

CARACTERIZACIÓN DE LA SERICINA DE SEDA COLOMBIANA CON MIRAS A
SER INCORPORADA COMO INGREDIENTE EN UNA MATRIZ ALIMENTARIA

DIANA CAROLINA CASTRILLÓN MARTÍNEZ

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS INDUSTRIALES
MEDELLÍN

2017

CARACTERIZACIÓN DE LA SERICINA DE SEDA COLOMBIANA CON MIRAS A
SER INCORPORADA COMO INGREDIENTE EN UNA MATRIZ ALIMENTARIA

DIANA CAROLINA CASTRILLÓN MARTÍNEZ

Trabajo de grado para optar al título de:
Magíster en Diseño y Gestión de Procesos Industriales

Asesores:

CATALINA ÁLVAREZ LÓPEZ

Ingeniera Agroindustrial, Doctora en Ingeniería

LINA MARIA VELEZ ACOSTA

Ingeniera de Alimentos, Magister en Desarrollo

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS INDUSTRIALES
MEDELLÍN

2017

Diana Carolina Castrillón Martínez

“Declaro que este trabajo de grado no ha sido presentado para optar a un título, ya sea en igual forma o con variaciones, en esta o cualquier otra universidad” Art 82 Régimen Discente de Formación Avanzada.

Firma

DEDICATORIA

A mis padres, hermanos y muy especialmente a mi esposo, por darme su constante apoyo, consejos y su amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

En primera lugar, agradezco a Dios y a la Virgen María, por darme la confianza y la fe en mis conocimientos e iluminarme de la mejor manera para saberlos aplicar en los momentos de dar solución a los obstáculos que se presentaron en el camino, y por regalarme la oportunidad de conocer en el transcurso de este trabajo a personas maravillosas.

A mi directora Catalina Álvarez López por darme la oportunidad de realizar esta maestría, por su paciencia, confianza, ayuda y guía constante, lo cual fue fundamental para que este proyecto saliera adelante.

A la profesora Lina María Vélez Acosta, por su apoyo, conocimientos compartidos y consejos, que no solo me ayudaron para mi crecimiento profesional sino también personal.

Finalmente, agradezco a todos los docentes y compañeros que me apoyaron, colaboraron y animaron a lo largo del desarrollo de esta investigación, especialmente a mis compañeras Diana Vásquez y Angélica María Serpa.

CONTENIDO

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1. MARCO TEÓRICO	24
1.1. PROTEÍNAS	24
1.1.1. Estructura.	25
1.1.2. Las proteínas en la industria de alimentos.	26
1.2. DESHIDRATACIÓN.....	27
1.2.1. Métodos generales de deshidratación.....	28
1.2.2. Deshidratación por spray drying.	29
1.2.3. Deshidratación por liofilización.....	30
1.3. SERICINA.....	32
1.3.1. Sericultura.	32
1.3.2. Gusano de seda.....	32
1.3.3. Proceso de obtención de la sericina.	33
1.3.4. Características y estructura de la sericina.	35
1.3.5. Propiedades de la sericina.	37
1.3.6. Aplicaciones de la sericina.....	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS	41
2.1. Material	41
2.2. Extracción de la proteína de sericina: desengomado.....	41
2.3. Secado de las soluciones de sericina	42
2.3.1. Deshidratación por liofilización.....	42
2.3.2. Deshidratación por spray drying.	43
2.4. Caracterización de la proteína	44

2.4.1.	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	44
2.4.2.	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	45
2.4.3.	Análisis termogravimétrico (TGA).....	45
2.4.4.	Solubilidad en agua caliente.....	45
2.4.5.	Color.....	46
2.4.6.	Punto isoelectrico (P.I).....	47
2.4.7.	Contenido de proteína.	48
2.4.8.	Capacidad de hinchamiento (CH).	49
2.4.9.	Capacidad de adsorción de lípidos (CAL).	49
2.4.10.	Capacidad de retención de agua (CRA).	49
2.5.	Análisis estadístico	50
2.6.	Análisis general del uso de la sericina en alimentos	50
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
3.1.	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	51
3.2.	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	55
3.3.	Análisis termogravimétrico (TGA/DTG).....	58
3.4.	Solubilidad en agua caliente.....	60
3.5.	Capacidades de hinchamiento (CH), adsorción de lípidos (CAL) y retención de agua (CRA).....	64
3.6.	Color.....	68
3.7.	Punto isoelectrico (PI) y contenido proteico	71
3.8.	Resumen de resultados obtenidos.....	73
3.9.	Análisis del uso de la sericina en matrices alimentarias.....	74
3.9.1.	Sericina como ingrediente alimenticio.....	74
3.9.2.	Sericina colombiana como ingrediente alimenticio.....	75
3.9.2.1.	<i>Capacidades: retención de agua, hinchamiento y absorción de lípidos. ...</i>	76
3.9.2.2.	<i>Punto isoelectrico.</i>	77
3.9.2.3.	<i>Solubilidad.....</i>	77
3.9.2.4.	<i>Capacidad espumante.</i>	77
3.9.2.5.	<i>Capacidad de gelificación.</i>	78

4. CONCLUSIONES.....	80
5. RECOMENDACIONES	82

REFERENCIAS

ANEXOS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Morfología del gusano <i>Bombix mori</i> L.</i>	33
Figura 2. <i>Proceso de obtención del hilo de seda.</i>	34
Figura 3. <i>Capullos (pupa e impurezas retiradas del capullo) e hilos de seda.</i>	41
Figura 4. <i>Proceso de extracción de la sericina de capullos e hilos de seda.</i>	42
Figura 5. <i>Proceso de deshidratación por liofilización.</i>	43
Figura 6. <i>Proceso deshidratación por spray drying.</i>	44
Figura 7. <i>Sistema CIELAB.</i>	46
Figura 8. <i>FTIR de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratados por: a) liofilizada y b) spray drying.</i>	52
Figura 9. <i>Deconvolución de la región amida I ($1600-1700\text{ cm}^{-1}$) de las muestras SSC y SSY, deshidratadas por: a) Liofilización y b) Spray drying.</i>	53
Figura 10. <i>SEM de sericina deshidratada por los métodos: 10a) liofilización y 10b) spray drying.</i>	56
Figura 11. <i>TGA y DTG de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratada por los métodos: a) liofilización y b) spray drying.</i>	58
Figura 12. <i>Solubilidad de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratada por los métodos: a) liofilización y b) spray drying.</i>	61
Figura 13. <i>ANOVA para el comportamiento de la solubilidad.</i>	63
Figura 14. <i>Comportamiento de CH, CRA, CAL para las muestras de sericina extraídas de capullo e hilos de seda. Deshidratadas: a) Liofilización y b) Spray drying.</i>	65
Figura 15. <i>ANOVA para el comportamiento de la CH, CRA y CAL.</i>	67
Figura 16. <i>ANOVA para el comportamiento del contenido proteico.</i>	73

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. <i>Aplicaciones de la sericina.....</i>	39
Tabla 2. <i>Cuantificación de proteínas por el método de Biuret.....</i>	48
Tabla 3. <i>Porcentajes de estructuras en SSC y SSY, en ambos métodos.</i>	54
Tabla 4. <i>Subgrupos presentes en la prueba de solubilidad.....</i>	63
Tabla 5. <i>Parámetros CIELAB e índices de amarillo/azul y blancura.</i>	69
Tabla 6. <i>Relación entre el juicio del observador y la diferencia de color ΔE.</i>	70
Tabla 7. <i>Parámetros CIELAB de la CMC.</i>	70
Tabla 8. <i>Diferencia cromática de SSC y SSY deshidratada por liofilización y spray drying con respecto al CMC.....</i>	70
Tabla 9. <i>Contenido proteico y punto isoeléctrico de la sericina extraída de capullos e hilos de seda y deshidrata por dos metodos: liofilización y spray drying.....</i>	71
Tabla 10. <i>Resumen de los resultados obtenidos para las muestras de sericina.....</i>	73

RESUMEN

Actualmente existe una creciente necesidad de generar alternativas para el aprovechamiento de los subproductos derivados del tratamiento de la seda, como es el caso de la proteína de sericina, la cual es extraída en la etapa de desengomado que se le realiza al capullo del gusano *Bombix mori L.* en el proceso de la obtención del hilo de seda.

Este trabajo se enfocó en la extracción de la proteína de sericina utilizando como materia prima capullos (SSC) e hilos de seda (SSY), provistos por la Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca –CORSEDA, Popayán. La extracción de la sericina se realizó por medio de agua caliente usando un autoclave, donde se obtuvieron las soluciones de sericina que posteriormente se deshidrataron por dos métodos: liofilización y spray drying. Las propiedades de las muestras obtenidas en cada proceso de secado se caracterizaron y compararon para evaluar su potencial uso como aditivo en el desarrollo de un alimento. Los resultados mostraron que las propiedades y el comportamientos de la proteína tienen una dependencia significativa con el método de deshidratación, y una influencia no muy marcada con la fuente de extracción, por lo cual, al realizar una formulación de alimentos se debe tener en cuenta el proceso a elegir de deshidratación de la proteína, a fin de determinar cuál de las propiedades son las necesarias para dicho desarrollo.

PALABRAS CLAVE: Sericina, liofilización, spray drying.

INTRODUCCIÓN

La sericultura es el conjunto de actividades culturales y económicas que se desarrollan en torno a la seda (Pescio et al., 2009); ésta integra tres componentes, a) el agrícola con el cultivo de la morera *Morus sp*, b) el pecuario con la cría del gusano de seda *Bombyx mori L* y c) el agroindustrial, con la transformación del hilo en la industria, principalmente la textil (Cifuentes, 1998). Esta actividad se desarrolla en más de 20 países, siendo China el principal productor con más del 70% de las 100 mil ton anuales producidas mundialmente, seguido por países asiáticos como Japón, India, Tailandia y Vietnam; con una producción menor Italia y Francia (Pescio et al., 2009).

Durante el proceso de transformación de la seda se producen diferentes residuos, tales como capullos defectuosos, fibras cortas, pupa, además de la sericina, los cuales generalmente eran desaprovechados debido al desconocimiento de su potencial comercial. Sin embargo, la creciente incorporación de sedas artificiales y la competencia internacional de productores de seda, ha llevado a los países asiáticos a desarrollar una cadena serícola integral, donde se aprovecha toda la materia prima resultante del proceso de transformación. Específicamente, la comunidad científica ha despertado gran interés en el uso de las proteínas que conforman la seda: fibroína y sericina, ya que son de origen natural, biodegradables, no tóxicas y tiene gran versatilidad en su uso. En la literatura se encuentra una gran cantidad de publicaciones y estudios, donde se han explorado sus propiedades y se han desarrollado diferentes productos a partir de ellas, encontrando mayor información sobre la fibroína (Wong, Chan, y Chrzanowski, 2014).

En Colombia todavía es muy precario el conocimiento de las proteínas de la seda, por lo tanto, se hace necesario generar un conocimiento de sus propiedades y evaluar su relación con la fuente de obtención y los procesos de extracción utilizados, teniendo en cuenta los estudios desarrollados a nivel internacional. Adicionalmente, es importante tener en cuenta que sus propiedades 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, pues estos factores indicarán la calidad y las propiedades de la seda obtenida (Pescio et al., 2009; Rodríguez et al., 2012).

El proceso de extracción de la sericina se logra en una etapa llamada desengomado, donde además se eliminan algunos contaminantes naturales o adquiridos durante el proceso de obtención del capullo. El objetivo principal de esta etapa es eliminar la sericina, con el fin de obtener un hilo de seda suave, brillante y fácil de manejar. A nivel mundial, este proceso se hace en soluciones acuosas que contienen detergentes, ácidos y sales, las cuales, finalizado el proceso son depositadas en sistemas de alcantarillado o suelos. Debido a la presencia de sericina, ácidos (oléicos, linoléico y linolénico), pigmentos y de los compuestos que se usan para realizar este proceso, el contenido de materia orgánica en los afluentes acuosos incrementa, generando problemas de contaminación hídrica (Capar, Aygun, y Gecit, 2009).

Considerando el problema ambiental que pueden generar las aguas resultantes del desengomado y sumado a las propiedades atribuidas a la proteína de sericina, tales como la resistencia a la oxidación, actividad antibacterial y antimicrobiana, protección a la radiación solar ultravioleta (UV), fácil absorción y liberación de humedad, inhibición de la actividad de la tirosina y de la cinasa, actividad celular, propiedades anticoagulantes y anticancerígenas, además, promueve el crecimiento celular y sirve como cicatrizante (Capar et al., 2009; Naskar, Barua, Ghosh, y Kundu, 2014; Ude et al., 2014; Vepari y Kaplan, 2007; Zhang, 2002). Diversas regiones se han interesado en la recuperación y utilización de esta proteína en el desarrollo de productos con valor agregado, por ejemplo, países asiáticos han implementado sistemas para la recuperación de la sericina debido, además de las razones ambientales, a las diversas propiedades y aplicaciones cosméticas y farmacéuticas, que se le adjudican a esta proteína. A pesar de encontrar algunos reportes, aún hay pocos estudios que evalúan la sericina como aditivo alimentario (Züge et al., 2015).

Teniendo en cuenta todo lo anterior y la inexistencia de estudios que evalúen las propiedades de la sericina obtenida a partir de la seda colombiana, esta investigación se

orientó a la caracterización de la proteína de sericina extraída a partir de capullos defectuosos y del hilo de seda, con miras a ser incluida en matrices alimentarias, pudiendo representar para el sector serícola un beneficio ambiental, económico y social significativo.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. PROTEÍNAS

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas de aproximadamente 20 aminoácidos diferentes, unidos entre sí por medio de enlaces peptídicos; éstas se encuentran como mezclas complejas en los sistemas biológicos, donde desempeñan gran cantidad de funciones: estructurales, transporte, motilidad, defensa, reconocimiento, almacenamiento, además de la función catalítica que llevan a cabo las enzimas y que resultan esenciales en la homeostasis del metabolismo (Arboledas Brihuega, 2011; Badui Dergal, 2006). Las proteínas poseen propiedades y características que las diferencian unas de otras, por las cuales pueden ser separadas y aisladas de sus fuentes, entre las más importantes se encuentran la solubilidad, el punto isoeléctrico, la desnaturalización, la solvatación o hidratación, la densidad y la conducta en presencia de sales (Bolaños V, Lutz C, y Herrera R, 2003).

Uno de los comportamientos más importantes en el estudio de las proteínas es su carácter hidrofóbico o hidrofílico, el cual viene determinado por la secuencia de los aminoácidos, conformación, carga neta y por su peso molecular; este comportamiento es fundamental para el conocimiento del tipo de interacciones que pueden establecerse entre proteínas o con otras moléculas orgánicas. Algunas de estas reacciones se utilizan en la industria alimentaria para modificar la conducta de algunas moléculas presentes en los alimentos y por consiguiente, también cambian las propiedades funcionales de las proteínas y sus péptidos (Boatella Riera, 2004).

Las proteínas poseen propiedades nutricionales, debido a que ayudan a cubrir requerimientos de nitrógeno y aminoácidos, garantizando un crecimiento y mantenimiento adecuados del individuo que las consume; asimismo, éstas pueden ser ingredientes de productos alimenticios funcionales (Badui Dergal, 2006).

Las proteínas se presentan de dos formas: una fibrosa, que es de estructura lineal, y posee baja solubilidad y alta resistencia mecánica, y otra globular, la cual es soluble en agua,

fácilmente degradable y tiene estructura compacta (esfera) (Campbell y Farrell, 2005; Vázquez Martínez, De Cos Blanco, y López Nomdedeu, 2005).

1.1.1. Estructura.

Para dar estructura a las proteínas, los aminoácidos que las componen se combinan entre sí por medio de enlaces peptídicos, variando el número de unidades de estas moléculas orgánicas. La conformación asumida por éstas definen las propiedades inmunológicas, enzimáticas u hormonales de las proteínas. Según su complejidad se pueden encontrar cuatro niveles de estructuras (Badui Dergal, 2006; Campbell y Farrell, 2005).

a) La estructura primaria de las proteínas hace referencia a la secuencia de aminoácidos (polipéptido). Este nivel es el más sencillo y el más importante, ya que determina la conformación final y la función de la proteína. Esta estructura es el primer paso unidimensional para especificar la estructura tridimensional de una proteína (Arboledas Brihuega, 2011; Campbell y Farrell, 2005; Vázquez Martínez et al., 2005).

b) La mayoría de las proteínas contienen más de un tipo de estructura secundaria en diferentes porcentajes. Esta estructura corresponde a las torsiones y plegamientos que sufren las cadenas de aminoácidos, las cuales gracias al establecimiento de enlaces de hidrógeno entre los átomos de los grupos carbonilo y amino que participan en los enlaces peptídicos, puede adoptar distintas conformaciones (Rodríguez Rivera, 2008). En ausencia de puentes de hidrógeno, un polipéptido puede asumir varias conformaciones al azar, denominadas enrollamiento al azar (random coil, estructura amorfa de las proteínas) las cuales están controladas por el pH, la temperatura, la fuerza iónica, los sólidos solubles y la constante dieléctrica del disolvente. Por otro lado, cuando en ciertos residuos se forman puentes de hidrógeno estabilizadores, partes de la cadena principal se pliegan en una o más estructuras periódicas bien definidas como α -hélice y β -hoja, que son dos de los patrones estructurales más importantes en las proteínas, y determinan la estructura cristalizada. El 60% de una proteína promedio se encuentra

formada por estas dos conformaciones, el resto de la molécula se compone de plegamientos y giros al azar (Badui Dergal, 2006; Lodish, 2005).

c) La estructura terciaria se refiere al modo en que la cadena polipeptídica se dobla sobre sí misma para producir una estructura plegada y compacta (forma tridimensional), característica de las proteínas globulares (Badui Dergal, 2006; Vázquez Martínez et al., 2005).

d) La estructura cuaternaria se refiere a la asociación de dos o más cadenas de aminoácidos, mediante interacciones o entrecruzamientos, las cuales proporcionan la energía necesaria para estabilizar la estructura de múltiples subunidades (Badui Dergal, 2006; Vázquez Martínez et al., 2005).

1.1.2. Las proteínas en la industria de alimentos.

La industria alimentaria se encuentra a la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean propiedades nutritivas, funcionales, sensoriales y que presenten funcionalidad múltiple, características ideales para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Badui Dergal, 2006; Dehnad, Jafari, y Afrasiabi, 2016).

Para la adición de una proteína en un alimento es importante tener conocimiento de sus propiedades funcionales, ya que éstas determinan su comportamiento general durante la producción, procesamiento, almacenamiento y consumo de los mismos. Algunas de las propiedades funcionales más importantes de las proteínas con aplicaciones alimentarias son: solubilidad, capacidad de hinchamiento y retención de agua, propiedades espumantes y capacidad de gelificación, emulsionante, entre otras. Es de gran importancia tener conocimiento que estas propiedades se ven influenciadas por las condiciones de extracción (temperaturas de obtención, tipo de solvente), e igualmente por factores que se puedan dar en el proceso del desarrollo del alimento, tales como tratamientos térmicos, cambios de pH, alta presión, fuerzas de cizallamiento, congelación, secado, homogenización, entre otros, los cuales tienen un efecto significativo en el cambio estructural de la proteína (Zayas, 1997; Zimmerman-Stein y Ruiz-Espinoza, 2010).

