

# Propiedades de la sericina de seda colombiana<sup>1</sup>

Yuliana Avendaño Arteaga , Gustavo Adolfo Hincapié Llanos , Diana Castrillón Martínez ,  
Mónica Cardona Aristizábal , Jaime Alejandro Barajas Gamboa , Catalina Álvarez López

## Resumen

**Introducción:** Colombia produce actualmente seda natural. Durante la transformación de esta a hilos, se retira y descarta la sericina, una proteína que recubre las fibras y que presenta diferentes propiedades que pueden ser aprovechadas industrialmente. **Objetivo:** Caracterizar la sericina obtenida a partir de hilos de seda colombiana y secada por aspersión. **Materiales y métodos:** La sericina fue extraída usando agua caliente en autoclave y posteriormente secada por aspersión. La muestra en polvo obtenida se caracterizó mediante pruebas morfológicas (SEM), determinación del punto isoeléctrico, contenido de proteína, actividad antimicrobiana, solubilidad, actividad acuosa (aw) y color. **Resultados:** Los resultados obtenidos por SEM mostraron que se logró remover la mayor parte de sericina presente en los hilos, y que cuando esta se seca adquiere una forma esférica, con superficie rugosa, cóncava y colapsada. Se encontró que la muestra tiene un contenido de proteína y un punto isoeléctrico de 99,50% y 4,07 respectivamente, y no presenta propiedades antimicrobianas frente a los microorganismos estudiados. La solubilidad aumenta con la temperatura, alcanzando un 44,11%  $\pm$  5,75 a 90 °C. El aw fue de 0,287 y su

color muestra una tendencia al blanco (coordenadas CIELAB: L: 89,55  $\pm$  0,20, a\*: +0,44  $\pm$  0,04 y b\*: +5,16  $\pm$  0,30). **Conclusiones.** Los resultados muestran que es posible extraer sericina desde hilos de seda usando autoclave, con altos porcentajes de rendimiento. Se observa que la muestra es susceptible de ser secada por aspersión, mostrando características que pueden ser estudiadas con mayor profundidad para evaluar la viabilidad de utilizarla en el desarrollo de diferentes productos.

**Palabras clave:** desengomado, secado por aspersión, proteína.

## Properties of colombian silk sericine

### Abstract

**Introduction.** During Colombian silk transformation to obtain threads, a protein called sericin is removed and discarded. Nevertheless, due to its properties, it should be industrially recovered and used. **Objective.** Characterize the sericin obtained, through spray drying, from Colombian silk threads. **Materials and methods.**

- 1 Financiado por la Universidad Pontificia Bolivariana, mediante el proyecto interno: Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de la sericina para su aplicación en el desarrollo de un producto. Medellín, Colombia. Enero 2014-mayo 2016.
- 2 Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana, E-mail: yuliana.avendano@upb.edu.co ORCID: 0000-0003-3600-8103
- 3 Químico, Magíster en Ingeniería, docente titular de la Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia, E-mail: gustavo.hincapie@upb.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5375-4776>
- 4 Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana, E-mail: dianac672@hotmail.com ORCID: 0000-0002-0605-4339
- 5 Bacterióloga, Magíster en Ingeniería Ambiental. Docente Asociado. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia, E-mail: monica.cardona@upb.edu.co ORCID: 0000-0002-5829-3438
- 6 Ingeniero Agroindustrial, Candidato a Magíster en Sociedades Rurales, E-mail: jaimealejandro.barajas@upb.edu.co ORCID: 0000-0002-1654-0779
- 7 Doctora en Ingenierías, docente Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia, E-mail: catalina.alvarezl@upb.edu.co ORCID: 0000-0002-5375-4776  
Autor para correspondencia. e-mail: catalina.alvarezl@upb.edu.co

Artículo recibido: 23/02/2018; artículo aprobado: 30/07/2018

The sericin was extracted using hot water in autoclave and later spray-dried. Obtained solution was dehydrated in dry spray equipment. The obtained powdered sample was characterized by morphological tests (SEM), isoelectric point and protein content, antimicrobial activity, solubility, aqueous activity (aw) and color. **Results.** The results obtained by SEM showed that the degumming process extracted the most of sericin from the threads. In addition, it was seen that dehydrated samples have a spherical shape, with a rough, concave and collapsed surface. The protein content and the isoelectric point of sericin were 99.5 % and 4.07, respectively. No antimicrobial properties were observed against the microorganisms studied. The solubility of the protein increased with temperature ( $44.11 \% \pm 5.75$  at  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), its aw was 0.287, and its color showed a white trend whose CIELAB coordinates are L:  $89.55 \pm 0.20$ ,  $a^*$ :  $+0.44 \pm 0.04$  and  $b^*$ :  $+5.16 \pm 0.30$ . **Conclusions.** The results show that it is possible to extract sericin from silk threads using autoclave, with high percentages of yield. Additionally, it was observed that the sample is susceptible to be dehydrated by spray drying, showing characteristics that can be studied in greater depth to evaluate the viability of using this protein in the development of different products.

