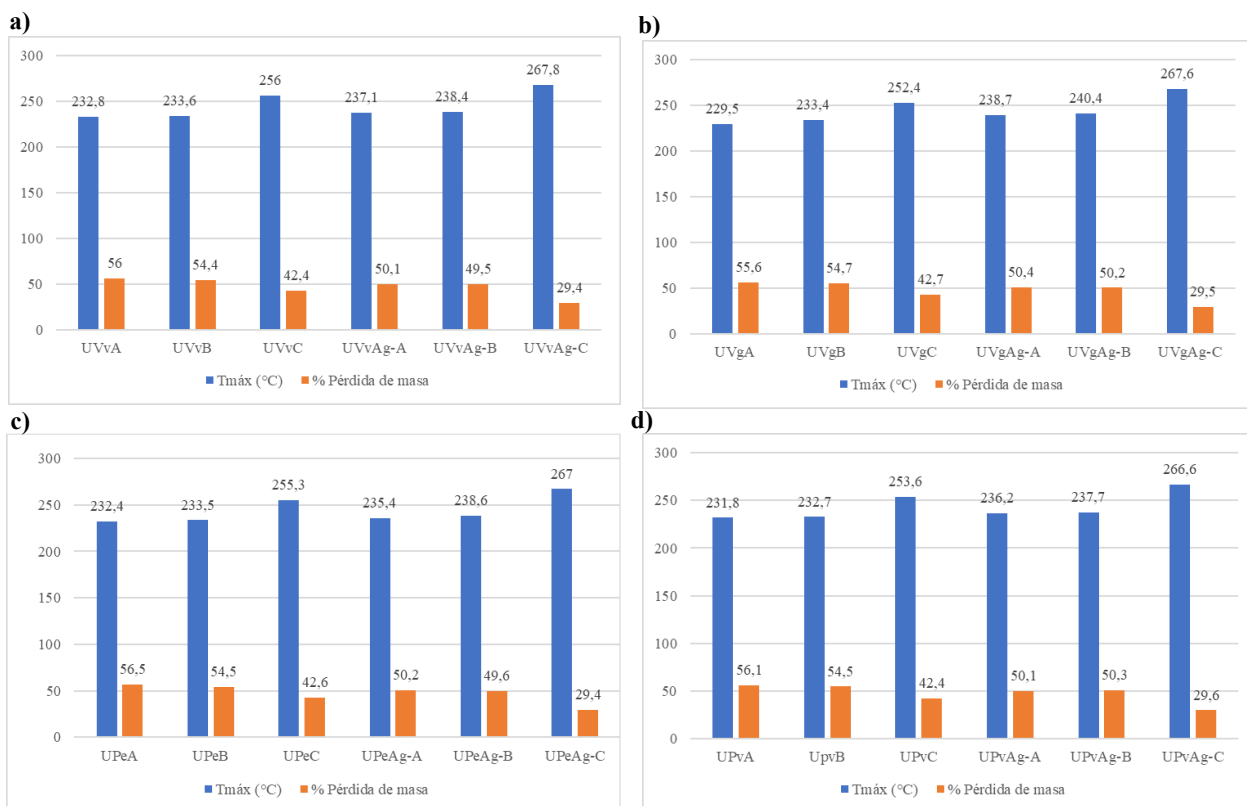


Figura 39. Gráficos comparativos para la T (°C) y % de pérdida de masa para la descomposición química de los ungüentos con y sin agregados de plata.

En las figuras 38 y 39, se puede observar que los ungüentos sin adición de plata sufren una degradación química en 229 °C – 256 °C con el 42-56% de pérdida de masa, mientras que estos mismo pero con agregados plata tienen una degradación química en el rango de temperatura de 235 °C – 267 °C con una pérdida de masa entre 29% - 50% (estos valores también se pueden ver en la tabla 20) de lo que se puede confirmar lo anteriormente dicho donde se exhibe un porcentaje de masa menor en los ungüentos con agregados de plata y a su vez presentan mayor estabilidad térmica, impidiendo la descomposición completa del material.

Se puede observar claramente en las figuras 38 y 39 que, de las tres ceras analizadas, la cera de abeja tipo C, que es una cera virgen (pura), presenta los mejores resultados en términos de estabilidad térmica y menor pérdida de masa tanto en los ungüentos con cómo sin agregados de plata.

Tabla 16. Resultados de los Análisis termogravimétrico (TGA) para los ungüentos

	T_{máx} (°C)	Pérdida de masa (%)		T_{máx} (°C)	Pérdida de masa (%)		T_{máx} (°C)	Pérdida de masa (%)		T_{máx} (°C)	Pérdida de masa (%)
UVvA	77,9	14,7	UPeA	75,4	14,8	UPvA	73,5	14,7	UVgA	80	14,3
	150,3	15,6		153,6	15,6		152	15,5		155,4	15,1
	232,8	56		232,4	56,5		231,8	56,1		229,5	55,6
UVvB	46,4	3,2	UPeB	45,7	3,2	UPvB	46,8	3,1	UVgB	46,3	3,1
	98,4	14,0		96,2	14,2		96,0	14,0		97,8	14,0
	159,4	15,2		158,5	15,2		157,4	15,2		159,5	15,3
	233,6	54,4		233,5	54,5		232,7	54,5		233,4	54,7
UVvC	47,7	2,5	UPeC	46,4	2,7	UPvC	47,9	2,6	UVgC	49,5	2,7
	95,2	13,5		98,8	13,7		99,3	13,6		96,4	13,8
	161	14,6		161,5	14,8		161,2	14,7		160,3	14,8
	193,2	16,6		193	16,7		193,2	16,6		192,8	16,5
	211,2	17,6		211,2	17,7		210,3	17,6		212	17,8
	256	42,4		255,3	42,6		253,6	42,4		252,4	42,7
	80,8	16,4		81,6	16,5		80,4	16,3		79,6	16,5

UVvAg-	163,6	17,7	UPeAg-	162,2	17,8	UPvAg-	162,4	17,6	UVgAg-	161,9	17,8
A	237,1	50,1	A	235,4	50,2	A	236,2	50,1	A	238,7	50,4
UVvAg-	66,7	13,0	UPeAg-	69,9	13,4	UPvAg-	72,2	13,0	UVgAg-	70,7	13,1
B	117,6	17,4	B	117,3	17,5	B	117,6	17,1	B	117,3	17,4
	165,8	18,7		164,7	18,8		162,5	18,5		165	18,8
	238,4	49,5		238,6	49,6		237,7	50,3		240,4	50,2
UVvAg-	53,8	1,7	UPeAg-	53,1	1,8	UPvAg-	55,3	1,8	UVgAg-	49,6	1,8
C	97,6	12,5	C	96,9	12,5	C	96,9	12,7	C	97,2	12,6
	189,8	14,6		192,0	14,7		189,5	14,8		190,5	14,7
	267,8	29,4		267,0	29,4		266,6	29,6		267,6	29,5

