

**FIBROÍNA Y SERICINA DE CAPULLOS DE *Samia cynthia ricini* Drury, 1773
(LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE) Y *Bombyx mori* Linnaeus, 1758
(LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE), Y TINCIÓN INTRÍNSECA DE LARVAS CON
COMPUESTOS DE ESTAÑO**

**Alejandro Rodríguez-Ortega¹, Víctor Manuel Jiménez-Pérez²✉, Blanca Margarita Muñoz-Flores²,
María Concepción García-López², Rodrigo Chan-Navarro², Jesús Alfredo Lara-Cerón², Areli
Abigail Molina-Paredes² y Rosario Melina Barrón-Yáñez³**

¹Universidad Politécnica Francisco I. Madero, C. P. 42660, Tepatepec, Hidalgo, México.

²Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, Av. Universidad s/n., C. P. 66451, Nuevo León, México.

³Investigador y productor de gusanos de seda, Francisco Márquez 14, Col. Morelos, C. P. 43580, Epazoyucan, Hidalgo, México.

✉ Autor de correspondencia: victor.jimenezpr@uanl.edu.mx

RESUMEN. La fibroína de seda es muy importante en la industria textil, médica y opto-eléctrica, y la sericina en la ingeniería de tejidos y en la administración de fármacos. En el Laboratorio de Materiales III del Posgrado de Química de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México, capullos de seda eri *Samia cynthia ricini* y de *Bombyx mori*, fueron desgomados para determinar el porcentaje de fibroína y sericina, y larvas de *B. mori* fueron teñidas intrínsecamente con cuatro compuestos de estaño para observar su luminiscencia. Los resultados fueron analizados estadísticamente y se concluye que los gusanos de seda eri producen más cantidad de fibroína (83.06 %), seguido de los capullos blancos de *B. mori* (77.95 %). Los capullos amarillos no fluorescentes tuvieron mayor cantidad de sericina que los fluorescentes y los cuatro compuestos de estaño presentaron tinción intrínseca (UV 365 nm) en larvas del quinto instar de *B. mori*.

Palabras clave: Gusanos de seda, fibra, proteína.

Fibroin and Sericin in Cocoons of *Samia cynthia ricini* Drury, 1773 (Lepidoptera: Saturniidae) and *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), and intrinsic larvae staining with tin compounds

ABSTRACT. Silk fibroin is very important in industry textile, medical and opto electrical, and sericin in tissue engineering and administration of drugs. In the Laboratory of Materials III, Posgrado de Química of the Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico, cocoons eri *Samia cynthia ricini* and *Bombyx mori* were degummed to determine the percentage of fibroin and sericin and *B. mori* larvae were stained intrinsically with four tin compounds to observe its luminescence. The results were statistically analyzed and concluded that eri silk worms produce more fibroin (83.06 %), followed by white cocoons of *B. mori* (77.95 %). The non-fluorescent yellow cocoons had higher amount of sericin than fluorescent and the four tin compounds presented intrinsic staining (UV 365 nm) in the fifth instar larvae of *B. mori*.

Keywords: Silkworms, fiber, protein.

INTRODUCCIÓN

La producción comercial de seda está concentrada en treinta países, entre los que se destacan China, India, Uzbekistán, Corea y Japón, y Brasil en Latinoamérica (Basso *et al.*, 2014). Los gusanos de seda eri *Samia cynthia ricini* Drury, 1773 (Lepidoptera: Saturniidae) y *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) en la India y en China contribuyen de manera significativa en la producción de la seda comercial y se encuentran ampliamente distribuidos en todo el territorio, debido a esto su conservación se ha convertido en un objetivo importante.

Específicamente el gusano *B. mori* es el principal productor de seda en todo el mundo. Después que eclosionan del huevo las diminutas larvas pasan por cinco estadios antes de iniciar la metamorfosis y transformarse en palomilla dentro de un valioso capullo que construyen con su saliva y al solidificarse se transforma en seda. Durante el desarrollo de las larvas, la seda se produce en condiciones benignas y acuosas dentro de las glándulas de seda. Al final del quinto instar, los gusanos generan una gran cantidad de seda en un par de glándulas para construir un capullo de hilo continuo (Vijayan *et al.*, 2006) (Fig. 1).