El comportamiento de la formulación y del resultado final del alimento, depende de la estructura tridimensional de las moléculas y de las interacciones que generan éstas con los demás componentes del producto, las cuales se pueden dar así (Badui Dergal, 2006):

a) Propiedades de hidratación (interacción hidrodinámica): son las interacciones proteína-agua, estas dependen del tamaño, forma y flexibilidad molecular. Entre estas propiedades se pueden mencionar la absorción de agua, la capacidad de humectación, la capacidad de hinchamiento, la capacidad de retención de agua, la adhesividad, la dispersabilidad, la solubilidad, y la viscosidad.

b) Propiedades relacionadas con interacciones proteína-proteína: son las asociadas con la precipitación, gelación, formación de masa, de fibras, de película, la adhesión y la cohesión.

c) Propiedades de superficie (fenómenos de superficie): dependen de la composición superficial de la proteína, es decir, de la relación de aminoácidos hidrofóbicos/hidrofílicos, ya que de acuerdo a esto dependerá la capacidad de ligar grasas y sabores (emulsificación, espumado y unión de sabores).

1.2. DESHIDRATACIÓN

La deshidratación es uno de los métodos de conservación de alimentos más antiguos, en el cual se logra la reducción del contenido acuoso en las matrices alimentarias prolongando de esta manera su vida útil. Se hace especialmente con el fin de mejorar su conservación microbiológica y retardar muchas de las reacciones indeseables que generan el deterioro de los alimentos (Bello Gutiérrez, 2000). Además de lograr la conservación de los alimentos, la deshidratación permite disminuir los costos de envasado, manejo, almacenamiento y transporte, ya que se reduce el peso del alimento y en algunos casos el volumen (Ibarz y Barbosa Cánovas, 2005).

En el caso de las proteínas los métodos de deshidratación son importantes primordialmente para la eliminación del solvente (generalmente agua). Una proteína o péptido en presencia de agua es inestable y puede generar diferentes tipos de

desnaturalización, tales como la gelificación o la agregación/desagregación; generándose una hidrólisis o la oxidación de esta misma (Wahl, Khinast, y Paudel, 2016).

1.2.1. Métodos generales de deshidratación.

En la actualidad existen diferentes métodos de deshidratación en la industria de alimentos, todos con el fin de disminuir la cantidad de agua presente en estas matrices, minimizando la pérdida de los compuestos originales del alimento en su estado natural.

Algunas técnicas son:

a) Deshidratación osmótica: Operación que consiste en la remoción del agua contenida en los alimentos mediante su inmersión en soluciones concentradas que poseen alta presión osmótica y menor actividad de agua que el alimento en cuestión (Jurado, Calder, y Calderón, 2012).

b) Deshidratación por aire caliente: Proceso en el cual se presenta una transferencia de calor por convección y un contacto directo de la sustancia con el aire caliente en el cual tiene lugar la evaporación del agua. En esta técnica las variables importantes son: temperatura, humedad relativa del aire de secado, flujo de aire, tamaño y forma del producto a deshidratar (Landwehr, 1999).

c) Deshidratación por liofilización: Tratamiento que permite la eliminación del agua presente en un producto por medio de la sublimación de la misma, donde las variables analizadas en el proceso son el tiempo de deshidratación y presión (Ramírez Navas, 2006).

d) Deshidratación por spray-drying o atomización: Método establecido para la transformación de materiales líquidos en forma de polvo seco. Es ampliamente utilizado en las industrias alimentaria y farmacéutica (Anandharamakrishnan, S. y Ishwarya, 2015). Dentro de esta técnica se ven involucradas un elevado número de variables que influyen en la cinética de secado y en las propiedades del producto final (Mondragón, Julia, Barba, y Jarque, 2013).

e) Deshidratación por ventana refractiva: Utiliza agua a 95 °C como principal medio de transferencia de calor para transmitir energía a un producto principalmente por radiación térmica. El proceso permite que la radiación proveniente del agua caliente pase a través de una película que literalmente está flotando en la superficie del agua, de esta forma, la radiación térmica llega al producto, provocando la evaporación del agua que constituye al alimento, como consecuencia, se genera una rápida deshidratación del alimento a presión atmosférica (Morales Pérez y Vélez Ruiz, 2013).

A continuación se detallan dos de las técnicas más usuales en la industria y las cuales se implementarán en esta investigación.

1.2.2. Deshidratación por spray drying.

Durante los últimos 20 años se ha generado un alto interés en la técnica de deshidratación por spray drying, incrementando ampliamente su demanda en varios sectores industriales, principalmente en el de alimentos y fármacos. Este método es una operación unitaria, delicada con las propiedades reológicas y características organolépticas del producto. El objetivo principal de esta técnica es remover la humedad por medio de la aplicación de calor a un producto líquido, el cual es alimentado a una cámara de secado donde sufre una serie de transformaciones físico-estructurales antes de producirse un polvo. Estos cambios se producen debido a la influencia de cada una de las cuatro etapas del proceso de secado: atomización de la solución de alimentación, contacto del producto atomizado con el aire caliente, evaporación de la humedad y separación de las partículas. Cada etapa tiene una influencia en la calidad del producto final (Anandharamakrishnan, S. y Ishwarya, 2015; Greensmith, 1998).

Además de la influencia de las etapas del proceso de secado, cabe resaltar que tanto la eficacia de la deshidratación como la calidad del producto final, dependen de la relación entre los parámetros de operación (velocidad de operación, presión, temperatura de entrada y salida) y la estabilidad del producto a deshidratar (contenido de sólidos totales, viscosidad, tamaño de partícula). La temperatura de trabajo es una de las variables más importantes para la calidad del producto, la cual se controla en tres puntos: en la solución

que va a ser alimentada (antes del secado), en la entrada al secador (150-220 °C) y en la salida (50-80 °C) del mismo; esta última es más baja, lo cual disminuye la degradación térmica del producto (Gómez Cruz y Jiménez Munguía, 2014).

En la industria de alimentos, algunos productos deshidratados por esta técnica son: proteínas, café instantáneo, sopas, leche, té, quesos, helados, entre otros. Igualmente, es la forma más común para encapsular aromas, sabores y compuestos bioactivos (vitaminas y aceites esenciales). La creciente demanda de esta técnica en el sector de alimentos se debe a los resultados obtenidos en los productos finales, los cuales reflejan alta calidad, estabilidad, funcionalidad y contenido bajo de humedad (Gómez Cruz y Jiménez Munguía, 2014), además de brindar (Greensmith, 1998):

- a) Flexibilidad en el manejo del producto final, tanto en transporte como en la planta.
- b) Producción de alta calidad con propiedades bacteriológicas, químicas/físicas y funcionales estables.
- c) Prolongación de tiempos de almacenamiento, ya que la vida útil del producto aumenta.

1.2.3. Deshidratación por liofilización

El proceso de deshidratación por liofilización o secado por congelación, es un método utilizado comúnmente para brindar estabilidad a productos acuosos que requieren de almacenamiento de largo plazo; causando un deterioro mínimo en la estructura nativa del producto, y reduciendo las pérdidas de los compuestos responsables del sabor y aroma en los alimentos (Heller, Carpenter, y Randolph, 1999).

La liofilización es el proceso donde la eliminación del agua (solvente más común) se realiza por un proceso de sublimación, es decir, cuando se da la transformación directa del hielo a gas sin pasar por el estado líquido. Estas condiciones se consiguen manteniendo la temperatura y la presión por debajo de las condiciones del punto triple (punto en el que pueden coexistir los tres estados físicos), en el cual no se sostendrá el crecimiento biológico ni las reacciones químicas (Lujan Gonzáles y Ocampo Isaaza, 2008; Ramírez Navas, 2006)

El principio básico de este método está compuesto por 2 etapas: congelación y deshidratación. La congelación debe ser muy rápida con el objetivo de obtener un producto con cristales de hielo pequeños y en un estado amorfo, en esta etapa se separa el solvente de los solutos, ya que en un sistema acuoso, el agua forma cristales y los solutos estarán en la región intersticial entre éstos. Comúnmente se utiliza el nitrógeno líquido para congelar las muestras, ya que proporciona una velocidad de enfriamiento más rápida (300 K/s) que muchos otros mecanismos (Heller et al., 1999; Mellor, 1978). La etapa de deshidratación se realiza a presiones bajas para permitir la sublimación del hielo, donde se dan dos fenómenos: el primero es la sublimación del hielo bajo condiciones de vacío, y el segundo cuando la humedad residual ligada al material sólido es extraída dejando así un producto deshidratado (Rangel Marrón, 2004).

Así como en el método de secado por spray drying, la deshidratación por liofilización puede llevar a cambios en la estructura de las proteínas (secundaria y/o terciaria). Para evitar estos cambios, habitualmente se utilizan: a) estabilizadores como agentes antioxidantes o crio-protectores, los cuales mejoran la estabilidad de la solución y/o del producto liofilizado, b) soluciones buffer para estabilizar y controlar el pH de las muestras, c) agentes de carga que aumentan la estabilidad (crio-protector) y que proveen una refinada estructura del polvo obtenido, y d) surfactantes, los cuales evitan la agregación y aumentan la solubilidad/humectabilidad (Wahl et al., 2016).

El proceso de liofilización comparado con el secado por spray drying, es 30-50 veces más costoso debido a la velocidad lenta de secado y a la necesidad de usar vacío (Ramírez Navas, 2006), aunque el costo varía dependiendo del material a secar. Se ha probado que la liofilización convencional se usa ampliamente para remover agua de nanoemulsiones y formar nanocápsulas sin cambiar su estructura y forma (Gómez Cruz y Jiménez Munguía, 2014). Los alimentos liofilizados han tenido un gran auge en proyectos multinacionales con el fin de preparar productos para astronautas, montañistas y comandos militares, al igual que en la industria común se puede encontrar alimentos como leche, sopas, huevos, zumo de frutas, entre otros (Ramírez Navas, 2006).

1.3. SERICINA

1.3.1. Sericultura.

La sericultura es el conjunto de actividades culturales y económicas que se desarrollan en torno a la seda (Pescio et al., 2009); e integra tres componentes, a) el agrícola con el cultivo de la morera *Morus sp*, b) el pecuario con la cría del gusano de seda *Bombyx mori L* y c) el agroindustrial, con la transformación del hilo en la industria textil (Cifuentes c, 1998).

El cultivo de árboles de morera inicia con la producción de plántulas, seguido por el desarrollo del cultivo, el control de insectos o plagas y finalmente la cosecha. La cría de los gusanos incluye la conservación de sus huevos, la gestión de la cría, la prevención de sus enfermedades, su alimentación mediante el suministro de las hojas de morera y la recolección de las larvas maduras que inician la formación de los capullos (Resh y Cardé, 2009; Takeda, 2009). Para poder obtener la seda comercial, los capullos son cosechados al séptimo o noveno día luego de que los gusanos entran en éste, momento en cual los insectos se han transformado en crisálidas o pupas. Esta cosecha se debe realizar dentro de estos días para no correr el riesgo de que emerjan las mariposas, lo cual no es deseable puesto que con esta acción el capullo se perfora y ya no sirve para devanarlo, ya que se pierde la continuidad del filamento (Akai, 1984; Rodríguez et al., 2012).

1.3.2. Gusano de seda.

El gusano de seda *Bombyx mori L* es un insecto monófago estricto, es decir, se alimenta única y exclusivamente de hojas de morera, donde encuentra y obtiene los elementos nutricionales necesarios para su buen desarrollo fisiológico y productivo; debido a la presencia de fibra, sacáridos, agua, resina y proteína. Los tres primeros componentes ayudan a nutrir al gusano, mientras que los dos últimos componentes contribuyen a la preparación de la seda (Capsadell, 1883; Rodríguez et al., 2012).

En el cuerpo del *Bombyx mori L*. existen dos glándulas sericígenas, por las cuales sintetiza las proteínas obtenidas del alimento, que posteriormente son almacenadas en el lumen y se convierten en fibra de seda (ver Figura 1) (Patel y Modasiya, 2011). Esta

glándula se divide en tres regiones que tienen diferentes funciones: anterior, media y posterior. La región posterior es de gran longitud, es curvada y secreta exclusivamente fibroína, la principal proteína del hilo de seda, que conforma del 70-80% del capullo. La región media es la más grande de las tres regiones y tiene tres divisiones bien definidas formando una figura de “S”. Esta región secreta únicamente la proteína de sericina, la cual representa aproximadamente el 25-30% del peso en el capullo; y se compone principalmente por serina, ácido aspártico, glicina, treonina y prolina (Patel y Modasiya, 2011). La región anterior es un tubo estrecho donde se forma el filamento de seda, que por efecto de la presión elimina el agua y concentra ambas proteínas (Patiño Ospina, 2008).

Estas dos proteínas fibroína y sericina sintetizadas en la glándula sericígena, llamadas seda líquida, son segregadas por el gusano durante el hilado del capullo, y son expulsadas a través de la abertura de la hilera (ver Figura 1), para producir un delicado hilo de seda doble de fibroína (75-70%), protegido por una cubierta de sericina (25-30%) que mantiene los filamentos unidos, los cuales pueden llegar a medir hasta 1.500 m (Resh y Cardé, 2009; Rodríguez et al., 2012).

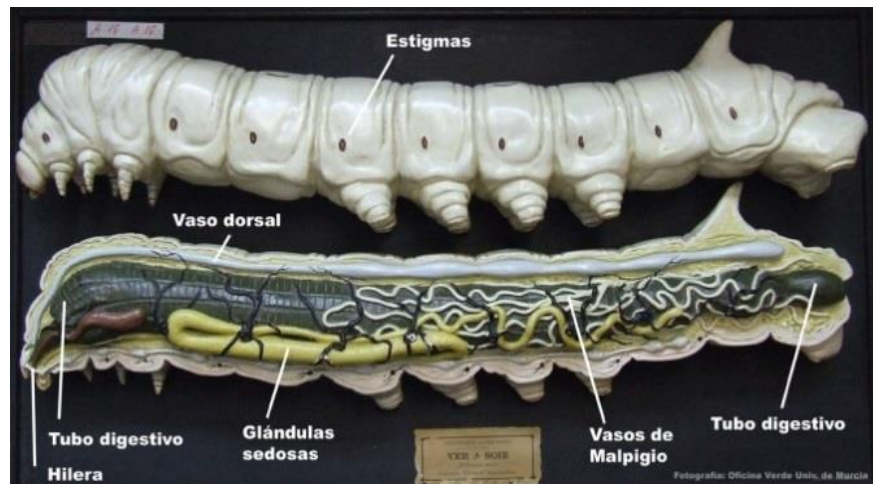


Figura 1. Morfología del gusano *Bombyx mori* L. (Eubacteria, 2015)

1.3.3. Proceso de obtención de la sericina.

Uno de los principales objetivos en la sericultura es la obtención de hilos de seda, los cuales se pueden procesar a partir de filamentos continuos, o bien como fibra corta, para

ésta última se utilizan los capullos defectuosos. Para lograr ésto se requiere de diferentes procesos, como se observa en la Figura 2 (Cifuentes, 1998; Pescio et al., 2009).

Durante el proceso de transformación de la seda se obtienen subproductos y residuos tales como capullos de rechazo (perforados, dobles, deformes, con puntas finas, manchados), las hebras (borra e hilaza), pupa o crisálida, aguas desengomadas, entre otros; desaprovechándolos casi en su totalidad debido a sus bajas propiedades, alto contenido de impurezas y al desconocimiento de su potencial comercial (Pescio et al., 2009).

DESBORRE: La borra es una fibra de seda laxa que mantiene amarrados los capullos a una estructura de sostén. Como esta fibra no es devanable, se debe retirar en el mismo lugar de la cosecha.

SECADO DE LOS CAPULLOS: Se realiza para sofocar a los gusanos. La temperatura inicial es de 110 a 115 °C y va descendiendo hasta llegar en la etapa final a 55 - 60 °C.

DEVANADO DEL CAPULLO: Aquí se obtienen las madejas de seda cruda. En esta etapa los capullos se sumergen en agua caliente, donde la sericina se ablanda y permite tomar el filamento a ser devanado.

DESCRUDE O DESENGOMADO: En esta etapa se elimina la sericina y demás contaminantes naturales o adquiridos durante el proceso de obtención de la seda.

PROCESOS, TINTÓREOS Y ACABADOS: Según el destino del producto final, la seda puede blanquearse, para luego colorear, ya sea con tinturas químicas o de origen natural.

Figura 2. Proceso de obtención del hilo de seda (Pescio et al., 2009).

En el transcurso de la obtención de la seda hay dos etapas en las cuales se remueve la sericina, la primera es el devanado y la segunda es el desengomado. En la primera etapa el agua se mantiene a una temperatura de 50-60 °C solubilizando alrededor del 1-3% de la sericina presente en el capullo. Durante el desengomado se remueve de manera parcial o total esta proteína; esto depende del uso final de la seda y de las propiedades que se le

quiera aportar al producto final, como brillo, suavidad o resistencia. Es común dejar la sericina en la seda hasta que esté lista para teñir.

El desengomado se realiza con dos propósitos: a) eliminar el contenido de sericina y b) eliminar los reactivos añadidos y la suciedad recogida en los procesos previos (Menezes, 2009). Anteriormente esta actividad se realizaba solo con el objetivo de eliminar esta proteína, sin embargo, el sector de la producción de la seda está investigando actualmente procesos de extracción que permitan la recuperación de la sericina para su posterior uso en el desarrollo de productos de alto valor añadido (Züge et al., 2015).

El desengomado es considerado como un proceso en el cual se da la división de los enlaces peptídicos de la sericina, ya sea por el uso de enzimas como las proteasas, químicos como ácidos débiles y álcalis, y agua a alta presión. Debido a que el método químico tiende a deteriorar las propiedades gelificantes y mecánicas de la sericina y la extracción enzimática limita su aplicación, el método de agua caliente/agua a altas presiones ha cobrado gran interés, ya que permite obtener una sericina sin agentes contaminantes (agentes químicos) ni impurezas. La extracción con agua a altas temperaturas normalmente se realiza en un autoclave durante periodos de tiempos largos (mínimo 30 min) con temperaturas superiores a 100 °C, donde la mayoría de investigaciones se desarrollan a 120 °C por más de 2 h (Lamboni, Gauthier, Yang, y Wang, 2015; Menezes, 2009; Züge et al., 2015).