4.4.1.3 Evaluación de la Capacidad Antimicrobiana.

CONCLUSIONES

- Se logró la extracción de los compuestos bioactivos presentes en los nidos de avispas. Esto se evidencia en el análisis GC-MS, donde se obtuvo una mayor abundancia relativa el 3-metil-1-butanol para *Vespula vulgaris*; N-(3-metilbutil)butanamida para *Polistes erythrocephalus*; 3-metil-1-butanol para *Vespula germanica*; y N-(3-metilacetamida) para *Polistes versicolor*.
- Se realizó la identificación de agregados de plata mediante espectrofotometría UV-Vis, presentando máximos de absorción en las longitudes de onda (nm) entre 421 – 455 nm, lográndose a su vez aplicar correctamente la ecuación propuesta por Haiss para determinar el diámetro de los agregados de plata obteniéndose tamaños menores a 120 nm.
- El análisis TGA reveló una mayor estabilidad térmica en los ungüentos con agregados de plata en comparación con aquellos sin dicha adición. Además, se destacó que los ungüentos elaborados con cera de abeja tipo C mostraron consistentemente mejores resultados en términos de estabilidad térmica.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere extender la investigación a diversas especies de avispas y otros insectos en Colombia.
- Se plantea llevar a cabo investigaciones que empleen este biopolímero para evaluar sus posibles propiedades anticoagulantes y/o antifúngicas.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Lateef, A.; Akande, M. A.; Ojo, S. A.; Folarin, B. I.; Gueguim-Kana, E. B.; Beukes, L. S. Paper Wasp Nest-Mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles for Antimicrobial, Catalytic, Anticoagulant, and Thrombolytic Applications. *3 Biotech* **2016**, 6 (2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0459-x>.
- (2) Gosai, H.; Patel, P.; Trivedi, H.; Joshi, U. Role of Biodegradable Polymer-Based Biomaterials in Advanced Wound Care. *Wound Healing Research* **2021**, 599–620. https://doi.org/10.1007/978-981-16-2677-7_18.
- (3) Barreto-Santamaría, A.; Arévalo-Pinzón, G.; Patarroyo, M. A.; Patarroyo, M. E. How to Combat Gram-Negative Bacteria Using Antimicrobial Peptides: A Challenge or an Unattainable Goal? *Antibiotics* 2021, Vol. 10, Page 1499 **2021**, 10 (12), 1499. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10121499>.
- (4) Trilla, A. Infecciones Asociadas a La Atención Sanitaria. *International Society For Infectious Diseases* **2021**, 1–14.
- (5) Vecht, van der, J.; Carpenter, J. M. A Catalogue of the Genera of the Vespidae (Hymenoptera). *Zoologische Verhandelingen* **1990**, 260 (1985), 3–62.
- (6) Rodríguez, A. Avispas.
- (7) Colombiano, D. S.; De, D.; Carlos, N.; Sarmiento-M, E. *AVISPAS SOCIALES (Vespidae: Polistinae)*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/33624/20728-184511-1-PB.pdf?sequence=1> (accessed 2024-01-17).
- (8) López, Y. G.; Canchila P., S.; Alvarez G., D. Listado de Avispas Sociales (Vespidae: Polistinae) Del Departamento de Sucre, Colombia. *Biota Colomb* **2013**, 14 (2), 108–113.
- (9) Hines, H. M.; Hunt, J. H.; O'Connor, T. K.; Gillespie, J. J.; Cameron, S. A. Multigene Phylogeny Reveals Eusociality Evolved Twice in Vespid Wasps. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**, 104 (9), 3295–3299. https://doi.org/10.1073/PNAS.0610140104/SUPPL_FILE/10140FIG3.PDF.

- (10) Richards, W. *THE BIOLOGY OF THE SOCIAL WASPS (HYMENOPTERA, VESPIDAE)*; 1971; Vol. 46.
- (11) Hunt, J. H. Trait Mapping and Salience in the Evolution of Eusocial Vespid Wasps. *Evolution (N Y)* **2017**, 53 (1), 225–237. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb05348.x>.
- (12) Prezoto, F.; Nascimento, F. S.; Barbosa, B. C.; Somavilla, A. *Neotropical Social Wasps: Basic and Applied Aspects*; Springer, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-53510-0>.
- (13) Varghese, T.; Kumar, P. G. A Review of the Taxonomy, Biology and Distribution of the Social Wasps (Hymenoptera: Vespidae) of the Indian Subcontinent. *J Indian Inst Sci* **2023**, 103 (4), 1019–1047. <https://doi.org/10.1007/S41745-023-00411-7/FIGURES/5>.
- (14) Hunt, J. H.; Baker, I.; Baker, H. G. *Similarity of Amino Acids in Nectar and Larval Saliva: The Nutritional Basis for Trophallaxis in Social Wasps*; 1982; Vol. 36.
- (15) Bell, E.; Sumner, S. Ecology and Social Organisation of Wasps. *Encyclopedia of Life Sciences* **2013**. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.A0023597>.
- (16) Dani, F. R.; Turillazzi, S. Chemical Communication and Reproduction Partitioning in Social Wasps. *J Chem Ecol* **2018**, 44 (9), 796–804. <https://doi.org/10.1007/S10886-018-0968-7/METRICS>.
- (17) Zahid, M. *Chemical Composition, Structure and Architecture of the Nest of Various Species of Vespidae (Insecta: Hymenoptera)*; 2018. <https://www.researchgate.net/publication/324136457>.
- (18) Kudô, K.; Yamamoto, H.; Yamane, S. Amino Acid Composition of the Protein in Pre-Emergence Nests of a Paper Wasp, *Polistes Chinensis* (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc* **2000**, 47 (4), 371–375. <https://doi.org/10.1007/PL00001733/METRICS>.
- (19) Ermukhambetova, A.; Berillo, D. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Paper Wasp's Hydrolysate with Antibacterial Activity. *Results in Surfaces and Interfaces* **2023**, 11. <https://doi.org/10.1016/j.rsufi.2023.100114>.

