

RESISTENCIA MECÁNICA DE LA SEDA DE ARAÑA *Argiope lobata* OBTENIDA MEDIANTE HILADO FORZOSO**J. Pérez Rigueiro, M. Elices, J. Antón, G.V. Guinea****Departamento de Ciencia de Materiales. ETSI Caminos, Canales y Puertos,
Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid**

Resumen. Se han caracterizado por primera vez las propiedades mecánicas y el comportamiento a fractura de la seda de araña *Argiope lobata*. La seda se ha obtenido de un único individuo tanto mediante la técnica de hilado forzoso, como a partir de la telaraña. Se han comparado las propiedades de hilos obtenidos mediante las dos técnicas, extendiéndose la comparación a hilos obtenidos de una especie diferente (*Argiope trifasciata*). Los hilos obtenidos mediante hilado forzoso son más rígidos que los obtenidos a partir de la telaraña, presentando unas curvas tensión-deformación similares a los obtenidos de la especie *Argiope trifasciata*. El análisis fractográfico ha permitido la identificación de una estructura del tipo núcleo-piel similar a la observada en la seda de otras especies.

Abstract. The tensile properties and the fracture behaviour of *Argiope lobata* spider silk have been characterized for the first time. Silk fibres have been obtained from a single spider either by forced silking or by retrieving them from the web. Tensile properties of fibres obtained by both silking techniques have been compared. The fibres have also been compared with fibres obtained from a different species (*Argiope trifasciata*). Forcibly silked fibres are stiffer than those retrieved from the web, and their stress-strain curves are similar to those obtained from *Argiope trifasciata* spiders. Fractographic analysis has allowed the identification of a skin-core structure similar to that observed in other spider species.

1. INTRODUCCIÓN

El término seda se aplica a fibras hiladas a partir de disoluciones proteicas en algunas especies de Artrópodos. Las principales clases de organismos productores de seda pertenecen al orden de los Lepidópteros (clase Insectos) y al orden de los Araneidos (clase Arácnidos) [1,2], habiéndose alcanzado el mayor grado de especialización en algunas arañas, que poseen capacidad de producir hasta siete tipos diferentes de seda.

Como resultado de esta especialización, las arañas han podido optimizar las propiedades de cada tipo de seda para adaptarlas a su función: captura de presas, protección de la puesta o prevención de caídas accidentales [3]. La optimización de sus propiedades se pone de manifiesto singularmente en la seda producida en la glándula ampollácea mayor, que la araña utiliza como hilo de seguridad y para construir la estructura de la telaraña: su utilización para ambas funciones es posible debido a una combinación de resistencia mecánica y tenacidad no igualada por ningún otro material natural ni artificial [4].

Esta inusual combinación de alta resistencia mecánica y elevada tenacidad se manifiesta en un abanico de diferentes curvas tensión-deformación, que aparecen incluso cuando se obtiene hilo de un único individuo bajo condiciones nominalmente similares [5]. Se ha

sugerido que la araña es capaz de controlar las propiedades mecánicas del hilo que produce [6], adaptándolas a sus requerimientos ambientales inmediatos, dando lugar a una variabilidad denominada intraindividual [7] que parece depender fundamentalmente de las condiciones de hilado del material. Por otro lado, se ha encontrado que las sedas producidas por diferentes especies de arañas presentan diferentes propiedades mecánicas, asumiéndose que cada especie ha optimizado su seda adaptándola al nicho ecológico que ocupa. La diferencia de las propiedades mecánicas entre arañas de especies diferentes se denomina interespecífica [7] y se relaciona con diferencias en la composición de las proteínas que componen la seda.

El interés por la posibilidad de hilar fibras con diferentes propiedades cuya composición esté basada en proteínas de diferentes especies de arañas ha aumentado como consecuencia de la síntesis de fragmentos cortos de la secuencia de la proteína spidroína 1 [8] de la araña de jardín *Araneus diadematus*, utilizando como sistema de expresión cultivos celulares de mamíferos, y su posterior hilado en fibras [9].

En este contexto, la existencia de más de 30000 especies de arañas [10] supone un reservorio de materiales con propiedades prometedoras de los

cuales menos de una decena se han caracterizado con algún detalle.