1.3.4. Características y estructura de la sericina.

La sericina es un tipo de proteína hidrosoluble y de estructura globular compuesta principalmente por β -hoja y espiral al azar (Cenis, 2008). Esta proteína contiene propiedades físicas y biológicas, tales como: la actividad antibacterial y antimicrobiana, la protección a la radiación solar ultravioleta (UV), la facilidad para la absorción y liberación de humedad, la inhibición de la actividad de la tirosina y de la cinasa, la actividad celular, las propiedades anticoagulantes y anticancerígenas, además, promueve el crecimiento celular y sirve como cicatrizante (V. R. Silva, Ribani, Gimenes, y Scheer, 2012).

El peso molecular de la sericina oscila desde 40 a 400 kDa en el caso de la sericina extraída del capullo, y de 80 a 310 kDa la sericina que se obtiene directamente de la glándula del gusano (seda líquida) (Tao, Li, y Xie, 2005). Cuando esta proteína se solubiliza en un disolvente polar o se hidroliza en soluciones ácidas-alcalinas o se degradada por una proteasa; el tamaño de sus moléculas resultantes depende de factores tales como la temperatura, el pH y el tiempo de procesamiento (Y.-Q. Zhang, 2002).

La sericina cuenta con un 45,8% de hidroxiaminoácidos, un 42,3% de aminoácidos polares y un 12,2% de aminoácidos no polares (Shaw y Smith, 1951; Voegeli, Meier, y Blust, 1993; Y.-Q. Zhang, 2002), los cuales están repartidos en 18 aminoácidos, siendo los más importantes la serina (32%), ácido aspártico (18 %), glicina (16%), treonina (10%) y prolina (Mahesh N Padamwar, Pawar, Daithankar, y Mahadik, 2005). Posee fuertes cadenas laterales polares como grupos hidroxilo, carboxilo y amino, lo que permite su fácil reticulación, copolimerización y la mezcla con otros polímeros para producir materiales biodegradables con propiedades mejoradas (Ahn, Choi, Lee, Nahm, y Cho, 2001; Nagura, Ohnishi, Gitoh, y Ohkoshi, 2001). Debido a que el 70% de sus aminoácidos son hidrofílicos, esta proteína es parcialmente soluble y tiene la capacidad de absorber grandes cantidades de agua (Wu, Wang, y Xu, 2007).

De acuerdo a su solubilidad puede ser clasificada como sericina A, sericina B, y sericina C. La sericina A es la capa más externa y es la más soluble en agua caliente, contiene alrededor de 17,2% de nitrógeno y aminoácidos como serina, treonina, glicina, y ácido aspártico. La sericina B es la capa intermedia y contiene 16,8% de nitrógeno. Por último, la sericina C es la capa más interna, es adyacente a la fibroína y es insoluble en agua caliente; se puede extraer de la fibroína mediante tratamientos con ácido caliente diluido o con soluciones alcalinas; contiene azufre y un 16,6% de nitrógeno (M. N. Padamwar y Pawar, 2004; Sprange, 1975)

Algunos estudios han sugerido que la sericina nativa posee una región amorfa y una región cristalina. La región amorfa posee una estructura de espiral al azar (63%) y es la principal conformación molecular de la sericina fácilmente soluble, mientras que la región cristalina de la sericina es denominada β -hoja (35%) y es más difícil de disolver (Dash, Ghosh, Kaplan, y Kundu, 2007). Estos estudios también muestran que a una menor

temperatura, las moléculas de sericina presentan una mayor estructura de β -hoja que de espiral al azar, y caso contrario ocurre a altas temperaturas (Ayub Haider, Arai, y Hirabayashi, 1993; M. Tsukada, 1980). Estos cambios se deben a que las altas temperaturas degradan las β -hoja, aumentando la solubilidad de la sericina en agua caliente (Kundu, Dash, Dash, y Kaplan, 2008), la cual es reversible cuando se alcanzan nuevamente bajas temperaturas. Se ha reportado además que la continua absorción de humedad genera una estructura molecular más densa y con mayor cristalinidad, ocasionando la reducción en la solubilidad de la sericina (M. N. Padamwar y Pawar, 2004).

1.3.5. Propiedades de la sericina.

Gelificantes. El mecanismo de gelificación es el auto-ensamblaje de las cadenas proteicas en los cristales β -hoja físicamente reticulados. Las tensiones de cizallamiento o algunos disolventes orgánicos, pueden inducir la formación de estructuras cristalizadas insolubles (R. Silva et al., 2016). Cuando una solución de sericina se solubiliza en agua caliente y posteriormente la temperatura disminuye, la estructura de espiral al azar (amorfa) se convierte en β -hoja (cristalina), dando como resultado la formación de un gel (Huddar, 1985; Liangjun, Juming, y Youlu, 1998). La transición de espiral al azar a β -hoja también se puede dar por la continua absorción y desorción de humedad (en condiciones higroscópicas). Estos cambios son reversibles, por ejemplo, la estructura β -hoja puede volver a su estado de solución por calentamiento en agua a 50-60 °C y nuevamente gelificar al enfriarse (P. Aramwit, Siritientong, y Srichana, 2012; Jun, Mitsuo, y Kiyoshi, 1996; K., 1980). Esta transición de estado de sol-gel es una característica de la sericina que la diferencia de la fibroína (S. J. Kim, 2007).

Antioxidante. La sericina funciona como una barrera de protección del capullo de seda y del gusano contra agentes externos mediante su actividad antioxidante, previniendo el estrés oxidativo, inhibiendo la actividad tirosinasa y la peroxidación lipídica (Norihisa et al., 1998). Dicha actividad antioxidante proviene de su naturaleza proteica, debido a su composición en aminoácidos; también se debe a la presencia de carotenoides y compuestos fenólicos como los flavonoides, que ejercen un efecto antioxidante mediante varios

mecanismos: previene la descomposición de compuestos lipídicos, se une a metales volviéndolos inactivos (quelante de metales), y bloquea las especies reactivas como el oxígeno singlete (Miguel, 2014).

Emulsificante: Las propiedades emulsionantes de la sericina se relacionan con la presencia de aminoácidos hidrófilos (mayor afinidad con una fase acuosa) e hidrófobos (mayor afinidad con fases oleosas), lo cual le da la capacidad de actuar como un agente tensoactivo en las soluciones compuestas de dos fases (agua/aceite). Así, la presencia de estos dos grupos de aminoácidos ayuda a disminuir la tensión interfacial y estabilizar la fase dispersa impidiendo la coalescencia de la emulsión. La interacción entre las fases de la solución dependerá de la concentración, distribución y de la naturaleza predominante de los aminoácidos dentro de la estructura de la proteína (hidrofílica/hidrofóbica) (Boom, 2008; Züge et al., 2015).

1.3.6. Aplicaciones de la sericina.

Las aplicaciones de la sericina abarcan desde cosméticos hasta productos biomédicos, incluyendo su uso en medicamentos contra el cáncer, anticoagulantes y aditivos de cultivo celular (ver Tabla 1). Puede ser incorporada en diferentes presentaciones tales como gránulos, gel, solución, películas, entre otros. Los estudios realizados en los últimos años han demostrado su potencial en las industrias biomédicas y farmacéuticas en países como Italia, Estados Unidos, China, Austria, Japón y Rumania (Kundu et al., 2008).

La aplicación final de la sericina está relacionada con la técnica de recuperación/extracción (P. Aramwit et al., 2012), y por su peso molecular. Por ejemplo, la sericina de alto peso molecular (superior a 20 kDa) es adecuada para la fabricación de biomateriales y membranas, mientras que la de bajo peso molecular (menos de 20 kDa) es adecuada para cosméticos como productos de cuidado de la piel y medicamentos (Capar, Aygun, y Gecit, 2008). Para el campo de los cosméticos la sericina a usar requiere de una hidrólisis enzimática (Vaithanomsat y Kitpreechavanich, 2008), mientras que sólo es necesaria una nano-filtración para su aplicación en biomateriales y en alimentos (Capar et al., 2008).

Tabla 1.

Aplicaciones de la sericina

Alimentos	Propiedades	Reconocida por la FDA como ingrediente apto para uso en alimentos. El polvo de proteína de seda se encuentra dentro de la lista “Generally Recognized as safe - GRAS”. La principal característica por la que se plantea el uso de la sericina como ingrediente funcional, es su capacidad antioxidante. Además, la literatura ha reportado que esta proteína actúa de manera sinérgica durante la absorción intestinal de diversos minerales como el hierro, el zinc, el magnesio y el calcio, lo que podría proponer su uso en alimentos fortificados o suplementos alimenticios. Se ha estudiado la obtención de los péptidos de sericina, con el fin de mejorar su propiedad como inhibidor de la enzima tirosinasa, puesto que al disminuir el tamaño de la proteína se mejora su absorción a nivel intestinal.
	Ejemplos	Con esta proteína se ha desarrollado productos dietarios como: - Tratamiento para el estreñimiento. - Alimentos con efecto antioxidante. - Pan, vinagretas. - Biofilms (P.M alrededor de 200 kDa) para revestimientos alimenticios, evitando que la humedad y el oxígeno los dañen.
	Ref.	(Food and Drug Administrati., 2001; M. N. Padamwar & Pawar, 2004; Sasaki, Yamada, y Kato, 2000; Wu, Wang, & Xu, 2008; Zhaorigetu, Sasaki, Watanabe, y Kato, 2001)
Biomédicos	Propiedades	En este campo se destacan las propiedades antioxidantes, anticancerígenas y anticoagulantes de la sericina, así como aplicaciones en la ingeniería de tejidos. Biofilms de sericina son estudiados principalmente para su aplicación en productos biomédicos y suministro de fármacos. Debido a que algunos estudios realizados han observado que la sericina por sí sola no forma una película consistente a pesar de que su peso molecular sea alto, ésta se puede combinar con otros biopolímeros para proporcionar una mejor estructura a la película.
	Ejemplos	Esta proteína es aplicada en productos contra el cáncer gracias a su actividad antioxidante y antiproliferativo contra las células de cáncer. Estudios han mostrado resultados contra el cáncer de piel y colon en ratas. También es usada en apósitos de curación de heridas abiertas o quemaduras, lentes de contacto con permeabilidad al oxígeno, entre otros productos.
	Ref.	(Kaewkorn, Limpeanchob, Tiyaboonchai, Pongcharoen, y Sutheerawattananonda, 2012; Kundu et al., 2008; Sothornvit, Chollakup, y Suwanruji, 2010; Zhaorigetu, Yanaka, Sasaki, Watanabe, y Kato, 2003)

Cosméticos	Propiedades	<p>La sericina ha sido altamente estudiada en el campo de la belleza, ya que ésta posee propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad y humectabilidad, dando varios beneficios en el desarrollo de diferentes formulaciones cosméticas, principalmente cremas y lociones. Es importante resaltar que el peso molecular (P.M) de la sericina afecta directamente la aplicación al tipo de cosmético en el que se desee incorporar, convirtiendo así el P.M en uno de los indicadores de control de calidad para tener en cuenta a la hora de ser incorporada en productos cosméticos.</p> <p>Estudios han reportado que sericina con un P.M de 30-150 kDa no puede penetrar la membrana celular de la epidermis humana, por lo tanto, no puede ser fácilmente absorbida por la piel. Un P.M entre 12-17 kDa es adecuado para productos cosméticos para el cuidado de cabello y uñas, mientras que una sericina con P.M entre 5-7 kDa es apropiada para aplicar a los cosméticos de la piel, ya que este tamaño puede penetrar la membrana celular y luego ser totalmente absorbida, además, con este peso molecular la sericina adquiere propiedades de proliferación celular y efectos inhibidores de muerte celular.</p>
	Ejemplos	<p>Entre los productos desarrollados con presencia de sericina se encuentran algunos cosméticos semi-oclusivos, cremas hidratantes, filtros solares, cremas antiarrugas, geles de afeitar en aerosol de espuma, polvos para recubierto de cosméticos como los inhibidores de la dermatitis y casos de acné, cosméticos de uñas para ayudar al fortalecimiento de la estructura de ésta y dar luminosidad; mascarillas faciales, brillos labiales, champús y acondicionadores que mejoran la absorción de la humedad del aire y evitan la rotura prematura del pelo, entre otros.</p>
	Ref.	<p>(Hideyuki Fukui-shi Fukui, Keiko Ohkawa-gun Kagawa, y Keiji Tokyo, 2006; Muruges Babu, 2013; Naskar et al., 2014; M. N. Padamwar y Pawar, 2004; Patel y Modasiya, 2011; Sheng et al., 2013; Terada, Nishimura, Sasaki, Yamada, y Miki, 2003; Voegeli et al., 1993)</p>

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material

Los capullos (SSC) e hilos de seda (SSY) (Figura 3a y 3b) se obtuvieron de la Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca-CORSEDA. Los capullos fueron cortados en segmentos pequeños (aproximadamente de 0,5 cm) retirándoles la pupa seca y otras impurezas; de los hilos engomados se elaboraron madejas.



Figura 3. A) Capullos (pupa e impurezas retiradas del capullo). B) hilos de seda sin desengomar.

Fuente: autoría propia

2.2. Extracción de la proteína de sericina: desengomado

Este proceso se realizó por medio de agua caliente, haciendo uso de un autoclave marca Labtech a una temperatura de 121 °C por 30 min, en una relación de baño 1:30 (w/v) (condiciones seleccionadas a partir de la revisión bibliográfica realizada y ensayos preliminares). Las soluciones de sericina obtenidas del capullo (SSC) e hilo de seda (SSY) se filtraron al vacío para eliminar impurezas y material particulado presentes en las muestras (ver Figura 4).

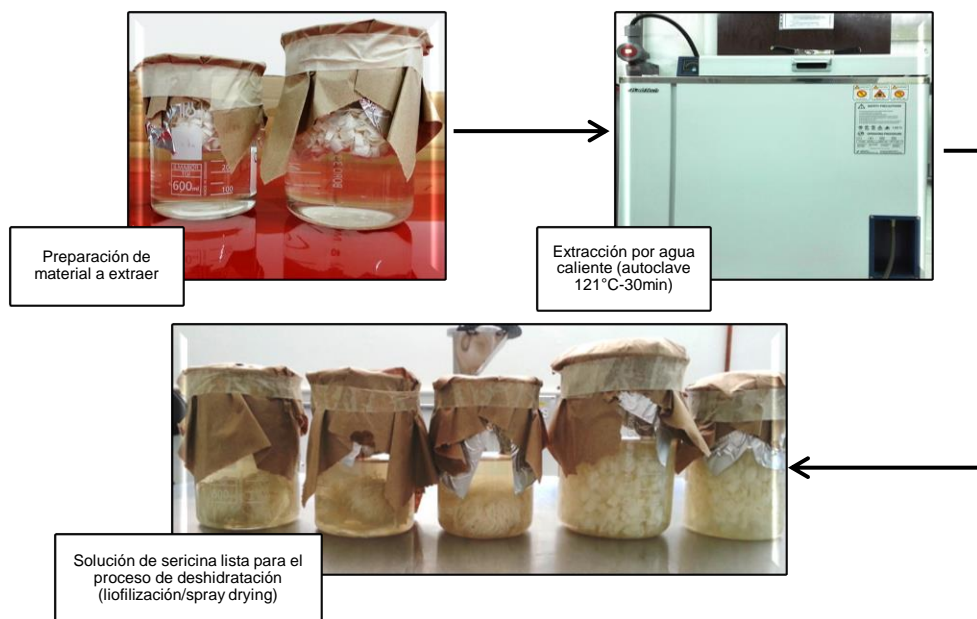


Figura 4. Proceso de extracción de la sericina de capullos e hilos de seda. Fuente: autoría propia

2.3. Secado de las soluciones de sericina

Las soluciones de sericina obtenidas en la extracción se sometieron a dos métodos de secado: liofilización y spray drying.

2.3.1. Deshidratación por liofilización.

La congelación previa de las muestras se realizó en los recipientes del liofilizador (frasco fast-freeze de 900 ml) utilizando nitrógeno líquido. 200 mL de cada solución de sericina congelados se llevaron a un procedimiento de deshidratación durante 72 h, (SSC y SSY) (ver Figura 5), utilizando un equipo marca Labconco, cuya temperatura del condensador y presión fueron $-82\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $0,023\text{ mbar}$ respectivamente. Las condiciones descritas fueron elegidas por los resultados de pruebas preliminares.

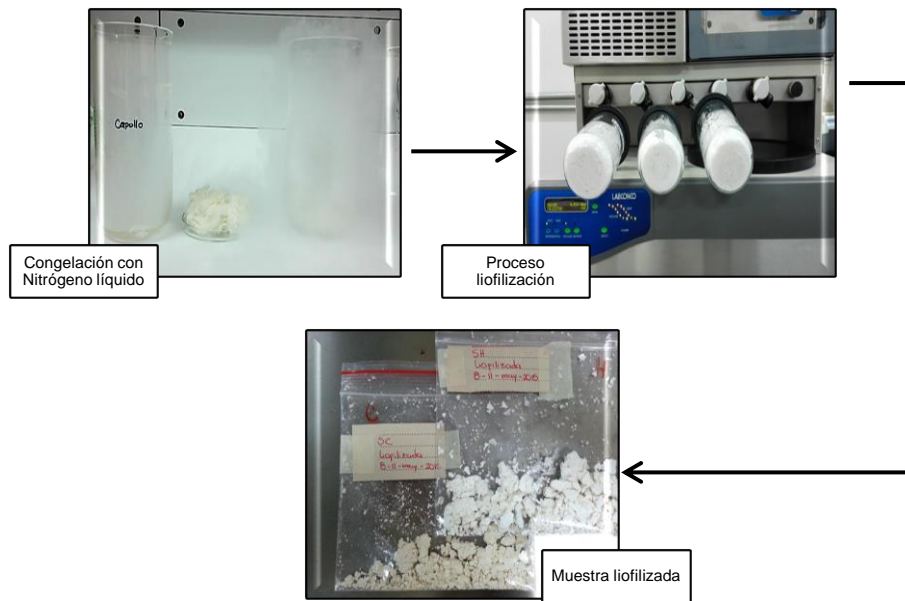


Figura 5. Proceso de deshidratación por liofilización. Fuente: autoría propia

2.3.2. Deshidratación por spray drying.

Este proceso se realizó como muestra la

Figura 6. Se utilizó un equipo marca BUCHI (B 290), donde 900 mL de cada solución de sericina (SSC y SSY) se bombearon en la cámara de secado con un caudal de 6,3 mL/min, una temperatura de entrada de 160 °C y una de salida de 70 °C, con un flujo de aspersion de 40 m³/h.