- (20) Turillazzi, S.; Perito, B.; Pazzagli, L.; Pantera, B.; Gorfer, S.; Tancredi, M. Antibacterial Activity of Larval Saliva of the European Paper Wasp *Polistes Dominulus* (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc* **2004**, *51* (4), 339–341. <https://doi.org/10.1007/s00040-004-0751-3>.
- (21) Kudô, K.; Yamane, S.; Mateus, S.; Tsuchida, K.; Itô, Y.; Miyano, S.; Yamamoto, H.; Zucchi, R. Nest Materials and Some Chemical Characteristics of Nests of a New World Swarm-Founding Polistine Wasp, *Polybia Paulista* (Hymenoptera Vespidae). *Ethol Ecol Evol* **2010**, *13* (4), 351–360. <https://doi.org/10.1080/08927014.2001.9522766>.
- (22) Joy, S. J. NATURAL WORLD HABITAT NETWORKS AND LAND MANAGEMENT: A STUDY BASED ON NETWORK THEORY Report of the Principal Investigator. **2017**, 25–49.
- (23) Sguarizi-Antonio, D.; Torres, V. O.; Firmino, E. L. B.; Lima, S. M.; Andrade, L. H. C.; Antonialli-Junior, W. F. Observation of Intra- and Interspecific Differences in the Nest Chemical Profiles of Social Wasps (Hymenoptera: Polistinae) Using Infrared Photoacoustic Spectroscopy. *J Photochem Photobiol B* **2017**, *176*, 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.001>.
- (24) Hoggard, S. J.; Wilson, P. D.; Beattie, A. J.; Stow, A. J. Social Complexity and Nesting Habits Are Factors in the Evolution of Antimicrobial Defences in Wasps. *PLoS One* **2011**, *6* (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021763>.
- (25) Baracchi, D.; Mazza, G.; Turillazzi, S. From Individual to Collective Immunity: The Role of the Venom as Antimicrobial Agent in the Stenogastrinae Wasp Societies. *J Insect Physiol* **2012**, *58* (1), 188–193. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.11.007>.
- (26) Michelutti, K. B.; Piva, R. C.; Lima-Junior, S. E.; Cardoso, C. A. L.; Antonialli-Junior, W. F. Effect of Temperature on the Chemical Profiles of Nest Materials of Social Wasps. *J Therm Biol* **2019**, *84* (December 2018), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.07.009>.
- (27) Hunt, J. H. *The Evolution of Social Wasps*; 2007.

- (28) Brothers, D. J. *Phylogeny and Evolution of Wasps, Ants and Bees (Hymenoptera, Chrysidoidea, Vespoidea and Apoidea)*; 1999.
- (29) *Vespula vulgaris* - nest | Common Wasp (*Vespula vulgaris*), a ... | Flickr. https://www.flickr.com/photos/erling_olafsson/2506036690 (accessed 2024-01-22).
- (30) Zyl, V. C.; Addison, P.; Veldtman, R. The Invasive Vespidae in South Africa: Potential Management Strategies and Current Status. *African Entomology* **2018**, 26 (2), 267–285. <https://doi.org/10.4001/003.026.0267>.
- (31) *Polistes erythrocephalus* nest | under roofing of a porch | Flickr. <https://www.flickr.com/photos/29697818@N03/3128277107/> (accessed 2024-01-22).
- (32) Somavilla, A.; Schoeninger, K.; Carvalho, A. F.; Menezes, R. S.; Del Lama, M. A.; Costa, M. A.; Oliveira, M. L. Record of Parasitoids in Nests of Social Wasps (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae). *Sociobiology* **2015**, 62 (1). <https://doi.org/10.13102/SOCIOBIOLOGY.V62I1.92-98>.
- (33) Maes, E.; Garénaux, E.; Strecker, G.; Leroy, Y.; Wieruszeski, J. M.; Brassart, C.; Guérardel, Y. Major O-Glycans from the Nest of *Vespula Germanica* Contain Phospho-Ethanolamine. *Carbohydr Res* **2005**, 340 (11), 1852–1858. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2005.05.008>.
- (34) Chawla, S.; Seit, S.; Murab, S.; Ghosh, S. Silk from Indian Paper Wasp: Structure Prediction and Secondary Conformational Analysis. *Polymer (Guildf)* **2020**, 208. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122967>.
- (35) Ermukhambetova, A.; Berillo, D. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Paper Wasp's Hydrolysate with Antibacterial Activity. *Results in Surfaces and Interfaces* **2023**, 11. <https://doi.org/10.1016/j.rsurfi.2023.100114>.
- (36) Altammar, K. A. A Review on Nanoparticles: Characteristics, Synthesis, Applications, and Challenges. *Front Microbiol* **2023**, 14. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2023.1155622>.
- (37) Leung, T. C. Y.; Wong, C. K.; Xie, Y. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Biopolymers, Carboxymethylated-Curdlan and Fucoïdan. *Mater Chem Phys* **2010**, 121 (3), 402–405. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2010.02.026>.

- (38) Yaseen, B.; Gangwar, C.; Nayak, R.; Kumar, S.; Sarkar, J.; Banerjee, M.; Naik, R. M. Gabapentin Loaded Silver Nanoparticles (GBP@AgNPs) for Its Promising Biomedical Application as a Nanodrug: Anticancer and Antimicrobial Activities. *Inorg Chem Commun* **2023**, *149*, 110380. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2022.110380>.
- (39) Nayak, S.; Kittur, A. A.; Nayak, S. Green Synthesis of Silver-Zirconia Composite Using Chitosan Biopolymer Binder for Fabrication of Electrode Materials in Supercapattery Application for Sustainable Energy Storage. **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100292>.
- (40) El-Wahed, A. A.; Yosri, N.; Sakr, H. H.; Du, M.; Algethami, A. F. M.; Zhao, C.; Abdelazeem, A. H.; Tahir, H. E.; Masry, S. H. D.; Abdel-Daim, M. M.; Musharraf, S. G.; El-Garawani, I.; Kai, G.; Naggar, Y. Al; Khalifa, S. A. M.; El-Seedi, H. R. Wasp Venom Biochemical Components and Their Potential in Biological Applications and Nanotechnological Interventions. *Toxins* **2021**, *Vol. 13*, *Page 206* **2021**, *13* (3), 206. <https://doi.org/10.3390/TOXINS13030206>.
- (41) Ermukhambetova, A.; Berillo, D. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Paper Wasp's Hydrolysate with Antibacterial Activity. *Results in Surfaces and Interfaces* **2023**, *11*. <https://doi.org/10.1016/j.rsurfi.2023.100114>.
- (42) Taglietti, A.; Diaz Fernandez, Y. A.; Amato, E.; Cucca, L.; Dacarro, G.; Grisoli, P.; Necchi, V.; Pallavicini, P.; Pasotti, L.; Patrini, M. Antibacterial Activity of Glutathione-Coated Silver Nanoparticles against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Langmuir* **2012**, *28* (21), 8140–8148. https://doi.org/10.1021/LA3003838/SUPPL_FILE/LA3003838_SI_001.PDF.
- (43) Mikhailova, E. O. Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. *J Funct Biomater* **2020**, *11* (4). <https://doi.org/10.3390/JFB11040084>.
- (44) Salleh, A.; Naomi, R.; Utami, N. D.; Mohammad, A. W.; Mahmoudi, E.; Mustafa, N.; Fauzi, M. B. The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. *Nanomaterials*. MDPI AG August 1, 2020, pp 1–20. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>.

