



UNIVERSIDAD DE CHILE -FACULTAD DE CIENCIAS -ESCUELA DE PREGRADO

**“Búsqueda de nuevos materiales de origen natural: seda de
Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae) y cecidia de
Rachiptera limbata (Diptera: Tephritidae)”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Ingeniera en Biotecnología Molecular

LUCÍA ALEJANDRA MELLADO ACUÑA

Director del Seminario de Título: Marcela Urzúa

Co-Director de Seminario: Claudio Veloso

Diciembre 2022
Santiago - Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el **Sr(ta)**.

“Búsqueda de nuevos materiales de origen natural: seda de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) y cecidia de *Rachiptera limbata* (Diptera: Tephritidae)”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de

Director Seminario de Título: _____

Comisión Revisora y Evaluadora

Presidente Comisión: _____

Evaluador: _____

Santiago de Chile,

ii. Biografía

Lucía Alejandra Mellado Acuña nació un 30 de junio del año 1997 en Santiago, Chile, en donde vivió hasta la fecha de emitido este documento. Su familia y amigos han sido un gran soporte en todas las etapas educativas.

Desde pequeña siempre ha sentido gran fascinación por el mundo natural, sobretodo por los artrópodos (aunque en ese tiempo los conocía como “bichitos”). Este interés culminó en la elección de una carrera adentrada en las ciencias. Si bien en un principio le interesó la química principalmente, poco a poco se maravilló con lo que significaba la biología.

Sus pasatiempos consisten en jugar videojuegos y coser disfraces con la máquina que le regaló su abuela en su adolescencia.

iii. Dedicatoria

Parra Mamá y parra Papá

iv Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mi madre, Ximena, y a mi padre, Alejandro, por ser el gran pilar de apoyo que son en mi vida. Son ellos a quienes les debo la vida, y por ellos he vivido la vida que viví. Siempre me han apoyado. A pesar de las dificultades, siempre han buscado lo mejor para mí y han intentado entregar lo mejor de sí mismos. Fueron ellos quienes siempre me impulsaron a continuar con mis estudios, por lo que este documento corresponde a la finalización de una etapa que, además de significar un triunfo personal, les dará tranquilidad y alegría a mis padres.

En segundo lugar, a mi numerosa familia que también me ha apoyado siempre, con consejos, comida, dinero o tiempo. Agradezco la paciencia que me han tenido en estos años de estudio en que no he podido estar presente en todos los eventos familiares.

Agradezco a la profesora Marcela y el profesor Claudio por apoyarme y tenerme más confianza de la que yo misma me tuve en la realización de este trabajo. Por enseñarme y ofrecerme posibilidades a futuro. Agradezco también a los profesores Nicolás Guilliani y Carlos Areche por su apoyo en la realización de este seminario.

A mis amigos agradezco el apoyo y los momentos de relajación necesarios para terminar esta etapa.

A mis compañeros de laboratorio. A quienes tienen más experiencia, les agradezco por haberme ayudado con la mejor disposición con todas las dudas que tuve. A quienes están en la misma etapa que yo, agradezco el apoyo y el compañerismo. A todos los que componen el laboratorio de fisicoquímica les agradezco el buen ambiente y, sobretodo, las risas.

Agradezco también a mi querido amigo Diego, que me vio en el peor estado de estrés durante este proceso (y sufrió las consecuencias el pobrecito) y me apoyó incondicionalmente.

Muchas gracias, sin ustedes no hubiese podido lograrlo.

v. Índice de contenidos

Índice de tablas.....	1
Índice de figuras.....	2
Lista de abreviaturas.....	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
1. Introducción.....	6
1.1 Objetivos.....	9
2. Materiales y métodos.....	10
3. Resultados.....	13
4. Discusión.....	30
5. Conclusiones.....	35
6. Bibliografía.....	36
7. Anexo.....	39

vi Índice de Tablas o cuadros

Tabla 1. Ensayos de solubilidad de la seda de <i>Plodia Interpunctella</i>	13
Tabla 2. Histéresis y energía superficial de la tela de <i>Plodia interpunctella</i>	16
Tabla 3. Histéresis y energía superficial del extracto de tela de <i>Plodia interpunctella</i> en acetona.....	18
Tabla 4. Conteo de UFC en placas con extracto de seda en acetona.....	19
Tabla 5. Ensayos de solubilidad para el extracto de seda de <i>P. interpunctella</i> en acetato de etilo.....	20
Tabla 6. Histéresis y energía superficial del extracto de tela de <i>Plodia interpunctella</i> en acetato de etilo.....	22
Tabla 7. Conteo de UFC en placas con extracto de seda en acetato de etilo.....	23
Tabla 8. Ensayos de solubilidad de la cecidia de <i>R. limbata</i>	23
Tabla 9. Resultados de ensayos cualitativos de la cecidia de <i>R. limbata</i>	25
Tabla 10. Histéresis y energía superficial de cecidia de <i>Rachiptera limbata</i> solubilizada en DMSO.....	28
Tabla 11. Conteo de UFC en placas con cecidia en DMSO y con cecidia cruda.....	29

vii Índice de Figuras

Figura 1. Fotografías de los modelos de insectos.....	8
Figura 2. Titulación potenciométrica de la seda de <i>Plodia interpunctella</i>	13
Figura 3. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de la seda de <i>P. interpunctella</i>	14
Figura 4. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de “Spin-Plodia”.....	15
Figura 5. Espectro infrarrojo obtenido para la seda de <i>P. interpunctella</i> con indicaciones de la interpretación del espectro.....	16
Figura 6. Espectro infrarrojo obtenido para el extracto de seda de <i>P. interpunctella</i> en acetona con indicaciones de la interpretación del espectro.....	17
Figura 7. Imágenes del análisis del ángulo de contacto del extracto de seda en acetona.....	18
Figura 8. Espectro infrarrojo obtenido para el extracto de seda de <i>P. interpunctella</i> en acetato de etilo con indicaciones de la interpretación del espectro.....	21
Figura 9. Imágenes del análisis del ángulo de contacto del extracto de seda en acetato de etilo.....	22
Figura 10. Gráfico obtenido de la titulación potenciométrica de la cecidia de <i>R. limbata</i>	24
Figura 11. Fotos del trozo de cecidia sometida a la prueba de respuesta al fuego.....	25
Figura 12. Análisis termogravimétrico de la cecidia de <i>R. limbata</i>	25
Figura 13. Espectro infrarrojo obtenido para la cecidia sólida de <i>R. limbata</i> con indicaciones de la interpretación del espectro.....	26
Figura 14. Espectro infrarrojo obtenido para la cecidia de <i>R. limbata</i> disuelta en DMSO con indicaciones de la interpretación del espectro.....	26
Figura 15. Espectro RMN H ¹ obtenido para la cecidia de <i>R. limbata</i> en DMSO-d ₆ ...	27
Figura 16. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de la cecidia solubilizada en DMSO.....	28
Figura 17. Promedio de inhibición de crecimiento de cada muestra para cada bacteria.....	33

vii Lista de abreviaturas

APTES: (3-aminopropil) trimetoxisilano

DMSO: Dimetilsulfóxido

D.O. : Densidad óptica

Ext. Acetona: Extracto en acetona

Ext. Acet. Et: Extracto en acetato de etilo

IR: Infrarrojo

RMN: Resonancia magnética nuclear

TGA: Análisis termogravimétrico

Resumen:

La búsqueda de nuevos materiales de origen natural y con potencial de aplicabilidad ha sido tema de gran desarrollo en los últimos años. Dentro de los organismos que producen estos materiales los insectos han sido ampliamente estudiados. En este contexto, el objetivo principal de este trabajo fue caracterizar las propiedades fisicoquímicas de superficie de materiales con potencial biotecnológico provenientes de dos especies de insectos: *Plodia interpunctella* (Lepidóptero) y *Rachiptera limbata* (Díptero). En particular, se ha reportado que extractos obtenidos de la seda de *P. interpunctella* poseen actividad antibacterial y citotóxica contra células cancerígenas, mientras que *R. limbata* genera un material que forma una cecidia cuya composición y propiedades son desconocidas. Para cumplir este objetivo se realizaron ensayos de solubilidad, titulaciones potenciométricas, análisis de los espectros infrarrojos y de resonancia magnética nuclear, análisis termogravimétricos preliminares, ensayos cualitativos y análisis de actividad antibacterial. Los resultados obtenidos indican que las propiedades fisicoquímicas de los extractos obtenidos de *P. interpunctella* difieren significativamente de la seda sin tratar. Se sugiere que existe alguna reacción de baja eficiencia que permite obtener extractos con grupos nitro en su composición. La actividad antimicrobiana de estos extractos en superficie resultó ser muy poco eficiente en la mayoría de las muestras realizadas, sin embargo, puede que existan más variables involucradas en esta actividad. Paralelamente, se concluyó que la cecidia de *R. limbata* está compuesta por una o más glicoproteínas. En superficie, la cecidia solubilizada en DMSO presentó un aumento del crecimiento bacteriano a excepción de *S. aureus*, la cual fue inhibida considerablemente. Interesantemente, la cecidia cruda presentó un 100% de inhibición de crecimiento bacteriano para las tres bacterias utilizadas.

Abstract

Great interest has been shown in recent years in the development of new alternative materials to traditional materials. Among the options being studied are materials from insects.

The main objective of this work was to characterize the surface physicochemical properties of materials with biotechnological potential from two insect species: *Plodia interpunctella* and *Rachiptera limbata*. In particular, it has been reported that extracts obtained from the silk of *P. interpunctella* possess antibacterial and cytotoxic activity against cancer cells, while *R. limbata* generates a cecidia-forming material whose composition and properties are unknown.

To meet this objective, solubility tests, potentiometric titrations, analysis of infrared and nuclear magnetic resonance spectra, preliminary thermogravimetric analysis, qualitative assays and antibacterial activity analysis were performed.

The results obtained indicate that the physicochemical properties of the extracts obtained from *P. interpunctella* differ significantly from untreated silk. It is suggested that there is some low efficiency reaction that allows obtaining extracts with nitro groups in their composition. The surface antimicrobial activity of these extracts proved to be very low efficient in most of the samples performed, however, there may be more variables involved in this activity.

In parallel, it was concluded that the cecidia of *R. limbata* is composed of one or more glycoproteins. On surface, cecidia solubilized in DMSO presented an increase in bacterial growth with the exception of *S. aureus*, which was significantly inhibited. Interestingly, the crude cecidia presented 100% inhibition of bacterial growth for the three bacteria used.

Introducción:

Durante la última década la contaminación derivada de la producción y consumo masivo de plásticos ha obtenido gran parte de la atención pública debido al alto impacto que genera en el medio ambiente y en la salud pública (Davison y col., 2021). Adicionalmente, se tiene certeza de la estrecha relación que posee la contaminación por plásticos con el cambio climático (Lavers y col., 2022). Sin embargo, la sociedad actual no podría concebirse sin materiales con las propiedades que poseen los plásticos que actualmente se utilizan, ya que gran parte de la cotidianidad necesita de productos o herramientas que utilizan estos materiales. Esto último ha sido evidenciado aún más luego de la pandemia de COVID-19, en la que el consumo de productos plásticos diseñados para proteger la salud pública se hizo evidentemente necesaria y efectiva. (Rai y col., 2022).

Debido a lo anterior, se ha estimulado la búsqueda de materiales alternativos que puedan sustituir las funciones de aquellos que son actualmente utilizados y que posean un menor impacto socioambiental (Zhao y col., 2022). Dentro de estas alternativas, los biopolímeros han adquirido gran relevancia, tanto como sustituto de materiales tradicionales como también para fabricar nuevos materiales (Udayakumar y col., 2021).