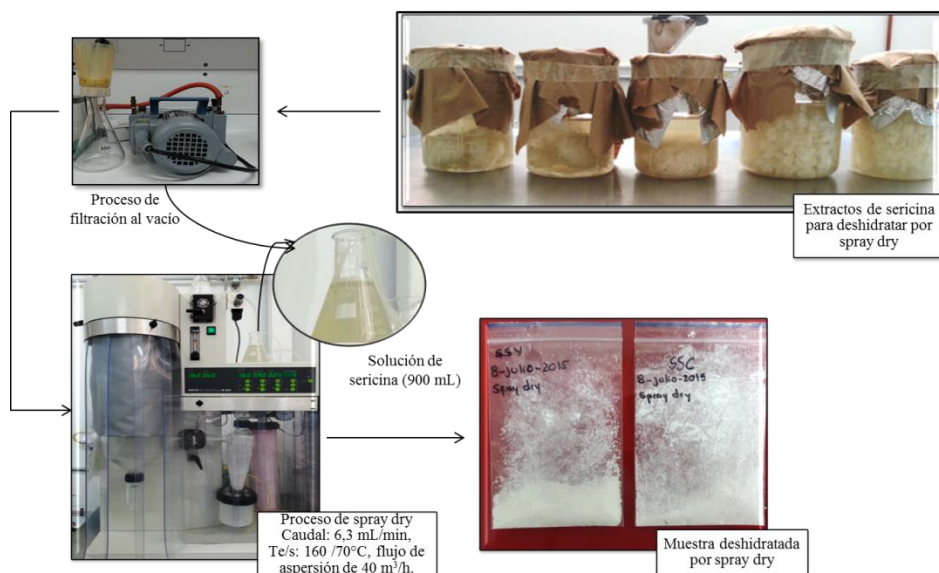


Figura 6. *Proceso deshidratación por spray drying. Fuente: autoría propia*

2.4. Caracterización de la proteína

A las muestras de sericina provenientes de la fase anterior, se les realizaron las siguientes pruebas de caracterización:

2.4.1. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Los espectros FTIR se analizaron usando un espectrofotómetro Nicolet 6700 Series, con el fin de obtener información sobre la estructura de la proteína. El equipo cuenta con una ventana de diamante montada en un soporte de carburo de tungsteno con un área de muestra de aproximadamente 0,5 mm². Para cada muestra se realizaron 64 barridos a una resolución de 4 cm⁻¹ y una longitud de onda a 4000- 400 cm⁻¹. Se realizó una deconvolución en la región de la amida I (1600-1700), utilizando el software Origin 6.0, efectuando una suavización de Savitzky-Golay con 7 puntos y formas de curvas gaussianas.

2.4.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM).

La morfología de la superficie de las muestras SSC y SSY obtenidas fue observada utilizando un microscopio electrónico de barrido en alto vacío con un detector de electrones secundarios (marca JEOL JSM-6490LV). Antes de la observación se realizó un recubrimiento delgado en oro utilizando un equipo marca DENTON VACUUM Desk IV, hasta lograr un espesor aproximado de 7 nm. 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 500x, 1000x, 2000x y 5000x.

2.4.3. Análisis termogravimétrico (TGA).

El análisis del comportamiento térmico de las muestras se llevó a cabo en una balanza termogravimétrica marca Mettler Toledo TGA Q500, donde los termogramas se obtuvieron bajo una atmósfera inerte de nitrógeno, con una velocidad de gas de 50 mL/min y una velocidad de calentamiento constante de 10°C/min, con un rango de temperatura de 30 a 800 °C.

2.4.4. Solubilidad en agua caliente.

El cálculo del Índice de solubilidad, se realizó por medio de una adaptación del método dado por Anderson (1982) y Phoungchandang y Sertwasana (2010). Se pesaron aproximadamente 25 mg de cada muestra seca (SSC y SSY) en tubos Falcón añadiendo 10 mL de agua destilada a cada uno, éstos se calentaron a tres temperaturas diferentes (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 sobrenadante del precipitado, llevando el primero de ellos a un horno de convección forzada marca Maxthermo a una temperatura de 35 °C por 24 h hasta alcanzar peso constante. El cálculo de la solubilidad en agua de la sericina se realizó utilizando la Ecuación 1. Este análisis se realizó por triplicado.

$$\text{Solubilidad en Agua (\%)} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} * 100 \quad (1)$$

Dónde: W1 = Peso de la muestra seca en polvo (mg)

W2 = Peso de la cápsulas (g)

W3 = Peso de la cápsula con el sobrenadante seco (g)

2.4.5. Color.

La medición del color se efectuó en un espectrofotómetro portátil de esfera X-rite serie SP60. Se utilizó el sistema colorimétrico CIELAB (ver Figura 7), el cual se basa en el modelo de los colores opuestos, definiendo cada color a partir de las coordenadas:

L*: luminosidad, toma valores desde 0 (negro) hasta 100 (blanco)

a*: cromaticidad, dando verde (-60) a rojo (+60)

b*: cromaticidad, de azul (-60) a amarillo (+60)

Se tomó como estándar de referencia la carboximetil celulosa de sodio (CMC) para el análisis de la percepción del color a los ojos humanos, ya que este aditivo es uno de los más comunes en la industria de alimentos.

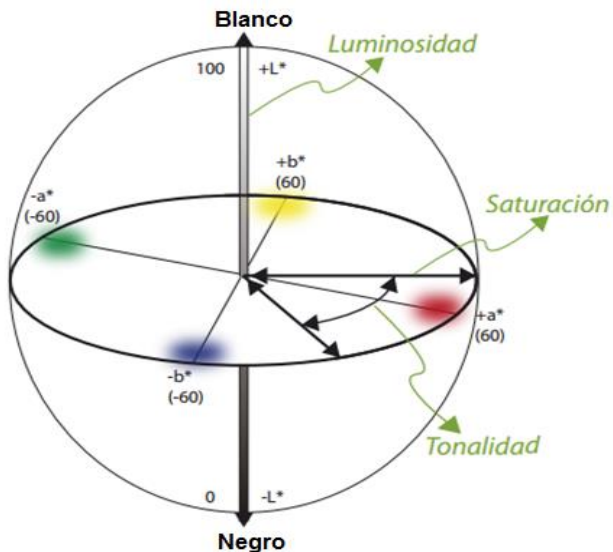


Figura 7. Sistema CIELAB. Fuente: (Ramírez-Navas, 2010)

Los resultados se expresaron como promedios aritméticos, con los cuales se calculó la diferencia cromática (ΔE , Ecuación 2) y el índice de amarillo/azul (IA) y blancura (IB) mostrados en la Ecuación 3. Estos índices se calculan empleando las ecuaciones reportadas por (Ramírez-Navas, 2010), donde:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L_{r,s}^*)^2 + (\Delta a_{r,s}^*)^2 + (\Delta b_{r,s}^*)^2} \quad (2)$$

$$IA = 142.86 \left(\frac{b^*}{L^*} \right) \quad (3)$$

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

2.4.6. Punto isoelectrico (P.I).

Se realizó una adaptación del método de Gonçalvess et al (1997), por tanto la sericina deshidratada por ambos métodos se solubilizó a 90 °C (de acuerdo a resultados obtenidos en la prueba de solubilidad). Las soluciones obtenidas se centrifugaron a 6000 rpm por 15 min y se separaron los sobrenadantes del sedimentado. Luego se tomaron 6 alícuotas para llevarlas a diferentes pHs desde 6,0 hasta 3,5 a intervalos de 0,5 unidades de pH (de acuerdo a ensayos preliminares). Luego de ajustar estos valores de pH, las muestras se centrifugaron nuevamente bajo las mismas condiciones. Los sobrenadantes obtenidos después de la centrifugación se recuperaron para determinar el porcentaje de proteína de cada alícuota por medio del método de Biuret.

El reactivo de Biuret se preparó de la siguiente manera: se disolvió 3,8 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 6,7 g NaEDTA en 700 mL de H_2O . Mientras se agitó se adicionaron 200 mL de NaOH 5N y luego 1 g de KI como estabilizante. La solución obtenida se guardó en un frasco de plástico.

Para la determinación del punto isoelectrico por el método de Biuret se realizó una curva de calibración utilizando una solución patrón de proteína (sericina comercial marca SIGMA), teniendo en cuenta las indicaciones de la Tabla 2.

Tabla 2

Cuantificación de proteínas por el método de Biuret (Beltrán Sanchez, 2010).

TUBOS	Estándar (20 mg/mL) (mL)	H ₂ O (mL)	R. Biuret (mL)
Blanco	0	1	10
1	0,25	0,75	10
2	0,5	0,5	10
3	0,75	0,25	10
4	1	0	10
SSC	1	0	10
SSY	1	0	10

Las soluciones preparadas en el tubo para el desarrollo del color se dejaron en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Luego se leyó la absorbancia del blanco a 550 cm⁻¹ para ajustar el 100% de transmitancia o el 0,0 de absorbancia.

2.4.7. Contenido de proteína.

El contenido de proteína se realizó por el método Kjeldahl, el cual está compuesto por 3 fases: Digestión, destilación y titulación, cada una de las cuales se lleva a cabo en un equipo diferente.

Para la etapa de la digestión se pesó de 0,5 a 1,0 g de muestra, el pesaje de la muestra se realizó en papel filtro sin contenido de nitrógeno. Esta etapa se realizó por triplicado. La destilación se llevó a cabo en un equipo marca Velp científica UDK 149, utilizando 30 mL de agua, 80 mL de ácido bórico, 100 mL de NaOH y un tiempo de ciclo de destilación de 6 min. Posterior a esto se realizó la titulación con HCl estandarizado. Con base a los datos obtenidos se calculó el porcentaje de nitrógeno en las muestras utilizando la Ecuación 4.

$$\text{Nitrógeno (\%)} = \frac{V(\text{L de HCl consumidos}) * M(\text{molaridad del HCl estandarizado}) * 14 * 100}{\text{peso de la muestra (g)}} \quad (4)$$

Para determinar el porcentaje de proteína de las muestras se saca el promedio del porcentaje de nitrógeno de las muestras y se multiplicó por el factor 6,25 como se muestra en la Ecuación 5, esta prueba se realizó por triplicado.

$$\text{Contenido de proteína (\%)} = \% \text{nitrógeno} * 6,25 \quad (5)$$

2.4.8. Capacidad de hinchamiento (CH).

Se determinó midiendo el volumen que gana la muestra después de alcanzar un equilibrio con un exceso de agua. Se pesaron aproximadamente 0,5 g de muestra deshidratada (SSY/SSC) en una probeta graduada midiendo el volumen inicial (V_i), los cuales se hidrataron con 10 mL de agua destilada. Posteriormente, las muestras se dejaron en reposo durante 24 h a temperatura ambiente y posterior a esto se midió el volumen final (V_f) de la muestra. Los resultados se expresan como mL de agua/g de sericina.

2.4.9. Capacidad de adsorción de lípidos (CAL).

Se midió como la capacidad de retención de aceite. Se pesaron aproximadamente 0,5 g de muestra deshidratada (SSY/SSC) y se vertieron en un tubo Falcon, al cual se adicionaron 10 mL de aceite. Las muestras se dejaron en reposo durante 24 h. Pasado este tiempo se centrifugaron a 4000 rpm por 20 min. El sobrenadante obtenido se decantó y se pesó el precipitado. La adsorción de lípidos se expresa como g aceite/g de sericina.

2.4.10. Capacidad de retención de agua (CRA).

Se determinó después de centrifugar el residuo insoluble en agua. Se pesaron aproximadamente 0,5 g de muestra deshidratada (SSY/SSC) en un tubo Falcon y se adicionaron 10 mL de agua destilada, se dejaron en reposo durante 24 h, luego de las cuales se centrifugó a 4000 rpm por 20 min, el sobrenadante se decantó y se pesó el precipitado. La retención de agua es medida como g agua/g de sericina.

Todos los análisis de caracterización funcional se realizaron por triplicado.

2.5. Análisis estadístico

Para los resultados de las pruebas CRA, CAL, CH, contenido proteico y solubilidad, se realizó un análisis de varianza (one-way ANOVA) utilizando Statgraphics, con el fin de determinar la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos para cada variable respuesta con respecto a las fuentes de extracción (capullos e hilo) y a los métodos de deshidratación utilizados (liofilización y spray drying). A partir del cálculo de la ANOVA, se obtuvo el gráfico que permite observar la media y los intervalos correspondientes para cada nivel, lo que facilita la identificación de los grupos estadísticamente iguales o diferentes. Se trabajó con un nivel de confianza del 95%.

2.6. Análisis general del uso de la sericina en alimentos

Según los resultados obtenidos en las pruebas de caracterización, se realizó un análisis desde el punto de vista de una potencial incorporación de la sericina deshidratada bajo las dos técnicas utilizadas a diferentes matrices.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados alcanzados en esta investigación, permitiendo realizar un análisis de comparación de las características obtenidas por los materiales de extracción y los dos métodos de deshidratación. Se utilizó la siguiente nomenclatura: SSC (silk sericin cocoon) y SSY (silk sericin yarn) donde los subíndices muestran el método de deshidratación realizado a la muestra (L: liofilización y S: spray drying).

3.1. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

En las Figura 8a y 8b se observan los espectros de las muestras SSC y SSY secadas por liofilización y por spray drying. Para ambas muestras se evidencia la presencia de vibraciones de los picos característicos de los grupos amida en las proteínas: la amida A y B ($3000-3500\text{ cm}^{-1}$), relacionadas con el estiramiento de los enlaces de N-H que se solapan con los residuos de aminoácidos hidroxilados (OH), tales como serina y treonina (Teramoto & Miyazawa, 2005). La amida I ($1600-1700\text{ cm}^{-1}$) representa el estiramiento de los enlaces C=O, los cuales están involucrados con la cadena principal de los polipéptidos y por lo tanto son más sensibles a la estructura secundaria y orientación molecular de la proteína; la amida II ($1504-1582\text{ cm}^{-1}$) está asociada con el estiramiento de los enlaces C-N (18-40%) y la deformación de los enlaces N-H. Por último se encuentra la amida III ($1200-1300\text{ cm}^{-1}$) que se asocia a los mismos enlaces que la amida II (Pornanong Aramwit, Damrongsakkul, Kanokpanont, y Srichana, 2010; Choudhury y Devi, 2016; Tretinnikov y Tamada, 2001; Wasan y Prasong, 2011).

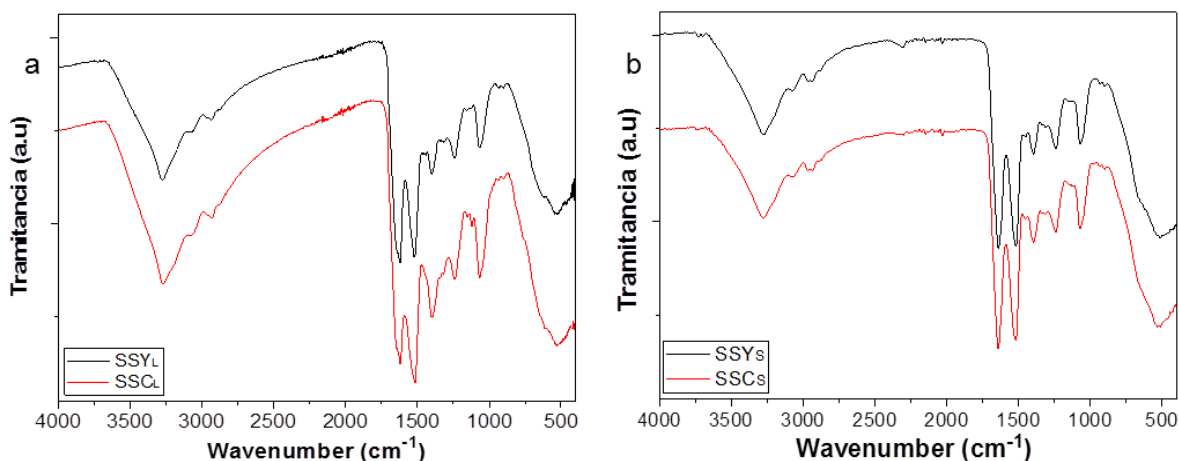


Figura 8. FTIR de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratados por: a) liofilizada y b) spray drying. Fuente: autoría propia

Para SSC_L y SSY_L , se pudo evidenciar que ambas muestras presentan picos principales que pertenecen a una estructura β -hoja, ya que la amida I se encuentra ubicada a $1623,77$ y $1621,84\text{ cm}^{-1}$, la amida II a $1522,52$ y $1519,63\text{ cm}^{-1}$, y la amida III a $1241,93$ y 1240 cm^{-1} respectivamente, los cuales de acuerdo a la literatura se relacionan con la presencia de dicha estructura. Kim et al (2012) presentan en su investigación los mismos resultados, donde obtienen una sericina liofilizada con una estructura predominante β -hoja, y observaron que para lograr un cambio de estructura a espiral al azar pueden agregar lio-protectores, lo cual favorece la solubilidad de las muestras (Pornanong Aramwit, Damrongsakkul, et al., 2010; M. K. Kim et al., 2012; Rajkhowa, Wang, Kanwar y Wang, 2011; Tretinnikov y Tamada, 2001).

En cuanto a las muestras SSC_S y SSY_S , el pico principal para la amida II en ambas muestras se presentó a $1516,05\text{ cm}^{-1}$ y para la amida III se observaron a $1236,37\text{ cm}^{-1}$ y $1238,30\text{ cm}^{-1}$ respectivamente, donde la estructura predominante en ambas es la β -hoja. Las vibraciones de la amida I se observaron a $1641,41\text{ cm}^{-1}$ para la muestra de SSC cuyo pico sobresaliente tiende a una estructura de espiral al azar; y para SSY este pico se observó a $1637,56\text{ cm}^{-1}$, que está relacionado con la estructura β -hoja (Tretinnikov y Tamada, 2001; H. Zhang et al., 2011).

Teniendo en cuenta que para determinar la estructura secundaria de una proteína los picos de referencia son los relacionados a la amida I ($1600-1700\text{cm}^{-1}$), debido a que surgen principalmente de la vibración del estiramiento de $\text{C}=\text{O}$ (Gupta, Agrawal, Chaudhary, Gulrajani, y Gupta, 2013; Tretinnikov y Tamada, 2001), se realizó un análisis cuantitativo de esta región mediante una deconvolución a fin de determinar la estructura predominante obtenida en ambas muestras (SSC, SSY) y métodos de deshidratación.

En la Figura 9 se pueden observar los picos encontrados en la deconvolución de la región amida I. Para cada curva se realizó un análisis inicial con 20 picos principales, los cuales solo se encontraron en el método de secado por liofilización, y de los cuales solo 11 se ajustaron a la curva. Por otro lado, en el método de spray drying se encontraron 10 picos para SSY y 7 para SSC, los cuales se lograron ajustar a la curva. En la Tabla 3 se presenta el ajuste que presentó a cada una de las muestras deconvolucionadas.