**Keywords:** Degumming, Spray Dry, Protein.

## Propriedades da sericina de seda

### Resumo

**Introdução:** Colômbia produz atualmente seda natural. Durante a transformação desta aos fios,

retira-se e descarta-se a sericina, uma proteína que recobre as fibras e que apresenta diferentes propriedades que podem ser aproveitadas industrialmente. **Objetivo:** Caracterizar a sericina obtida a partir de fios de seda colombianos e secagem por aspersão. **Materiais e métodos:** A sericina foi extraída usando água quente no autoclave e posteriormente desidratada com secagem por aspersão. A amostra em pó obtida caracterizou-se mediante provas morfológicas (SEM), determinação do ponto isoelétrico, contido de proteína, atividade antimicrobiana, solubilidade, atividade aquosa (aw) e cor. **Resultados:** Os resultados obtidos pelo SEM mostram que conseguiu-se remover a maior parte da sericina presente nos fios, e quando esta se seca adquire uma forma esférica, com superfície rugosa, côncava e colapsada. Encontrou-se que a amostra tem um contido de proteína e um ponto isoelétrico de 99,50% e 4,07 respectivamente, e não apresenta propriedades antimicrobianas frente aos microrganismos estudados. A solubilidade aumenta com a temperatura, atingindo um  $44,11\% \pm 5,75$  a  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O aw foi de 0,287 e sua cor mostra uma tendência ao branco (coordenadas CIELAB: L:  $89,55 \pm 0,20$ ,  $a^*$ :  $+0,44 \pm 0,04$  y  $b^*$ :  $+5,16 \pm 0,30$ ). **Conclusões.** Os resultados mostram que é possível extrair sericina desde fios de seda usando autoclave, com altos percentagens de rendimento. Observa-se que a amostra é suscetível de ser desidratada com secagem por aspersão, mostrando características que podem ser estudadas com maior profundidade para avaliar a viabilidade de utilizar-la no desenvolvimento de diferentes produtos.

**Palavras-chave:** degomagem, secagem por aspersão, proteína.

---

## Introducción

Los gusanos de seda *Bombix mori* son insectos lepidópteros originarios de China, cuyos capullos les proporcionan protección mecánica para realizar su metamorfosis (Danks, 2004). La seda comercial proviene del procesamiento de dichos capullos (Cifuentes & Sohn Wook, 1998). Esta fibra se compone de dos proteínas principales, fibroína (70% 80%) y sericina (20%-30%) (Patel & Modasiya, 2011). La fibroína es una proteína fibrosa presente en forma de doble filamento, los cuales están unidos por enlaces disulfuro y

envueltos por sucesivas capas adhesivas de sericina, que es una proteína globular que ayuda en la formación del capullo (Ki, Kim, Oh, Lee & Park, 2007; Poza, Pérez Rigueiro, Elices & Lorca, 2002; Wu, Wang & Xu, 2007).

La sericina se remueve de los filamentos de seda en un proceso conocido como desengomado, el cual se basa originalmente en la solubilidad de la proteína en agua caliente. Este proceso tiene por objetivo remover parte del color amarillo y la rigidez de las fibras, otorgando a las muestras un aspecto suave y brillante (Lee, Kim, Um & Lee, 2011). El desengomado se puede realizar por

diversos métodos que varían en la técnica empleada y en las características del producto que se obtiene, principalmente en el peso molecular y en la pureza de la muestra. Una de las técnicas se basa, principalmente, en su solubilidad en agua caliente, otras emplean detergentes, álcalis, ácidos, enzimas proteolíticas alcalinas, sistemas de calentamiento infrarrojo o tecnologías de sonicación (Miguel, 2014). Su extracción en agua caliente, con un alto rendimiento, se ha logrado utilizando altas temperaturas y presiones con el uso de un autoclave, esta técnica presenta la ventaja de no requerir procesos posteriores de purificación (Aramwit, Siritientong & Srichana, 2012).

En la industria de la seda la sericina es generalmente considerada un residuo, por lo que, luego del proceso de desengomado, es descartada y vertida en efluentes acuosos (Kundu et al., 2008). En Colombia, a pesar de que la producción de seda se lleva a cabo a nivel artesanal, estos vertimientos se suman a los problemas de contaminación del medio ambiente, contribuyendo principalmente a la demanda química y bioquímica de oxígeno (DQO/DBO) en las aguas residuales. Es importante tener en cuenta que la recuperación de la sericina podría representar un beneficio no solo ambiental, sino también económico y social (Kundu et al., 2008), debido a que, gracias a sus propiedades, puede ser aprovechada industrialmente en el área de la medicina, en la industria alimenticia o de cosméticos, entre otras.

Por ser una proteína natural, la sericina es susceptible a la acción de enzimas proteolíticas, por lo tanto es digerible, biocompatible y biodegradable (Padamwar & Pawar, 2004). Puede tener actividad anticoagulante, fibrinolítica y de antiagregación. Se ha encontrado que la sericina posee propiedades para la cicatrización de heridas (Wu et al., 1996); también ha sido usada en cosméticos para la obtención de lociones y cremas mostrando un aumento en la elasticidad de la piel y un efecto antiarrugas y antienvjecimiento (Padamwar & Pawar, 2004). Adicionalmente, se ha reportado que la sericina puede ser aprovechada en el área de los alimentos debido a que posee propiedades como actividad antioxidante y antitirocinasa (Capar, Aygun & Gecit, 2008, Manosroi, Boonpisuttinant, Winitchai, Manosroi & Manosroi, 2010), entre otras. Por ejemplo, se han desarrollado investigaciones para evaluar su incorporación en productos de panificación y vinagretas (Takechi, Maekawa & Sugimura, 2011; Takechi, Wada, Fukuda, Harada, & Takamura, 2014).

Por todo lo antes descrito, este proyecto tiene como objetivo evaluar las propiedades de la sericina de seda colombiana extraída con agua caliente en autoclave y secada por aspersión. Se va a trabajar con hilos, ya que en Colombia la empresa que transforma la seda (CORSEDA) hace el proceso de desengomado sobre estos. Además, la literatura generalmente trabaja sobre sericina extraída de capullos, por lo que las propiedades de la sericina extraída de hilos de seda es aún poco conocida. El método de secado se seleccionó ya que permite obtener un material de calidad, con buena presentación y de fácil manejo (Siccha & Gaz, 1995).

En este trabajo se determinaron propiedades como: solubilidad, actividad acuosa, color, punto isoeléctrico, contenido de proteína y actividad antimicrobiana, con el fin de buscar alternativas futuras para el aprovechamiento de este residuo en el desarrollo de productos de alto valor agregado para las industrias alimenticia, farmacéutica y de cosméticos.