Los biopolímeros son entendidos como polímeros de origen natural (Pino-Ramos y col., 2018) y dentro de ellos, los materiales provenientes de artrópodos y, dentro de esta categoría, de insectos han sido ampliamente estudiados (Sutherland y col., 2010; Schroeder y col., 2018). Un ejemplo de biopolímero es el caso del quitosano, el cual proviene de la quitina que corresponde al principal componente del exoesqueleto de los artrópodos. El quitosano es ampliamente estudiado por sus propiedades mecánicas, antimicrobianas y biocompatibles para el desarrollo de materiales usados en medicina regenerativa, encapsulamiento de drogas, empaques de comida y biorremediación.

(Ding y col., 2020). Otro ejemplo de biopolímero de importancia corresponde al alginato, el cual es un material obtenido de algas con la capacidad de formar hidrogeles biocompatibles capaces de encapsular drogas, entre otras aplicaciones (Lee & Mooney, 2012).

Ambos ejemplos expuestos anteriormente corresponden a dos de los más estudiados en Chile (Bernabé y col., 2020, Caballero y col., 2021), ya que se pretende aprovechar la biodiversidad presente en el país. Dado este contexto, este trabajo tiene como objetivo contribuir al estudio de materiales provenientes de insectos, destacando el potencial y la necesidad del estudio de materiales provenientes de insectos nativos de Chile.

Plodia interpunctella corresponde a una especie de microlepidóptero cosmopolita comúnmente conocida como la “polilla india de la harina”, capaz de adaptarse a gran cantidad de ambientes y, por ello, constituye una de las mayores plagas de granos a nivel mundial (Mohandass y col., 2007). El estadio larval de *P. interpunctella* secreta una seda que ha sido estudiada como potencial biomaterial con aplicaciones anticancerígenas (Milutinovic y col., 2020) y antimicrobianas (Stefanovic y col., 2020). Sin embargo, a pesar del creciente interés por la seda de *P. interpunctella*, se sabe muy poco acerca de las propiedades superficiales que esta y sus extractos poseen y de la relación fisicoquímica de la superficie con sus propiedades biotecnológicas, para las cuales entender el fenómeno a nivel de interfaz resulta fundamental (Park & Seo, 2011).

Por otro lado, en Chile se encuentra *Rachiptera limbata* una especie de díptero de la familia Tephritidae de amplia distribución latitudinal y altitudinal (Aljaro y col., 1984). *R. limbata* corresponde a un insecto agallador que asocia su ciclo de vida al arbusto *Baccharis linearis* en cuyos meristemas apicales se desarrolla el estadio larval de la mosca. Durante este periodo, la larva secreta un material desconocido blanco, viscoso

y pegajoso que forma la cecidia (o agalla) y que al contacto con el aire se seca y mantiene una forma globosa (Léniz, 2017). Al ser desconocido, presenta un gran potencial para el estudio de sus propiedades como material de origen natural.



Figura 1. Fotografías de los modelos de insectos. Izquierda: Adulto de *Plodia interpunctella* (Vuijlsteke, 2022), Derecha: Adulto de *Rachiptera limbata* (Segura, 2017)

Objetivos

Objetivo general:

Obtener y caracterizar macromoléculas de origen natural proveniente de dos especies de insectos.

Objetivos específicos:

Analizar las propiedades fisicoquímicas de la superficie de las películas en base a seda y extractos de seda de *P. interpunctella*

Identificar y caracterizar las propiedades fisicoquímicas del material que compone la cecidia de *R. limbata*.

Materiales y Métodos:

Limpieza de material

Tanto la seda de *P. interpunctella* como la cecidia de *R. limbata* fueron sometidas a una limpieza exhaustiva mediante el uso de pinzas y pinceles finos con el fin de remover cualquier contaminante visible como polvo, harina, heces o material vegetal.

Obtención de extractos

Un g de seda de *P. interpunctella* se mantuvo con agitación en 100 mL de cada uno de los solventes (acetona y acetato de etilo) por 72 h. Luego de esto se filtró y dializó el contenido resultante, para finalmente liofilizar el solvente y obtener el extracto (Stefanović y col., 2020).

Titulación potenciométrica

Se realizaron titulaciones potenciométricas haciendo uso de un pH-metro Orion Research Expandable Ion Analyzer EA 940. Luego de obtenidos los datos, se obtuvo el punto isoeléctrico utilizando la siguiente ecuación:

$$pI = \frac{1}{2} \cdot (pK_1 + pK_2) \quad (1)$$

Ensayos de solubilidad

Para determinar la solubilidad tanto de la seda de *P. interpunctella* como para la cecidia de *R. limbata* se obtuvieron 10 mg de cada material y extracto, se introdujeron en tubos de ensayo con tapa y se le adicionaron 10 mL de una amplia gama de solventes a cada uno de los tubos. Los tubos se mantuvieron cerrados y sellados con parafilm para evitar la evaporación del solvente.

Ensayos de superficie

Mediante el corte con un lápiz de punta de diamante, se obtuvieron placas de silicon wafer de 1 cm x 1 cm, las cuales fueron sometidas a un proceso de lavado oxidativo de la superficie. En 60 mL de agua desionizada a 80°C se añadieron 10 mL de amoníaco 25% y agua oxigenada 25%, inmediatamente después, se sumergieron las

placas de silicon wafer y se mantuvo la temperatura a 60° C por 30 minutos. Luego de este tiempo, las placas se sumergieron una vez en 3 vasos precipitados con agua desionizada para luego ser secadas con nitrógeno.

Posteriormente se recubrieron mediante tratamiento con APTES. Las placas fueron sumergidas en 70 mL de tolueno a 60° C al cual se le agregaron 700 µL de APTES (1% del volumen total) y se mantuvo en estas condiciones por 4 minutos. Luego de este periodo de tiempo, las placas se sumergieron 1 vez en 3 vasos precipitados con tolueno para posteriormente ser nuevamente secadas con nitrógeno.

Luego, los materiales a evaluar se solubilizaron y se adhirieron a la superficie mediante spin coating a 8000 rpm (Orava y col., 2014)

El estado de la superficie luego de cada paso fue monitoreado mediante elipsometría, obteniendo el espesor de las capas. (Li y col., 2021)

Evaluación del ángulo de contacto

Luego de obtenidas las superficies con el material, se realizaron ensayos de ángulo de contacto mediante el aparato Drop Shape Analyzer DSA25S, KRUSS controlado por el software ADVANCE (KRUSS). Se utilizó el método de gota sésil, depositando una gota de 2 µL en la superficie. (Tamayo y col., 2022)

Espectro infrarrojo

Se evaluó el espectro infrarrojo de los distintos materiales en solución y en sólido en el caso del extracto de tela en acetato de etilo y en el caso de la cecidia. Esto se realizó utilizando el equipo Shimadzu QATR-S y manejado con el software LabSolutionsIR. (Tamayo y col., 2022)

Resonancia magnética nuclear

Se solubilizaron 80 mg, 60 mg, 40 mg, 20 mg y 10 mg de muestra en 1 mL de DMSO deuterado en viales de 1,5 mL, luego de solubilizadas, fueron traspasadas a tubos de

RMN para obtener los espectros correspondientes (Agarwal y col., 2018). Este ensayo sólo se llevó a cabo con la cecidia de *R. limbata*.

Ensayo de Bradford

Utilizando una pipeta Pasteur, se añadieron 3 gotas de Reactivo de Bradford a un tubo de ensayo conteniendo 10 mg de cecidia limpia con el objetivo de identificar la presencia de proteínas. (Bradford, 1976)

Ensayo de Benedict

Mediante una pipeta Pasteur, se añadieron 3 gotas de Reactivo de Benedict a un tubo de ensayo con 10 mg de cecidia para determinación de azúcares reductoras (Sahayaraj y col., 2021)

Ensayo de Lugol

Se añadieron 3 gotas de lugol para determinación de la presencia de polisacáridos (Sahayaraj y col., 2021)

Ensayos antibacterianos

Preinóculos de *E. coli* MG 1655 y *B. subtilis* DSM 10 fueron cultivados en medio Luria Bertani (LB) a 37°C por 16 horas. El cultivo resultante fue posteriormente transferido a medio LB fresco y estandarizado a 10⁶ UFC/mL midiendo la densidad óptica (D.O.) a 600 nm. Luego, 40 µL de este inóculo fueron depositados en la superficie de las placas de silicon wafer previamente tratadas con las muestras e incubadas por 24 horas a 37°C. Posteriormente, las placas se lavaron sumergiéndolas 4 veces en 10 mL de solución de arrastre (0,88% NaCl y 1% Tween 80). Posteriormente 40 µL de la solución utilizada para lavar se transfirieron a una placa de Petri con medio LB-agar e incubadas a 37°C por 16 h. Finalmente, se realizó el conteo de UFC.

Resultados:

1.- *Plodia Interpunctella*

El ensayo de solubilidad que se observa en la Tabla 1, muestra que la seda es insoluble en todos los solventes utilizados, lo cual corrobora reportes anteriores. (Stefanovic y col., 2020)

Tabla 1. Ensayos de solubilidad de la seda de *Plodia Interpunctella*

Solvente	Constante dieléctrica	Solubilidad
Agua (pH=7)	80	(-)
Dimetilsulfóxido	46,7	(-)
Dimetilformamida	38,3	(-)
Acetonitrilo	37,5	(-)
Metanol	33	(-)
Etanol	24	(-)
Acetona	21	(-)
Diclorometano	9,1	(-)
Tetrahidrofurano	7,5	(-)
Acetato de etilo	6	(-)
Cloroformo	4,8	(-)
Benceno	2,3	(-)
Hexano	1,9	(-)
Éter de petróleo	*	(-)

La titulación potenciométrica realizada (Figura 2) permitió observar 2 pK, por lo que es posible interpretar que esta macromolécula presenta un grupo amino y un grupo carboxilo libre, con valores de pKa 1 aproximado de 1,5 y un pKa 2 aproximado de 13,5. Utilizando la ecuación (1) se obtuvo un pI de 7,5.

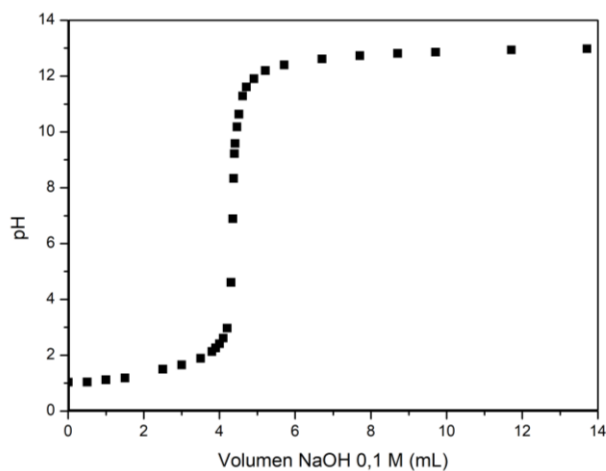


Figura 2. Titulación potenciométrica de la seda de *Plodia interpunctella*.

Para analizar la superficie de la seda cruda, al ser insoluble, se optó por utilizar una cinta de doble contacto para adherir la seda a la placa de “silicon wafer” y de esta forma obtener una superficie lo suficientemente uniforme para llevar a cabo los ensayos de ángulo de contacto. El espesor de esta capa no pudo ser evaluada mediante elipsometría debido a la rugosidad de la seda. El análisis de ángulo de contacto fue realizado por triplicado.