- (45) Noronha, V. T.; Paula, A. J.; Durán, G.; Galembeck, A.; Cogo-Müller, K.; Franz-Montan, M.; Durán, N. Silver Nanoparticles in Dentistry. *Dental Materials*. Elsevier Inc. October 1, 2017, pp 1110–1126. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.07.002>.
- (46) Yin, I. X.; Zhang, J.; Zhao, I. S.; Mei, M. L.; Li, Q.; Chu, C. H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. **2020**. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>.
- (47) Allawadhi, P.; Singh, V.; Khurana, A.; Khurana, I.; Allwadhi, S.; Kumar, P.; Banothu, A. K.; Thalugula, S.; Barani, P. J.; Naik, R. R.; Bharani, K. K. Silver Nanoparticle Based Multifunctional Approach for Combating COVID-19. *Sensors International* **2021**, 2. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2021.100101>.
- (48) Rawat, M. A REVIEW ON GREEN SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES AND THEIR APPLICATIONS: A GREEN NANOWORLD. *World J Pharm Pharm Sci* **2016**, 730–762. <https://doi.org/10.20959/wjpps20167-7227>.
- (49) Marslin, G.; Selvakesavan, R. K.; Franklin, G.; Sarmiento, B.; Dias, A. C. P. Antimicrobial Activity of Cream Incorporated with Silver Nanoparticles Biosynthesized from *Withania Somnifera*. *Int J Nanomedicine* **2015**, 10, 5955. <https://doi.org/10.2147/IJN.S81271>.
- (50) Zare-Bidaki, M.; Ghasempour, A.; Mohammadparast-Tabas, P.; Ghoreishi, S. M.; Alamzadeh, E.; Javanshir, R.; Le, B. N.; Barakchi, M.; Fattahi, M.; Mortazavi-Derazkola, S.; Journal, A. Enhanced in Vivo Wound Healing Efficacy and Excellent Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Anticancer Activities via AgNPs@PCS Production and Hosting by Elsevier. **2023**, 16, 105194. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105194>.
- (51) Xu, L.; Wang, Y. Y.; Huang, J.; Chen, C. Y.; Wang, Z. X.; Xie, H. Silver Nanoparticles: Synthesis, Medical Applications and Biosafety. *Theranostics* **2020**, 10 (20), 8996. <https://doi.org/10.7150/THNO.45413>.
- (52) Zhang, X. F.; Liu, Z. G.; Shen, W.; Gurunathan, S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International*

- Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG September 13, 2016. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>.
- (53) Salleh, A.; Naomi, R.; Utami, N. D.; Mohammad, A. W.; Mahmoudi, E.; Mustafa, N.; Fauzi, M. B. The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. *Nanomaterials*. MDPI AG August 1, 2020, pp 1–20. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>.
- (54) Claudio-Rizo, J. A.; Salazar, L. F. C.; Flores-Guia, T. E.; Cabrera-Munguia, D. A. Estructuras Metal-Orgánicas (MOFs) Nanoestructuradas Para La Liberación Controlada de Fármacos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* **2021**, 14 (26), 1e–29e. <https://doi.org/10.22201/CEIICH.24485691E.2021.26.69634>.
- (55) de Barros, D. P. C.; Reed, P.; Alves, M.; Santos, R.; Oliva, A. Biocompatibility and Antimicrobial Activity of Nanostructured Lipid Carriers for Topical Applications Are Affected by Type of Oils Used in Their Composition. *Pharmaceutics* **2021**, 13 (11). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111950>.
- (56) Shah, V. P.; Yacobi, A.; Rădulescu, F. Ș.; Miron, D. S.; Lane, M. E. A Science Based Approach to Topical Drug Classification System (TCS). *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V. June 17, 2015, pp 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.06.011>.
- (57) Buhse, L.; Kolinski, R.; Westenberger, B.; Wokovich, A.; Spencer, J.; Chen, C. W.; Turujman, S.; Gautam-Basak, M.; Kang, G. J.; Kibbe, A.; Heintzelman, B.; Wolfgang, E. Topical Drug Classification. *Int J Pharm* **2005**, 295 (1–2), 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.01.032>.
- (58) Lieberman, H. A.; Rieger, M. M.; Banker, G. S. Pharmaceutical Dosage Forms-- Disperse Systems. **1996**.
- (59) *Pharmaceutical dosage forms-- disperse systems. Volume 2 | WorldCat.org*. <https://search.worldcat.org/es/title/pharmaceutical-dosage-forms-disperse-systems-volume-2/oclc/35993479> (accessed 2024-01-18).

- (60) Haiss, W.; Thanh, N. T. K.; Aveyard, J.; Fernig, D. G. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Anal Chem* **2007**, 79 (11), 4215–4221. <https://doi.org/10.1021/ac0702084>.
- (61) Akre, R. D.; Myhre, E. A. Nesting Biology and Behavior of *Paravespula Vulgaris* (L.) (Hymenoptera: Vespidae) in the Pacific Northwest. *Washington State University* **1991**.
- (62) Spradbery, J. P. *Seasonal Changes in the Population Structure of Wasp Colonies (Hymenoptera: Vespidae)*; 1971; Vol. 40.
- (63) Matsuura, M.; Yamane, S. *Biology of the Vespine Wasps*; Springer-Verlag, 1990.
- (64) Pecl~, S. B.; Heraty, J.; Landry, B.; Sinclair, B. J. *Introduced Insect Fauna of an Oceanic Archipelago: The Galapagos Islands, Ecuador*; 1998. <https://academic.oup.com/ae/article/44/4/218/2389520>.
- (65) De Oliveira, S. A.; Monteiro De Castro, M.; Prezoto, F. Foundation Pattern, Productivity and Colony Success of the Paper Wasp, *Polistes Versicolor*. *Journal of Insect Science* **2010**, 10 (1). <https://doi.org/10.1673/031.010.12501/870042>.
- (66) MacDonald J.F.; Arwin Provonsha. *Biology, Recognition, Medical Importance and Control of Indiana Social Wasps*, Purdue University Press, Indiana, Bull. E-91; 1980.
- (67) Sanghmitra, A.; Aswal, A.; Maurya, A.; Arora, A.; Saha, A.; Hailu, T.; Gupta, R. K. Chemical Composition and Thermoanalytical Analysis of the Nest of Yellow Wasp and Mud Dauber. ~ 1215 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studies* **2020**, 8 (2), 1215–1220.
- (68) Lu, Y.; Xiao, S.; Gao, R.; Li, J.; Sun, Q. Improved Weathering Performance and Wettability of Wood Protected by CeO₂ Coating Deposited onto the Surface. *Holzforschung* **2014**, 68 (3), 345–351. <https://doi.org/10.1515/hf-2013-0119>.
- (69) Zhbankov, R. G. *INFRARED SPECTRA OF CELLULOSE AND ITS DERIVATIVES* *ИНФРАКРАСНЫЕ СПЕКТРЫ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ* *HHfIIPAKPACHblf~ CnEKTPI UEJIJIIOJI03bl H EE FiPOH3BO~HbiX*; 1966.