## Materiales y métodos

**Obtención del material.** La sericina fue extraída a partir de hilos de seda sin desengomar, los cuales fueron adquiridos en la Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca (CORSEDA), Popayán Colombia.

**Extracción y secado de la sericina.** Para la extracción de la sericina se trabajó con una relación de baño 1:30 (p/v) de acuerdo con ensayos preliminares, utilizando madejas de hilos de seda secas y agua destilada. El desengomado se llevó a cabo en un autoclave a vapor (All American 25X-1), la muestra se mantuvo a una presión de 15 PSI y una temperatura de 105 °C por 30 minutos (Padamwar & Pawar, 2004). Terminado el tiempo de tratamiento, la solución resultante se separó de las madejas de hilos y se filtró con papel filtro de celulosa (whatman N° 4) para retirar cualquier impureza que pudiera contener. Los hilos se secaron en un horno de convección forzada a 105 °C hasta alcanzar peso constante y, posteriormente, el rendimiento de extracción de las muestras se calculó empleando las diferencias de peso de los hilos de seda obtenidos antes y después del proceso de desengomado, como se observa en la ecuación 1.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \quad (1)$$

Donde,  $P_i$  es el peso madeja seca antes de extracción y  $P_f$  el peso madeja seca después de extracción.

Con el fin de obtener la sericina en polvo, la solución obtenida fue secada por aspersión en un Mini Spray Dryer (BUCHI-B 290). La solución fue bombeada en la cámara de secado con un caudal de 6,30 mL/min, a una temperatura de entrada de 160 °C y flujo de aspersión de 40 m<sup>3</sup>/h de acuerdo con ensayos realizados preliminarmente.

**Morfología.** La morfología de la superficie de los hilos desengomados y de la sericina seca fue observada utilizando un microscopio electrónico de barrido en alto vacío con un detector de electrones secundarios (JEOL JSM-6490LV). Antes de la observación se realizó un recubrimiento delgado en oro hasta lograr un espesor aproximado de 7 nm (ENTON VACUUM Desk IV). Posteriormente, las muestras fueron fijadas en una cinta de grafito. El voltaje de aceleración para la imagen fue 20 kV. Las imágenes fueron capturadas con unas ampliaciones de 1000x y 3000x. La observación de los hilos se realizó sobre muestras longitudinales transversales. Para este último, los hilos fueron cortados usando un micrótopo.

**Determinación del contenido de proteína.** Se determinó mediante el método Kjeldahl. La prueba se realizó utilizando 0.50 g de muestra. Esta metodología está compuesta por 3 fases: digestión, destilación y titulación. La digestión se realizó en un equipo Kjeldahl DKL heating digester (Velp Científica), la destilación se llevó a cabo en UDK 149 (Velp Científica) y la titulación se realizó empleando HCl estandarizado al 0.0940 M.

**Determinación del punto isoeléctrico.** Se solubilizaron tres muestras de sericina en polvo y agua destilada, bajo agitación magnética entre 500 700 rpm a 90 °C por 30 min. Las soluciones formadas se centrifugaron en una centrífuga (EBA 20 HETTICH Zentrifuge) a 6000 rpm durante 15 min. Se reunieron los sobrenadantes y se tomaron 6 alícuotas de 5 ml cada una, las cuales se llevaron a diferentes pHs desde 5,10 hasta 2,70. Posteriormente cada alícuota se centrifugó a 6000 rpm durante 20 min y se recuperaron los sobrenadantes para determinar el porcentaje de proteína contenido en cada alícuota por el método de biuret (Gonçalves et al., 1997). Previo a los ensayos se realizó una curva de calibración utilizando una solución estándar de proteína (sericina comercial S5201-1G SIGMA-ALORICH). Las alícuotas mezcladas con el reactivo de biuret se dejaron en reposo por 30 min a temperatura

ambiente para el desarrollo del color, posteriormente se leyó su absorbancia a 550 nm en un espectrofotómetro ultravioleta-visible.

El punto isoeléctrico se determinó como el pH de la alícuota del sobrenadante de la solución de sericina en la cual se obtuvo la menor concentración de proteína. Esto se debe a que, a ese valor, la proteína no tiene carga eléctrica y es incapaz de desplazarse en un campo eléctrico, por lo que no existe repulsión electrostática entre las moléculas de proteína vecinas y, por tanto, tienden a precipitarse (Serpa, Hincapié & Álvarez, 2014).

**Actividad antimicrobiana.** Para evaluar el potencial antimicrobiano de la sericina se empleó el método de dilución en agar (Ramírez & Marín, 2009). Se tomó una muestra de 0,25 g de la muestra en polvo, la cual fue rehidratada con 5 ml de agua destilada, a partir de la cual se obtuvieron soluciones con concentraciones al 5%; 2,50% y 1% de sericina, denominadas C1, C2 y C3 respectivamente.

Las cepas testeadas se obtuvieron del cepario del GRAIN –UPB. Se emplearon los siguientes especímenes bacterianos: Escherichia coli TCC 25982 (B1), Estafilococo aureus ATCC 6538 (B2), Pseudomona fluorescens (B3) y la levadura Candida guilliermondii (L1).

El agar Mueller-Hinton se inoculó por el método de siembra en profundidad con la suspensión bacteriana (turbidez equivalente al patrón 0,50 McFarland), y con dos controles (positivo: amoxicilina 10% y negativo: agua estéril). Con un sacabocados estéril se perforó el medio de cultivo hasta el fondo de la caja de petri obteniéndose un pozo de 6 mm de diámetro. Se evaluó una concentración por caja (triplicado). En cada pozo se inocularon 20 µL de la concentración a probar, usando un pozo para agua estéril como control negativo. Los medios fueron incubados a una temperatura aproximada de 37 °C durante 18 24 h. Finalmente se realizó la lectura de la susceptibilidad antimicrobiana por observación y medición del halo de inhibición alrededor de cada pozo.