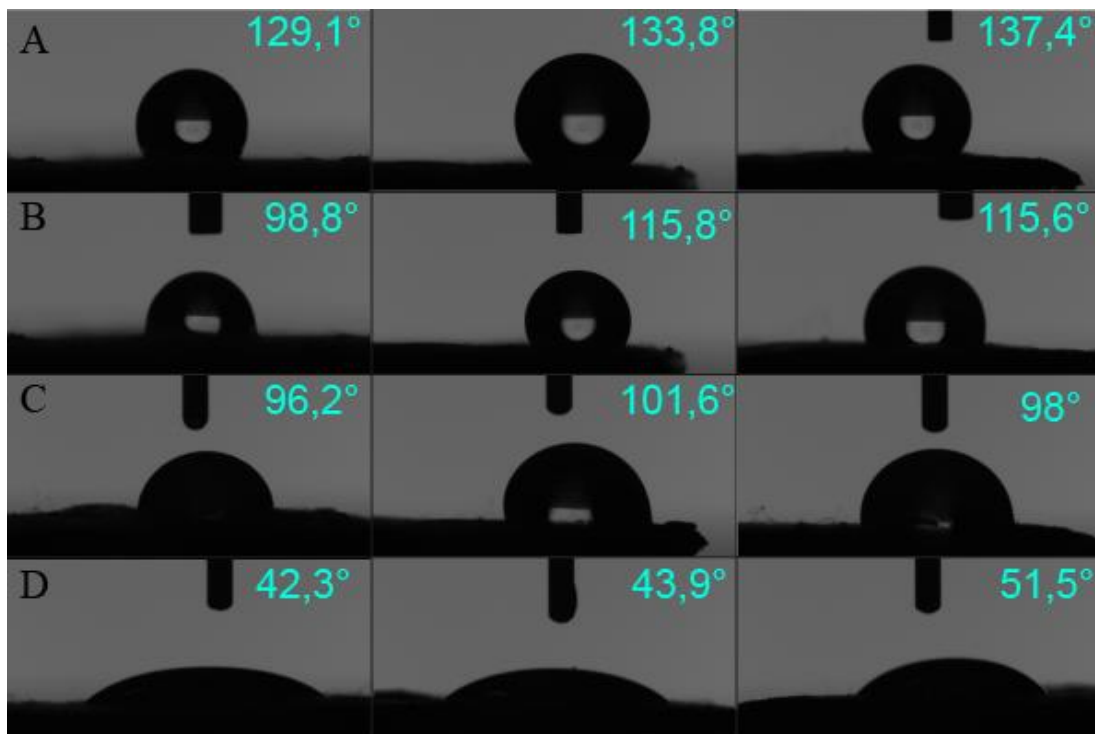


Figura 3. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de la seda de *P. interpunctella*. Fila A: ángulo de avance con agua. Fila B: ángulo de retroceso con agua. Fila C: ángulo de contacto con dimetilformamida. Fila D: ángulo de contacto con diiodometano.

A pesar de que la seda resultó insoluble, se evaluaron las características de la superficie obtenida mediante “spin coating” utilizando agua como solvente, con el fin de observar si existía un cambio significativo entre ésta y las propiedades que presentaba la superficie de la seda cruda. Ésta muestra se denominó “Spin-Plodia” y se realizó por triplicado.

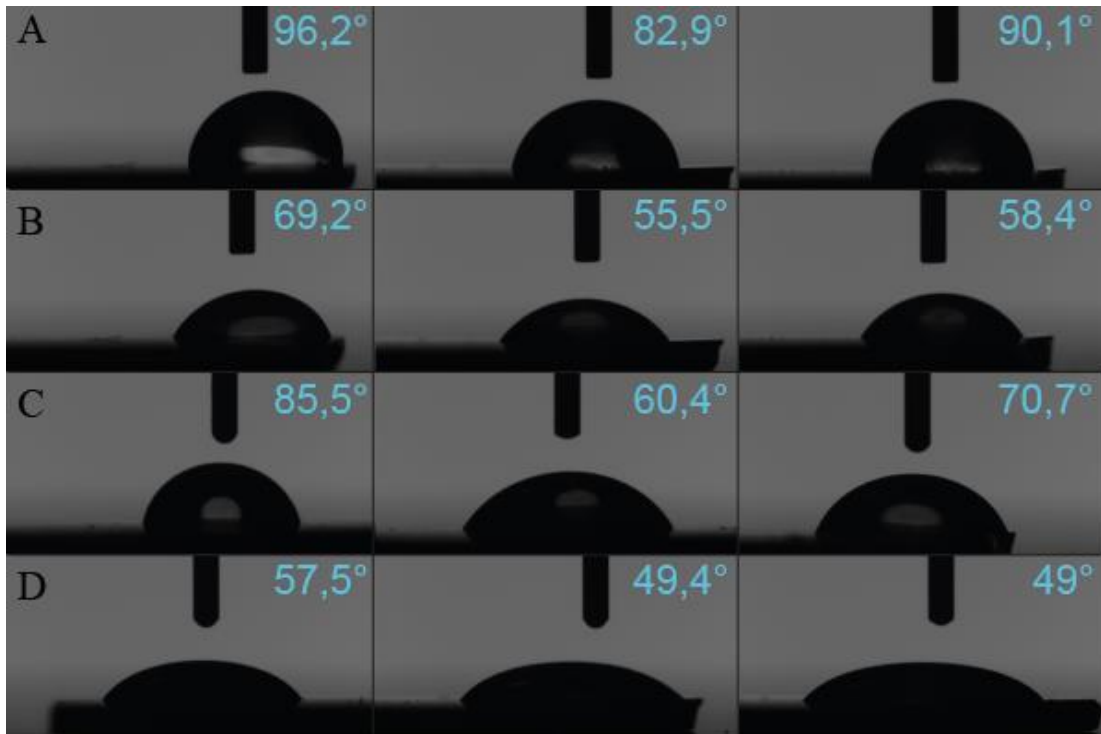


Figura 4. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de “Spin-Plodia”. Fila A: Ángulo de avance. Fila B: ángulo de retroceso. Fila C: Ángulo de contacto con dimetilformamida. Fila D: Ángulo de contacto con diiodometano.

Con el ángulo obtenido en cada uno de los análisis presentados en la Figura 3 y la Figura 4, se obtuvieron los datos de la Tabla 2. En esta se puede evidenciar que la seda cruda presenta una mayor homogeneidad en su superficie en comparación a la superficie obtenida de aquello que logró disolverse en agua. Junto a esto, se observa que la energía libre superficial de la seda cruda es significativamente mayor a la presentada por la muestra “Spin-Plodia”, lo que permite interpretar que las interacciones entre las moléculas de la seda son más fuertes que aquellas presentadas por la muestra “Spin Plodia”.

Tabla 2. Histéresis y energía superficial de la tela de *Plodia interpunctella*

Sustrato	Histéresis	ELS OW [mN/m]		
		ELS	Dispersa	Polar
Plodia 1	22,02	43,88	42	1,88
Plodia 2	17,16	53,46	44,11	9,35
Plodia 3	19,84	44,12	37,62	6,5
Spin-Plodia 1	29,54	33,18	32,54	0,64
Spin-Plodia 2	27,04	36,45	33,58	2,87
Spin-Plodia 3	27,04	35,11	34,75	0,36

Adicionalmente, se obtuvo el espectro infrarrojo (Figura 5) de la seda limpia. Los resultados indican lo esperado para una proteína, presentando una zona en donde aparecen aminas con carga, además de una señal muy intensa para el grupo carbonilo. Éste último podría estar formando un carbonilo aromático. Además, se observó una señal que indica presencia de alquinos y una que podría indicar la presencia de un halogenuro, en particular de la presencia de yodo.

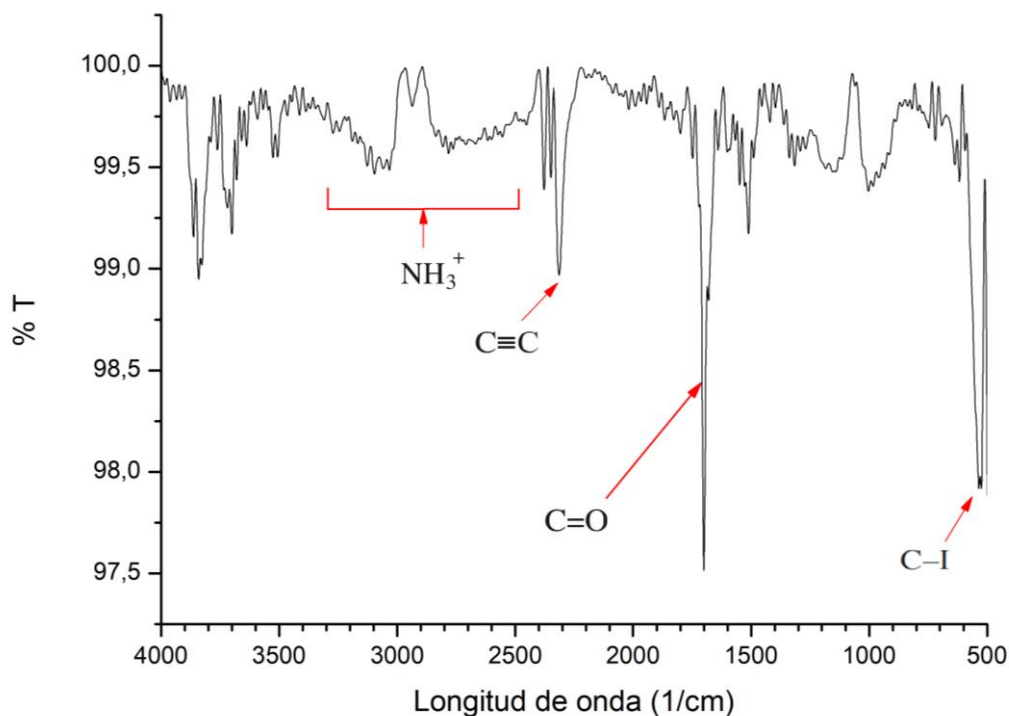


Figura 5. Espectro infrarrojo obtenido para la seda de *P. interpunctella* con indicaciones de la interpretación del espectro.

1.a- Extracto en acetona

Para el extracto de seda de *P. interpunctella* obtenido mediante solubilización en acetona no fue posible realizar análisis de solubilidad, ya que el extracto obtenido fue mínimo, por lo que se optó por resolubilizarla en acetona con el objetivo de continuar con la evaluación del espectro IR y los ensayos de caracterización superficial por triplicado.

El análisis del espectro infrarrojo que se muestra en la Figura 6 se puede observar el mismo pico asociado a un grupo carbonilo observado en el espectro de la Figura 5. Sin embargo, presenta diferencias significativas, ya que no presenta presencia de grupo amino ni halogenuro, pero sí presenta un grupo nitro y un grupo carboxilo que podría ser alifático o aromático.

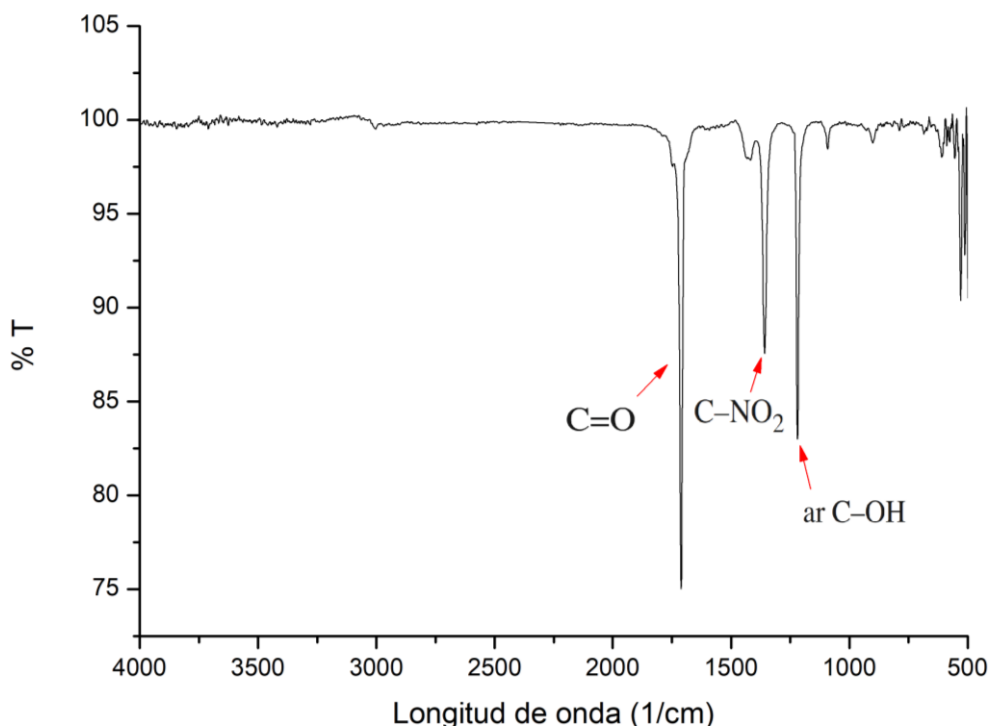


Figura 6. Espectro infrarrojo obtenido para el extracto de seda de *P. interpunctella* en acetona con indicaciones de la interpretación del espectro.