En este contexto, el presente trabajo presenta la primera caracterización de las propiedades mecánicas de la seda de la especie de araña *Argiope lobata* (*Argiopidae*). *A. lobata* es una especie de araña de jardín característica del Levante español, que teje telas orbiculares de hasta un metro de longitud. La elección de esta especie está motivada por su parentesco con la araña *Argiope trifasciata* cuya seda ha sido muy bien caracterizada en una serie de trabajos anteriores [5,6,11].

Se han obtenido fibras mediante la técnica de hilado forzoso y, alternativamente, a partir de la telaraña. Las propiedades mecánicas de las fibras se han caracterizado mediante ensayos de tracción, que han permitido la determinación de las curvas fuerza-desplazamiento de la seda, convirtiéndose en curvas tensión-deformación mediante la medida de la sección transversal en un microscopio electrónico de barrido. Se han comparado las propiedades mecánicas de las muestras obtenidas a partir de las dos técnicas entre sí, y con seda obtenida de la especie emparentada *Argiope trifasciata*. Finalmente se han preparada muestras para el análisis fractográfico que permitiesen simultáneamente registrar la curva tensión-deformación y recuperar la superficie de fractura.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La seda de araña utilizada en este estudio se extrajo principalmente mediante la técnica de hilado forzoso de un individuo de la especie *Argiope lobata* (*Argiopidae*). El procedimiento de hilado forzoso comienza con la inmovilización de la araña, para lo cual se introduce el animal en una bolsa de plástico que se fija con alfileres sobre una superficie de poliuretano expandido. La bolsa se perfora para permitir el acceso a las hilanderas, de las que se obtiene el primer tramo de seda mediante el paso repetido de una tira de cinta adhesiva. El extremo de la seda se fija sobre un cilindro y la extracción se consigue mediante un movimiento de rotación del cilindro combinado con un movimiento de traslación a lo largo de su eje [12]. Con este procedimiento se ha extraído seda a una velocidad de 1 cm/s con una distancia entre hilanderas y cilindro de 10 cm. En cada proceso de hilado se han obtenido aproximadamente 6 metros de seda.

Los hilos de la telaraña se tomaron de los vientos que sujetan la telaraña a los elementos fijos que la rodean. Los vientos están constituidos exclusivamente por hilo de la glándula ampollácea mayor y, a diferencia de los otros elementos de la telaraña (radios e hilos del marco), es posible obtener muestras con longitudes del orden de decenas de mm, al no presentar elementos de unión en sus regiones intermedias con otros elementos de la telaraña [11].

Para la realización de los ensayos de tracción se montaron los hilos de seda sobre bastidores de cartón perforados. La longitud base utilizada ha sido $L_0 = 20$ mm. Las curvas fuerza-desplazamiento se obtuvieron a partir de ensayos de tracción en una máquina Instron 4411 a una velocidad de deformación de 0.0002 s^{-1} . En lugar de una célula de carga, la fuerza sobre el hilo se midió con una balanza AND 1200 G (resolución ± 10 mg). Como medida del desplazamiento se utilizó el desplazamiento del bastidor de la máquina, ya que se ha estimado que la flexibilidad del hilo es unas 1000 veces mayor que la del resto del dispositivo [13].

Algunas muestras fueron recuperadas después del ensayo de tracción, metalizadas con Au-Pd y observadas en un microscopio electrónico de barrido JEOL 6300 para medir la sección transversal del hilo (condiciones de observación: $V = 10$ kV, $I = 0.6$ nA). Las curvas fuerza-desplazamiento se convirtieron en curvas tensión-deformación mediante el uso de las correspondientes secciones transversales.

Las probetas para el análisis fractográfico se montaron sobre bastidores de cartón siguiendo un procedimiento similar al de las probetas de tracción. La principal dificultad del análisis fractográfico proviene de que la combinación de la elevada energía mecánica almacenada en el material durante el ensayo y el pequeño tamaño de las probetas imposibilita la posterior recuperación de las superficies de fractura. Consecuentemente fue necesario modificar el diseño de las probetas utilizadas para los ensayos de tracción de modo que se consiguiese la recuperación de las superficies de fractura.