La seda cruda consta de dos proteínas (fibroína y sericina). La fibroína está formada por un par de fibras paralelas unidas por una capa de sericina en sus superficies. Tras el desgomado de los capullos se remueve la sericina y las fibras de fibroína obtenidas son brillantes y se sienten suaves al tacto, por lo que son muy demandadas para la industria textil. Por otra parte, la fibroína presenta excelentes propiedades como dureza, fuerza, biocompatibilidad, biodegradabilidad y estabilidad térmica, lo que la hace una de las fibras de proteína más impresionantes de la naturaleza. La fibroína de seda *B. mori* ha sido ampliamente caracterizada y se ha utilizado para suturas médicas durante siglos (Duei *et al.*, 2015).

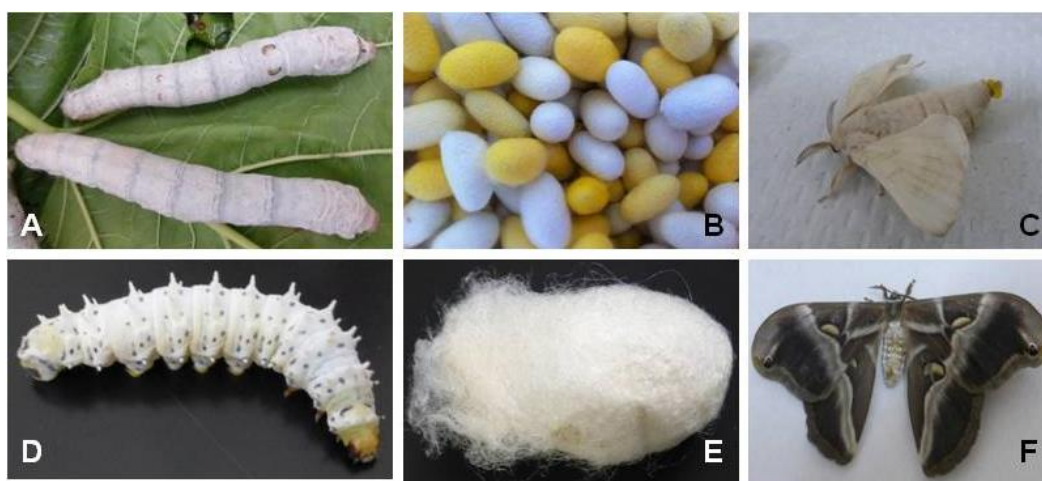


Figura 1. Larvas del quinto instar, capullos blancos y amarillos y palomilla de *B. mori* (A, B y C), larva eri del quinto instar, capullo y palomilla de *S. cynthia ricini* (D, E y F).

La sericina es una glicoproteína obtenida como subproducto durante el desgomado en la industria de la seda. Se compone de aminoácidos importantes que le confieren propiedades bioactivas para aplicaciones biomédicas. Debido a su carácter antioxidante, a su capacidad humectante y el efecto mitogénico en células de mamíferos, la sericina es útil en el cultivo celular y la ingeniería de tejidos. Sus efectos positivos sobre los queratinocitos y fibroblastos han llevado al desarrollo de biomateriales a base de sericina para la reparación de tejido de la piel, principalmente como gasas para heridas. Además, la sericina puede usarse para ingeniería de tejido óseo debido a su capacidad para inducir la nucleación de hidroxapatita similar al hueso. La sericina también se puede emplear para la administración de fármacos debido a que su reactividad química y la capacidad de respuesta del pH facilitan la fabricación de nano y micropartículas, hidrogeles y moléculas conjugadas en la mejora de la bioactividad de los fármacos (Lamboni *et al.*, 2015).

La tinción intrínseca es un proceso ecológico que consiste en la alimentación de larvas del quinto instar de la especie *B. mori* con piensos de hojas de morera mezclados con colorantes azoicos o con diferentes concentraciones de Rodamina para su difusión en el tubo digestivo y glándulas de

seda. Con esta técnica se reduce en gran parte la contaminación con productos químicos peligrosos que se generan en un teñido tradicional (Tansil *et al.*, 2011; Tansil *et al.*, 2012 y Nisal *et al.*, 2014).

Debido a la gran importancia que tiene la seda y sus dos proteínas en la industria textil, médica y opto eléctrica, esta investigación tuvo como objetivo el determinar el porcentaje de las proteínas fibroína y sericina de los capullos de seda de *S. cynthia ricini* y *B. mori*, así como la tinción intrínseca de larvas del quinto instar de *B. mori* con cuatro compuestos de estaño.