Los análisis de superficie del extracto en acetona que se muestran en la Figura 7 y en la Tabla 4, indican que este extracto, en general, posee mayor homogeneidad y

ligeramente menor energía libre de superficie que la seda cruda. Sin embargo, se destaca el hecho de que, en uno de los triplicados, ambos parámetros difieren mucho con el resto, lo que además se correlaciona con presentar una mayor componente polar.

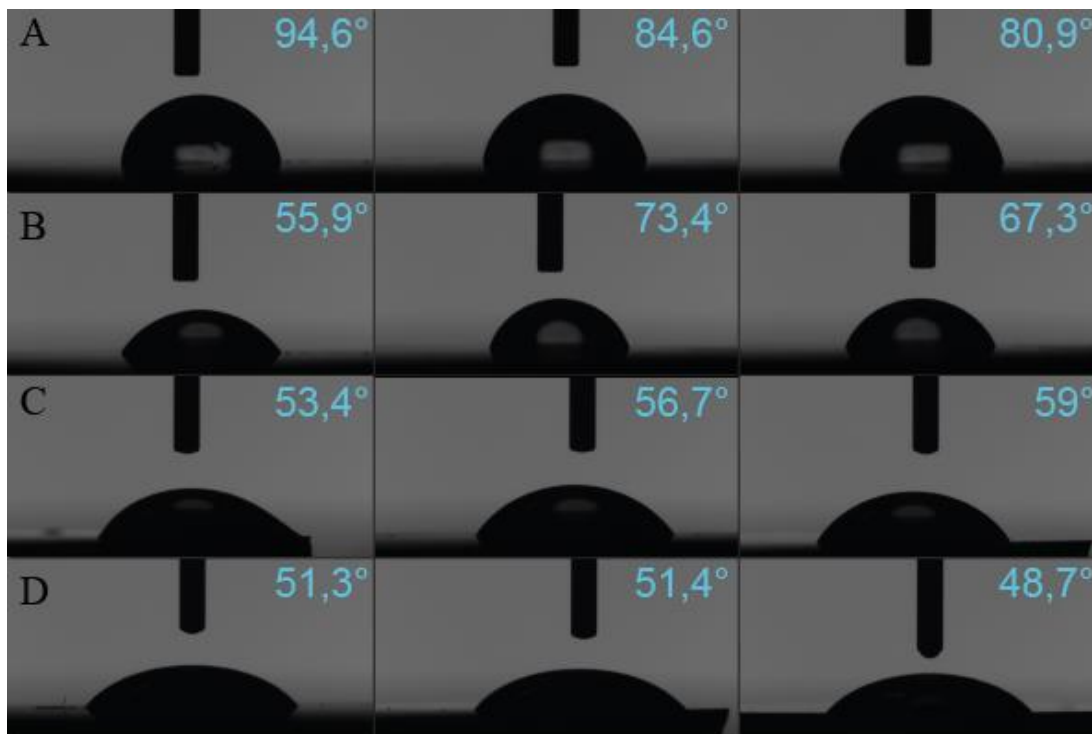


Figura 7. Imágenes del análisis del ángulo de contacto del extracto de seda en acetona. Fila A: Ángulo de avance. Fila B: Ángulo de retroceso. Fila C: Ángulo de contacto con dimetilformamida. Fila D: Ángulo de contacto con diiodometano.

Tabla 3. Histéresis y energía superficial del extracto de tela de *Plodia interpunctella* en acetona

Sustrato	Histéresis	ELS OW [mN/m]		
		ELS	Dispersa	Polar
Ext. Acetona 1	35,29	47,24	28,84	18,4
Ext. Acetona 2	10,77	39,16	35,88	3,18
Ext. Acetona 3	13,03	39,22	34,81	4,41

Los resultados de la actividad antibacterial de superficie indicaron que este extracto pierde en gran parte sus propiedades bactericidas al estar adherida a la superficie. A pesar de que en algunos casos sí presentó inhibición del crecimiento, en 2 de los triplicados no se presentó inhibición.

Tabla 4. Conteo de UFC en placas con extracto de seda en acetona

Bacteria	Placa	UFC	UFC/mL
<i>E. coli</i> MG 1655	Control	49	$1,23 \cdot 10^4$
	Ext. Acetona 1	131	$3,28 \cdot 10^4$
	Ext. Acetona 2	643	$1,61 \cdot 10^5$
	Ext. Acetona 3	1	$2,50 \cdot 10^2$
<i>B. subtilis</i> DSM 10	Control	1	$2,50 \cdot 10^2$
	Ext. Acetona 1	8	$2,00 \cdot 10^3$
	Ext. Acetona 2	2	$5,00 \cdot 10^2$
	Ext. Acetona 3	0	0
<i>S. aureus</i> DSM 20231	Control	557	$1,39 \cdot 10^5$
	Ext. Acetona 1	664	$1,66 \cdot 10^5$
	Ext. Acetona 2	1303	$3,26 \cdot 10^5$
	Ext. Acetona 3	2	$5,00 \cdot 10^2$

1.b- Extracto en acetato de etilo

A diferencia del extracto en acetona, para el extracto de acetato de etilo se obtuvo una gran cantidad de extracto sólido, por lo que fue posible realizar los ensayos de solubilidad cuyos resultados se muestran en la Tabla 5. Se obtuvo que este extracto es soluble en una variada cantidad de solventes cuya constante dieléctrica es mayor a 7,58, sin embargo, no en todos ellos fue soluble. Esto indica que el extracto tiene una composición compleja con mayor cantidad de componentes polares.

Tabla 5. Ensayos de solubilidad para el extracto de seda de *P. interpunctella* en acetato de etilo

Solvente	Cte dieléctrica	Solubilidad
Agua desionizada (pH=7)	80,1	(+)
DMSO	46,7	(+)
Acetonitrilo	37,5	(-)
Dimetilformamida	36,7	(-)
Metanol	32,7	(+)
Etanolamina	30,83	(+)
Etanol	24,5	(+)
Propanol	21,8	(+)
Acetona	20,7	(-)
Diclorometano	8,93	(-)
Decanol	8	(-)
THF	7,58	(+)
Cloroformo	4,81	(-)
Éter etílico	4,3	(-)
Tolueno	2,38	(-)
Benceno	2,27	(-)
Hexano	2,02	(-)
n-Pentano	1,84	(-)
Éter de petróleo	*	(-)

Al realizar el análisis del espectro IR (Figura 8), se observa un patrón diferente tanto para la seda cruda como para el extracto en acetona. En este caso sí es posible observar un posible halogenuro, además de un grupo carboxilo, un grupo alcohol y posiblemente un grupo nitro.

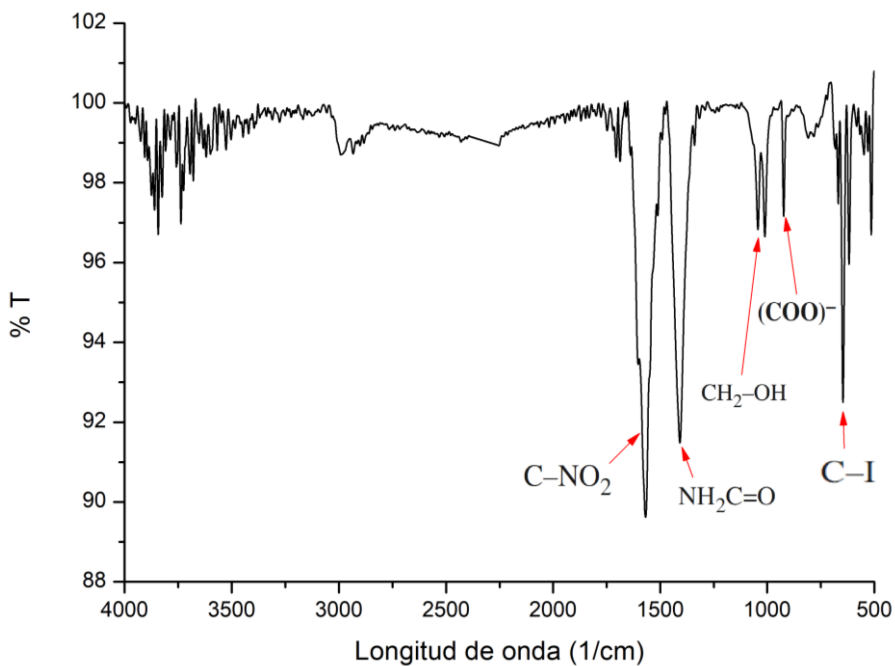


Figura 8. Espectro infrarrojo obtenido para el extracto de seda de *P. interpunctella* en acetato de etilo con indicaciones de la interpretación del espectro.

El extracto se solubilizó en acetato de etilo nuevamente para adherirlo a la superficie de la placa de “silicon wafer” mediante “spin coating” y proceder con los ensayos de superficie por triplicado.

En la Figura 9 y en la Tabla 6 se observa que este extracto presentó una mayor homogeneidad en su superficie y una mayor energía libre superficial en comparación a la seda cruda y al extracto de acetona. Se destaca la gran cantidad de componente dispersa y la gran cantidad de componente polar, lo cual puede estar dado por los grupos funcionales que poseen oxígeno. Esto lo diferencia mucho con las anteriores superficies evaluadas.

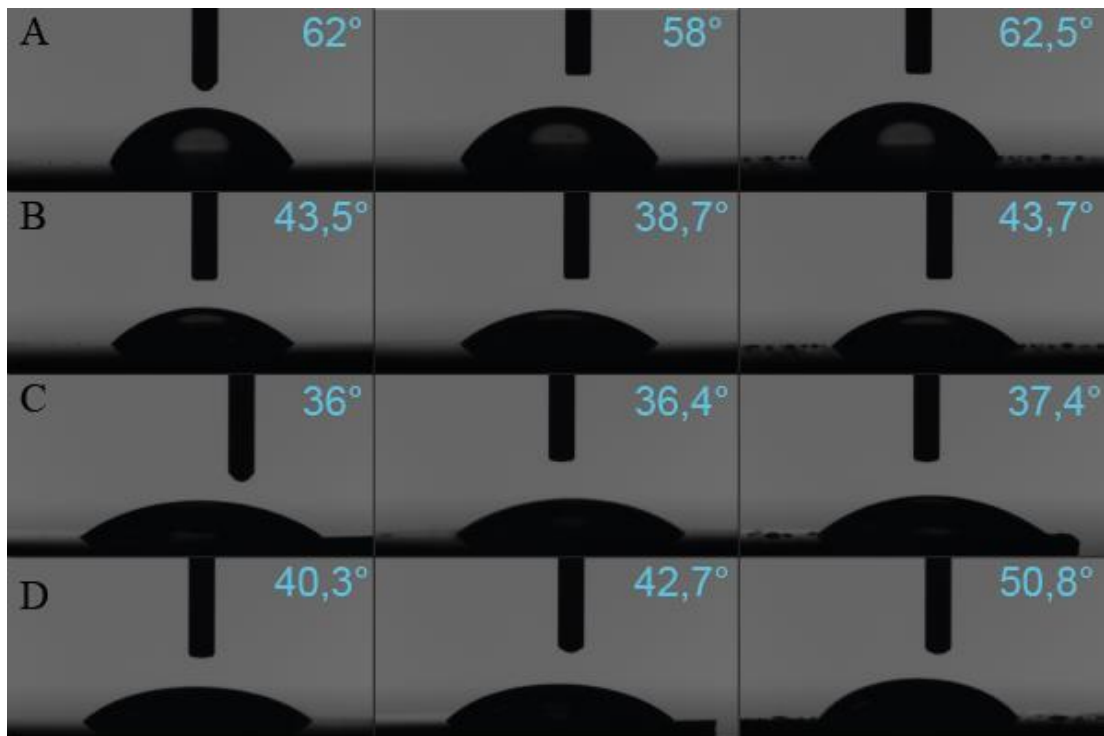


Figura 9. Imágenes del análisis del ángulo de contacto del extracto de seda en acetato de etilo. Fila A: Ángulo de avance. Fila B: Ángulo de retroceso. Fila C: Ángulo de contacto con dimetilformamida. Fila D: Ángulo de contacto con diiodometano.