**Solubilidad.** Se pesaron aproximadamente 0.50 g de sericina en tubos falcon y se mezclaron con 10 mL de agua destilada. Las muestras se calentaron a 30, 60 y 90 °C por 30 min. Transcurrido este tiempo las muestras se centrifugaron a 6000 rpm durante 15 min. Posteriormente, se separó el precipitado del sobrenadante, llevando este último a un horno de convección forzada hasta llegar a peso seco. El cálculo de solubilidad se realizó

utilizando la ecuación 2.

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{w_3 - w_2}{w_1} \times 100 \% \quad (2)$$

Donde W1, W2 y W3, representan el peso de la muestra en polvo (g), el peso de la cápsula de porcelana (g) y el peso de la cápsula con el sobrenadante seco (g), respectivamente.

**Actividad acuosa (aw).** Esta prueba se realizó por el método AOAC 978.18., empleando 0,60 g de polvo de sericina seca y una lectura directa en un equipo HYGROPALM modelo aw1.

**Colorimetría.** Se realizó una lectura directa sobre una muestra de 0,50 g de sericina, empleando un espectrofotómetro de esfera (X-RITE modelo SP-60). Esta prueba se realizó por el método de coordenadas Comisión Internationale de l'Éclairage (CIE) L\*a\*b\* en materiales sólidos; donde L\* es un indicador de la luminosidad, a\* representa la cromaticidad verde (-) a rojo (+) y b\* representa la cromaticidad azul (-) a amarillo (+). Además, se le calculó el índice de blancura (IW) como se muestra en la ecuación 3 (Montoya-López, J., Giraldo-Giraldo, G. A., & Lucas-Aguirre, 2012).

$$\text{Índice de blancura (IW)} = L - 3b + 3a \quad (3)$$

Las pruebas de solubilidad, actividad acuosa y color se realizaron por triplicado. Además, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con tres tratamientos (30, 60 y 90 °C) y tres repeticiones para validar diferencias estadísticamente significativas para las pruebas de solubilidad, utilizando el software Statgraphics Centurión XVI.

## Resultados

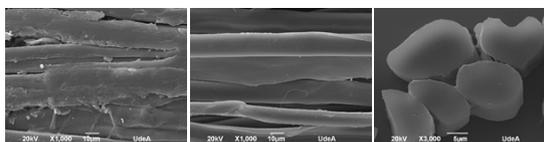
Después de la extracción de la sericina de seda, se obtuvo una solución en la cual se observó que, al disminuir la temperatura, esta se gelificaba -propiedad que ha sido observada por diferentes autores (Zhu, Arai, & Hirabayashi, 1995; Padamwar & Pawar, 2004)-. Con base en lo anterior, el secado de la sericina por aspersión se realizó manteniendo la solución extraída a una temperatura no inferior a 40 °C.

De acuerdo con los cálculos de rendimiento de extracción, el proceso de desengomado en autoclave removió aproximadamente 27,50% del peso de la muestra, correspondiente a la sericina y a otras sustancias presentes en el capullo como son carbohidratos, ceras y pigmentos (Mondal, Trivedy, & Kumar 2007), los cuales se encuentran

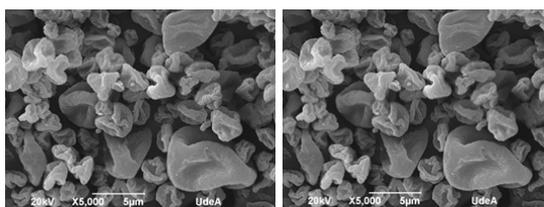
en bajas concentraciones.

**Morfología de los hilos desengomados y la sericina secada por aspersión.** La remoción de la sericina de los hilos de seda puede ser evidenciada en la gráfica 1 en la que, claramente, los hilos engomados se observan con una capa rugosa (izquierda), correspondiente a la sericina que recubre a la fibroína, mientras que los hilos desengomados presentan una superficie lisa (medio). De acuerdo con lo observado en el corte transversal, aun después del desengomado, los hilos conservan porciones de sericina, lo cual se evidencia en la capa irregular no definida que se observa a uno de los lados de los cortes del hilo (derecha).

**Gráfica 1.** Morfología superficial de los hilos de seda. Vista longitudinal a) hilos engomados (izquierda) y desengomados (medio); y c) corte transversal hilos desengomados (derecha)



**Gráfica 2.** Morfología de la sericina secada por aspersión



**Contenido de proteína y punto isoeléctrico.** El porcentaje de proteína en la sericina fue del 99,50% en base seca y su punto isoeléctrico (PI) de 4,07.

**Actividad antimicrobiana.** Después de las 24 h de incubación de los microorganismos, se observó que para ninguna de las tres concentraciones de sericina utilizadas (C1, C2 y C3) se presentó un halo de inhibición y, por el contrario, se presentó crecimiento microbiano. En las cajas de Petri, cuyo contenido carecía de solución de sericina, se presentó crecimiento microbiano de cada una de las cepas estudiadas. En las cajas A, que contenían el control positivo, se observó la formación de un halo de inhibición

alrededor del pozuelo, lo cual confirmó la actividad antimicrobiana del antibiótico con los microorganismos estudiados.

**Solubilidad.** En la tabla 1 se aprecian los resultados de solubilidad de la sericina a tres temperaturas diferentes. Se observó que entre mayor es la temperatura, mayor es la solubilidad. Se obtuvo que para una temperatura de 30 °C la sericina tiene un promedio de 25,62% de solubilidad, mientras que, para una temperatura de 90 °C, el promedio incrementa hasta 44,11%. De acuerdo con la ANOVA realizada, los resultados con diferente letra indican que sí existe una diferencia estadísticamente significativa entre las tres temperaturas de solubilidad utilizadas.