La localización de la zona donde se produce la fractura se indujo mediante irradiación con luz ultravioleta. Estudios previos [12] han determinado que la irradiación con luz UV no modifica apreciablemente la curva tensión-deformación, excepto por la disminución de la tensión de rotura. Las muestras se cubrieron con una pantalla que únicamente permite la irradiación de 2 mm de la fibra. En los extremos de la zona irradiada se colocaron sendos marcadores de cinta adhesiva para permitir la recuperación de los extremos después de la rotura (Figura 1). La irradiación se ha realizado con una lámpara ultravioleta Vilver Lourmat 215 LC de 15 W con una longitud de onda de $\lambda = 254$ nm. La distancia entre la lámpara y los hilos fue de 35 mm. El periodo de irradiación se fijó en 2 horas como un compromiso entre conseguir la localización del daño y una modificación mínima de las propiedades de las probetas. Tiempos inferiores de irradiación provocaron que las probetas rompieran por regiones diferentes de la irradiada.

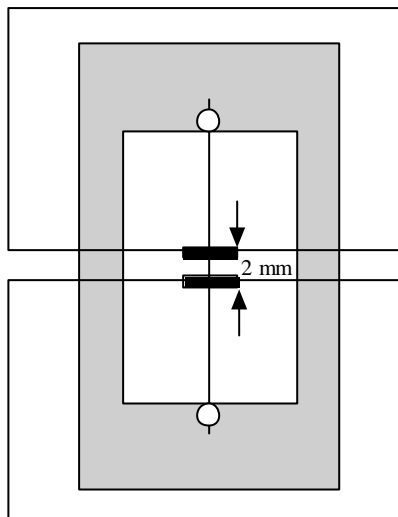


Figura 1. Esquema de las muestras utilizadas para el análisis fractográfico. La irradiación se produce exclusivamente en la región de 2 mm limitada por los marcadores.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Curvas tensión-deformación.

La Figura 2 muestra una selección de las curvas tensión-deformación obtenidas de un total de 14 ensayos realizados.

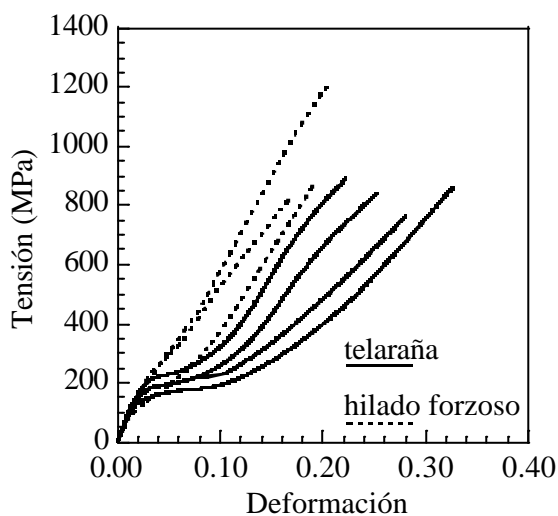


Figura 2. Curvas tensión-deformación de la seda de la glándula ampollácea mayor de la araña *Argiope lobata*. Los hilos obtenidos a partir de la telaraña y mediante hilado forzoso se representan en trazo continuo y discontinuo, respectivamente.

Tanto para los hilos obtenidos de la telaraña, como para los hilos obtenidos mediante hilado forzoso, se han representado las curvas correspondientes a los hilos más flexibles (menor tensión para una deformación dada) y más rígidos (mayor tensión para una deformación dada).