- (70) Poletto, M.; Ornaghi Júnior, H. L.; Zattera, A. J. Native Cellulose: Structure, Characterization and Thermal Properties. *Materials* **2014**, 7 (9), 6105–6119. <https://doi.org/10.3390/ma7096105>.
- (71) Larkin, P. *Infrared_and_Raman_Spectroscopy__Principles_and_Spectral_Interpretation*. Elsevier **2011**.
- (72) Parra Hernández, M. D. C.; Torres Sánchez, D. A. Chemical and Thermal Characterization of the Construction Material of Nests of Seven Species of Wasps from Norte de Santander - Colombia. *Respuestas* **2019**, 24 (2), 27–38. <https://doi.org/10.22463/0122820x.1828>.
- (73) Poletto, M.; Zattera, A. J.; Santana, R. M. C. Structural Differences between Wood Species: Evidence from Chemical Composition, FTIR Spectroscopy, and Thermogravimetric Analysis. *J Appl Polym Sci* **2012**, 126 (SUPPL. 1), E337–E344. <https://doi.org/10.1002/app.36991>.
- (74) 4.4 Solubility - Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Courses/Purdue/Purdue%3A_Chem_26505%3A_Organic_Chemistry_I_\(Lipton\)/Chapter_4._Intermolecular_Forces_and_Physical_Properties/4.4_Solubility](https://chem.libretexts.org/Courses/Purdue/Purdue%3A_Chem_26505%3A_Organic_Chemistry_I_(Lipton)/Chapter_4._Intermolecular_Forces_and_Physical_Properties/4.4_Solubility) (accessed 2024-01-31).
- (75) Jimenez, S. I.; Gries, R.; Zhai, H.; Derstine, N.; McCann, S.; Gries, G. Evidence for a Nest Defense Pheromone in Bald-Faced Hornets, *Dolichovespula Maculata*, and Identification of Components. *J Chem Ecol* **2016**, 42 (5), 414–424. <https://doi.org/10.1007/S10886-016-0699-6/FIGURES/4>.
- (76) El-Sayed, A. M.; Brown, R. L.; Bunn, B. N-(3-Methylbutyl)Butanamide: A Novel Amide in the Venom of Female Social Wasps, *Vespula Vulgaris*. *J Insect Physiol* **2021**, 135, 104311. <https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2021.104311>.
- (77) Bruschini, C.; Dani, F. R.; Pieraccini, G.; Guarna, F.; Turillazzi, S. Volatiles from the Venom of Five Species of Paper Wasps (*Polistes Dominulus*, *P. Gallicus*, *P. Nimphus*, *P. Sulcifer* and *P. Olivaceus*). **2006**. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.03.002>.

- (78) Fang, C.; Achal, V. Physico-Chemical Aspects and Complete Bacterial Community Composition Analysis of Wasp Nests. *Sustainability* **2020**, Vol. 12, Page 2652 **2020**, 12 (7), 2652. <https://doi.org/10.3390/SU12072652>.
- (79) Al-Shammery, K. A.; Hozzein, W. N. Antibacterial Activities of Two Potential Peptides Extracted from *Polistes Wattii* Cameron, 1900 (Vespidae: Polistinae) Wasp Venom Collected at Eastern Province, Saudi Arabia. *PLoS One* **2022**, 17 (3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0264035>.
- (80) Madden, A. A.; Grassetti, A.; Soriano, J. A. N.; Starks, P. T. Actinomycetes with Antimicrobial Activity Isolated from Paper Wasp (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) Nests. *Environ Entomol* **2013**, 42 (4), 703–710. <https://doi.org/10.1603/EN12159>.
- (81) Amer, A. E.; Essa, E. E.; Rady, M. H.; Al-Sayed, A. K.; Mahmoud, D. M. ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND MECHANISM OF ACTION OF THE WASP *VESPA ORIENTALIS* VENOM PEPTIDES. *Egyptian Journal of Zoology (EJZ)* **2021**, 75, 60–69. <https://doi.org/10.12816/ejz.2021.50281.1045>.
- (82) Renuka, B.; Sanjeev, B.; Ranganathan, D. Evaluation of Phytoconstituents of *Caralluma Nilagiriana* by FTIR and UV-VIS Spectroscopic Analysis. *J Pharmacogn Phytochem* **2016**.
- (83) Erturk, O.; Bagdatli, E. A Comprehensive Study on Nest Materials of *Vespa Crabro* and *Polistes Dominula*: Chemical Properties and Biological Characterization with Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Biologia (Bratisl)* **2019**, 74 (7), 797–812. <https://doi.org/10.2478/S11756-019-00209-Y/FIGURES/8>.
- (84) Martinez, F. M.; Zuñiga G., E.; Sanchez Lafarga, A. K.; Martinez, F. M.; Zuñiga G., E.; Sanchez Lafarga, A. K. Método de Síntesis de Nanopartículas de Plata Adaptable a Laboratorios de Docencia Relacionado Con La Nanotecnología. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología* **2013**, 6 (10), 101–108. <https://doi.org/10.22201/CEIICH.24485691E.2013.10.50967>.
- (85) Ganesh Kumar A; Pugazhenth E; Sankarganesh P; Muthusamy C; Rajasekaran M; Lokesh E; Khusro, A.; Kavya G. “Cleome Rutidosperma Leaf Extract Mediated Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Anti-Candidal, Anti-Biofilm, Anti-Cancer, and Molecular