**Actividad Acuosa.** Esta actividad corresponde al contenido de agua disponible en la sericina, la cual es capaz de permitir el crecimiento de los microorganismos en esta proteína (Moreno & Benavides, 1988). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se tiene que la sericina en polvo secada por aspersión tiene una actividad acuosa promedio de  $0,29 \pm 0,03$ .

**Tabla 1.** Solubilidad con respecto a la temperatura de dilución de la sericina

Temperatura (°C)	Solubilidad Promedio (%)
30	$25,62 \pm 1,55^a$
60	$31,63 \pm 1,64^b$
90	$44,11 \pm 2,75^c$

**Color.** Los resultados obtenidos por la prueba de color mostraron que la sericina estudiada en este trabajo presenta un promedio de luminosidad de  $89,55 \pm 0,20$ , un índice de blancura de  $75,39$  y valores  $a^*$  y  $b^*$  de  $+0,44 \pm 0,04$  y  $+5,16 \pm 0,30$  respectivamente. Los resultados indican que la muestra presenta alta luminosidad (L), y una tendencia al color amarillo ( $b^*$ ).

## Discusión

Cuando la sericina se extrae en autoclave, sale del equipo a temperaturas superiores a los 90 °C, sin embargo, mientras se lleva a cabo el proceso de secado por aspersión, esta temperatura disminuye aumentando la viscosidad de la muestra hasta formar un gel, condición que impide el proceso de bombeo al equipo de secado. Se ha reportado que la gelación de la sericina ocurre a bajas temperaturas ( $<10$  °C) y bajos pHs (6-7) (Aramwit et al., 2012). La concentración de la muestra

también juega un papel importante. Por ejemplo, se ha observado que por encima del 1%, la gelación de la solución se puede dar en un día y puede formar agregados fácilmente a temperatura ambiente hasta precipitar (Kim et al., 2012). La gelación de la sericina, que es un mecanismo de autoensamblaje de las regiones cristalinas hoja físicamente reticuladas, se debe a cambios en su estructura secundaria. La sericina nativa posee una región amorfa de espirales al azar (fácilmente soluble) y una región cristalina denominada hoja (difícil de disolver), la cual predomina a bajas temperaturas (Dash, Ghosh, Kaplan, y Kundu, 2007). Cuando la muestra se somete a altas temperaturas se degradan las hojas, aumentando la solubilidad y movilidad de la sericina en agua caliente. Este fenómeno es reversible cuando se alcanzan nuevamente bajas temperaturas, lo que lleva a la formación de un gel de sericina.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los valores de rendimiento de extracción, color, contenido de proteína, y el punto isoeléctrico de la sericina extraída de hilos de seda y secada por aspersión son similares con valores reportados por otros autores (Ribani, Gimenes & Scheer, 2012; Chollakup, Smitthipong, Mougin & Nardin, 2015; Gulrajani et al., 2009; Haggag, El-Sayed, & Allam, 2007). La prueba de actividad antimicrobiana contradice los resultados de otras investigaciones, y no se han encontrado reportes del  $aw$  ni de la solubilidad para poder hacer un análisis comparativo.

De acuerdo con la literatura, el rendimiento de extracción de la sericina usando autoclave está por encima del 20%, reportando valores hasta de un 25,7%. Los trabajos encontrados indican una relación directa de estos valores con el tiempo y la temperatura de trabajo (Rutherford & Harris, 1940; Padamwar & Pawar, 2004; Kurioka, Kurioka & Yamazaki, 2004; Silva, Ribani, Gimenes & Scheer, 2012). De acuerdo a estos reportes, el rendimiento de extracción alcanzado en este trabajo es bastante alto (27,50%).

La morfología que presentó la sericina seca, coincide con la reportada por otros autores (Genc et al., 2009; Gulrajani, Purwar, Prasad & Joshi, 2009; Chollakup, Smitthipong, Mougin & Nardin, 2015). De acuerdo con la literatura, la estructura colapsada de las partículas es una consecuencia de la evaporación rápida del agua interna, lo cual deja una concentración de gotas que tienden a formar abolladuras (Gulrajani et al., 2009). En el caso del contenido proteico, se ha reportado que la sericina extraída con agua caliente en autoclave

también juega un papel importante. Por ejemplo, se ha observado que por encima del 1%, la gelación de la solución se puede dar en un día y puede formar agregados fácilmente a temperatura ambiente hasta precipitar (Kim et al., 2012). La gelación de la sericina, que es un mecanismo de autoensamblaje de las regiones cristalinas hoja físicamente reticuladas, se debe a cambios en su estructura secundaria. La sericina nativa posee una región amorfa de espirales al azar (fácilmente soluble) y una región cristalina denominada hoja (difícil de disolver), la cual predomina a bajas temperaturas (Dash, Ghosh, Kaplan, y Kundu, 2007). Cuando la muestra se somete a altas temperaturas se degradan las hojas, aumentando la solubilidad y movilidad de la sericina en agua caliente. Este fenómeno es reversible cuando se alcanzan nuevamente bajas temperaturas, lo que lleva a la formación de un gel de sericina.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los valores de rendimiento de extracción, color, contenido de proteína, y el punto isoeléctrico de la sericina extraída de hilos de seda y secada por aspersión son similares con valores reportados por otros autores (Ribani, Gimenes & Scheer, 2012; Chollakup, Smitthipong, Mougin & Nardin, 2015; Gulrajani et al., 2009; Haggag, El-Sayed, & Allam, 2007). La prueba de actividad antimicrobiana contradice los resultados de otras investigaciones, y no se han encontrado reportes del *aw* ni de la solubilidad para poder hacer un análisis comparativo.