Tabla 6. Histéresis y energía superficial del extracto de tela de *Plodia interpunctella* en acetato de etilo

Sustrato	Histéresis	ELS OW [mN/m]		
		ELS	Dispersa	Polar
Ext. Acetato de etilo 1	18,62	50,97	39,56	11,42
Ext. Acetato de etilo 2	20,8	50,9	37,58	13,32
Ext. Acetato de etilo 3	18,18	48,11	34,12	13,99

Al realizar los análisis antibacterianos (Tabla 7) se pudo observar que, a diferencia del extracto anterior, este extracto conserva de mejor manera su actividad antimicrobiana. Sin embargo, no presenta un comportamiento homogéneo.

Tabla 7. Conteo de UFC en placas con extracto de seda en acetato de etilo

Bacteria	Placa	UFC	UFC/mL
<i>E. coli</i> MG 1655	Control	49	$1,23 \cdot 10^4$
	Ext. Acet. Et. 1	44	$1,10 \cdot 10^4$
	Ext. Acet. Et. 2	31	$7,75 \cdot 10^3$
	Ext. Acet. Et. 3	2	$5,00 \cdot 10^2$
<i>B. subtilis</i> DSM 10	Control	1	$2,50 \cdot 10^2$
	Ext. Acet. Et. 1	0	0
	Ext. Acet. Et. 2	16	$4,00 \cdot 10^3$
	Ext. Acet. Et. 3	19	$4,75 \cdot 10^3$
<i>S. aureus</i> DSM 20231	Control	557	$1,39 \cdot 10^5$
	Ext. Acet. Et. 1	237	$5,93 \cdot 10^4$
	Ext. Acet. Et. 2	213	$5,33 \cdot 10^4$
	Ext. Acet. Et. 3	516	$1,29 \cdot 10^5$

2.- *Rachiptera limbata*

Posterior a la limpieza de la cecidia de *R. limbata*, se procedió a realizar los ensayos de solubilidad del material cuyos resultados se muestran en la Tabla 8. Se obtuvo que la cecidia es soluble en DMSO y en etanolamina, sin embargo, en este último, la solubilización fue mucho menos eficiente y, por lo tanto, tomó mucho más tiempo.

Tabla 8. Ensayos de solubilidad de la cecidia de *R. limbata*

Solvente	Constante dieléctrica	Solubilidad
Agua desionizada (pH=7)	80,1	(-)
DMSO	46,7	(+)
Acetonitrilo	37,5	(-)
Dimetilformamida	36,7	(-)
Metanol	32,7	(-)
Etanolamina	30,83	(+)
Etanol	24,5	(-)
Propanol	21,8	(-)
Acetona	20,7	(-)
Diclorometano	8,93	(-)
Decanol	8	(-)
THF	7,58	(-)
Cloroformo	4,81	(-)
Éter etílico	4,3	(-)
Tolueno	2,38	(-)
Benceno	2,27	(-)
Hexano	2,02	(-)
n-Pentano	1,84	(-)
Éter de petróleo	*	(-)

La titulación potenciométrica realizada para la cecidia de *R. limbata* se muestra en la Figura 10. En esta se puede observar que el material presenta dos pKa: pKa 1 \approx 2,8 y pKa 2 \approx 12. Con esta información, utilizando la ecuación (1) se obtuvo un pI = 7,4.

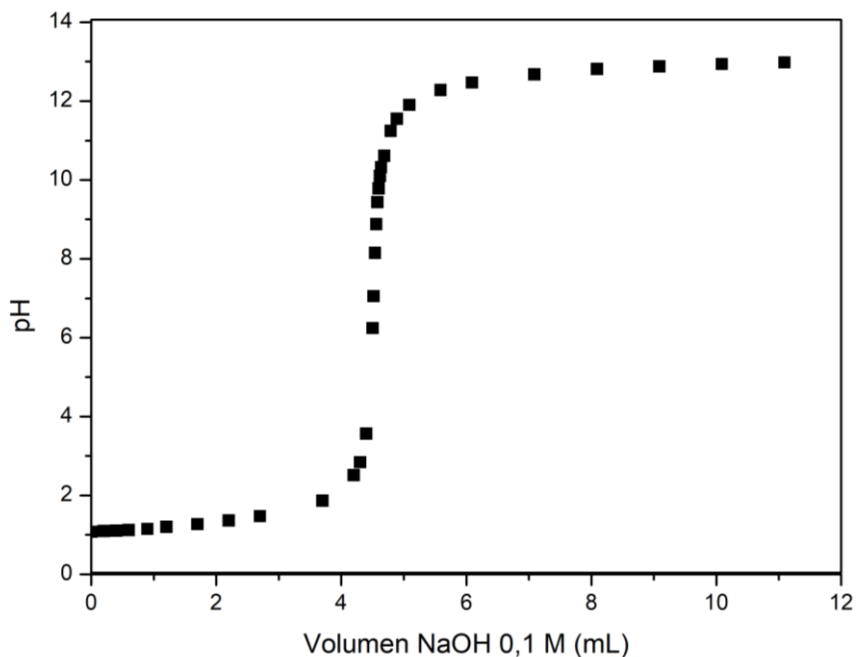


Figura 10. Gráfico obtenido de la titulación potenciométrica de la cecidia de *R. limbata*.

Los resultados de los análisis cualitativos y de prueba de respuesta al fuego se muestran en la Tabla 9 y en la Figura 11 respectivamente. El ensayo de Benedict permitió observar que el material de la cecidia contiene azúcares reductores, el ensayo de lugol indicó que estos azúcares no correspondían a un polisacárido lineal y finalmente el reactivo de Bradford mostró una coloración azulada que indicó la presencia de proteínas, por lo que estos ensayos indican que la cecidia está compuesta por una glicoproteína.

La prueba de respuesta al fuego mostró que este material posee una alta resistencia al fuego. Si bien la cara expuesta a la llama comenzó a carbonizarse, la cara posterior mostró un mínimo cambio en la coloración de la cecidia.

Tabla 9. Resultados de ensayos cualitativos de la cecidia de *R. limbata*

Ensayo	Resultado
Lugol	(-)
Benedict	(+)
Bradford	(+)

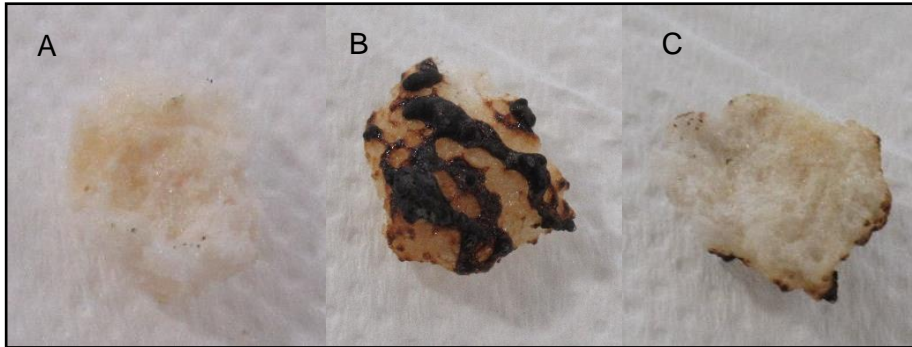


Figura 11. Fotos del trozo de cecidia sometida a la prueba de respuesta al fuego. A. Trozo de cecidia previo a la prueba. B. Cara expuesta a la llama. C. Cara posterior, no expuesta a la llama.

Los resultados obtenidos para el análisis termogravimétrico (Figura 12) sugieren que aproximadamente un 20% de la masa total de la cecidia corresponde a moléculas de agua y que a mayores temperaturas se comienzan a degradar otras moléculas.

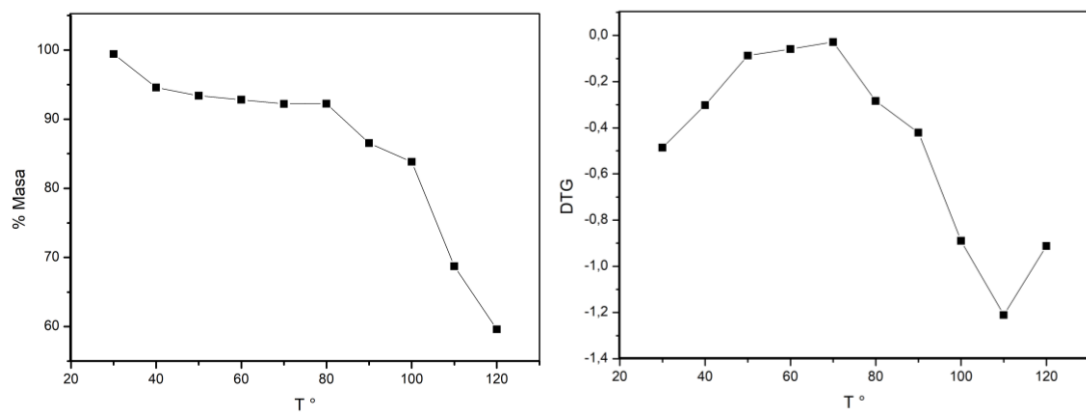


Figura 12. Análisis termogravimétrico de la cecidia de *R. limbata*. Izquierda: análisis en porcentaje de masa inicial. Derecha: Derivada del gráfico de la derecha.

El análisis del espectro IR de la cecidia se realizó tanto en sólido (Figura 13) como disuelta en DMSO (Figura 14). A pesar de presentar mucho ruido, en ambos se observan patrones que corresponden con un grupo alcohol y un grupo amina, sin embargo, en el espectro obtenido con la cecidia disuelta se observa además un pico correspondiente a un grupo carbonilo.

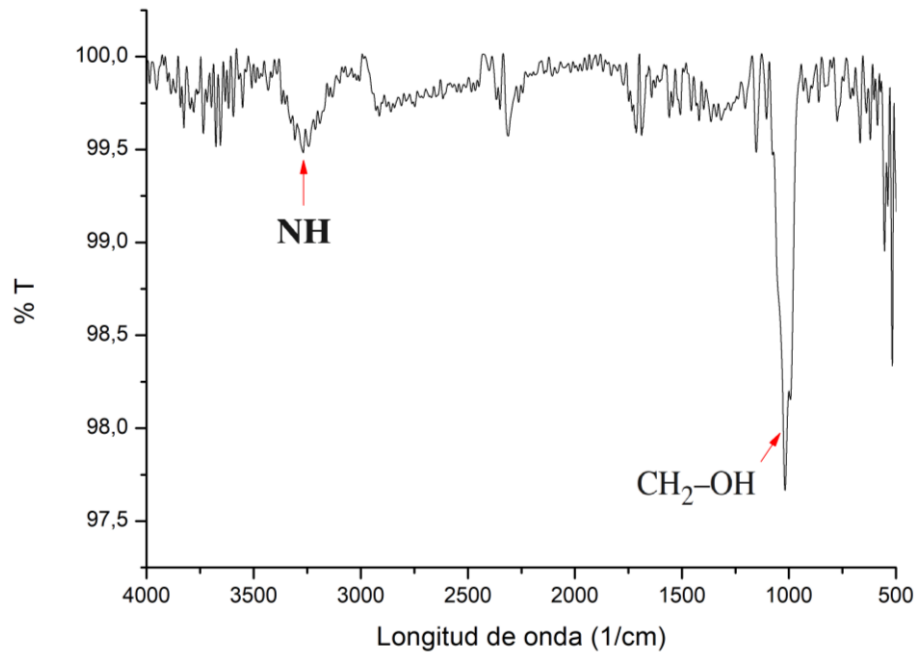


Figura 13. Espectro infrarrojo obtenido para la cecidia sólida de *R. limbata* con indicaciones de la interpretación del espectro.