- Docking Analysis.” *Biomass Convers Biorefin* **2023**, 1–13. <https://doi.org/10.1007/S13399-023-03806-9/METRICS>.
- (86) Morales, J.; Morán, J.; Quintana, M.; Estrada, W. Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Plata Por La Ruta Sol-Gel a Partir de Nitrato de Plata. *Revista de la Sociedad Química del Perú* **2009**, 75 (2), 177–184.
- (87) Bhui, D. K.; Bar, H.; Sarkar, P.; Sahoo, G. P.; De, S. P.; Misra, A. Synthesis and UV–Vis Spectroscopic Study of Silver Nanoparticles in Aqueous SDS Solution. *J Mol Liq* **2009**, 145 (1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2008.11.014>.
- (88) Njagi, E. C.; Huang, H.; Stafford, L.; Genuino, H.; Galindo, H. M.; Collins, J. B.; Hoag, G. E.; Suib, S. L. Biosynthesis of Iron and Silver Nanoparticles at Room Temperature Using Aqueous Sorghum Bran Extracts. *Langmuir* **2011**, 27 (1), 264–271. https://doi.org/10.1021/LA103190N/ASSET/IMAGES/MEDIUM/LA-2010-03190N_0012.GIF.
- (89) Anandalakshmi, K.; Venugobal, J.; Ramasamy, V. Characterization of Silver Nanoparticles by Green Synthesis Method Using Pedalium Murex Leaf Extract and Their Antibacterial Activity. *Applied Nanoscience (Switzerland)* **2016**, 6 (3), 399–408. <https://doi.org/10.1007/S13204-015-0449-Z/TABLES/2>.
- (90) Ganesh Kumar, C.; Poornachandra, Y.; Pombala, S. Therapeutic Nanomaterials: From a Drug Delivery Perspective. *Nanostructures for Drug Delivery* **2017**, 1–61. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00001-4>.
- (91) Segarra, F. Estudio de La Dispersión de Nanopartículas En Medio Para Su Posterior Aplicación Como Fluido. **2020**.
- (92) Menichetti, A.; Mavridi-Printezi, A.; Mordini, D.; Montalti, M. Effect of Size, Shape and Surface Functionalization on the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Journal of Functional Biomaterials* **2023**, Vol. 14, Page 244 **2023**, 14 (5), 244. <https://doi.org/10.3390/JFB14050244>.

- (93) Siddiqi, K. S.; Husen, A.; Rao, R. A. K. A Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Their Biocidal Properties. *Journal of Nanobiotechnology* 2018 16:1 **2018**, 16 (1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/S12951-018-0334-5>.
- (94) Cherrington, M.; Claypole, T. C.; Gethin, D. T.; Worsley, D. A.; Deganello, D. Non-Contact Assessment of Electrical Performance for Rapidly Sintered Nanoparticle Silver Coatings through Colorimetry. In *Thin Solid Films*; 2012; Vol. 522, pp 412–414. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2012.08.039>.
- (95) Hunt, R.; Pointer, M. *Measuring Colour*; 2011.
- (96) *Lab Color System*. <https://help.nonstopprinting.com/portal/en/kb/articles/lab-color-system> (accessed 2024-01-31).
- (97) Munajad, A.; Subroto, C.; Suwarno. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy Analysis of Transformer Paper in Mineral Oil-Paper Composite Insulation under Accelerated Thermal Aging. *Energies (Basel)* **2018**, 11 (2). <https://doi.org/10.3390/en11020364>.
- (98) Gandhi, K.; Sharma, R.; Seth, R.; Ramani, A.; Mann, B. Mineral Oil Detection in Ghee Using Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) in Conjunction with Chemometrics. *Food and Humanity* **2023**, 1, 1523–1530. <https://doi.org/10.1016/J.FOOHUM.2023.10.021>.
- (99) Ng, E. P.; Mintova, S. Quantitative Moisture Measurements in Lubricating Oils by FTIR Spectroscopy Combined with Solvent Extraction Approach. *Microchemical Journal* **2011**, 98 (2), 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.01.006>.
- (100) Rajan, K.; Marie, K.; Yapi, L. *Mineral Oil and Ester Based Oil/Paper Insulation Decaying Assessment by FTIR Measurements*; 2019. <https://www.researchgate.net/publication/335586511>.
- (101) *1-hexadecanol*. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C36653824&Units=SI&Type=IR-SPEC&Index=1#IR-SPEC> (accessed 2024-01-10).

- (102) Gupta, N. V.; Gowda, D. V.; Balamuralidhara, V.; Khan, M. S. Preparation and Comparative Bioavailability Studies of Indomethacin-Loaded Cetyl Alcohol Microspheres. *J Pharm (Cairo)* **2013**, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/109837>.
- (103) Argimón, M.; Romero, M.; Miranda, P.; Mombrú, Á. W.; Miraballes, I.; Zimet, P.; Pardo, H. Development and Characterization of Vitamin A-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Application. *J Braz Chem Soc* **2017**, 28 (7), 1177–1184. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160276>.
- (104) Barman, M.; Barikani, M.; Kaffashi, B. *Synthesis of Ethoxylated Urethane and Modification with Cetyl Alcohol as Thickener**; 2001; Vol. 10. www.SID.ir.
- (105) Ajala, E. O.; Aberuagba, F.; Olaniyan, A. M.; Onifade, K. R. Optimization of Solvent Extraction of Shea Butter (*Vitellaria Paradoxa*) Using Response Surface Methodology and Its Characterization. *J Food Sci Technol* **2016**, 53 (1), 730–738. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2033-7>.
- (106) Ajala, E. O.; Aberuagba, F.; Olaniyan, A. M.; Onifade, K. R. Enzymatic Extraction of Shea Butter: Optimization Study Using Response Surface Methodology. *J Food Process Eng* **2017**, 40 (1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12329>.
- (107) *oleato* *de* *sorbitán*. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=Tween80&Units=SI&cIR=on#Refs> (accessed 2024-01-10).
- (108) Alvarado López, G.; Medina Lezama RESUMEN, E. *NANOEMULSIONES O/W DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA Y TWEEN 80*; 2019; Vol. 85.
- (109) Bide, Y.; Fashapoyeh, M. A.; Shokrollahzadeh, S. Structural Investigation and Application of Tween 80-Choline Chloride Self-Assemblies as Osmotic Agent for Water Desalination. *Sci Rep* **2021**, 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96199-6>.
- (110) Gutiérrez, L. A.; Martínez, S. M.; Sierra, C. A. *DESARROLLO DE UNA PELÍCULA POLIMÉRICA CON PROPIEDADES ANTIEMPAÑANTES DEVELOPMENT OF A POLYMERIC FILM WITH ANTI-FOGGING PROPERTIES DESENVOLVIMENTO DE*