De acuerdo con la literatura, el rendimiento de extracción de la sericina usando autoclave está por encima del 20%, reportando valores hasta de un 25,7%. Los trabajos encontrados indican una relación directa de estos valores con el tiempo y la temperatura de trabajo (Rutherford & Harris, 1940; Padamwar & Pawar, 2004; Kurioka, Kurioka & Yamazaki, 2004; Silva, Ribani, Gimenes & Scheer, 2012). De acuerdo a estos reportes, el rendimiento de extracción alcanzado en este trabajo es bastante alto (27,50%).

La morfología que presentó la sericina seca, coincide con la reportada por otros autores (Genc et al., 2009; Gulrajani, Purwar, Prasad & Joshi, 2009; Chollakup, Smitthipong, Mougin & Nardin, 2015). De acuerdo con la literatura, la estructura colapsada de las partículas es una consecuencia de la evaporación rápida del agua interna, lo cual deja una concentración de gotas que tienden a formar abolladuras (Gulrajani et al., 2009). En el caso del contenido proteico, se ha reportado que la sericina extraída con agua caliente en autoclave

presenta un alto porcentaje de esta (98,7%) (Gulrajani et al., 2009), en comparación con muestras extraídas por otras técnicas tales como desengomado con licores alcalinos (92%) y con jabón alcalino (58%). Otros autores han observado que la sericina obtenida de aguas provenientes del desengomado, precipitadas con etanol y deshidratadas por liofilización, pueden contener hasta un 91,6% de proteína (Jin-Hong, Zhang & Shi-Ying, 2007). En cuanto al punto isoeléctrico, se observó que este se encuentra cercano al dato teórico, el cual está en el límite 3,9–4,3 ya que esta es una proteína anfótera (Voegeli, 1993; Haggag et al., 2007). De acuerdo con la literatura este valor puede variar según el método de extracción (Aramwit, Kanokpanont, Nakpheng & Srichana, 2010).

Teniendo en cuenta los resultados de actividad antimicrobiana, se puede afirmar que la sericina extraída de hilos de seda colombiana, bajo las condiciones indicadas en el presente estudio, no posee dicha actividad para las cepas estudiadas en las concentraciones señaladas. Con el fin de descartar el efecto de la concentración, se realizó una prueba adicional utilizando sericina en polvo sin solubilizar. Los resultados obtenidos fueron igualmente negativos.

Estudios de diferentes investigadores muestran actividad antimicrobiana de la sericina frente a bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y bacterias Gram positivas como *Bacillus subtilis* (Aramwit et al., 2012; Zhao et al., 2014). Otros autores han reportado que la seda de gusano de seda contiene, además de sericina y fibroína, otros componentes que han sido identificados, estos incluyen enzimas, inhibidores de proteasas, seroínas y proteínas de función desconocida (Dong et al., 2016). De estos componentes se sabe que hay abundantes proteínas antimicrobianas, incluyendo los inhibidores de proteasa (actividad antifúngica) y las seroínas (actividad antiviral y antibacteriana). Teniendo en cuenta este hecho, y que las propiedades de la sericina dependen de las características genéticas y modificables del gusano de seda, las cuales se dan por el lugar de producción, el manejo del ambiente (temperatura, humedad ambiental, aire, iluminación) y las características del alimento que se les ofrezca (Pescio et al., 2009), es importante considerar que por la domesticación del gusano de seda en Colombia, esta especie no produce moléculas proteicas con dichas características, ya que el ambiente en el que se desarrolla no lo requiere. No obstante, se necesita una investigación más detallada a fin de determinar cuál es la razón por la cual la sericina

extraída en este trabajo no presenta actividad antimicrobiana.

En cuanto a la solubilidad, se sabe que la estructura de la sericina está conformada principalmente por espirales al azar, que le otorgan una solubilidad en agua a 50-60 °C (Padamwar & Pawar, 2004), y una menor cantidad de hojas β. Esta última es insoluble en agua fría, pero las altas temperaturas la degradan, aumentando la solubilidad de la sericina en agua caliente (Kundu et al., 2008). Este comportamiento es reversible y, por tanto, al bajar la temperatura, la solubilidad de la sericina disminuye debido a que sus moléculas de espirales al azar son transformadas en hojas β (Aramwit et al., 2012; Padamwar & Pawar, 2004).

Hasta ahora, en la bibliografía no se han encontrado valores de solubilidad de la sericina secada por aspersion; sin embargo, en estudios anteriores se ha descrito que su solubilidad se puede clasificar en A, B y C, que representan, respectivamente, la capa más externa, la capa intermedia y la capa más adyacente a la fibroína. De estas, la sericina A es la más soluble en agua caliente, y la sericina C es la más insoluble, la cual solo se remueve con tratamientos calientes a altas presiones o con álcalis (Padamwar & Pawar, 2004; Miguel, 2014).

De acuerdo con los resultados obtenidos se podría decir que la sericina solubilizada es de tipo A, la cual es la más soluble en agua caliente; y de tipo B, debido a que la extracción se realiza a alta presión. La sericina tipo C, que es aquella que presenta mayor resistencia a solubilizarse, se puede asociar, como se mostró en las imágenes de SEM, con aquellas fracciones que se conservan sobre la muestra luego del desengomado. Para poder solubilizar esta sericina remanente, la proteína debería ser sometida a una mayor presión, bajo la presencia de soluciones ácidas o alcalinas fuertes (Urribarrí, Ferrer & Colina, 2004). Otros de los factores que altera la solubilidad de la sericina es la presencia de estructura β-hoja, la cual puede ser afectada por el método de secado utilizado (Tsukada 1980; Kim et al., 2012).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que el agua disponible en la sericina seca es agua que se encuentra débilmente ligada, debido a que su aw se encuentra entre 0,20 y 0,75 (Acosta, 2008), y supondría una multicapa de moléculas de agua unidas por puentes de hidrógeno a la monocapa en contacto directo con constituyentes no

acuosos. Esta agua débilmente ligada supone la mayor parte de la esfera de hidratación de la proteína (Rodríguez & Magro, 2008).