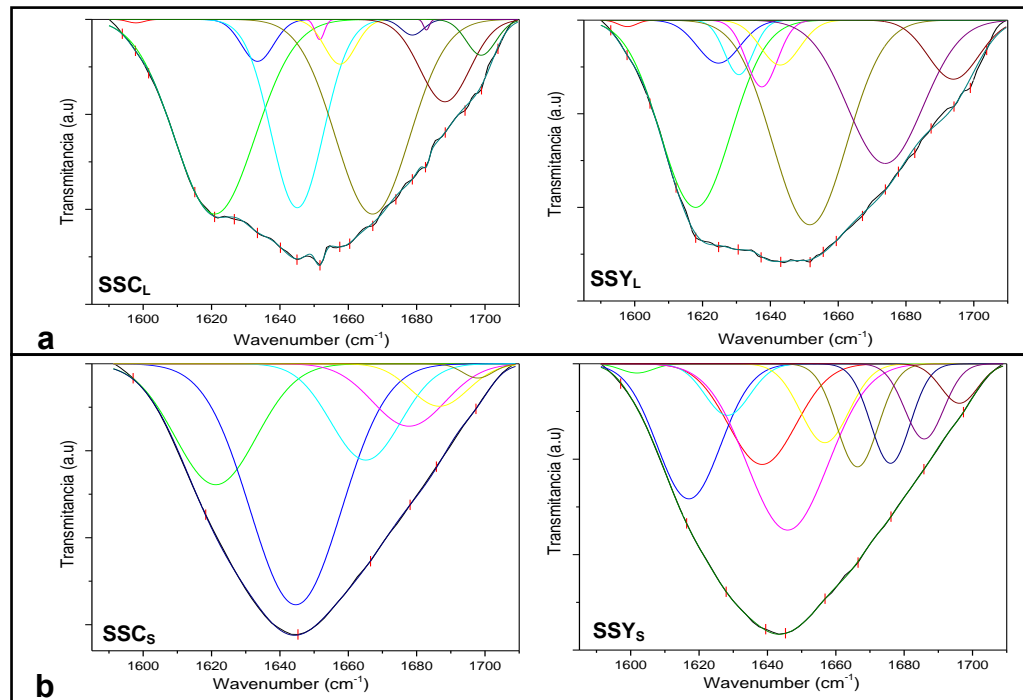


Figura 9. Deconvolución de la región amida I ($1600-1700\text{cm}^{-1}$) de las muestras SSC y SSY, deshidratadas por: a) Liofilización y b) Spray drying. Fuente: autoría propia

Realizando el ajuste y el análisis, se logró obtener los porcentajes de las estructuras presentes en la región de la amida I para ambas muestras y métodos, datos reportados en la Tabla 3, en la cual se observa que SSC_L y SSY_L presentan una estructura predominante de β -hoja en un porcentaje muy similar de 39,64% y 39,50%, sin embargo, se presenta una alta variabilidad con respecto a la cantidad de las demás estructuras (espiral al azar, α -hélice y giros). En el caso del método de secado por spray drying se evidencia que la estructura predominante es la de espiral al azar. Para el caso de la muestra SSY_S, cuyo análisis realizado de manera general en la amida I se relacionaba con un pico principal dentro del intervalo β -hoja (1600-1640) (M. K. Kim et al., 2012), luego de realizar la deconvolución se encuentra que su estructura predominante es la de espiral al azar. Para las muestras deshidratadas por spray drying se presenta una leve diferencia en las demás estructuras, a diferencia de lo encontrado en las muestras deshidratadas por liofilización.

Tabla 3
Porcentajes de estructuras en SSC y SSY, en ambos métodos

% Cantidad de estructura				
	SSY_L	SSC_L	SSY_S	SSC_S
Cadenas laterales	0,24	0,00	0,00	0,11
β-hoja	39,64	39,50	26,39	22,24
Espiral al azar	30,59	20,08	42,37	47,90
α-hélice	7,74	6,57	7,99	0,00
Giros (Turns)	21,79	33,85	23,25	29,75
Ajuste de curva (R²)	0,9989	0,9995	0,9999	0,9998

*Subíndice L: liofilización; subíndice S: spray drying

Con estos resultados se determina que dependiendo del proceso de deshidratación utilizado se puede favorecer la conformación de algunas estructuras; al igual que alterar la conformación molecular intrínseca de la sericina obtenida de los capullos e hilos de seda. Kim et al (2012), comentan que el proceso de eliminación de agua en la liofilización puede

provocar cambios en la estructura secundaria y/o terciaria de la proteína y dado que la estructura tridimensional inherente de la proteína define la actividad de ésta, cualquier cambio puede causar la pérdida de propiedades o generar comportamientos diferentes (M. K. Kim et al., 2012).

De acuerdo a los resultados observados, las estructuras α -hélice se presentan en menor proporción en el capullo que en el hilo, no presentándose en SSC_S. Este comportamiento corrobora los resultados encontrados por Lizuka (1969), citado por Mondal, Trivedy, y Kumar (2007), donde se plantea que la sericina extraída de la seda líquida y de capullos de seda, tienen una estructura espiral al azar, con 5-10% de estructura β -hoja y ninguna α -hélice. Igualmente, esto fue observado por Komatsu (1975), el cual dice que una solución acuosa de sericina muestra la estructura espiral al azar y la β -hoja, pero carece de α -hélice. Por otro lado, estudios realizados por Tsukada 1983 (citado en Mondal et al 2007), indican, basados en el análisis del espectro de dicroísmo circular, que la sericina extraída de seda líquida durante 45 min con agua caliente, contiene una pequeña fracción (10%) de α -hélice (Mondal, Trivedy, y Kumar, 2007), lo cual corrobora lo encontrado en la deconvolución de la región amida I de las muestras analizadas en esta investigación y muestra que el desengomado puede propiciar la aparición de esta estructura.

3.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la Figura 10 se observa la morfología de la sericina extraída de capullo e hilo de seda por ambos métodos de deshidratación, dando como resultado una diferencia significativa entre la estructura obtenida por ambos métodos, más no entre las dos materias primas utilizadas.

En la Figura 10a se observan las muestras de SSC_L y SSY_L, las cuales presentaron una estructura amorfa y porosa, percibiendo la configuración de SSC más gruesa y concentrada que SSY. Esta diferencia puede ser debido a que esta última ha pasado por varios tratamientos durante el proceso de obtención de la seda, durante los cuales se pueden eliminar algunas sustancias presentes en la seda como son carbohidratos, ceras y pigmentos

(Capar et al., 2009), que podrían alterar la formación de los cristales durante el proceso de congelación de la muestra. De acuerdo con Mosharraf, Malmberg, y Fransson (2007), el método de secado por liofilización genera una estructura amorfa o parcialmente amorfa, aumentando la estabilidad de la proteína, reduciendo así su movilidad y reactividad, y por tanto las interacciones proteína-proteína (Mosharraf, Malmberg, y Fransson, 2007).

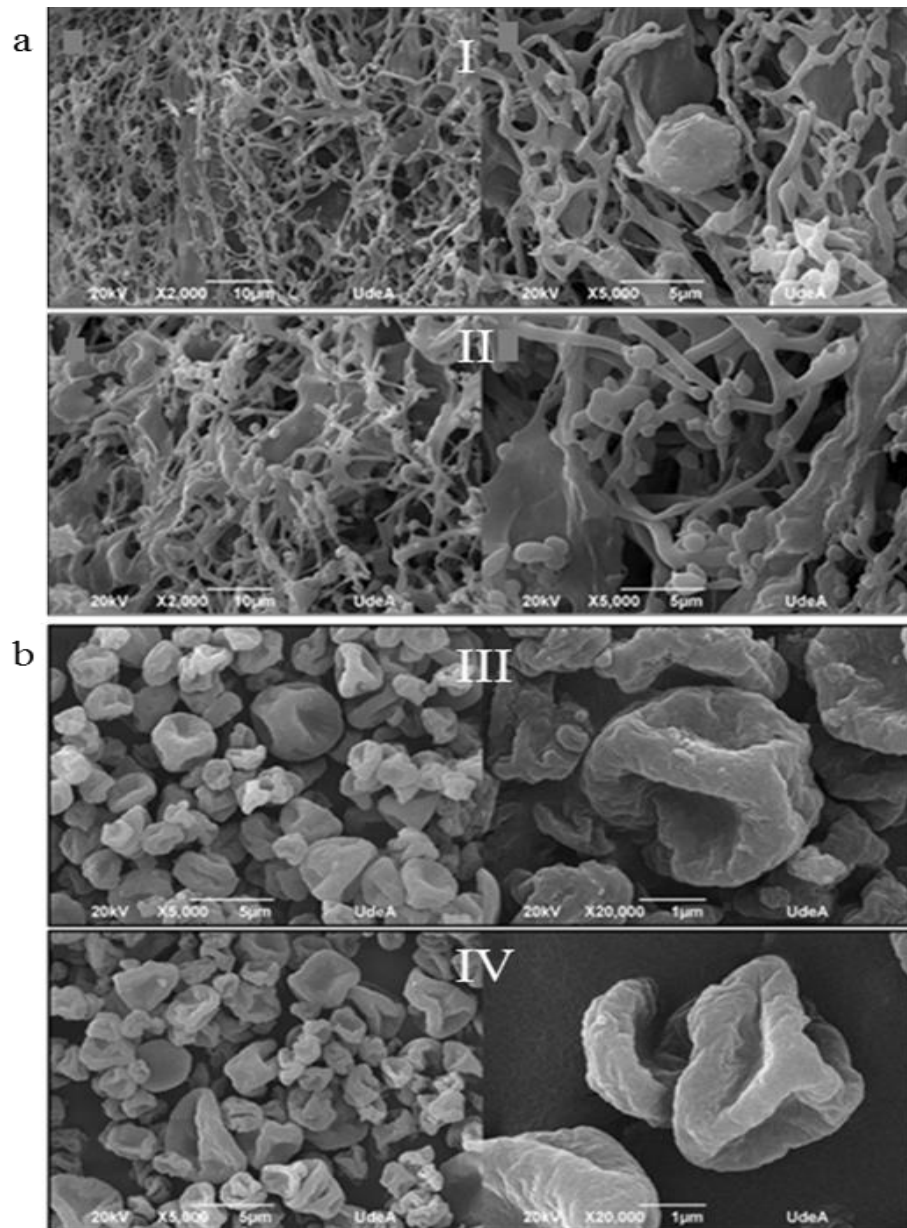


Figura 10. SEM de sericina deshidratada por los métodos: 10a) liofilización y 10b) spray drying. Dónde: I y III son de hilo, II y IV son capullo. Fuente: autoría propia

En cuanto a la morfología presentada por el método de deshidratación por spray drying, observada en la Figura 10b, se evidenció una aglomeración de las partículas en polvo, y una formación de esferas cóncavas de diferentes tamaños, que en el caso del capullo van desde 1,75 hasta 3,98 μ y entre 1,53 a 6,00 μ para el hilo. Estos tamaños son similares a los reportados por Genc, Narin, y Bayraktar (2009), quienes estimaron las características del polvo de sericina obtenido por spray drying a distintas condiciones de concentración de la proteína (10 y 30% (w/w)), de temperatura de entrada de aire (120 y 160 °C) y de la velocidad de flujo ($1,25 \times 10^{-7}$ y $2,5 \times 10^{-7}$ m³/s). Los resultados de su investigación mostraron que el tamaño de partícula obtenido depende de la velocidad de flujo de solución alimentada al equipo y de la concentración de la proteína en la solución, además, indican que la temperatura no tiene ningún efecto sobre el tamaño y morfología de las partículas, adicionalmente ellos reportan que la aglomeración de las partículas está relacionada con el contenido de humedad de las muestras (Genc, Narin, y Bayraktar, 2009).

Gulrajani, Purwar, Prasad, y Joshi (2009), muestran en su estudio una morfología similar a las obtenidas en este informe, donde ellos compararon las propiedades estructurales y funcionales del polvo de sericina secado por spray drying, obteniendo la proteína a partir de diversos métodos de desengomado tales como: el HTHP (autoclave/agua caliente), alcalino y el jabón alcalino, purificándolos por la tecnología de filtración por membrana. Ellos describieron que el polvo de la sericina obtenido por HTHP muestra “formas esféricas colapsadas, abolladuras de diferentes profundidades y tamaños, al igual que presentan una superficie de aspecto liso”, finalmente explican que la estructura colapsada de las partículas es consecuencia de la evaporación rápida del agua interna, dejando una concentración de gotas, las cuales tienden a formar abolladuras (Gulrajani, Purwar, Prasad, y Joshi, 2009). Así mismo Chollakup, Smitthipong, Mougin, y Nardin (2015), reportan que una mayor parte de las partículas de la sericina en polvo obtenidas por medio de agua caliente, se parecen a unas esferas huecas que están encogidas, lo cual establecen como resultado de la preparación de la muestra, adicionalmente reportan que las esferas de sericina en polvo obtenida manejan una gran distribución de tamaño (Chollakup, Smitthipong, Mougin, y Nardin, 2015).

Se puede deducir que la técnica de deshidratación y sus variables, influyen significativamente en la morfología y tamaño de las partículas obtenidas, y esto a su vez en las diferentes propiedades y comportamiento de la proteína.

3.3. Análisis termogravimétrico (TGA/DTG)

En la Figura 11 se observan las curvas obtenidas en el TGA para las muestras SSC y SSY deshidratadas por liofilización y spray drying. Los resultados muestran un comportamiento térmico similar entre las muestras SSC y SSY secadas por spray drying, caso contrario para las muestras deshidratadas por liofilización, donde se evidencia una pérdida de peso levemente mayor para la SSC.

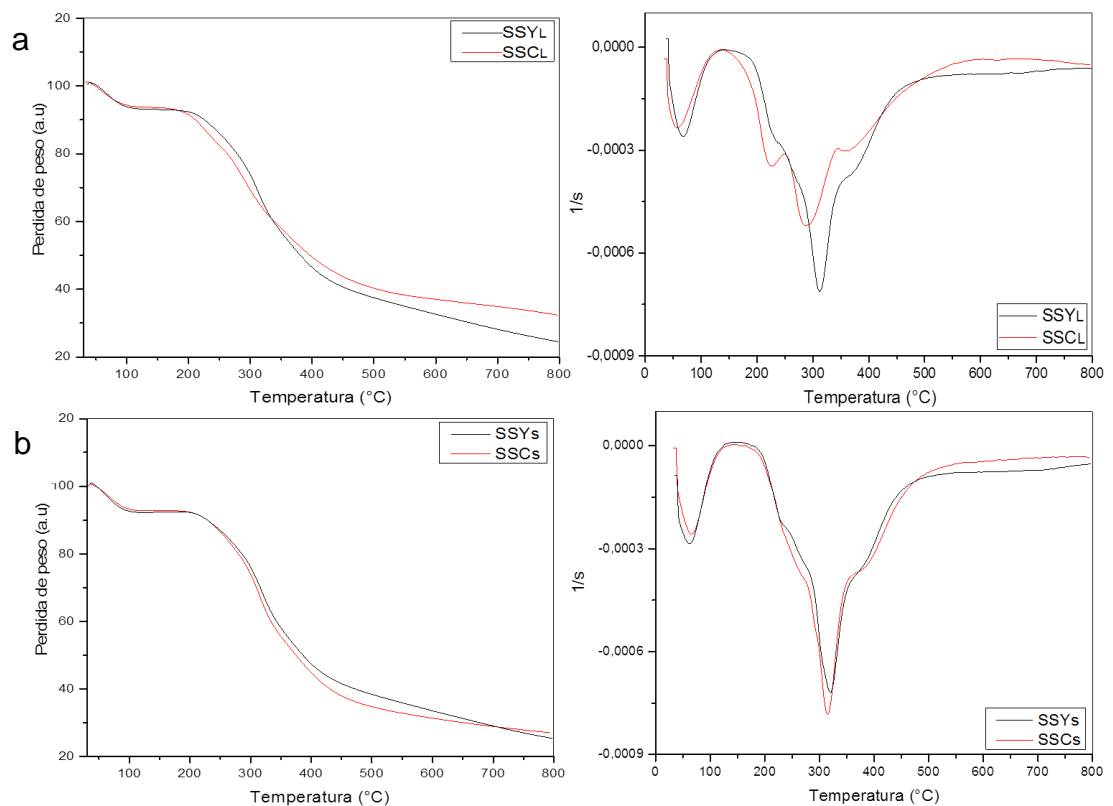


Figura 11. TGA y DTG de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratada por los métodos: a) liofilización y b) spray drying. Fuente: autoría propia

El TGA muestra una primera pérdida de peso a una temperatura entre 50-110 °C para SSC y SSY por ambos métodos de secado. Para las muestras liofilizadas se presentó una pérdida de peso inicial entre 7-9% y de 6-8% para las muestras deshidratadas por spray drying; esta pérdida se atribuye a la evaporación de agua remanente que contienen aún las muestras.

En Figura 11a se observa como las muestras SSC_L y SSY_L presentan un rango de temperatura de degradación aproximadamente entre los 195-460 °C y 210-425 °C, donde se presenta una pérdida de peso de 54% y de 52% respectivamente. Por otro lado, el método de secado por spray drying mostró un intervalo de temperatura de degradación entre 217-437 °C para SSC_S y 219-421 °C para SSY_S, en los cuales se evidencia una pérdida de peso de 57% y de 51% respectivamente (ver Figura 11b). La degradación de estas muestras está relacionada con la eliminación de compuestos volátiles, seguido de la degradación de las cadenas laterales de los aminoácidos y la ruptura de los enlaces peptídicos, dándose posteriormente una degradación casi completa de la sericina a temperaturas aproximadamente de 480 °C (Chollakup et al., 2015; Ho, Wang, y Lau, 2012; Khan, Tsukada, Zhang, y Morikawa, 2013; X. Zhang, Khan, Yamamoto, Tsukada, y Morikawa, 2012).

En las curvas DTG se observa que la muestra SSC_L presenta una mayor velocidad de degradación con una temperatura máxima de 287 °C, comparada con SSY_L (312 °C) y con las muestras SSC_S (316 °C) y SSY_S (320 °C), donde éstas últimas muestras son las de menor velocidad. También se evidencia que todas las muestras presentan tres picos principales de degradación, siendo más notables en el caso de las muestras liofilizadas, donde SSC_L y SSY_L presentan picos a 226, 287 y 361 °C y 232, 312 y 372 °C respectivamente. Para las muestras SSC_S y SSY_S estos picos se encuentran a 267, 316 y 390 °C y a 273, 320 y 375 °C.

Según lo reportado por Choudhury y Devi (2016), la degradación de la estructura β-hoja se da por encima de los 200 °C, lo cual, como ellos explican basados en estudios por calorimetría diferencial de barrido, ocurre luego de que la muestra experimenta una temperatura de transición vítrea (190-200 °C), donde se da una transformación de la fase

amorfa a una cristalina (Choudhury y Devi, 2016). Por otro lado, Nagura et al (2001), informan que la fibroína tiene cambios estructurales al ser inducida a tratamientos térmicos, observando que la estructura α -hélice se debilita repentinamente por encima de los 190 °C, y aproximadamente a una temperatura de 220 °C la estructura espiral al azar comienza a realizar una transformación a β -hoja, degradándose a temperaturas más altas (Masuhiro Tsukada et al., 1992).