- (111) Yamaguchi, M.; Takahashi, M.; Harusawa, F.; Fukushima, S. MECHANISM OF STABILIZATION BY CETYL ALCOHOL FOR OIL IN WATER CREAM. *Journal of Society of Cosmetic Chemists of Japan* **1979**, 12 (2), 16–22. https://doi.org/10.5107/SCCJ1976.12.2_16.
- (112) Bide, Y.; Fashapoyeh, M. A.; Shokrollahzadeh, S. Structural Investigation and Application of Tween 80-Choline Chloride Self-Assemblies as Osmotic Agent for Water Desalination. *Sci Rep* **2021**, 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96199-6>.
- (113) De Villiers, M. M. *Ointment Bases Introduction Definitions Desirable Properties of Ointment Bases Classification and Characteristics of Ointment Bases Ingredients for Ointment Bases*. <https://www.researchgate.net/publication/318380434>.
- (114) Cebi, N.; Bekiroglu, H.; Erarslan, A.; Rodriguez-Saona, L. Rapid Sensing: Hand-Held and Portable FTIR Applications for On-Site Food Quality Control from Farm to Fork. *Molecules* **2023**, 28 (9). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28093727>.
- (115) Dai, Y.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. Honey in Traditional Chinese Medicine: A Guide to Future Applications of NADES to Medicines. *Adv Bot Res* **2021**, 97, 361–384. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2020.09.011>.
- (116) Ganguly, R.; Verma, G.; Ingle, A.; Kumar, S.; Sarma, H. D.; Dutta, D.; Dutta, B.; Kunwar, A.; Ajish, K.; Bhainsa, K. C.; Hassan, P. A.; Aswal, V. K. Structural, Rheological and Therapeutic Properties of Pluronic F127 Hydrogel and Beeswax Based Lavender Oil Ointment Formulations. *J Mol Liq* **2022**, 365, 120157. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2022.120157>.
- (117) Svečnjak, L.; Baranović, G.; Vinceković, M.; Prđun, S.; Bubalo, D.; Gajger, I. T. N Approach for Routine Analytical Detection of Beeswax Adulteration Using Ftir-Atr Spectroscopy. *J Apic Sci* **2015**, 59 (2), 37–49. <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0018>.

- (118) Vyshniak, V.; Dimitriev, O.; Litvynchuk, S.; Dombrovskiy, V. Identification of Beeswax and Its Falsification by the Method of Infrared Spectroscopy. **2018**, 7. <https://doi.org/10.24263/2304>.
- (119) Pinzón, F.; Torres, A.; Hoffmann, W.; Lamprecht, I. Thermoanalytical and Infrared Spectroscopic Investigations on Wax Samples of Native Colombian Bees Living in Different Altitudes. *Eng Life Sci* **2013**, 13 (6), 520–527. <https://doi.org/10.1002/elsc.201200103>.
- (120) *Análisis de Ceras en objetos de conservación mediante estudios de solubilidad, FTIR y DSC*. <https://www.ndt.net/article/wcndt00/papers/idn555/idn555.htm> (accessed 2024-01-10).
- (121) Cortez, A. *O H > N H y > C O Figura IR-1 Regiones Básicas de Un Espectro de Infrarrojo*. https://www.academia.edu/34464675/C_H_Figura_IR_1_Regiones_b%C3%A1sicas_de_un_espectro_de_Infrarrojo (accessed 2024-01-12).
- (122) Gould, A. L.; Kadkhodazadeh, S.; Wagner, J. B.; Catlow, C. R. A.; Logsdail, A. J.; Di Vece, M. Understanding the Thermal Stability of Silver Nanoparticles Embedded in A-Si. *Journal of Physical Chemistry C* **2015**, 119 (41), 23767–23773. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCC.5B07324/ASSET/IMAGES/LARGE/JP-2015-07324G_0006.JPEG.
- (123) Urnukhsaikhan, E.; Bold, B. E.; Gunbileg, A.; Sukhbaatar, N.; Mishig-Ochir, T. Antibacterial Activity and Characteristics of Silver Nanoparticles Biosynthesized from *Carduus Crispus*. *Scientific Reports* 2021 11:1 **2021**, 11 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00520-2>.

ANEXOS

ATR-FTIR de las Réplicas de las Fases Solidas Resultantes de las Extracciones no Reportadas en el Documento.

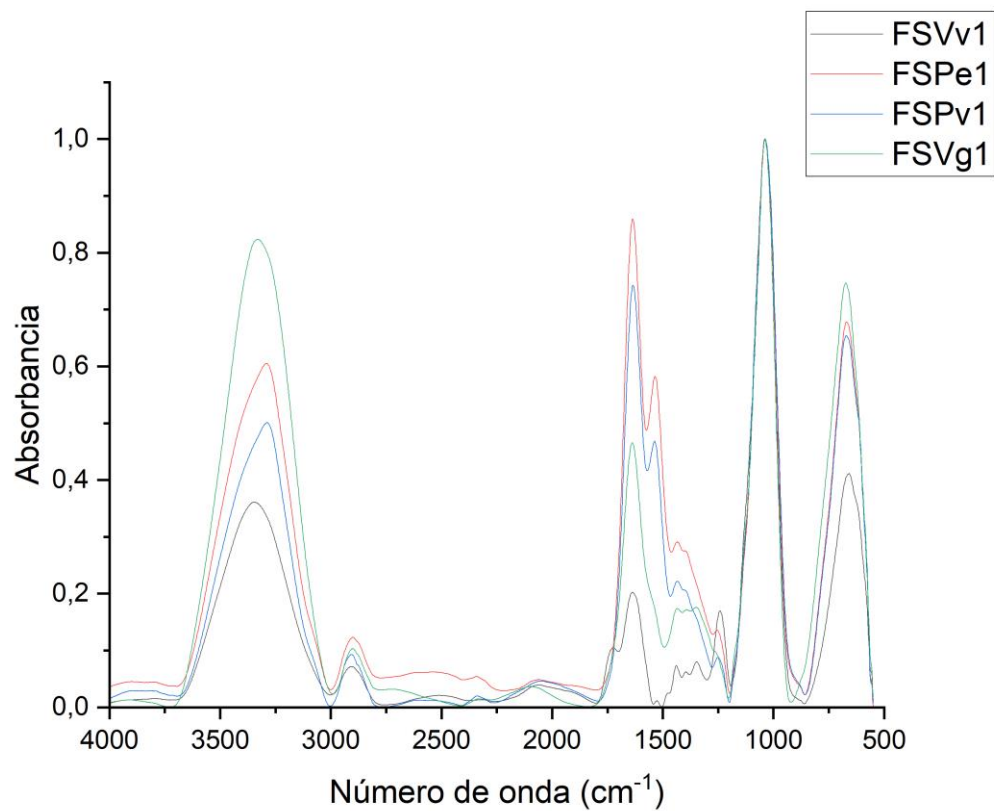


Figura 40. Espectro IR replica 1 de las fases sólidas de la extracción.