MATERIALES Y MÉTODO

La determinación del porcentaje de fibroína y sericina que contiene la seda se realizó de septiembre a diciembre de 2015 en el Laboratorio de Materiales III del Posgrado de Química de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Por triplicado se desgomaron capullos de seda *B. mori* (5 g de capullo blanco, 5 g de capullo blanco fluorescente, 5 g de capullo amarillo, 5 g de capullo amarillo fluorescente y 5 g de capullos de gusanos de seda eri (Figs. 1 y 2). Se hirvieron por 90 minutos en 500 ml de agua con 2.12 g de carbonato de sodio (0.02 M Na₂CO₃) (Ting *et al.*, 2016). La fibroína se lavó tres veces con agua natural y se introdujo a una estufa de secado por 24 h para tomar su peso final.

El porcentaje de fibroína y sericina se calculó por diferencia de pesos. Los datos obtenidos se analizaron para ver diferencia estadística significativa en el programa SAS 2002 y contrastes ortogonales. Los capullos blancos y amarillos fluorescentes fueron separados por medio de una lámpara de luz UV Handheld UVGL-58. La tinción intrínseca se hizo con lavas del quinto instar de *B. mori*, rociando por separado las hojas de morera en cada alimentación con cuatro compuestos luminiscentes de estaño sintetizados por medio de bases de Schiff.

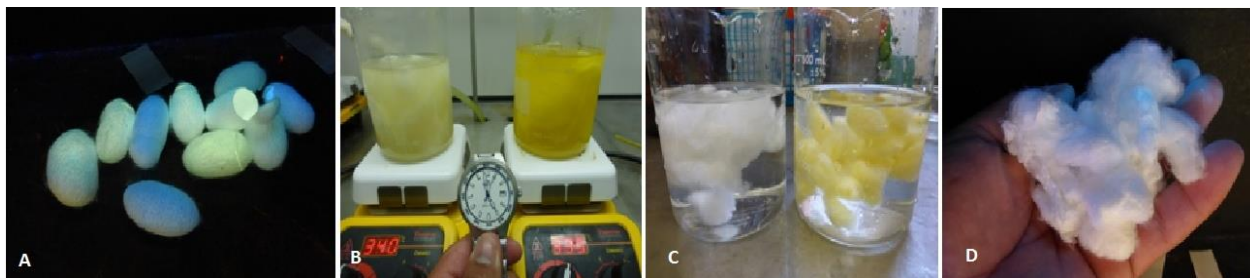


Figura 2. Capullos blancos y amarillos fluorescentes con luz UV 350 nm (A), desgomado de seda para obtención de fibroína y sericina (B), lavado de fibroína (C) y fibroína seca desgomada (D).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio reportamos que la seda de *S. cynthia ricini* presenta la mayor cantidad de fibroína (83.06 %) en comparación con la seda de capullos amarillos no fluorescentes que tienen la menor cantidad de fibroína (72.21 %) (Fig. 4). Se observa una correlación entre las proteínas de ambas sedas donde a mayor cantidad de fibroína menor cantidad de sericina y viceversa (Fig. 3). Yun *et al.* (2016) reportan que la sericina de seda constituye el 25 % de la proteína de la seda del total de un capullo y por lo general es retirada de la fibroína durante el desgomado, actividad que se realiza para obtener la fibroína pura que será utilizada en la industria textil o en aplicaciones biomédicas. Nosotros encontramos resultados semejantes en los capullos blancos y amarillos de *B. mori* con porcentajes de fibroína que van de 72.21 a 77.95 y sericina de 22.05 a 27.79 (Fig. 3). Datos similares reportan Ting *et al.*, (2016), al investigar la caracterización y aplicaciones de la sericina del gusano *B. mori* y mencionan que la seda se compone de 60 a 80 % de fibroína, 15 a 35 % de sericina y otros componentes como la cera, pigmentos, azúcares y otras impurezas.

Estadísticamente se formaron tres grupos con los promedios de porcentaje de fibroína. En el grupo A: se ubicaron los capullos de seda eri, grupo B: los capullos blancos no fluorescentes y grupo C: formado por los capullos blancos y amarillos fluorescentes. En términos de productividad significa que si el objetivo es la obtención de fibroína para elaboración de hilo se deben tener poblaciones de gusanos de seda eri y capullos blancos de *B. mori* que no presenten fluorescencia. La diferencia de estas fibras está en *S. cynthia ricini* debido a que su filamento no es continuo.