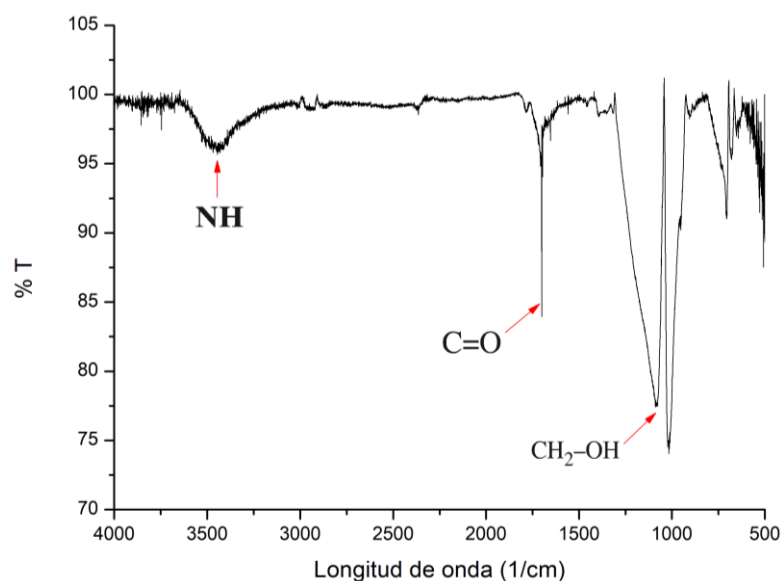


Figura 14. Espectro infrarrojo obtenido para la cecidia de *R. limbata* disuelta en DMSO con indicaciones de la interpretación del espectro.

Para la obtención del patrón de RMN (Figura 15) se solubilizó la cecidia en DMSO deuterado. El patrón obtenido presenta un gran y único pico que indica la presencia de grupos hidroxilo, incluyendo alcoholes y ácidos carboxílicos.

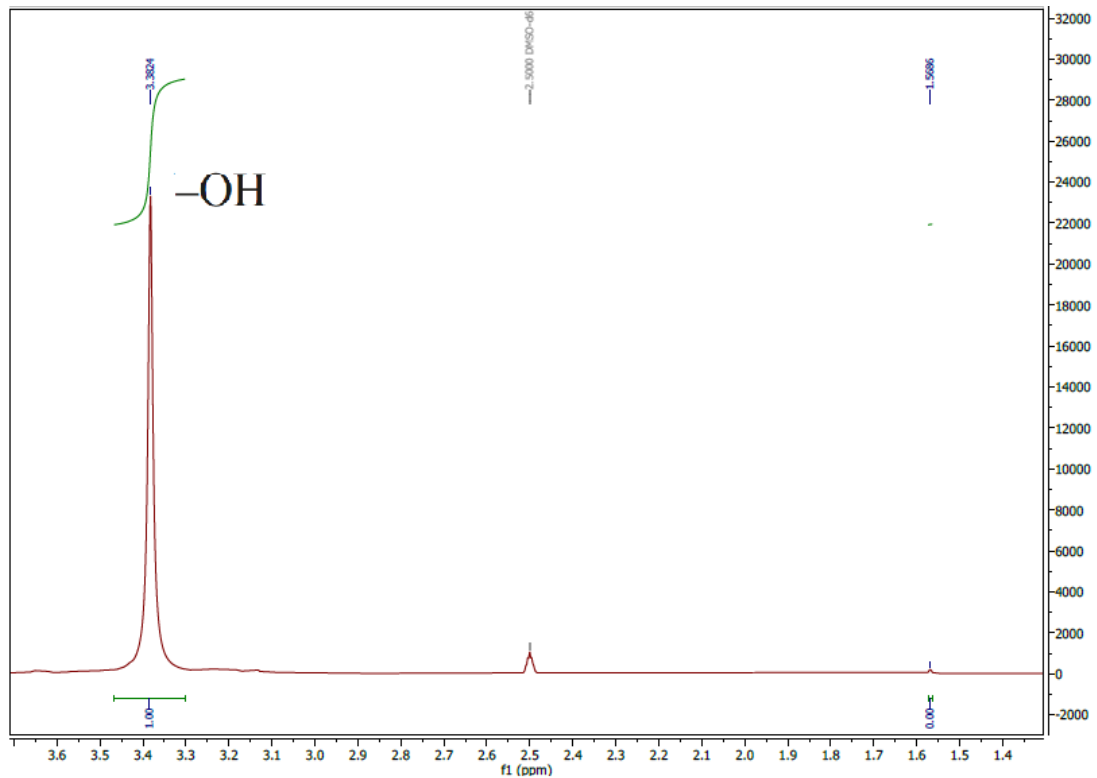


Figura 15. Espectro RMN H^1 obtenido para la cecidia de *R. limbata* en DMSO- d_6 .

Los análisis de superficie para ángulo de contacto de la cecidia de *R. limbata* no pudieron llevarse a cabo debido a que absorbe agua muy rápidamente, a pesar de no ser soluble en ella. Por esta razón, los análisis obtenidos se llevaron a cabo luego de solubilizar la cecidia en DMSO y adherirla a la superficie de “silicon wafer” mediante “spin coating”. Estos análisis se realizaron por triplicado.

En la Figura 16 y en la Tabla 10 se puede observar que la cecidia solubilizada en DMSO posee una alta homogeneidad en su superficie, a la vez que posee una alta energía libre superficial. Además, se puede observar que la componente polar es aproximadamente la mitad de la componente dispersa.

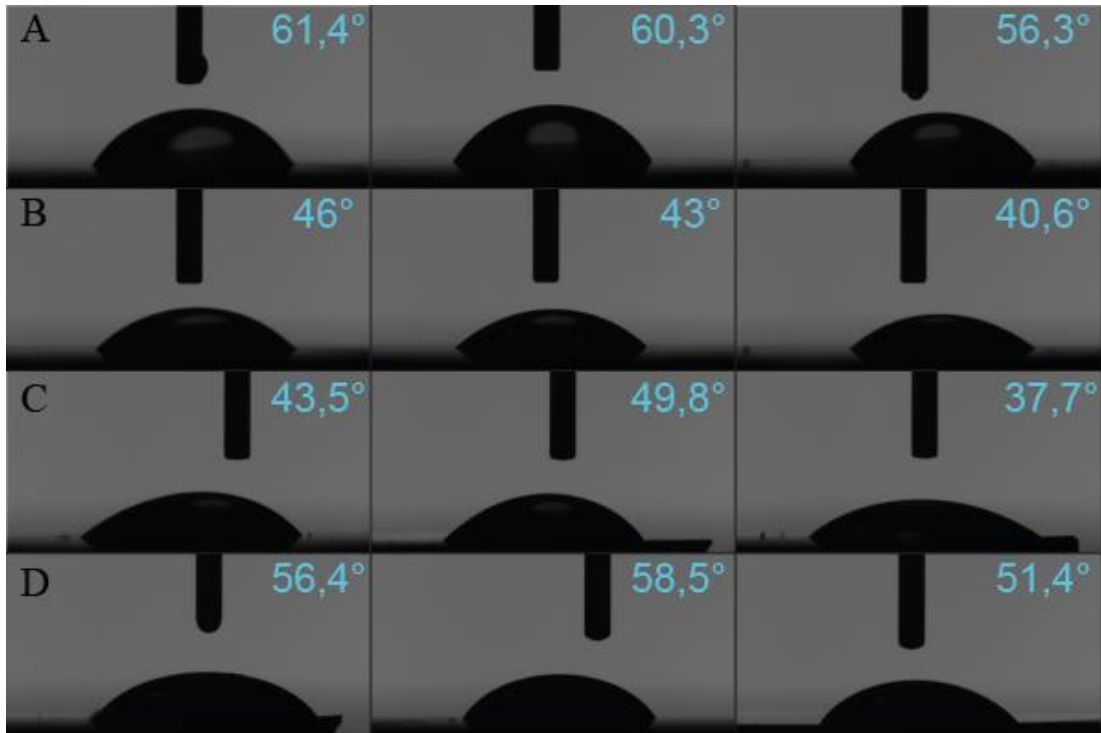


Figura 16. Imágenes del análisis del ángulo de contacto de la cecidia solubilizada en DMSO. Fila A: ángulo de avance, fila B: ángulo de retroceso, fila C: ángulo de contacto con dimetilformamida, fila D: ángulo de contacto con diiodometano.

Tabla 10. Histéresis y energía superficial de cecidia de *Rachiptera limbata* solubilizada en DMSO

Sustrato	Histéresis	ELS OW [mN/m]		
		ELS	Dispersa	Polar
Cecidia en DMSO 1	14,54	46,2	30,91	15,29
Cecidia en DMSO 2	16,77	44,45	27,56	16,89
Cecidia en DMSO 3	15,64	49,97	32,83	17,14

Para llevar a cabo los análisis antibacterianos, se utilizaron como control las placas de “silicon wafer” sin ningún tratamiento. Los resultados que se obtuvieron se muestran en la Tabla 11. En el caso de la cecidia disuelta se observó que tanto para la cepa de *E. coli* y para la de *B. subtilis*, la superficie pareciera promover el crecimiento bacteriano. Sin embargo, para *S. aureus* sí indica inhibición de crecimiento.

Interesantemente, para todas las placas en cuya superficie se encontraba el material de la cecidia cruda, no hubo crecimiento de bacterias.

Tabla 11. Conteo de UFC en placas con cecidia en DMSO y con cecidia cruda

Bacteria	Placa	UFC	UFC/mL
<i>E. coli</i> MG 1655	Control	49	$1,23 \cdot 10^4$
	Cecidia en DMSO 1	798	$2,00 \cdot 10^5$
	Cecidia en DMSO 2	1063	$2,66 \cdot 10^5$
	Cecidia en DMSO 3	2400	$6,00 \cdot 10^5$
	Cecidia cruda 1	0	0
	Cecidia cruda 2	0	0
	Cecidia cruda 3	0	0
<i>B. subtilis</i> DSM 10	Control	1	$2,50 \cdot 10^2$
	Cecidia en DMSO 1	12	$3,00 \cdot 10^3$
	Cecidia en DMSO 2	8	$2,00 \cdot 10^3$
	Cecidia en DMSO 3	7	$1,75 \cdot 10^3$
	Cecidia cruda 1	0	0
	Cecidia cruda 2	0	0
	Cecidia cruda 3	0	0
<i>S. aureus</i> DSM 20231	Control	557	$1,39 \cdot 10^5$
	Cecidia en DMSO 1	111	$2,78 \cdot 10^4$
	Cecidia en DMSO 2	67	$1,68 \cdot 10^4$
	Cecidia en DMSO 3	2	$5,00 \cdot 10^2$
	Cecidia cruda 1	0	0
	Cecidia cruda 2	0	0
	Cecidia cruda 3	0	0

Discusión

Los resultados obtenidos de los experimentos con seda de *P. interpunctella* indican que esta seda está constituida por proteínas, como se ha reportado anteriormente para otras especies de lepidópteros (Sutherland y col., 2010) La gran mayoría de los estudios de seda han sido llevados a cabo en *Bombyx mori*, conocido como el gusano de la seda, con el que se fabrican diferentes telas de amplio uso. Por esta razón, las proteínas que la componen han sido ampliamente estudiadas y es posible hacer una comparación con la seda de *P. interpunctella* con ciertas limitaciones. Ha sido ampliamente reportado que la seda de *B. mori* está constituida por dos tipos de proteínas principales: fibroína y sericina, además de la glicoproteína P25 (Rockwood y col., 2011). La fibroína es el componente estructural que forma una fibra como tal y es el componente insoluble de la seda, mientras que la sericina corresponde a aquella que forma una matriz que une varias fibroínas en una fibra más gruesa o le confiere propiedades adhesivas (Cao & Zhang., 2016).