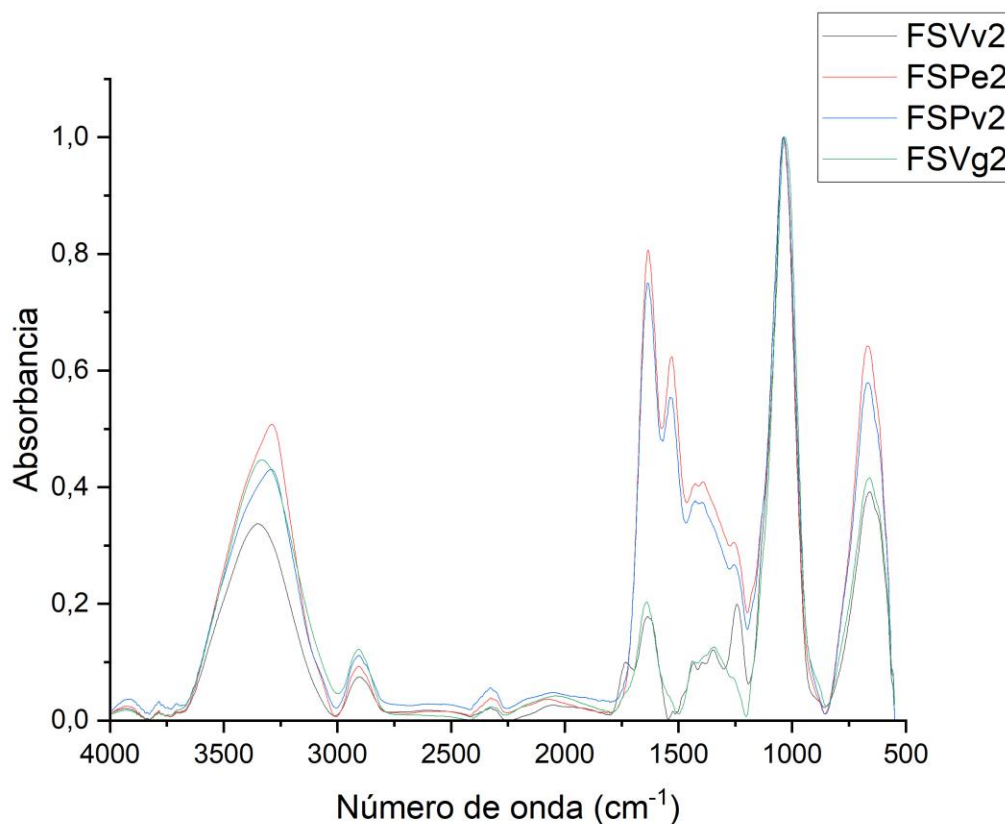


Figura 41. Espectro IR replica 2 de las fases sólidas de la extracción.

En las figuras 40 y 41, se aprecia el espectro infrarrojo correspondiente a las réplicas realizadas para las extracciones que no se reportaron en el documento, donde se evidencian bandas de estiramiento del grupo OH (bandas 3330 cm^{-1}). Las bandas en 2909 cm^{-1} indican los estiramientos C-H, mientras que en el rango entre 1230 cm^{-1} se presenta la banda de vibración de C-O. Las bandas en 1520 cm^{-1} características de flexión de enlace de N-H. Las asignaciones específicas de estas bandas para estas fases sólidas se detallan en la tabla 21.

Tabla 17. Tabla de asignaciones de las bandas características de Fig 40 y Fig 41

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Vibración	Ref
3330	O-H (Celulosa)	Estiramiento	67-69
2909	CH ₂	Estiramiento asimétrico	23,68,73
1635	C=O C=N	Estiramiento asimétrico	23,71
1520	N-H	Flexión del enlace	71,72
1230	C-O, C=O, C-C (Lignina)	Estiramiento o flexión de diferentes grupos presentes en la lignina	67,72,73
1037	C-O	Estiramiento de alcohol	69,72
663	C-H	Flexión fuera del plano	72

Valores de L, b y a en Colorimetría CIELAB

En la tabla 24 se encuentra reportados los valores de las réplicas obtenidas de L, a y b con el colorímetro FRU ® Model: WR-10QC

Tabla 18. Valores de L, a y b para los ungüentos.

						Promedio		
Replica 1			Replica 2			L	a	b
L	a	B	L	A	b	A		
61,32	-1,52	-1,51	71,27	-1,71	0,38	66,295	-1,615	-0,565
53,72	-1,33	-1,67	70,81	-1,33	-1,18	62,265	-1,33	-1,425
64,4	-0,72	-1,13	66,11	-0,89	-1,11	65,255	-0,805	-1,12
60,49	-1,32	-0,53	60,49	-1,23	-0,53	60,49	-1,275	-0,53

B						B		
50,37	-0,26	5,97	71,49	-1,22	9,26	60,93	-0,74	7,615
46,14	-0,86	4,01	67,35	-1,27	8,76	56,745	-1,065	6,385
48,59	-1,03	5,71	65,56	-0,64	8,42	57,075	-0,835	7,065
57,32	-0,18	6,58	59,4	-0,39	6,98	58,36	-0,285	6,78
C						C		
67,19	-0,78	2,52	75,18	-0,78	8,3	71,185	-0,78	5,41
59,72	-0,32	2,17	70,78	-0,88	8,83	65,25	-0,6	5,5
60,86	-0,1	3,93	77,61	-0,15	8,43	69,235	-0,125	6,18
74,3	-0,32	6,95	54,58	-0,86	6,25	64,44	-0,59	6,6
Ag- A						Ag- A		
70,16	-0,76	0,63	76,42	-1,51	-0,2	73,29	-1,135	0,215
77,61	-1,45	-0,53	75,12	-1,48	-0,32	76,365	-1,465	-0,425
72,03	-0,46	0,27	64,05	-1,1	-1,25	68,04	-0,78	-0,49
56,05	-0,48	-0,27	79,08	-1,77	-0,57	67,565	-1,125	-0,42
Ag- B						Ag- B		
65,95	-0,21	7,71	59,15	-0,64	7,28	62,55	-0,425	7,495
68,5	-0,24	8,22	65,07	-0,09	6,77	66,785	-0,165	7,495
75,54	-0,81	8,6	68,31	-0,56	6,85	71,925	-0,685	7,725
51,95	-0,61	3,24	59,56	-0,85	9,2	55,755	-0,73	6,22
Ag-C						Ag- C		
75,78	0,28	9,4	69,11	-0,02	4,9	72,445	0,13	7,15
65,03	0,89	4,83	67,24	-0,65	2,59	66,135	0,12	3,71
71,23	0,45	9,41	70	-0,41	3,78	70,615	0,02	6,595
72,85	0,46	7,9	79,55	-1,09	4,45	76,2	-0,315	6,175