3.4. Solubilidad en agua caliente

La solubilidad se encuentra estrechamente relacionada con la conformación molecular de la proteína, donde la estructura β -hoja aporta poca solubilidad a temperaturas bajas, a diferencia del espiral al azar la cual es fácilmente soluble en agua a temperatura ambiente (M. N. Padamwar y Pawar, 2004; M. Tsukada, 1980). Cuando la sericina se somete a temperaturas mayores de 60 °C sus β -hojas cambian a espirales al azar siendo este comportamiento reversible, por lo tanto, cuando vuelve a temperaturas bajas, esta estructura se convierte nuevamente en β -hoja dando como resultado la formación de un gel. Adicionalmente, la sericina posee la capacidad de absorber humedad, lo que provoca la formación de estructuras moleculares más densas y más cristalinas, lo que también reduce su solubilidad (P. Aramwit et al., 2012; Huddar, 1985; M. N. Padamwar y Pawar, 2004).

La Figura 12 presenta los resultados del porcentaje de solubilidad en agua para las muestras SSC y SSY deshidratadas por ambos métodos.

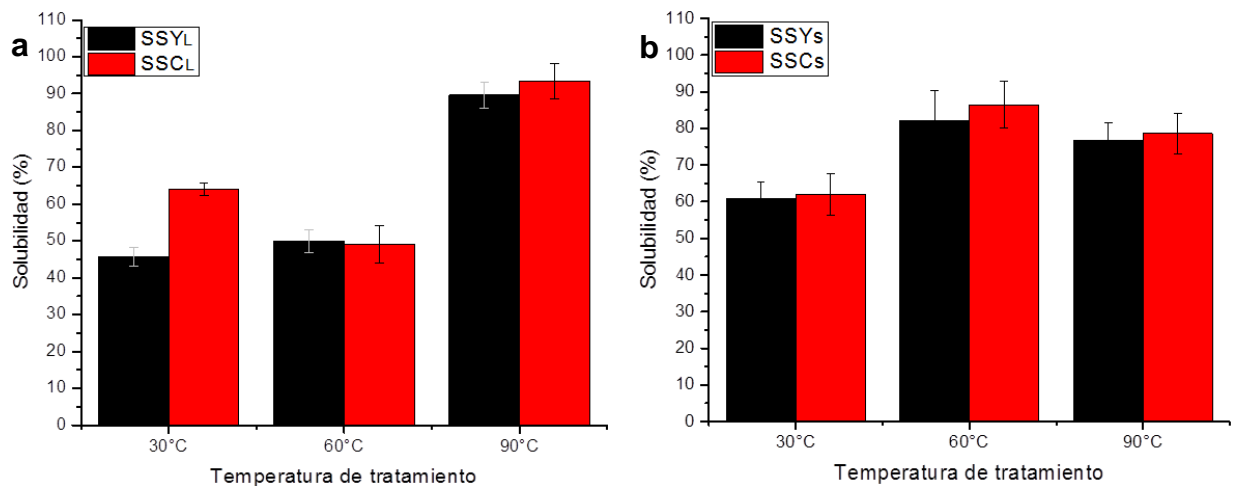


Figura 12. Solubilidad de la sericina extraída de hilos (SSY) y capullos (SSC) de seda, deshidratada por los métodos: a) liofilización y b) spray drying. Fuente: autoría propia

En el Figura 12a se observa el comportamiento de las muestras liofilizadas, donde se evidencia para ambas una mayor solubilidad a 90 °C, con un promedio de aproximadamente 91%. Para SSC_L a 30 °C se puede observar que la solubilidad es mayor (64%) que para las muestras SSC_L (60 °C) y SSY_L (30-60 °C) donde su promedio es alrededor de 48%. El comportamiento general de las muestras es coherente con el resultado obtenido en la prueba de FTIR, donde muestra que la estructura predominante para el polvo de sericina obtenido por este método de deshidratación es la β -hoja, la cual se forma cuando dos cadenas de la proteína entran en proximidad cuando el agua se elimina durante la liofilización y crea una alta tendencia a la agregación de cadenas, dando así lugar a la creación de dicha estructura y reduciendo de esta forma la solubilidad de la sericina obtenida (M. K. Kim et al., 2012).

Para las muestras secadas por spray drying observadas en la Figura 12b, se evidenció un comportamiento similar entre las muestras SSC y SSY en las tres temperaturas; donde se advierte la mayor solubilidad a los 60 °C. Este comportamiento está acorde con los resultados del FTIR encontrados en este estudio, donde las muestras deshidratadas por este método presentan una estructura predominante espiral al azar, la cual presenta una mayor solubilidad en comparación con la estructura β -hoja.

Estudios reportados por Kim et al (2012), muestran resultados similares a los obtenidos en esta investigación. Los autores realizaron una comparación de la solubilidad de sericina liofilizada con y sin lio-protector. Los resultados observados por medio de un FTIR evidencian que la sericina deshidratada sin lio-protector tiene una estructura β -hoja, y una solubilidad de 60% a temperatura ambiente. Para la muestra deshidratada con la adición de estos lio-protectores se observó un aumento de su solubilidad, ya que se eliminó la formación de β -hoja. Esto se debe a que al introducir el poliol, los grupos hidroxilo de éste competirán con el agua presente en las muestras, formando enlaces de hidrógeno con la proteína, así durante la liofilización, se sublima el agua, pero el poliol aún permanecerá en la proteína evitando la agregación de sus cadenas (M. K. Kim et al., 2012).

Luego del proceso de solubilidad todas las muestras se dejaron a temperatura ambiente, y en menos de media hora se evidenció la formación de gel. Este comportamiento lo presentaron principalmente las muestras liofilizadas, las cuales reportaron una estructura β -hoja. Kim et al (2012) reportan en su investigación un comportamiento similar de la sericina, ya que ellos comentan que esta proteína es extraída fácilmente por ebullición simple del capullo del gusano de seda en agua, pero la solución obtenida es inestable para un almacenamiento a largo plazo, ya que si su concentración supera el 1% se produce una gelificación durante el primer día (M. K. Kim et al., 2012).

La Figura 13 muestra el análisis de varianza para la solubilidad de las muestras, donde se pueden distinguir 6 subgrupos estadísticamente diferentes, constituidos cada uno por los niveles de temperatura, método de deshidratación y material de extracción, cuyos intervalos se solapan entre sí.

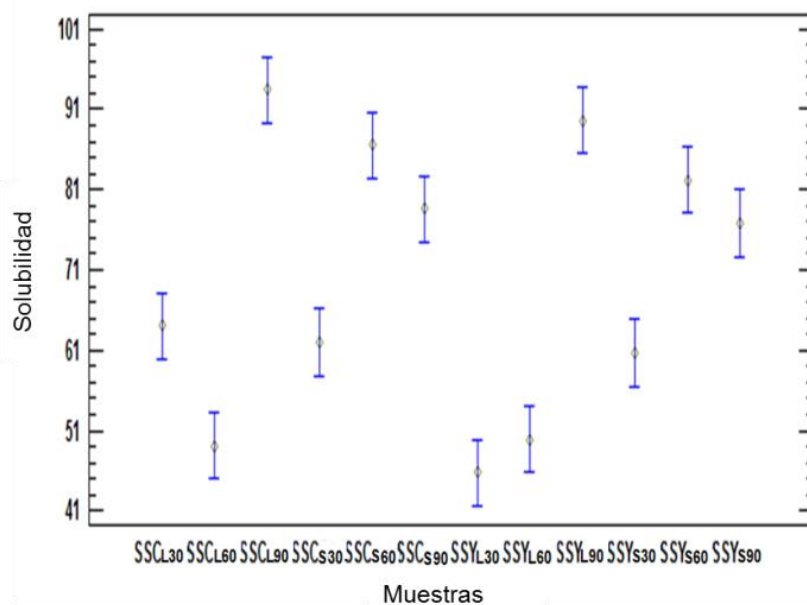


Figura 13. ANOVA para el comportamiento de la solubilidad. Fuente: Autoría propia

En la Tabla 4 se presentan dichos subgrupos, donde se logró evidenciar que no hay una tendencia uniforme y todos los grupos tienen resultados dependientes del método de deshidratación y temperatura de solubilización. Además, se observa que en general la fuente de extracción no influye sobre esta propiedad, a excepción de SSC_L y SSY_L , donde el comportamiento no muestra una tendencia clara.

Tabla 4
Subgrupos presentes en la prueba de solubilidad.

GRUPOS	HOMOGÉNEOS		
1	SSY_{L30}	SSC_{L60}	SSY_{L60}
2	SSY_{S30}	SSC_{S30}	SSC_{L30}
3	SSY_{S90}	SSC_{S90}	SSY_{S60}
4	SSC_{S90}	SSY_{S60}	SSC_{S60}
5	SSY_{S60}	SSC_{S60}	SSY_{L90}
6	SSC_{S60}	SSY_{L90}	SSC_{L90}

3.5. Capacidades de hinchamiento (CH), adsorción de lípidos (CAL) y retención de agua (CRA)

Las proteínas son los principales componentes responsables de las propiedades funcionales de los productos alimenticios, como la espumación, la emulsión, la solubilidad y la absorción de aceite/agua (Kinsella, 1979), las cuales podrían reflejar la calidad de éstos. En general, esta última se basa en las propiedades de superficie, como el espesor y la naturaleza hidrófoba/hidrófila de la partícula de los alimentos (Dehnad et al., 2016).

Procesos como el secado y calentamiento podrían cambiar la estructura y las propiedades físicas de las matrices de alimentos e influir en las propiedades de hidratación. Se han realizado algunos estudios para evaluar la influencia del secado sobre las propiedades funcionales de las proteínas, donde se evidencia que la relación entre el tiempo de secado, la temperatura y la humedad juegan un papel de gran importancia para su conservación o poca modificación (Dehnad et al., 2016).

Las propiedades funcionales de la sericina están relacionadas con la distribución del peso molecular y su estructura secundaria, las cuales a su vez obedecen principalmente a dos factores: a) método de desengomado y b) método de recuperación. Dependiendo del método utilizado para desengomar se genera una combinación de dispersión, solubilización y procesos de hidrólisis, que producen una amplia gama de polipéptidos solubles de esta proteína, por lo tanto, la recuperación de la sericina de las aguas desgomadas afecta sus propiedades estructurales y funcionales (Gulrajani et al., 2009).

Como se muestra en la Figura 14, el método de deshidratación también tiene una influencia significativa sobre el comportamiento de las muestras, donde la sericina deshidratada por liofilización presenta una CAL superior a la deshidratada por spray drying. De acuerdo con los hallazgos de Mirhosseini y Amid (2013), la CAL depende del contenido de la fracción hidrófoba presente en la estructura, así, al existir mayor presencia de aminoácidos hidrófobos y cadenas laterales no polares, la muestra tiende a interactuar y absorber más material grasoso, ya que puede unirse a las cadenas de hidrocarburos del aceite, dando lugar a una mayor CAL (Mirhosseini y Amid, 2013).

Pese a los resultados encontrados por Mirhosseini y Amid (2013), lo obtenido en esta investigación muestra que a pesar de haber una diferencia en la hidrofobicidad en las muestras, esto no influye sobre la CAL, posiblemente por el equilibrio presentado en las cadenas polares y no polares que presentaron SSC_L y SSY_L (ver anexo A). Por el contrario, se observa una dependencia de la CAL con la estructura de las muestras, pudiendo percibir que la técnica de liofilización favorece la exposición de los grupos hidrofóbicos, además, la morfología obtenida por este método presenta más porosidad, lo que permite un mayor atrapamiento de grasas.

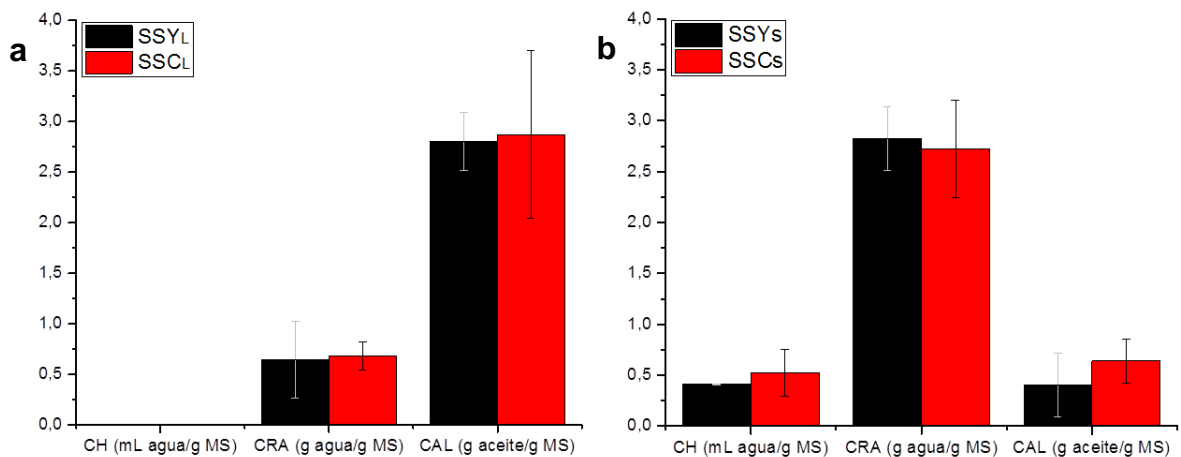


Figura 14. Comportamiento de CH, CRA, CAL para las muestras de sericina extraídas de capullo e hilos de seda. Deshidratadas: a) Liofilización y b) Spray drying. Fuente: Autoría propia

Por otro lado, se observó que las muestras deshidratadas por spray drying presentan una CRA más alta que el de las muestras deshidratadas por liofilización, lo cual podría deberse al efecto de los procesos de secado sobre la estructura obtenida para cada muestra. Sin embargo, al igual que el comportamiento observado en la CAL, no se evidencia un efecto de la cantidad de aminoácidos hidrofílicos/hidrofóbicos sobre la CRA, por lo que no se presenta una dependencia de la fuente de extracción. Al igual que a la disociación parcial y despliegue que se dio en la proteína, lo cual condujo a la exposición de los residuos de aminoácidos hidrófilos/hidrófobos, por lo tanto aumenta la actividad superficial y la adsorción de agua/aceite (Ghribi et al., 2015).

Según Chavan, McKenzie, y Shahidi (2001), la CRA depende de varios factores de la proteína como: las características conformacionales, el equilibrio hidrófilo/hidrófobo de aminoácidos, la solubilidad de las moléculas de la proteína, al igual que de las condiciones termodinámicas del proceso y el medio ambiente. Sin embargo, el sitio principal de la interacción proteína-agua se encuentra en los grupos aminos-polares de las moléculas de proteínas, los cuales dependiendo de su carga enlazan diferentes cantidades de agua. Por ende, las diferencias en las capacidades de la unión al agua de las proteínas pueden deberse a la concentración de proteínas y posiblemente a sus características conformacionales (Chavan, McKenzie, y Shahidi, 2001). De acuerdo a los resultados encontrados en general de las muestras SSC_S y SSY_S, se puede corroborar la relación existente entre las características conformacionales y la solubilidad con la CRA, sin embargo no se pudo validar la dependencia con el equilibrio hidrófilo/hidrófobo de aminoácidos.

Respecto a la CH, se evidencia igualmente una dependencia del método de deshidratación, la cual se atribuye a la estructura de las muestras. De acuerdo a los resultados del FTIR, la sericina liofilizada presenta una estructura β -hoja, mientras que las muestras deshidratadas por spray drying son espiral al azar, por lo cual estas últimas tienen mayor capacidad para incrementar su volumen en un exceso de agua. Este comportamiento también puede relacionarse con la solubilidad de la estructura (Valencia y Román, 2006). Según lo reportado en el estudio de Valencia, F y Román, M (2006) las diferencias en la CH pueden tener explicación por la composición química y por los tratamientos realizados para la extracción de la proteína de las fibras (Valencia y Román, 2006). A modo especulativo, se podría pensar que la estructura globular de las muestras deshidratadas por spray drying deja cubiertos los grupos hidrófobos, y expuestos los hidrofílicos dando así una mayor interacción con el agua, como se explicó anteriormente con la CRA.

En el caso específico de la sericina no se cuenta con estudios previos sobre estas propiedades que permitan analizar el comportamiento obtenido, sin embargo, al comparar con otras proteínas, se puede evidenciar que el método de deshidratación afecta las propiedades funcionales de éstas. En el estudio de Modercay y Silva (1994) se presentan resultados de estas propiedades en concentrados proteicos de haba deshidratados por

diferentes técnicas. Los autores observaron que dependiendo de los métodos empleados para la deshidratación (aire caliente, liofilización, rodillos paralelos) se presentan diferencias significativas respecto al comportamiento de la proteína. Los resultados mostraron que la CRA y la CH del producto deshidratado por liofilización y en rodillos son similares y eventualmente pueden ser empleados como ingredientes en productos horneados (Modercay y Silva, 1994).

El análisis de varianza para CH, CRA y CAL permite confirmar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los métodos de deshidratación con un 95% de confianza, sin embargo, no hay una diferencia significativa entre las fuentes de extracción, ya que como se muestra en la Figura 15, los intervalos de nivel de estas últimas solapan entre sí.