La seda de *P. interpunctella* puede estar formada principalmente por proteínas similares a las anteriormente mencionadas, ya que se considera cierta homología entre sedas cuando se producen en el mismo tipo de órgano y en la misma posición (Sutherland y col., 2010). Desde este supuesto se evaluarán los resultados obtenidos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que para que distintos aminoácidos o proteínas posean cierta función, deben tener una secuencia que les permita realizarla. Esto es importante ya que es sabido que la secuencia de proteínas o aminoácidos de un material denominado de la misma manera depende de la especie. (Sutherland y col., 2010)

Los ensayos de superficie de la seda de *P. interpunctella* mostraron una alta hidrofobicidad, concordando con la descripción de otras sedas y con la composición esperada. Presenta una histéresis baja, indicando una topografía y composición

química homogénea en su superficie, además de una energía libre superficial alta, lo que indica que existen interacciones intermoleculares fuertes.

Como se mencionó anteriormente, la fibroína es insoluble, por lo tanto, los componentes extraídos no pueden provenir de esta fuente. Es decir, los extractos de seda evaluados podrían corresponder a componentes de sericina y de P25. La sericina está mayoritariamente compuesta por serina, siendo aproximadamente un 30% de su masa, por lo tanto, es probable que la actividad de sus extractos se deba a la acción de esta, además de los demás aminoácidos que la componen.

Es probable que al someter la seda de *P. interpunctella* a extracción, algún elemento esté reaccionando de forma ineficiente con el solvente, ya que en ambos extractos el análisis IR mostró la presencia de un grupo nitro que no está presente en aminoácidos.

En superficie, “Spin Plodia” y el extracto en acetona mostraron un comportamiento similar. Sin embargo, “Spin Plodia” presenta una mayor histéresis, indicando la presencia de varios tipos distintos de grupos químicos en su superficie y, probablemente, una topografía irregular. Esto es acompañado por una baja energía libre superficial, ya que, al tener tantos grupos distintos, la interacción entre ellos se ve redistribuída y probablemente existe una mayor interacción con la interface gaseosa con la que la superficie está en contacto. Por el contrario, el extracto en acetona presentó una menor histéresis y una energía libre superficial alta. Sin embargo, tal como se mencionó anteriormente, uno de los triplicados obtuvo una diferencia significativa tanto en histéresis como en energía libre superficial, por lo que, para poder estar seguros de los resultados, se deben realizar más repeticiones del experimento.

Los resultados obtenidos para la caracterización de la cecidia de *R. limbata* indican que al menos uno de sus principales componentes corresponde a una o más glicoproteínas, descartándose totalmente la presencia de un polisacárido lineal. Se

proponen realizar más ensayos cualitativos que incluyan detectar la presencia de actividad enzimática. enzimas.

Los espectros IR obtenidos muestran grupos típicos de una proteína y de azúcares, en concordancia con los ensayos cualitativos.

Tanto de forma empírica como en el análisis TGA, se observa que el material que compone la cecidia retiene agua. Esta cualidad es la que pudo haber afectado la medición en el análisis de RMN, ya que no muestra ningún grupo más además de una gran señal de hidroxilo. Esto pudo haber sucedido debido a que la muestra utilizada no fue deshidratada antes de solubilizar, impidiendo así diferenciar otras señales. Por esta razón, es necesario realizar nuevos análisis de este tipo creando un protocolo que utilice la información de TGA obtenido para poder deshidratar la cecidia sin afectar su composición. Respecto al análisis de TGA, se propone volver a realizarlo en un equipo especializado, ya que el realizado en este trabajo acumula mucho error al tener la balanza y la placa calefactora en dos equipos separados, además de que de esta forma se podrán evaluar distintos componentes como carbohidratos y proteínas que se degradan a mayores temperaturas (Kohata y col., 1993)

Las propiedades superficiales observadas para la cecidia soluble en DMSO indican una histéresis baja, a pesar de estar compuesta tanto por componentes dispersas y polares significativas. Esto indica una alta homogeneidad no sólo química sino también topográfica en la superficie. Estos datos fueron acompañados de una alta energía libre superficial.

Como se había mencionado previamente, las propiedades superficiales de la cecidia cruda no pudieron ser evaluadas debido a su alta capacidad de absorber agua, hidratándose rápidamente, lo que hacía desaparecer la gota.

Finalmente, los análisis antibacterianos mostraron un comportamiento contrario a lo descrito anteriormente, además de no ser un comportamiento homogéneo.

Prácticamente ninguna superficie con extracto en acetona inhibió el crecimiento bacteriano, con algunas excepciones. El extracto en acetato de etilo también presentó un comportamiento no consistente, sin embargo, mostró mayor actividad bactericida. Estos resultados podrían explicarse en el caso de que los componentes simplemente perdieran sus propiedades bactericidas al estar adheridas a una superficie, teniendo que interactuar más libremente con las bacterias en solución. Además de esta posibilidad, también es posible que existan otras variables que estén afectando la actividad antibacterial, como por ejemplo el método de extracción (Chlapanidas y col., 2013), la degradación en el tiempo, el espesor de la capa superficial y la desecación. Esta última puede estar afectando a las muestras más antiguas que se almacenaron en desecadoras. Para una mejor observación de los datos obtenidos, en la Figura 17 se presentan las muestras que tuvieron actividad bactericida para cada bacteria utilizada.

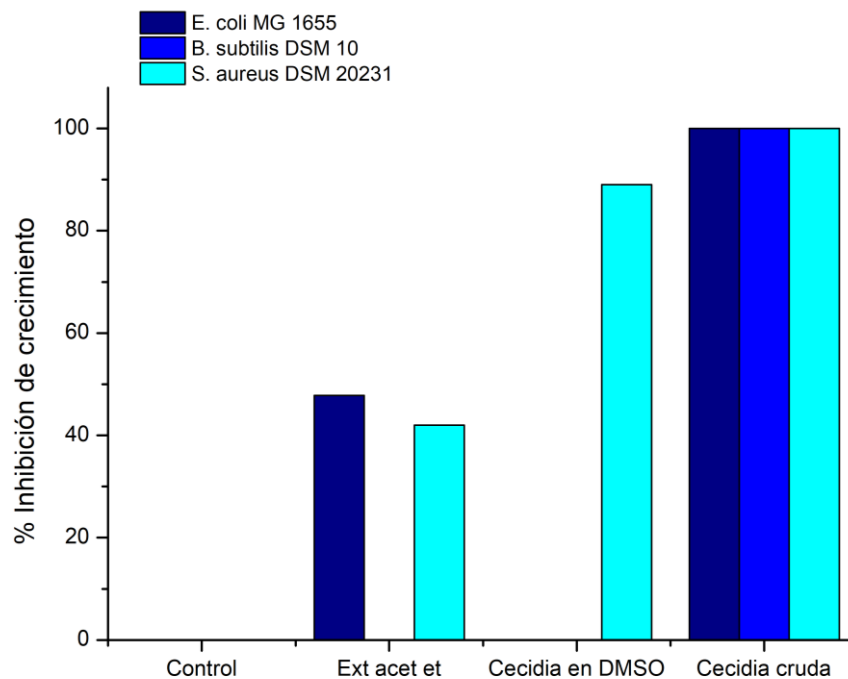


Figura 17. Promedio de inhibición de crecimiento de cada muestra para cada bacteria.

Se puede observar que *E. coli* MG 1655 y *S. aureus* DSM 20231 fueron más susceptibles a la actividad bactericida del extracto en acetato de etilo. Paralelamente,

en términos generales, la superficie con cecidia de *R. limbata* solubilizada en DMSO inhibió solamente el crecimiento de *S. aureus* de manera considerable. En el resto de las muestras no se observó inhibición alguna, por el contrario, esta superficie pareciera promover el crecimiento bacteriano tanto en *E. coli* como en *B. subtilis*. Esto puede deberse a que, al estar la glicoproteína disuelta, ésta probablemente se adhirió a la superficie de forma desplegada. De esta forma, puede que las bacterias en su superficie la hayan utilizado fácilmente como fuente de carbono, tanto para una gram negativa (*E. coli*) como para una gram positiva (*B. subtilis*). El hecho de que se haya inhibido el crecimiento de *S. aureus*, que también es una gram positiva, podría indicar una interacción más específica entre ésta y la superficie.

Interesantemente, en todas las muestras utilizando la cecidia cruda, es decir, sin ningún tratamiento más que la limpieza, hubo un 100% de inhibición de las tres bacterias utilizadas. Esto podría explicarse por la estructura que mantiene al no estar solubilizada.

También es posible que no se hayan observado UFCs debido a que las bacterias hayan sido retenidas físicamente, de alguna manera, dentro de la cecidia. Sin embargo, esto parece improbable ya que la solución de arrastre utilizada es una solución acuosa y el material se hidrata, por lo tanto, se hincha fácilmente, de modo que se hubiesen liberado suficientes bacterias para poder contabilizarlas.

Para analizar mejor el mecanismo de inhibición de la cecidia cruda propongo observar mediante microscopía electrónica de barrido el estado de la superficie de las placas con la cecidia cruda. Paralelamente se pueden realizar ensayos que permitan detectar lisis celular, como, por ejemplo, un ensayo de presencia de ATP.

Finalmente, en términos generales es necesario repetir los ensayos antibacterianos de todas las muestras, agregando variables como el método de extracción y tiempo de preparada la muestra. Además, se propone agregar de manera complementaria al

protocolo de conteo de UFCs, mediciones de OD a 600 nm para comparar el entre ambos el porcentaje de inhibición obtenido.

Conclusiones

Se comprobó que tanto los extractos de *P. interpunctella* y la cecidia de *R. limbata* poseen características que permiten proponer una potencial aplicación biotecnológica.

A pesar de que se esperaba una mayor actividad bactericida, los extractos de seda siguen teniendo potencial para ello. Además, se demostró que la cecidia está formada por una o más glicoproteínas, y posee una alta capacidad antimicrobiana.

Los resultados de las muestras que, en vez de inhibir, promovieron significativamente el crecimiento microbiano, también podrían tener un potencial biotecnológico en otras áreas en que sea esta la necesidad. Como ejemplo de esto último se propone la biorremediación mediada por microorganismos.

Finalmente, ya que las muestras están evaluadas en superficie, todos los resultados presentados pueden ser utilizados para el desarrollo de nuevos materiales.

Bibliografía

Agarwal, N., Nair, M. S., Mazumder, A., & Poluri, K. M. (2018). Characterization of Nanomaterials Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Characterization of Nanomaterials*, 61-101

Aljaro, E., Frias, D., Montenegro, G. (1984). Life cycle of *Rachiptera limbata* (Diptera, Tephritidae) and its relationship with *Baccharis linearis* (Compositae). *Revista Chilena de Historia Natural*, 123-129.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254.

Bernabé, P., Becherán, L., Cabrera-Barjas, G., Nestic, A., Alburquenque, C., Tapia, C. V., ... De Los Ríos, P. (2020). Chilean crab (*Aegla cholchol*) as a new source of chitin and chitosan with antifungal properties against *Candida* spp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 962–975.

Caballero, E., Flores, A., & Olivares, A. (2021). Sustainable exploitation of macroalgae species from Chilean coast: Characterization and food applications. *Algal Research*, 57, 102349.

Cao, T.-T., & Zhang, Y.-Q. (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.

Chlapanidas, T., Faragò, S., Lucconi, G., Perteghella, S., Galuzzi, M., Mantelli, M., Faustini, M. (2013). Sericins exhibit ROS-scavenging, anti-tyrosinase, anti-elastase, and in vitro immunomodulatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, 47–56.