Teniendo en cuenta lo anterior, se tiene que la sericina extraída del hilo de seda y secada por aspersion a las condiciones de este trabajo, es una proteína resistente a la alteración microbiana, debido a que su aw se encuentra en niveles inferiores a 0,85 (Acosta, 2008). También es importante mencionar que la sericina secada por aspersion, al quedar con humedades tan bajas, absorbe fácilmente humedad del ambiente, lo cual llevaría a un cambio de su aw, y por lo tanto afectar su conservación, por esta razón, esta proteína debe ser almacenada en empaques con barrera a la humedad.

Generalmente el color corresponde a una percepción e interpretación subjetiva para cada persona, por lo tanto, se debe expresar en términos numéricos y objetivos, y de esta manera se asegura que la muestra cumpla con un estándar. Kurioka y otros (2004) evaluaron el color de sericina de seda, extraída con ácido cítrico (SSac) y álcali (SSal) y secada por liofilización, utilizando el sistema de coordenadas CIE L\*a\*b\*. Los resultados obtenidos por los investigadores (ver Tabla N°2) evidencian una muestra con alta luminosidad, y una tendencia al amarillo, lo que coincide con los valores obtenidos en el presente estudio, donde la coordenada a\* es cercana a cero (+0,44) y la coordenada b\* está entre los valores de estas investigaciones (+5,16), al igual que la luminosidad (89,55) (Ramírez-Navas, 2010). Al calcular los índices de amarillamiento de estas muestras (ver tabla N°2) se puede corroborar que ellas no tienen un color blanco ideal, sino que presentan un color blanco amarillento, el cual se puede deber a la presencia de pigmentos (Mondal, Trivedy, & Kumar 2007).

**Tabla N°2.** Prueba de colorimetría evaluada sobre sericina extraída con ácido cítrico (SSac) y álcali (SSal)

**Tomado de:** Kurioka et al., 2004  
Valores calculados en este trabajo

Muestra	L	a*	b*	IW
SSac	91,05*	-0,64*	+4,16*	76,65**
SSal	89,47*	-0,58*	+6,54*	68,11**
SHSSA	89,55	+0,44	+5,16	75,39

Teniendo en cuenta los resultados de la Tabla N°2, se puede afirmar que, a diferencia de otras propiedades de la sericina, el color no varía según el método de extracción y secado de una manera significativa, por lo menos comparando estos tres métodos.

## Conclusiones

En este estudio se obtuvo sericina de seda por un método de extracción que proporciona menor contenido de impurezas en comparación con otros métodos de extracción, lo cual se puede ver reflejado en el alto contenido proteico obtenido en la sericina analizada. Se encontró que la muestra presenta un punto isoeléctrico con un valor de 4,07, y una solubilidad parcial, dependiente de la temperatura. Al tener un aw de  $0,29 \pm 0,03$ , esta muestra no es propensa al ataque de microorganismos, y su color blanco amarillento, con luminosidad alta, es una característica importante que puede ser aprovechada en diferentes industrias (alimentos, cosméticos, fármacos).

En este estudio no se logró evidenciar la actividad antimicrobiana de la sericina de seda secada por aspersión a las concentraciones evaluadas, por lo tanto, para futuros trabajos se sugiere estudiar esta propiedad a concentraciones mayores, o bajo otras metodologías.

## Referencias

- Acosta, R. S. (2008). Saneamiento ambiental e higiene de los alimentos/Environmental sanitation and food hygiene. Córdoba: Brujas.
- Aramwit, P.; Kanokpanont, S.; Nakpheng, T. & Srichana, T. (2010). The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(5), 2200-2211.
- Aramwit, P.; Siritientong, T. & Srichana, T. (2012). Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by-products. *Waste Management y Research*, 30(3), 217-224.
- Capar, G.; Aygun, S. S. & Gecit, M. R. (2008). Treatment of silk production wastewaters by membrane processes for sericin recovery. *Journal of Membrane Science*, 325, 920-931.
- Chollakup, R.; Smitthipong, W.; Mougin, K. & Nardin, M. (2015). Characterization of Sericin Biomaterial from Silk Cocoon Waste. *Materials Sciences and Applications*, 1(2), 45-50.
- Cifuentes, A. C. y Sohn Wook, K. (1998). Manual técnico de sericultura. Recuperado de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015032069>
- Danks, H. V. (2004). The roles of insect cocoons in cold conditions. *European Journal of Entomology*, 101(3), 433-437.
- Dash, R.; Ghosh, S.; Kaplan, D. & Kundu, S. (2007). Purification and biochemical characterization of a 70 kDa sericin from tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 147, 129-134. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495907000516>
- Dong, Z.; Song, Q.; Zhang, Y.; Chen, S.; Zhang, X.; Zhao, P. & Xia, Q. (2016). Structure, evolution, and expression of antimicrobial silk proteins, seroins in Lepidoptera. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 75, 24-31.
- Genc, G.; Narin, G. & Bayraktar, O. (2009). Spray drying as a method of producing silk sericin powders. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, 37(1), 78-86.
- Gonçalves, N.; Vioque, J.; Clemente, A.; Sánchez-Vioque, R.; Bautista, J. y Millán, F. (1997). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. *Grasas y Aceites*, 48(5), 282-289.
- Gulrajani, M. L.; Purwar, R.; Prasad, R. K. & Joshi, M. (2009). Studies on structural and functional properties of sericin recovered from silk degumming liquor by membrane technology. *Journal of Applied Polymer Science*, 113(5), 2796-2804.
- Haggag, K.; El-Sayed, H. & Allam, O. G. (2007). Degumming of silk using microwave-assisted treatments. *Journal of Natural Fibers*, 4, 1-22.
- Jin-Hong, W.; Zhang, W. & Shi-Ying, X. (2007). Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chemistry*, 103(4), 1255-1262.
- Ki, C. S.; Kim, J. W.; Oh, H. J.; Lee, K. H. & Park, Y. H. (2007). The effect of residual silk sericin on the structure and mechanical property of regenerated silk filament. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41(3), 346-353.
- Kim, M. K.; Kwak, H. W.; Lee, J. Y.; Yun, H.; Kim, M. H. & Lee, K. H. (2012). Effect of Lyoprotectant on the solubility and structure of silk sericin. *International Journal of Industrial Entomology*, 25(1), 133-137.
- Kundu, S. C.; Dash, B. C.; Dash, R. & Kaplan, D. L. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by