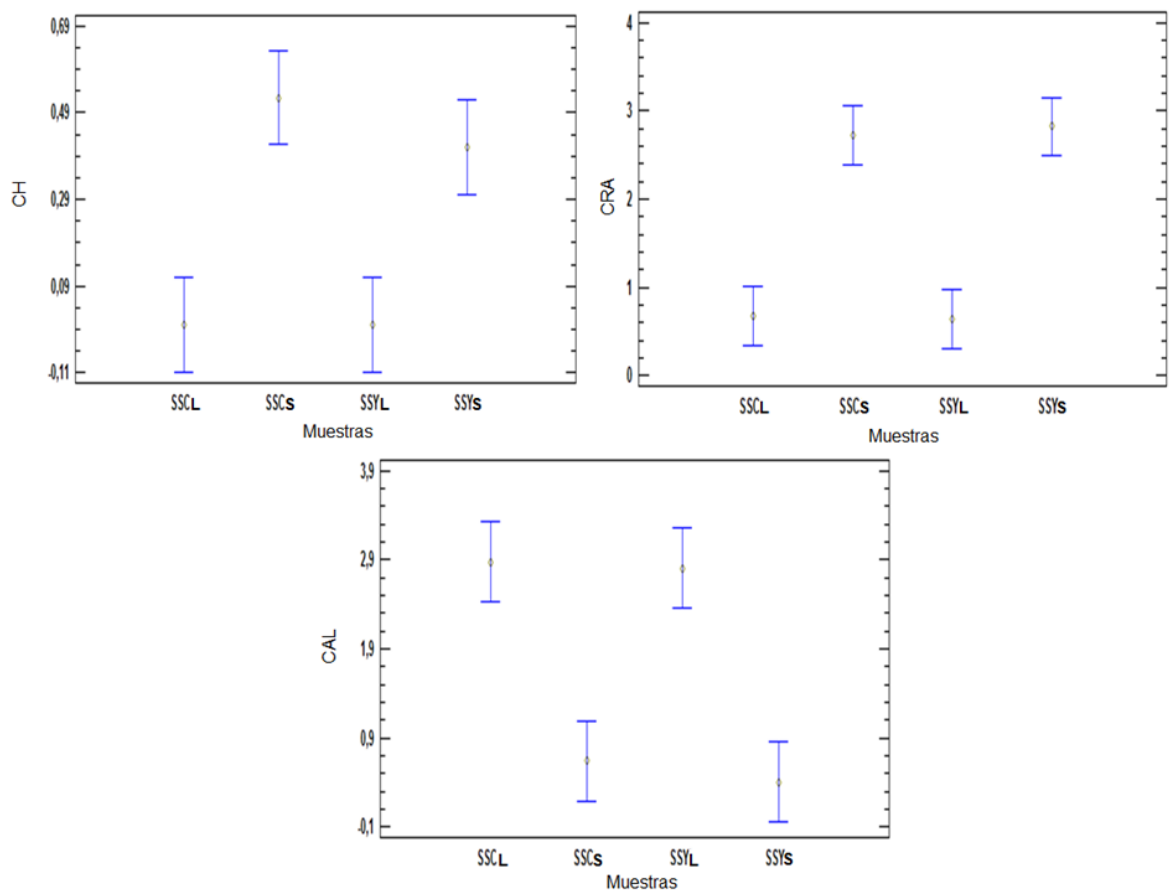


Figura 15. ANOVA para el comportamiento de la CH, CRA y CAL. Fuente: Autoría propia

Cabe recordar que los comportamientos en cuanto a estas propiedades son inversos ya que para el método de liofilización resultó mayor la CAL y para spray drying es mayor la CRA, tal como se corrobora en las figuras de varianza mostradas anteriormente.

3.6. Color

El color representa el primer factor organoléptico que percibe el consumidor, permitiéndole tener un criterio de la calidad del alimento/ingrediente, lo que lo convierte en una herramienta para el desarrollo de nuevos productos, el control de calidad y el mercadeo. La preferencia con respecto al color de los alimentos depende en gran medida de las condiciones psicosociales y culturales del consumidor (Francis, 1995), ya que esta cualidad organoléptica es una apreciación subjetiva, donde la iluminación adecuada genera unas ondas que son reflejadas y percibidas por el ojo humano, siendo éstas interpretadas por el cerebro como colores, según las longitudes de ondas correspondientes, comprendidas entre 380-780 nm (Ramírez-Navas, 2010).

El gusano de seda *Bombyx mori L.* elabora el capullo a partir de los hilos de seda que este produce, donde algunos pigmentos coexisten y se acumulan en las capas de sericina que contiene el capullo. Los componentes colorantes están asociados con compuestos fenólicos presentes en las hojas de morera, el único alimento para las larvas. El contenido de éstos en los capullos también varía dependiendo de la cepa del gusano, igualmente algunos estudios reportan que el patrón de la acumulación de componentes colorantes (flavonoides) en los capullos difiere genéticamente (Kurioka y Yamazaki, 2002). Además de estos factores, los procesos tecnológicos como transformación, métodos de conservación, métodos de obtención y almacenamiento pueden dar lugar a que los colores naturales sufran cambios tanto en la uniformidad como en el brillo (Bello Gutiérrez, 2000).

En la Tabla 5 se pueden observar los parámetros CIELAB de las muestras de sericina deshidratada por ambos métodos, con los cuales fueron calculados los índices de amarillo/azul (IA) y blancura (IB). Se observa que el parámetro L* no muestra una dependencia ni del método de deshidratación ni de la fuente de extracción. En el caso del

parámetro b^* , se evidencia una dependencia tanto del método de deshidratación como de la fuente de extracción, presentando los mayores valores las muestras provenientes de hilos (Y) y del proceso de liofilización. Para el parámetro a^* se percibe una dependencia solo del método de deshidratación, donde la técnica de spray drying muestra los mayores valores.

Tabla 5
Parámetros CIELAB e índices de amarillo/azul y blancura.

Muestra	Parámetros CIELAB			Índices	
	L^*	a^*	b^*	IA	IB
SSC _S	90,63 ± 0,09	-1,00 ± 0,02	3,90 ± 0,01	6,14	89,80
SSY _S	89,55 ± 0,20	-0,84 ± 0,02	4,71 ± 0,13	7,51	88,51
SSC _L	89,19 ± 3,52	-0,37 ± 0,22	4,35 ± 0,57	6,97	88,34
SSY _L	89,50 ± 0,36	-0,37 ± 0,10	9,42 ± 2,85	15,04	85,89

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación y a la Figura 7, se observa que L^* toma valores cercanos a 100, el cual tiene una luminosidad blanca, b^* valores positivos que tiende a una cromaticidad amarilla y a^* muestra valores negativos los cuales tienden a verde. Al igual que en la prueba de las capacidades, no se encuentran estudios relacionados con el análisis del color en la sericina que permitan analizar y comparar el comportamiento obtenido en esta investigación.

Con base a lo reportado por Ramírez-Navas (2010), un valor de IB de 100, demuestra un blanco ideal y cualquier diferencia con este valor sugiere un acercamiento al índice de amarillo/azul (IA). Cuando el valor IA crece en la escala positiva (+) indica una aproximación hacia el amarillo, y si lo hace hacia la escala negativa (-) indica una tendencia hacia el azul (Ramírez-Navas, 2010). Según lo obtenido para los índices IB y IA de las muestras de sericina calculados con la Ecuación 3, las muestras deshidratadas por ambos métodos están un poco alejadas del blanco ideal, lo cual por medio del cálculo del IA, se podría inferir que todas las muestras reportan una tendencia hacia el amarillo, siendo SSY_L la más propensa a tomar este color.

Según Casassa y Sari (2006), la diferencia de color (diferencia cromática- ΔE^*) cuantifica numéricamente la percepción de color para el ojo humano, entre dos muestras de alimentos. Los autores reportan en su investigación que valores ΔE^* iguales o superiores a 2.70, según

estudios realizados en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), serán apreciables al ojo humano (Casassa y Sari, 2006). En la Tabla 6 se observan los valores de ΔE^* donde el observador podrá o no percibir la diferencia de color.

Tabla 6

Relación entre el juicio del observador y la diferencia de color ΔE (Ramírez-Navas, 2010).

Diferencia percibida sensorialmente	Valor ΔE^* (instrumentalmente)
Ninguna	0-0,7
Ligera	0,7-2,5
Notable	2,5-3,0
Apreciable	3,0-6,0
Considerable	6,0-12,0
Extraordinaria	12,0

Para calcular la diferencia cromática (ΔE^*) de las muestras de sericina se utilizó como blanco la CMC, teniendo en cuenta que éste es uno de los aditivos más empleados en la industria de alimentos; en la Tabla 7 se muestran sus parámetros CIELAB, los cuales son necesarios para calcular los delta utilizando la Ecuación 2.

Tabla 7

Parámetros CIELAB de la CMC.

Parámetros CEILAB	L*	a*	b*
CMC	86.77	-0.26	8.16

Los resultados de la diferencia cromática (ΔE^*) se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8

Diferencia cromática de SSC y SSY deshidratada por liofilización y spray drying con respecto al CMC.

Muestra	Deltas a partir de las parámetros CIELAB de las muestras y de la CMC			ΔE
SSC _S	3.86	-0.73	-4.26	5.80
SSY _S	2.79	-0.57	-3.45	4.47
SSC _L	2.42	-0.11	-3.81	4.51
SSY _L	2.73	-0.11	1.26	3.01

Basados en la información de la Tabla 6, se puede concluir que los valores alcanzados para ΔE^* de las muestras SSC y SSY deshidratadas por ambos métodos, manifiestan que las diferencias de color respecto al CMC son apreciables al ojo humano (ver Tabla 8); siendo mayor esta diferencia para los capullos que para los hilos, y logrando el ΔE^* más alto la muestra SSC deshidratada por spray drying.

3.7. Punto isoelectrico (PI) y contenido proteico

Se estimó el contenido proteico y el punto isoelectrico de cada muestra deshidratada por ambos métodos, los cuales son presentados en la Tabla 9. Se evidenció que el PI posee una doble dependencia, es decir, está relacionado tanto con el método de deshidratación como con la fuente de extracción (capullo o hilo). Se observó que el mayor PI se presenta en muestras deshidratadas por el método de liofilización, y que las muestras provenientes de hilos presentan un PI menor que la de los capullos.

Pornanong, Kanokpanont, Nakpheng, y Srichana, (2010) reportan que el método de extracción afecta significativamente las actividades bioquímicas de las proteínas de seda, además presenta lo reportado por Kurioka et al (2004), el cual informó que el método de extracción también puede llevar a diferentes puntos isoelectricos en la sericina (Pornanong Aramwit, Kanokpanont, Nakpheng, y Srichana, 2010).

Tabla 9

Contenido proteico y punto isoelectrico de la sericina extraída de capullos e hilos de seda y deshidrata por dos metodos: liofilización y spray drying.

	Método de deshidratación			
	Contenido de proteína		Punto Isoelectrico	
	Liofilizado	Spray drying	Liofilizado	Spray drying
SSC	97,32 ± 0,33	94,22 ± 1,09	5,5	4,54
SSY	100,78 ± 1,50	101,39 ± 0,21	5,05	4,07

El punto isoelectrico que presentan SSC_L y SSY_L , se presume que se debe a la estructura predominante que presentan estas muestras (β -hoja). Puntos isoelectricos similares son reportados para proteínas con este tipo de estructura; por ejemplo la fibroína maneja un PI

de 5 (Patil, George, y Mahadik, 2015; Tang, Qiao, y Sun, 2015), al igual que proteínas como β -lactoglobulina (PI 5,2) y albúmina sérica bovina (PI 5,3) (Badui Dergal, 2006). En cuanto a las muestras deshidratadas por spray drying, éstas presentaron un comportamiento semejante al reportado por autores como Jo, Yoon Nam et al, los cuales indican un PI para la sericina extraída en agua caliente de 4,3 (Jo y Um, 2015), dato que coincide con lo publicado por otros autores (Sookne y Harris, 1939).

Los resultados del contenido proteico (ver Tabla 9) muestran que las dos materias primas tienen un contenido proteico alto y que esta característica de la sericina tiene una dependencia con la fuente de extracción, más no del método de deshidratación. En la tabla se observa que el mayor contenido proteico lo tienen la muestras SSY, ya que durante el proceso de producción de hilos se puede retirar materiales como carbohidratos, material inorgánico, pigmentos, entre otros, los cuales se encuentran en los capullos (Capar et al., 2009).

Autores como Gulrajani et al (2009) han reportado que el método de deshidratación puede afectar las distintas propiedades de la sericina obtenida, así como el contenido proteico. Los autores encontraron que el polvo de sericina extraído por agua caliente (autoclave HTHP) es la de más alto contenido (98,7%), en comparación con sericina en polvo obtenida a partir de licores alcalinos (92%) y desengomado con jabón alcalino (58%). Además Wu et al (2007), citado por Gulrajani et al (2009), encontraron un contenido de 90% de proteína en su estudio sobre la extracción de sericina por medio de agua caliente (Gulrajani et al., 2009).

En la Figura 16 se muestra que para el contenido proteico de las muestras existe una diferencia significativa entre las fuentes de extracción de la proteína, donde es claro que el hilo tiene mayores contenidos. En cuanto a las técnicas de deshidratación, no pareciera haber una dependencia con esta característica, sin embargo las muestras provenientes de capullos indican una diferencia entre ellas, la cual se explicaría por la heterogeneidad de las muestras trabajadas en este estudio.

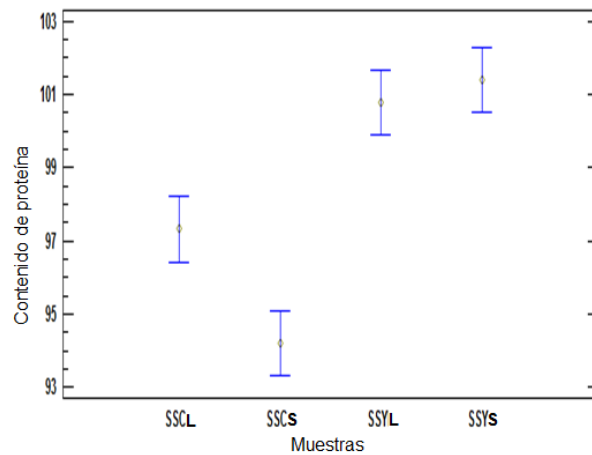


Figura 16. ANOVA para el comportamiento del contenido proteico. Fuente: Autoría propia

3.8. Resumen de resultados obtenidos

En la Tabla 10 se puede observar la comparación entre los resultados obtenidos de las propiedades analizadas para cada muestra deshidratada por liofilización y spray drying, donde se evidencia que el método de deshidratación, y en algunos casos la fuente de extracción, juegan un papel fundamental en el comportamiento de la proteína. También se pueden ver los resultados puntuales arrojados en cada prueba.

Tabla 10
Resumen de los resultados obtenidos para las muestras de sericina.

		Liofilizada	Spray drying
SEM	C	Amorfa	Glóbulos
	Y	Amorfa	Glóbulos
Estructura predominante (FTIR)	C	β -hoja	Espiral al azar
	Y	β -hoja	Espiral al azar
TGA	C	287 °C	316 °C
	Y	313 °C	319 °C
P.I	C	5,5	4,54
	Y	5,05	4,07
CH	C	No	Poca
	Y	No	Poca
CRA	C	Poca	Si
	Y	Poca	Si

CAL	C	Si	Poca
	Y	Si	Poca
Color	C	Blanco- Amarillo	Blanco- Amarillo
	Y	Blanco- Amarillo	Blanco- Amarillo
%Proteico	C	97%	94%
	Y	100%	100%
Solubilidad	C	Mayor 90 °C	Mayor 60 °C
	Y	Mayor 90 °C	Mayor 60 °C

C: cocoon.

Y: yarn.

3.9. Análisis del uso de la sericina en matrices alimentarias

3.9.1. Sericina como ingrediente alimenticio.

Actualmente la sericina está siendo estudiada por sus múltiples propiedades (mencionadas en el marco teórico), ya que estas características hacen de ésta un valioso ingrediente natural para la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. Estudios como el de Sasaki, Yamada, y Kato (2000) han demostrado que la sericina al ser una proteína resistente a varias proteasas, genera una baja digestibilidad junto con una alta capacidad de retención de agua, actuando como fibra dietética, aumentando el peso del bolo fecal y su contenido de agua, propiedades que se asocian con una mejora en el estreñimiento (Sasaki et al., 2000). Adicionalmente, se ha reportado que el consumo de sericina podría aumentar la biodisponibilidad y absorción de minerales como el zinc, magnesio, hierro y calcio (Sasaki, Yamada, y Kato, 2000).

En la actualidad no se han encontrado productos alimenticios en el mercado desarrollados con la adición de esta proteína, sin embargo, algunas investigaciones han demostrado la viabilidad del uso de ésta en diferentes matrices como lo reportado por Takechi, Maekawa, y Sugimura (2011). Estos investigadores estudiaron la idoneidad de la sericina como ingrediente para un aderezo de ensaladas, enfocándose particularmente en la actividad emulsificante y en la actividad de inhibición de la peroxidación lipídica. Los resultados obtenidos mostraron que la sericina posee una alta capacidad de emulsificación, pero que ésta y la peroxidación dependen de la fuente de extracción (capullo blanco, amarillo o verde) (Takechi, Maekawa, y Sugimura, 2011).

En un estudio realizado por Takechi y Takamura. (2014) se desarrolló un pan con sericina y se evaluó el rendimiento de la panificación. Los investigadores evaluaron el efecto de la adición de esta proteína sobre la estructura del pan y su palatabilidad, observando que la adición de sericina puede inhibir el aumento de la masa, sin tener un efecto profundo sobre otras propiedades físicas ni sobre la palatabilidad del producto. Adicionalmente, ellos concluyen que al ser la sericina una proteína resistente (RP) (ayuda a la salud intestinal, por baja digestibilidad), un pan elaborado con la adición de ésta, es un alimento procesado deseable que permite la ingestión efectiva de proteína. Ellos mencionan que por ejemplo, si se elaborara un pan con 330 mg de polvo de sericina, este contendría aproximadamente 20% de RP, por tanto, una rebanada de pan proporcionaría aproximadamente 67 mg de RP (Takechi y Takamura, 2014).

El 20 de noviembre del 2001, la FDA determinó que el uso del polvo de proteínas de seda como ingrediente alimenticio, como suplemento encapsulado o por consumo directo en cantidades o volumen sugeridos, es aprobado y considerado como inocuo (Generally Recognized as Safe -GRAS). Teniendo en cuenta que una de las proteínas presentes en la seda es la sericina se podría asumir la posibilidad de su aprobación, y con ello, su aceptación como ingrediente permitido para su consumo como suplemento dietario (Miguel, 2014; The New Silk Road, 2001).

3.9.2. Sericina colombiana como ingrediente alimenticio.

La mayoría de los estudios relacionados con el uso de la sericina en matrices alimentarias se centran en sus propiedades emulsificantes, antioxidantes y en su viscosidad. En esta investigación se analizaron propiedades diferentes no reportadas en otros estudios, como CRA, CH, CAL, color y se evidenció la dependencia de sus características con el método de deshidratación utilizado y la materia prima utilizada, las cuales influyen en la funcionalidad y estructura de la proteína, dando diferencias en su comportamiento (ver Tabla 10).

3.9.2.1. Capacidades: retención de agua, hinchamiento y absorción de lípidos.

La capacidad de retención de agua (CRA) e hinchamiento (CH) que presentan las muestras deshidratadas por spray drying, podrían jugar un papel importante en la textura de los alimentos, especialmente en productos cárnicos triturados y en las masas horneadas (Zayas, 1997). Estas propiedades son consideradas como factores de calidad (además de la capacidad de emulsión), donde la CRA se entiende como el porcentaje de agua que queda retenida luego de que por ejemplo, la carne u otros productos se somete a fuerzas externas tales como las de corte, trituración, calentamiento y presión.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la sericina obtenida por spray drying podría ser empleada como ingrediente en productos cárnicos, ya que la CRA y CH están asociadas con el color, textura y jugosidad de la carne fresca y embutidos, así como con el rendimiento de productos cocidos de estas matrices (Badui Dergal, 2006; Pérez Chabela y Ponce Alquicira, 2013). Igualmente, podría ser utilizada en productos horneados, debido a que estas capacidades contribuyen a que el alimento no se desmorone y presente buena apariencia durante más tiempo (Modercay y Silva, 1994). Estas dos propiedades, al igual que la viscosidad y gelificación también juegan funciones importantes en las bebidas, no obstante es importante tener en cuenta el estabilizante a usar, para no caer en el pH de precipitación de la proteína (Jideani, 2011).