En la Figura 2 se observa que los hilos obtenidos de la telaraña presentan una mayor variabilidad y una mayor deformación hasta rotura, si bien la rotura se produce generalmente a tensiones menores. Sin embargo, los hilos más rígidos obtenidos a partir de la telaraña presentan unas curvas tensión-deformación que solapan con los hilos más flexibles obtenidos mediante hilado forzoso

Como se ha indicado en la Introducción el estudio comparado de hilos producidos por diferentes especies ilustra el rango de propiedades que pueden exhibir los hilos de seda. En la Figura 3 se comparan curvas tensión-deformación de hilos producidos por la araña *A. lobata* con hilos producidos por la araña *A. trifasciata*. Las curvas tensión-deformación de los hilos de *A. trifasciata* representados corresponden a los extremos máximo y mínimo de los hilos obtenidos a partir de la telaraña. Se ha representando también una curva tensión-deformación de un hilo obtenido a partir de hilado forzoso. En este caso se ha representado una única curva debido a la gran reproducibilidad exhibida por los hilos de *A. trifasciata* obtenidos mediante esta técnica [14].

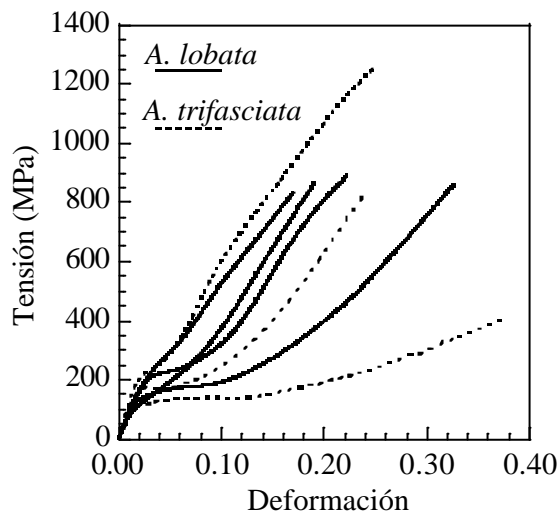


Figura 3. Comparación de las curvas tensión-deformación de hilos de seda de las especies *A. lobata* (líneas continuas) y *A. trifasciata* (líneas discontinuas). El hilo que presenta la curva más rígida de *A. trifasciata* ha sido obtenido mediante hilado forzoso. Los hilos restantes de *A. trifasciata* han sido obtenidos a partir de la telaraña.

Los parámetros mecánicos de los hilos de *A. lobata* se resumen en la Tabla 1, donde se comparan con los valores obtenidos a partir de hilos de *A. trifasciata*. Los valores indicados para la especie *A. trifasciata* corresponden a valores medios previamente presentados tanto de hilos obtenidos a partir de la telaraña [11], como mediante hilado forzoso [14].

Tabla 1. Parámetros mecánicos de los hilos de *A. lobata* (E , módulo de elasticidad; σ_y , límite elástico convencional al 0.2%; σ_u , tensión de rotura; ϵ_u , deformación en rotura). Los valores de los parámetros mecánicos de hilos de *A. trifasciata* obtenidos a partir de la telaraña se han subrayado para distinguirlos de los valores encontrados en muestras obtenidas mediante hilado forzoso.

Especie	E (GPa)	σ_y (MPa)	σ_u (MPa)	ϵ_u (%)
<i>Argiope lobata</i>	7.0±0.4	130±10	770±40	22±2
<i>Argiope trifasciata</i>	7±12	80±150	<u>600±1230</u>	20±30

En la Figura 3 y en la Tabla 1 se observa cómo los hilos de la araña *A. lobata* presentan unas propiedades más uniformes que los hilos obtenidos a partir de la araña *A. trifasciata* independientemente del procedimiento de obtención. De hecho, los hilos de *A. trifasciata* obtenidos mediante hilado forzoso son sensiblemente más rígidos que cualquiera de los hilos obtenidos a partir de la telaraña. Por otro lado, las curvas tensión-deformación de los hilos de *A. lobata* aparecen situadas en la región comprendida entre los hilos más rígidos obtenidos a partir de la telaraña de *A. trifasciata* y los hilos obtenidos a partir de esta especie mediante hilado forzoso, si bien no llegan a alcanzar la elevada tensión de rotura de estos últimos.

3.2. Análisis Fractográfico.

El estudio de las propiedades mecánicas se ha completado con el análisis fractográfico de los hilos de *A. lobata*. Pese a la optimización del procedimiento de recuperación de las superficies de fractura, solamente una pequeña fracción de las superficies recuperadas permiten una observación suficientemente detallada en el microscopio electrónico de barrido. La principal dificultad en la observación proviene de la necesidad de que la superficie de fractura deba situarse aproximadamente perpendicular al eje del microscopio, lo que sucede en un pequeño porcentaje del total de superficies recuperadas.