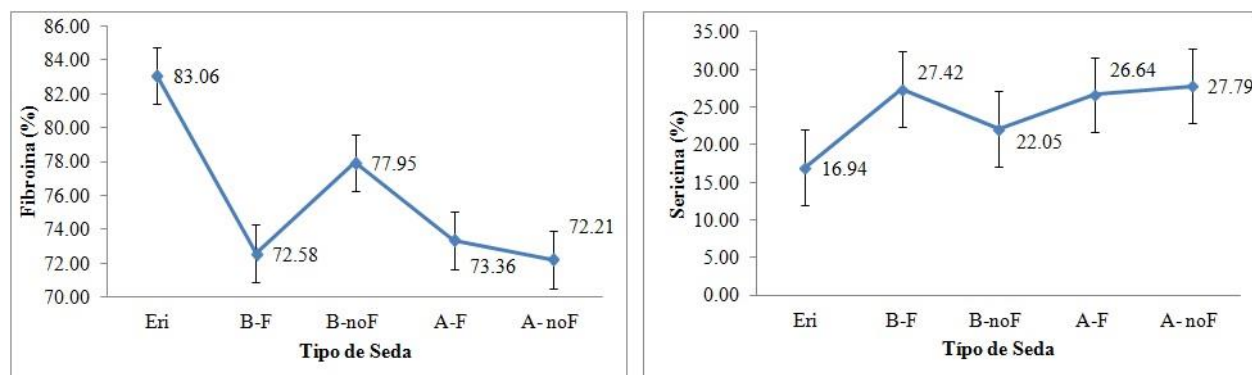


Figura 3. Porcentaje de fibroína y sericina en capullos de seda Eri (*S. cynthia ricini*) y (*B. mori*). B-F: capullo blanco fluorescente, B- no F: capullo blanco no fluorescente, A-F: capullo amarillo fluorescente, A- no F: capullo amarillo no fluorescente.

En los porcentajes de la proteína sericina se formaron también tres grupos, en el A: se ubican los capullos blancos y amarillos fluorescentes, grupo B: se encuentran los capullos blancos no fluorescentes y grupo C: los capullos de seda eri. Por lo tanto si se desea obtener o recuperar sericina para sus diferentes aplicaciones como son la elaboración de cosméticos o en ingeniería de tejidos se sugiere realizar crianzas de gusanos que produzcan capullo amarillo no fluorescente o blanco fluorescente que son los que producen mayor porcentaje de esta proteína (Fig. 3).

El color y la fluorescencia de los capullos blancos y amarillos de *B. mori* vistos con lámpara de luz ultravioleta está determinada por el contenido de pigmentos presentes en la hoja de morera (luteína y β -caroteno) que son asimilados por la larva y conducidos a las glándulas de seda para la construcción del capullo. Zhu *et al.* (2014), reportan que estos pigmentos son similares en diferentes capullos y que el contenido y proporción de cada pigmento es significativamente diferente.

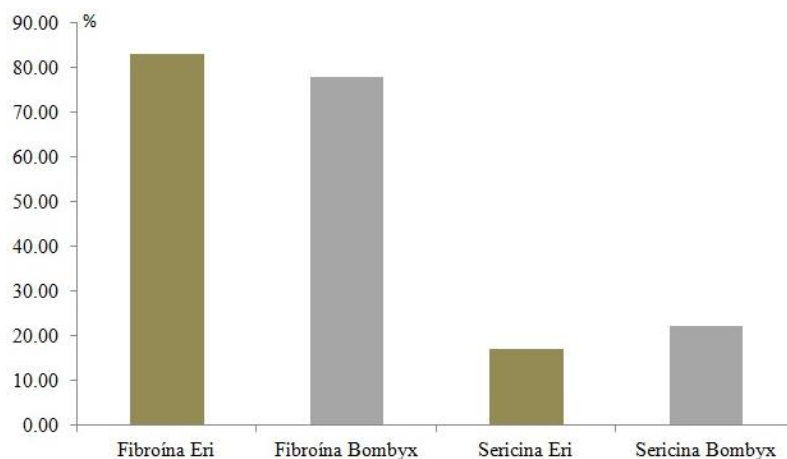


Figura 4. Porcentaje de proteínas de capullos de seda de las especies *S. cynthia ricini* y *B. mori*.