Davison, S., White, M., Pahl, S., Taylor, T., Fielding, K., Roberts, B., Fleming, L. (2021). Public concern about, and desire for research into, the human health effects of marine plastic pollution: Results from a 15-country survey across Europe and Australia. *Global Environmental Change*, 69, 102309.

Ding, S., Wang, Y., Li, J., & Chen, S. (2020). Progress and prospects in chitosan derivatives: modification strategies and medical applications. *Journal of Materials Science & Technology*.

Gao, L., & McCarthy, T. J. (2006). Contact Angle Hysteresis Explained. *Langmuir*, 22(14), 6234–6237.

Grundke, K., Pöschel, K., Synytska, A., Frenzel, R., Drechsler, A., Nitschke, M., Cordeiro, A., Uhlmann, P., & Welzel, P. (2015). Experimental studies of contact angle hysteresis phenomena on polymer surfaces — Toward the understanding and control of wettability for different applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, 350–376.

Kohata, S., Jyodoi, K., & Ohyoshi, A. (1993). Thermal decomposition of cyclodextrins (α -, β -, γ -, and modified β -CyD) and of metal—(β -CyD) complexes in the solid phase. *Thermochimica Acta*, 217, 187–198.

Lavers, J. L., Bond, A. L., & Rolsky, C. (2022). Far from a distraction: Plastic pollution and the planetary emergency. *Biological Conservation*, 272, 109655.

Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126.

- Léniz Martelli, S (2017). Análisis de rasgos fisiológicos y de historia de vida de *Rachiptera limbata* (Diptera: Tephritidae), a lo largo de un gradiente latitudinal. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas)-Universidad de Chile, 2017.
- Li, L., Lei, J., Wu L., Pan F. (2021). 2 - Spectroscopic ellipsometry. Mahmood Aliofkhaezai, Nasar Ali, Mircea Chipara, Nadhira Bensaada Laidani, Jeff Th.M. De Hosson (eds.), *Handbook of Modern Coating Technologies*, volume 2, pp 45-83. Elsevier, Amsterdam
- Milutinović, M., Čurović, D., Nikodijević, D., Vukajlović, F., Predojević, D., Marković, S., & B. Pešić, S. (2019). The silk of *Plodia interpunctella* as a potential biomaterial and its cytotoxic effect on cancer cells. *Animal Biotechnology*, 1–8.
- Mohandass, S., Arthur, F. H., Zhu, K. Y., & Throne, J. E. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 43(3), 302–311.
- Orava, J., Kohoutek, T., & Wagner, T. (2014). Deposition techniques for chalcogenide thin films. *Chalcogenide Glasses*, 265–309.
- Pakzad, Y., Fathi, M., & Mozafari, M. (2019). Characterization methodologies of functional polymers. *Advanced Functional Polymers for Biomedical Applications*, 359–381.
- Park, S. & Seo, M.-K. (2011) *Interface science and composites* [electronic resource]. 1st ed. Amsterdam: Academic Press, 1-57.
- Pino-Ramos, V. H., Meléndez-Ortiz, H. I., Ramos-Ballesteros, A., & Bucio, E. (2018). Radiation Grafting of Biopolymers and Synthetic Polymers. *Biopolymer Grafting: Applications*, 205–250.
- Rahnamaeian, M., Cytryńska, M., Zdybicka-Barabas, A., Dobszlaff, K., Wiesner, J., Twyman, R. M., Zuchner, T., Sadd, B. M., Regoes, R. R., Schmid-Hempel, P., & Vilcinskas, A. (2015). Insect antimicrobial peptides show potentiating functional interactions against Gram-negative bacteria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1806), 20150293.
- Rai, P. K., Sonne, C., Song, H., & Kim, K.-H. (2022). Plastic wastes in the time of COVID-19: Their environmental hazards and implications for sustainable energy resilience and circular bio-economies. *Science of The Total Environment*, 159880.
- Rajkhowa, R. (2009). Recent Innovations in Silk Biomaterials. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 2(4), 202–213.
- Rockwood, D. N., Preda, R. C., Yücel, T., Wang, X., Lovett, M. L., & Kaplan, D. L. (2011). Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nature Protocols*, 6(10), 1612–1631.
- Sahayaraj K, Saranya B, Sayed S, Estelle LYL, Madasamy K. (2021) Biofoam of Spittlebug, *Poophilus costalis* (Walker): Preferential Sites, Temperature Regulation, Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Insects*. Apr 12;12(4):340.
- Schroeder, T. B. H., Houghtaling, J., Wilts, B. D., & Mayer, M. (2018). It's Not a Bug, It's a Feature: Functional Materials in Insects. *Advanced Materials*, 30(19), 1705322.
- Snively, C., & Koenig, J. (2017). IR and Raman Spectroscopies, Polymer Applications. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 365–371.
- Stefanović, O., Vukajlović, F., Mladenović, T., Predojević, D., Čomić, L., & B. Pešić, S. (2020). Antimicrobial activity of Indian meal moth silk, *Plodia interpunctella*

Sutherland, T. D., Young, J. H., Weisman, S., Hayashi, C. Y., & Merritt, D. J. (2010). Insect Silk: One Name, Many Materials. *Annual Review of Entomology*, 55(1), 171–188.

Tamayo L, Santana P, Forero JC, Leal M, González N, Díaz M, Guiliani N, Hamm E, Urzúa M (2022). Coaxial fibers of poly(styrene-co-maleic anhydride)/poly(vinyl alcohol) for wound dressing applications: Dual and sustained delivery of bioactive agents promoting fibroblast proliferation with reduced cell adherence. *Int J Pharm.* Jan 5; 611:121292.

Udayakumar, G. P., Muthusamy, S., Selvaganesh, B., Sivarajasekar, N., Rambabu, K., Sivamani, S., Hosseini-Bandegharai, A. (2021). Ecofriendly biopolymers and composites: Preparation and their applications in water-treatment. *Biotechnology Advances*, 52, 107815.

Zhao, J. R., Zheng, R., Tang, J., Sun, H. J., & Wang, J. (2022). A mini-review on building insulation materials from perspective of plastic pollution: Current issues and natural fibres as a possible solution. *Journal of Hazardous Materials*, 438, 129449

Anexo

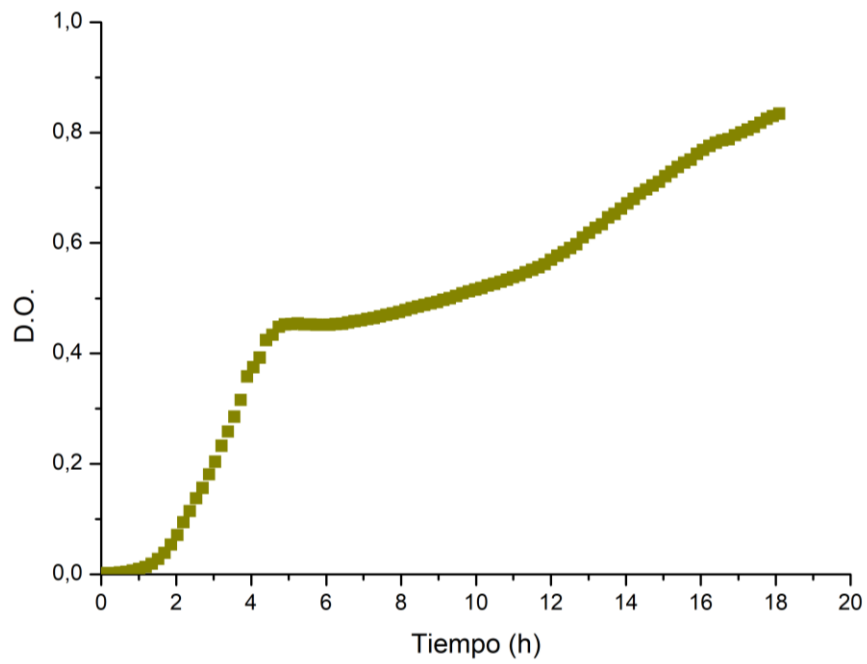


Figura A1. Curva de crecimiento de *E. coli* MG 1655

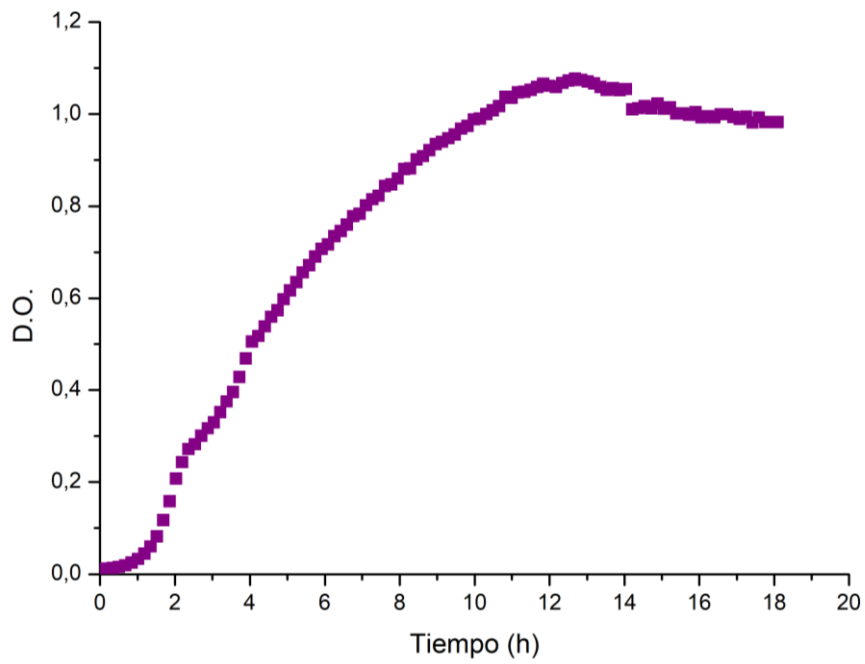


Figura A2. Curva de crecimiento *B. subtilis* DSM 10

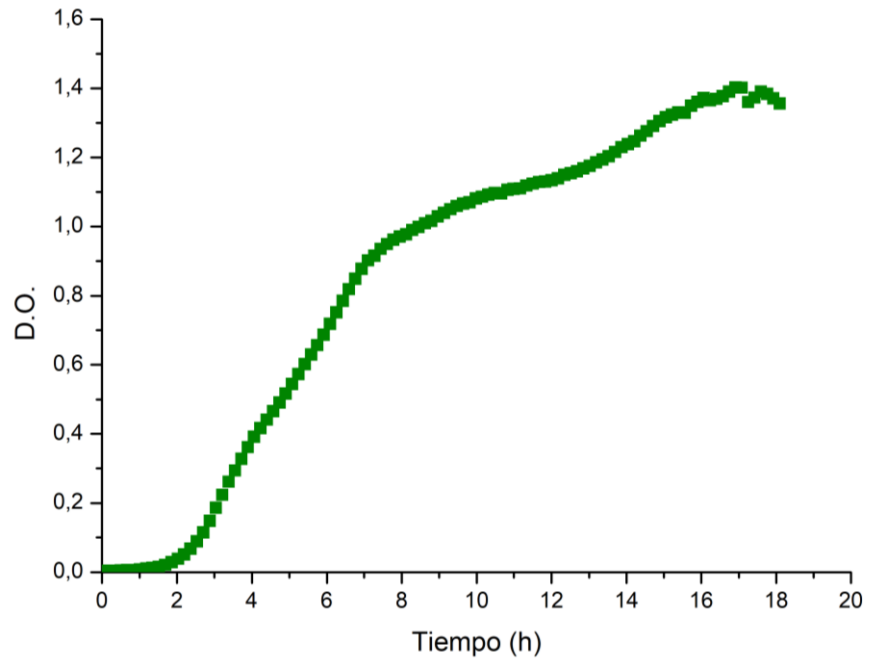


Figura A3. Curva de crecimiento *S. aureus* DSM 20231