La necesidad de emplear gran cantidad de material para este estudio ha conducido a utilizar únicamente seda obtenida mediante hilado forzoso, debido a que esta técnica permite conseguir grandes cantidades de material en tiempos razonables. Por otro lado, se observa en la Figura 2 que las curvas tensión-deformación de los hilos obtenidos mediante hilado forzoso se solapan con las curvas de los hilos obtenidos a partir de la telaraña, por lo que los

resultados obtenidos pueden ser generalizados independientemente de la técnica de recolección del hilo.

Las Figuras 4a y 4b muestran las superficies de fractura de dos hilos de *A. lobata*. En ambas Figuras se aprecia una estructura de núcleo y piel, observándose también una microestructura globular que ha sido descrita previamente tanto para *A. trifasciata* [11,15], como para la seda del gusano de seda (*Bombyx mori*) [15].

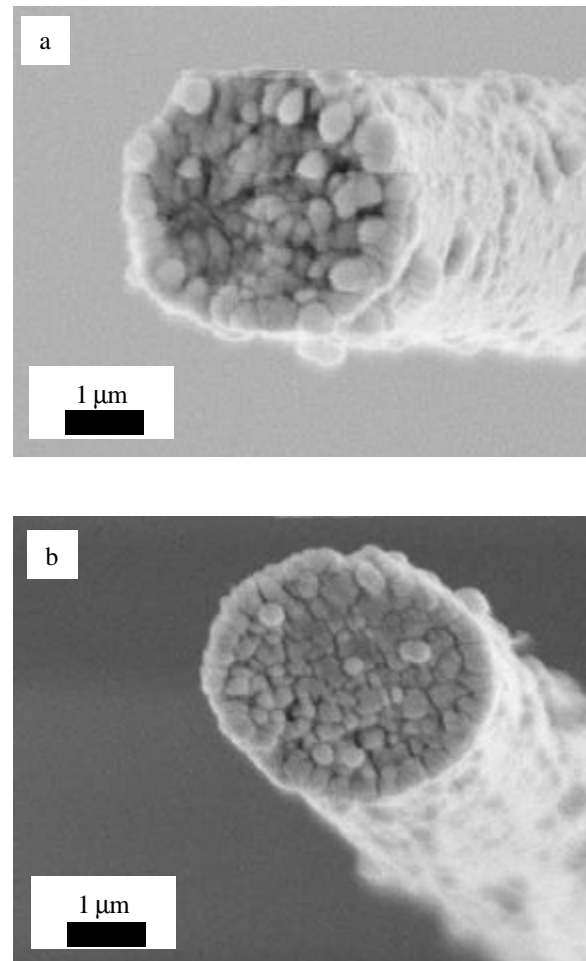


Figura 4. Superficies de fractura de dos hilos de *A. lobata*. Las tensiones a las que se produjo la rotura son a) 679 MPa y b) 834 MPa.

La posibilidad de disponer simultáneamente de la curva tensión-deformación y de la superficie de fractura del hilo abre la posibilidad de profundizar en el comportamiento a fractura de este material. En ninguna de las dos imágenes se observa ningún detalle que pueda ser asociado directamente con el origen de la grieta. Sin embargo, se observa que el hilo que presenta una menor tensión de rotura (Figura 4a) también presenta una microestructura con unos glóbulos de mayor tamaño, lo que puede sugerir que

el tamaño de los glóbulos está relacionado con el defecto que da origen a la grieta.

4. CONCLUSIONES

Los hilos de *A. lobata* obtenidos mediante hilado forzoso son generalmente más rígidos y presentan mayor tensión de rotura y menor deformación a rotura que la mayor parte de los hilos obtenidos a partir de la telaraña, en concordancia con los resultados previamente obtenidos con seda de *A. trifasciata*.