- silkworms: Potential for biomedical and biotechnological applications. *Progress in Polymer Science*, 33(10), 998-1012.
- Kurioka, A.; Kurioka, F. y Yamazaki, M. (2004). Characterization of sericin powder prepared from citric acid-degraded sericin polypeptides of the silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68(4), 774-780.
- Manosroi, A.; Boonpisuttinant, K.; Winitchai, S.; Manosroi, W. & Manosroi, J. (2010). Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of oils and sericin extracted from Thai native silkworms (*Bombyx mori*). *Pharmaceutical Biology*, 48(8), 355-360.
- Miguel, G. (2014). Extracción de sericina proveniente del proceso de desengomado de la seda, para su aprovechamiento como ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales. (Tesis doctoral). Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia.
- Mondal, M.; Trivedy, K. & Kumar, S. N. (2007). The silk protein, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 5(2), 63-76.
- Montoya-López, J.; Giraldo-Giraldo, G. A. y Lucas-Aguirre, J. C. (2012). Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Vitae*, 19(1), S415-S416.
- Moreno, E. & Benavides, C. (1988). Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. México: UNAM.
- Padamwar, M. N. & Pawar, A. P. (2004). Silk sericin and its applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63, 323-329.
- Patel, R. & Modasiya, M. (2011). Sericin: Pharmaceutical applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(3), 913-917.
- Pescio, F.; Basso, C. P.; Divo, M.; Frank, S. R. G.; Pelicano, A. & Vieites, C. (2008). *Sericultura. Manual para la producción*. Buenos Aires: Inti-Uba.
- Poza, P.; Perez-Rigueiro, J.; Elices, M. y Llorca, J. (2002). Fractographic analysis of silkworm and spider silk. *Engineering Fracture Mechanics*, 69(9), 1035-1048.
- Ramírez-Navas, J. S. (2010). Espectrocolorimetría en caracterización de leche y quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 61, 52-58.
- Ramírez, L. & Marín, D. (2009). Methodologies for evaluating the in vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. *Scientia et Technica XV*(42), 263-267.
- Rodríguez, V. M. y Magro, E. S. (2008). Bases de la alimentación humana. La Coruña: Gesbiblo.
- Rutherford, H. A. & Harris, M. (1940). Concerning the existence of fractions of the sericin in raw silk. *Textile Research*, 10(6), 221-228.
- Takechi, T.; Maekawa, Z. I. & Sugimura, Y. (2011). Use of sericin as an ingredient of salad dressing. *Food Science and Technology Research*, 17(6), 493-497.
- Takechi, T.; Wada, R.; Fukuda, T.; Harada, K. y Takamura, H. (2014). Antioxidant activities of two sericin proteins extracted from cocoon of silkworm (*Bombyx mori*) measured by DPPH, chemiluminescence, ORAC and ESR methods. *Biomedical Reports*, 2(3), 364-369.
- Tsukada, M. (1980). Effect of casting temperature on the structure of silk sericin. *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*, 18(7), 501-505.
- Serpa, A. M.; Hincapié, G. A. y Álvarez, C. (2014). Determinación del punto isoelectrico de las proteínas presentes en cuatro fuentes foliares: yuca (*Manihot esculenta* Crantz) variedades Verónica y Tai, *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) y Gmelina (*Gmelina arborea*). *Prospectiva*, 12(1), 30-39.
- Siccha, A. y Ugaz, O. (1995). Secado por atomización (Spray Dryer). *Revista de Química*, IX (1), 39-48.
- Silva, V. R.; Ribani, M.; Gimenes, M. L. y Scheer, A. P. (2012). High molecular weight sericin obtained by high temperature and ultrafiltration process. *Procedia Engineering*, 42, 833-841.
- Urribarri, L.; Ferrer, A. y Colina, A. (2004). Extracción y precipitación de las proteínas solubles del pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott). *Revista de La Facultad de Agronomía*, 21(4), 264-275.
- Voegeli, R. (1993). Sericin silk protein: unique structure and properties. *Cosmetics Toiletries*, 108, 101-108.
- Wu, C.; Tian, B.; Zhu, D.; Yan, X.; Cheng, W.; Xu, G. & Jia, S. (1996). Wound protection film and its preparation method. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* CN 1121836(8).
- Wu, J. H.; Wang, Z. & Xu, S. Y. (2007). Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chemistry*, 103(3), 1255-1262.
- Zhao, R.; Li, X.; Sun, B.; Zhang, Y.; Zhang, D.; Tang, Z. & Wang, C. (2014). Electrospun chitosan/sericin composite nanofibers with antibacterial property as potential wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 92-97.
- Zhu, L. J.; Arai, M. & Hirabayashi, K. (1995). Gelation of silk sericin and physical properties of the gel. *Journal of Sericultural Science of Japan*, 64, 415-419.