Por último mencionamos en esta investigación que los cuatro compuestos de estaño tiñeron intrínsecamente las larvas del quinto instar de *B. mori*, presentando luminiscencia con luz UV a 365 nm de onda corta y onda larga, en la cabeza, tórax y pliegues abdominales (Fig. 5) sin causar daño al insecto ya que éste completó su ciclo de vida de forma normal y formó su capullo de seda. Hoy en día la pigmentación de insectos con productos no tóxicos puede ser usada para su detección en ciertos cultivos como lo reportan Goche *et al.* (2012) al usar colorantes de *Dactylopius coccus* para detectar larvas y pupas (*Plutella xylostella*) en inflorescencias de brócoli.



Figura 5. Tinción intrínseca con estaño en larvas del quinto instar de *B. mori*, alimentación de larvas con hojas de morera impregnadas con compuestos de estaño (A), luminiscencia de larvas con luz UV (365 nm) (B y C).

CONCLUSIÓN

En la presente investigación se determinó que los gusanos de seda eri producen más cantidad de la proteína fibroína en sus capullos, seguido de los capullos blancos de *B. mori* y en cuanto a la proteína de sericina el mayor porcentaje los tienen los capullos amarillos no fluorescentes de *B. mori*. También concluimos que los cuatro compuestos de estaño presentaron tinción intrínseca a luz UV con 365 nm en larvas del quinto instar. Finalmente enfatizamos en la importancia que tiene la producción y la investigación en la seda debido a sus dos proteínas. La fibroína para la industria textil, médica y opto eléctrica y la sericina tienen importancia en la ingeniería de tejidos, en la administración de fármacos y cosméticos, por lo que es necesario promover un desarrollo sostenible de la sericicultura.

Agradecimientos

Se agradece al grupo de investigadores del Dr. Jiménez y la Dra. Muñoz, científicos de la UANL quienes fortalecieron esta investigación con sus conocimientos y experiencia en Química en el Laboratorio de Materiales III, Monterrey, Nuevo León, México.

Literatura Citada

- Basso, P. C., Bertolini, N., Artave, G. R., Dobler, S. y X. López. 2014. Rendimientos para cuatro líneas endocriadas y seis F1 híbridas de gusano de seda en la Argentina. *Revista Agronomía y Ambiente*, 34(1-2): 61–65.
- Duei, K. L., Cheng, Y., Peng, T. C., Win, K. Y., Jun, L. X., Yin, T. S., Low, M., Ye, E., Dong, Y. H., Wei Z. Y. and H. M. Yong. 2015. Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. *Progress in Polymer Science*, 46: 86–110.
- Goché, D., Viguera, A. L., Portillo, L. and C. LLanderal. 2012. Use of *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Coccoidea) Pigments in the detection of larvae and pupae of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Neotropical Entomology*, 41:249–251.
- Lamboni, L., Gauthier, M., Yang, G. and Q. Wang. 2015. Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. *Biotechnology Advances*, 33: 1855–1867.

- Nisal, A., Trivedy, K., Mohammad, H., Panneri, S., Sen, G. S., Lele, A., Manchala, R., Kumar, S. N., Gadgil, M., Khandelwal, H., More, S. and L. Seeta. R. 2014. Uptake of azo dyes into silk glands for production of colored silk cocoons using a green feeding approach. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, 2(2): 312–317.
- Tansil, N. C., Li, Y., Peng, T. C., Zhang, S., Yin, W. K., Chen, X., Yang, L. X. and H. M. Yong. 2011. Intrinsically Colored and Luminescent Silk. *Advanced Materials*, 23: 1463–1466.
- Tansil, N. C., Duei, K. L. and H. M. Yong. 2012. Functional silk: colored and luminescent. *Advanced Materials*, 24: 1388–1397.
- Ting, T C. and Z. Y. Qing. 2016. Processing and characterization of silk sericin from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines. *Materials Science and Engineering C*, 61: 940–952.
- Vijayan, K., Anuradha, H. J., Nair, C. V., Pradeep, A. R., Awasthi, A. K., Saratchandra, B., Rahman, S. A. S., Singh, K. C., Chakraborti, R. and U. S. Raje. 2006. Genetic diversity and differentiation among populations of the Indian eri silkworm, *Samia cynthia ricini*, revealed by ISSR markers. *Journal of Insect Science*, 6(30): 1–11.
- Yun, H., Kon, K. M., Won, K. H., Yun, L. J., Hwa, K. M. and L. K. Hoon. 2016. The role of glycerol and water in flexible silk sericin film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82: 945–951.
- Zhu, L. and Z. Y. Qing. 2014. Identification and analysis of the pigment composition and sources in the colored cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*, by HPLC-DAD. *Journal of Insect Science*, 14(31): 1–10.