Los hilos obtenidos mediante hilado forzoso de ambas especies presentan unas curvas tensión-deformación similares. Sin embargo, los hilos obtenidos de la telaraña de *A. lobata* son más rígidos y presentan menores deformaciones a rotura que los hilos correspondientes de *A. trifasciata*.

Por último, los hilos de *A. lobata* presentan una estructura núcleo-piel con una estructura globular. Los resultados preliminares obtenidos en este trabajo parecen sugerir una relación entre el tamaño de los glóbulos observados en las superficies de fractura y las tensiones de rotura que será necesario explorar en el futuro.

5. AGRADECIMIENTOS

El individuo de *A. lobata* empleado en este estudio fue obtenido por cortesía de Jesús Miñano (Universidad de Murcia). Los autores desean agradecer a Oscar Campos y Pablo García (Naturaleza Misteriosa, Parque Zoológico de Madrid) el cuidado de las arañas. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (MAT 2000-1334) y por la Comunidad Autónoma de Madrid (O7N/0001/2002).

6. REFERENCIAS

- [1] Kaplan D.L., Lombardi S.J., Muller W.S y Fossey S.A., "Silks" en "Biomaterials", Byrom D. (Ed.), Stockton Press, New York, pp. 1-53 (1991).
- [2] Int. J. Biol. Macromol., 24, (1999).
- [3] Vollrath F., "Telas y sedas de araña", Investigación y Ciencia, Mayo 1992, 52-59.
- [4] Viney C., "Silk Fibers: Origins, Nature and Consequences of Structure" en "Structural Biological Materials", Elices M. (Ed.), Pergamon Materials Science, Amsterdam, pp. 293-334 (2000).
- [5] Garrido M.A., Elices M., Viney C. y Pérez-Rigueiro J., "The variability and interdependence of spider drag line tensile properties", Polymer, 43, 4495-4502 (2002).
- [6] Garrido M.A., Elices M., Viney C. y Pérez-Rigueiro J., "Active control of spider silk strength: comparison of drag line spun on vertical and horizontal surfaces", Polymer, 43, 1537-1540 (2002).
- [7] Madsen B., Shao Z.Z. y Vollrath F., "Variability in the mechanical properties of spider silks on three levels: interspecific, intraspecific and intraindividual", Int. J. Biol. Macromol., 24, 301-306 (1999).
- [8] Mello C. M., Senecal K., Yeung B., Vouros P. y Kaplan D., "Initial characterization of *Nephila clavipes* dragline protein" en "Silk Polymers. Materials Science and Biotechnology" Kaplan D., Adams W.W., Farmer B., Viney C. (Eds.), ACS Symposium Series 544, pp. 67-79 (1994).
- [9] Lazaris A., Arcidiacono S., Huang Y., Zhou J.-F., Duguay F., Chretien N., Welsh E.A., Soares J.W. y Karatzas C.N., "Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells", Science, 295, 472-476 (2002).
- [10] Zemlin J.C., Technical report 69-29-CM (AD 684333). U.S. Army Natick Laboratories, Natick, MA (1968).
- [11] Pérez-Rigueiro J., Elices M., Llorca J. y Viney C., "Tensile properties of *Argiope trifasciata* drag line silk obtained from the spider's web", J. Appl. Polym. Sci., 82, 2245-2251 (2001).
- [12] Rueda J., Pérez Rigueiro J., Elices M. y Guinea G.V., "Influencia de la radiación ultravioleta en el comportamiento a fractura del hilo de araña", Anales de Mecánica de la Fractura, 19, 343-348 (2002).
- [13] Pérez-Rigueiro J., Viney C., Llorca J. y Elices M., "Silkworm silk as an engineering material", J. Appl. Polym. Sci., 70, 2439-2447 (1998).
- [14] Gutiérrez Pérez S., "Propiedades mecánicas de la seda de araña obtenida por hilado forzoso", Proyecto de Fin de Carrera. Titulación de Ingeniero de Materiales (2002).
- [15] Poza P., Pérez-Rigueiro J., Elices M. y Llorca J., "Fractographic analysis of silkworm and spider silk", Engineering Fracture Mechanics, 69, 1035-1048 (2002).