Las muestras deshidratadas por liofilización al presentar una mayor CAL, podrían ser adicionadas en formulaciones de alimentos con contenido graso alto.

La CRA, CH y CAL, también son importantes en matrices como los helados, ya que éstas se encargan de dar palatabilidad, textura y consistencia a los productos lácteos (Romero del Castillo Shelly y Mestres Lagarriga, 2004). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el método de deshidratación influye en los resultados obtenidos para estas propiedades, ya que la técnica de liofilización favorece una mayor CAL y la de spray drying una mayor CRA.

3.9.2.2. Punto isoelectrico.

Es importante tener en cuenta que el punto isoelectrico de la proteina, en el que predominan las interacciones proteina-proteina (dentro de las cuales esta la interaccion agua-proteina), juega un papel fundamental a la hora de formular el alimento, ya que por encima y por debajo de este punto se modifican las cargas netas de la proteina, y por tanto se puede presentar una modificacion de la CRA y la CH (Badui Dergal, 2006).

Tambien cabe recordar que el PI es un factor influyente en la solubilidad, la cual es minima en este punto. Productos como el yogur (4.6), carne de bovino (5.1-6.2), de cerdo (5.3-6.9), helado no pasteurizado (5.5), manejan un pH cercano a los puntos isoelectricos que presentaron las muestras (ver Tabla 10) (Amerling, 2001; Romero del Castillo Shelly y Mestres Lagarriga, 2004).

3.9.2.3. Solubilidad.

Las proteinas recomendadas como aditivos alimentarios pueden ser parcialmente o completamente solubles (Zayas, 1997). La sericina evaluada en este estudio presento una solubilidad parcial y dependiente de la temperatura, la fuente de extraccion y el metodo de deshidratacion, lo cual hay que tener en cuenta al momento de desarrollar una formulacion de una matriz alimentaria. Debido a la solubilidad parcial de la sericina, es importante tener en cuenta la dosificacion de esta proteina con el fin de prevenir caracteristicas organolepticas no deseables en el producto desarrollado (arenosidad).

3.9.2.4. Capacidad espumante.

Pese a que esta es una prueba que no se evaluo en este estudio, es importante mencionar que durante el proceso se logro observar la capacidad espumante de la sericina. Esto se evidencio luego de incorporarle aire en un proceso de filtracion, y al realizar agitacion para homogenizar las soluciones. La espuma que se formaba presentaba bastante firmeza y estabilidad (no perdia volumen) con el paso del tiempo. Se intuye que puede ser usada posiblemente en productos como crema batida, helados de crema, pasteles, merengues, pan, soufflés, mousses y malvaviscos (Badui Dergal, 2006), tambien la CH y la CAL son

importante en este tipo de matrices. Se sugiere en próximas investigaciones realizar pruebas que evalúen la capacidad espumante y estabilidad de la espuma generada por la sericina.

3.9.2.5. Capacidad de gelificación.

Otra característica que vale la pena ser estudiada es la tendencia que presenta la sericina a formar geles. De acuerdo a la literatura, cuando esta proteína se somete a bajas temperaturas, o incluso temperatura ambiente, forma un gel (M. K. Kim et al., 2012). Esta característica se observó, como se mencionó anteriormente, luego del proceso de extracción, al dejar las soluciones obtenidas de sericina a temperatura ambiente para su posterior deshidratación. Esta propiedad es bastante importante en la formulación de diferentes alimentos. Al igual que la capacidad espumante, se sugiere determinar esta propiedad en trabajos futuros a fin de conocer mejor su comportamiento para su posible uso en una matriz alimentaria.

Por último cabe resaltar que, la sericina es una proteína que maneja una temperatura de degradación relativamente alta (ver Tabla 10), la cual está dentro del rango de la mayoría de los procesos utilizados en la industria de los alimentos; esta temperatura varía dependiendo del método de deshidratación utilizado. Por ejemplo, los procesos de panificación manejan una temperatura de horneado alrededor de 230-250 °C (Delgado González y Sánchez Lafuente, 2013), los productos cárnicos cocidos manejan temperaturas cercanas o superiores a la ebullición (aproximadamente 100 °C), donde lo que entra a jugar es el tiempo de exposición del producto (Ramírez Acero, 2009), y en procesos lácteos como la ultrapasteurización (UHT) puede oscilar en temperaturas de 145-155 °C (Badui Dergal, 2006).

También vale la pena señalar que, teniendo en cuenta la fórmula de la matriz a la cual se añadiría, la sericina podría ser un ingrediente que proporcionaría aporte proteico con un contenido de aminoácidos esenciales significativo (ver Anexo B), siendo este último mayor en las muestras provenientes de capullos. Por otro lado, la prueba de color que se le realizó a la proteína mostró que el cambio es percibido por el consumidor respecto a la CMC, mostrando tener una tendencia a ser más blanca, lo cual es deseado por los consumidores,

sin embargo, sería pertinente realizar pruebas de como cambiaría esta propiedad al interactuar con los demás ingredientes de una formulación.

Lo relacionado en este ítem, análisis del uso de la sericina en matrices alimentarias, es un acercamiento a las potencialidades de la sericina en diferentes matrices alimentarias, sin embargo, es necesario realizar los análisis respectivos dependiendo de la formulación a desarrollar, pues cada matriz abarca muchos productos y cada uno de ellos requiere unas características físicas, químicas y biológicas diferentes.

4. CONCLUSIONES

- Dentro de las variables analizadas en este estudio (método de deshidratación y fuente de extracción), se puede observar que el método de deshidratación tiene una alta influencia sobre la funcionalidad y comportamiento de la proteína, ya que dependiendo del proceso utilizado se favoreció la conformación de ciertas estructuras (liofilización: β -hoja y spray drying: espiral al azar), y morfologías, las cuales favorecen unas u otras propiedades. En el caso de la fuente de extracción, ésta no generó un efecto sobre la mayoría de los resultados obtenidos, y solo fue evidente en pruebas como el contenido proteico, color y PI.
- El realizar un desengomado libre de agentes contaminantes (químicos) conlleva no solo a un beneficio ambiental (reducción de carga contaminante), sino también en uno económico, ya que la sericina no requeriría procesos de purificación posteriores a su extracción, lo cual se traduce en un proceso simple que puede ser escalado por la comunidad serícola colombiana. Esta situación podría llevar a una articulación de la cadena serícola y mejorar así tanto su productividad como la competitividad, mediante la integración de cada uno de sus eslabones, generando un sector auto-sostenible y autónomo.
- Teniendo en cuenta las condiciones requeridas en cada proceso de deshidratación y las propiedades de la sericina obtenidas por estos métodos, se concluye que las muestras deshidratadas por spray drying, tienen mayor viabilidad para ser incorporada en una matriz alimentaria, sin embargo es importante tener en cuenta una optimización del proceso a nivel semi-industrial o industrial.
- Según lo observado en la poca dependencia de la fuente de extracción con respecto a las propiedades de las muestras evaluadas, es posible realizar una mezcla de la sericina proveniente de los capullos e hilos, con el fin de obtener una mayor cantidad de muestra a ser deshidratada, optimizando de esta manera el rendimiento de producción. No obstante se sugiere hacer un estudio adicional que muestre si la relación SSC/SSY, afecta significativamente las propiedades de la mezcla obtenida.

- La estructura de la proteína (β -hoja y espiral al azar), tiene gran influencia sobre la mayoría de las propiedades estudiadas en este trabajo y las cuales influyen sobre la aplicación final de la proteína.
- Las propiedades obtenidas en las muestras estudiadas en este trabajo, muestran la viabilidad de la incorporación de la proteína en matrices alimentarias, teniendo en cuenta las características de la formulación a desarrollar.

5. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta los resultados del trabajo realizado se sugiere:

- Realizar la prueba de solubilidad teniendo en cuenta el pH de la matriz deseada.
- Continuar con pruebas como gelificación, emulsificación y espumado para tener una mejor idea del comportamiento de la proteína al ser incorporada en un alimento.
- Para el método de liofilización, realizar la congelación con la participación de un lio-protector, ya que éste evitará la agregación de cadenas a la proteína durante el proceso de sublimación.
- Indagar si es posible una manipulación de la estructura de la proteína con el fin de favorecer la presencia de algunas estructuras, y por tanto una mayor potencialización de algunas características que se desean para la matriz de alimento a desarrollar.

REFERENCIAS

- Ahn, J., Choi, H., Lee, K., Nahm, J., y Cho, C. (2001). Novel Mucoadhesive Polymer Prepared by Template Polymerization of Acrylic Acid in the Presence of Silk Sericin. *Applied Polymer Science*, 80(2), 274–280.
- Akai, H. (1984). The Ultrastructure and Functions of the Silk Gland Cells of *Bombyx mori*. In R. C. King & H. Akai (1a Eds.), *Insect Ultrastructure*. (pp. 323–364). New York: Springer US.
- Amerling, C. (2001). *Tecnología de la carne: antología*. EUNED.
- Anandharamakrishnan, S., y Ishwarya, P. (2015). *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. India: John Wiley & Sons.
- Aramwit, P., Damrongsakkul, S., Kanokpanont, S., y Srichana, T. (2010). Properties and antityrosinase activity of sericin from various extraction methods. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 55, 91–98.
- Aramwit, P., Kanokpanont, S., Nakpheng, T., y Srichana, T. (2010). The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(5), 2200–11.
- Aramwit, P., Siritientong, T., y Srichana, T. (2012). Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by-products. *Waste Management & Research*, 30(3), 217–224.
- Arboledas Brihuega, D. (2011). *Jerarquía estructural de las proteínas*. (C. U. Editorial, Ed.). España.
- Ayub Haider, Z., Arai, M., y Hirabayashi, K. (1993). Mechanism of the Gelation of Fibroin Solution. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 57(11), 1910–1912.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. Ed. Pearson educación. Mexico: Pearson Educación. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=LIBROSNL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=004719>
- Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. (Illustrate, Ed.). Madrid: Díaz de Santos.
- Boatella Riera, J. (2004). *Química y bioquímica de los alimentos II*. España: Publicacions I Edicions de la Universitat de Barcelona.
- Bolaños V, N., Lutz C, G., y Herrera R, C. (2003). *Química de Alimentos: Manual de laboratorio* (1a ed). Costa Rica: Universidades de Costa Rica Universitaria Rodrigo Facio.
- Boom, R. M. (2008). Emulsions: Principles and preparation. In *Food Materials Science: Principles and Practice* (pp. 305–339).
- Campbell, M., y Farrell, S. (2005). *Bioquímica* (4a ed.). Thomson.
- Capar, G., Aygun, S., y Gecit, M. (2008). Treatment of silk production wastewaters by membrane processes for sericin recovery. *Journal of Membrane Science*, 325, 920–931.

- Capar, G., Aygun, S., y Gecit, M. (2009). Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. *Journal of Membrane Science*, 342, 179–189.
- Capsadell, L. (1883). *The Complete Guide to Silk Culture*. New York: W. B. Smith & Co.
- Casassa, F., y Sari, S. (2006). Aplicación Del Sistema Cie-Lab a Los Vinos Tintos. Correlación Con Algunos Parámetros Tradicionales. *Revista Enología*, 5(May-Jun). Retrieved from http://www.researchgate.net/profile/L_Casassa/publication/259582055_aplicacin_del_sistema_cie-lab_a_los_vinos_tintos_correlacin_con_algunos_parmetros_tradicionales/links/02e7e52cc2f09291a3000000.pdf
- Cenis, J. L. (2008). La seda como biomaterial en Medicina Regenerativa. *Eubacteria*, 20, 19–22. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/dcart?info=link&codigo=2934749&orden=202312>
- Chavan, U., McKenzie, D., y Shahidi, F. (2001). Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Food Chemistry*, 74(2), 177–187.
- Chollakup, R., Smitthipong, W., Mougín, K., y Nardin, M. (2015). Characterization of Sericin Biomaterial from Silk Cocoon Waste. *Materials Sciences and Applications*, 1(2), 45–50.
- Choudhury, M., y Devi, D. (2016). Impact of high temperature and pressure on sericin scouring of muga silk cocoons. *Fibre & Textile Research*, 41, 93–96.
- Cifuentes c, C. A. (1998). *Manual técnico de sericultura*. Colombia: Sena-CDTS.
- Dash, R., Ghosh, S., Kaplan, D., y 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(1), 129–134.
- Dehnad, D., Jafari, S., y Afrasiabi, M. (2016). Influence of drying on functional properties of food biopolymers: from traditional to novel dehydration techniques. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 116–131.
- Delgado González, F., y Sánchez Lafuente, A. C. (2013). *Elaboración de productos de panadería*. IC Editorial.
- Eubacteria, A. (2015). La cria del gusano de seda en Murcia. Retrieved from <https://www.um.es/eubacteria/gusanosdeseda.html>
- Food and Drug Administrati. (2001). The new silk road. inc. Cosmetics, skin care, silk protein powder. *Center for Food Safety and Applied Nutrition. Office of Premarket Approval (HFS-200)*, 1–100.
- Francis, F. J. (1995). Quality as influenced by color. *Food Quality and Preference*, 6(3), 149–155.
- Genc, G., Narin, G., y 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.
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., y Besbes, S. (2015). Effect of

- drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179–188.
- Gómez Cruz, N., y Jiménez Munguía, M. (2014). Métodos de secado de emulsiones alimentarias. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8(2), 23–33.
- Greensmith, M. (1998). *Practical Dehydration* (illustrate). New York: CRC Press.
- Gulrajani, M., Purwar, R., Prasad, R., y 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, 2796–2804.
- Gupta, D., Agrawal, A., Chaudhary, H., Gulrajani, M., y Gupta, C. (2013). Cleaner process for extraction of sericin using infrared. *Journal of Cleaner Production*, 52, 488–494.
- Heller, M., Carpenter, J., y Randolph, T. (1999). Protein formulation and lyophilization cycle design: Prevention of damage due to freeze-concentration induced phase separation. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(2), 166–174.
- Hideyuki Fukui-shi Fukui, Y., Keiko Ohkawa-gun Kagawa, Y., y Keiji Tokyo, N. (2006). Nail composition containing sericin. 05025239.4. Retrieved from <http://info.sipcc.net/files/patent/fulltext/EP/200605/EP2099194A1/EP2099194A1.PDF>
- Ho, M., Wang, H., y Lau, K. (2012). Thermal properties and structure conformation on silkworm silk fibre. *Composites Australia and CRC-ACS*, 15–16. Retrieved from <http://eprints.usq.edu.au/22833>
- Huddar, P. (1985). *A study of natural and synthetic compound with reference to chemistry of formation of silk in silkworm*. Submitted to University of Pune.
- Ibarz, A., y Barbosa cánovas, G. (2005). *Operaciones unitarias en la Ingeniería de Alimentos* (Mudi-Prens). Madrid.
- Jideani, V. A. (2011). Functional Properties of Soybean Food Ingredients in Food Systems. In *Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology* (pp. 345–366). Intech.
- Jo, Y., y Um, I. (2015). Effects of solvent on the solution properties, structural characteristics and properties of silk sericin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 78, 287–295.
- Jun, Z., Mitsuo, A., y Kiyoshi, H. (1996). Sol-gel transition of sericin. *Insect Biotechnology and Sericology*, 65(4), 270–274.
- Jurado, E., Calder, M., y Calderón, M. (2012). *Conservación de Frutas Mediante Deshidratación Osmótica Directa: Fundamentos y metodología aplicados en el mango, babaco y pepino dulce*. Editorial Academica Espanola.
- K., K. (1980). Recent advances in sericin research. *J. Sericult. Sci. Japan*, 69, 457–465.
- Kaewkorn, W., Limpeanchob, N., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., y Sutheerawattananonda, M. (2012). Effects of silk sericin on the proliferation and apoptosis of colon cancer cells. *Biological Research*, 45(1), 45–50.

- Khan, M., Tsukada, M., Zhang, X., y Morikawa, H. (2013). Preparation and characterization of electrospun nanofibers based on silk sericin powders. *Journal of Materials Science*, 48, 3731–3736.
- Kim, M., Kwak, H., Lee, J., Yun, H., Kim, M., y Lee, K. (2012). Effect of Lyoprotectant on the Solubility and Structure of Silk Sericin. *International Journal of Industrial Entomology*, 25(1), 133–137.
- Kim, S. J. (2007). *Gas permeation through water-swollen sericin / PVA membranes*. Engineering. University of Waterloo.
- Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(3), 242–258.
- Kundu, S., Dash, B., Dash, R., y Kaplan, D. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: Potential for biomedical and biotechnological applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 33, 998–1012.
- Kurioka, A., y Yamazaki, M. (2002). Purification and identification of flavonoids from the yellow green cocoon shell (Sasamayu) of the silkworm, Bombyx mori. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(6), 1396–1399.
- Lamboni, L., Gauthier, M., Yang, G., y Wang, Q. (2015). Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. *Biotechnology Advances*.
- Landwehr, T. (1999). *La deshidratación de frutas: métodos y posibilidades*. CORPICA-SENA.
- Liangjun, Z., Juming, Y., y Youlu, L. (1998). Structural transformation of sericin dissolved from cocoon layer in hot water. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 24, 268–272.
- Lodish, H. (2005). *Biología celular y molecular* (reimpresión). Médica Panamericana.
- Lujan Gonzáles, C., y Ocampo Isaaza, J. (2008). *Deshidratación por calor seco en horno de frutas que se cosechan en el corregimiento de altavista*. Retrieved from <http://www.medellin.edu.co/sites/Educativo/Docentes/feriaexplora/Ciencias Ambientales y Gestin Ambiental/Deshidrataci%C3%B3n de frutas.pdf>
- Mazzi, S., Zulker, E., Buchicchio, J., Anderson, B., y Hu, X. (2014). Comparative thermal analysis of Eri, Mori, Muga, and Tussar silk cocoons and fibroin fibers. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 116(3), 1337–1343.
- Mellor, J. (1978). *Fundamentals of freeze-drying*. New York: Academic press.
- Menezes, E. (2009). Silk Degumming. In *Silk Processing* (pp. 93–97).
- 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 inédita de maestría). Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia.
- Mirhosseini, H., y Amid, B. T. (2013). Effect of different drying methods on chemical and molecular structure of heteropolysaccharide-protein gum from durian seed. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 210–219.

- Modercay, L., y Silva, A. (1994). Preparación y determinación de propiedades funcionales de concentrados protéicos de haba (*Vicia faba*) flour. *Revista Colombiana de Química*, 22(1), 73–86.
- Mondal, M., Trivedy, K., y Kumar, S. (2007). The silk protein, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn.,-a review. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 5(2), 63–76.
- Mondragón, R., Julia, J., Barba, A., y Jarque, J. (2013). El proceso de secado por atomización: Formación de gránulos y cinética de secado de gotas. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica Y Vidrio*, 52(4), 159–168.
- Morales Pérez, J., y Vélez Ruiz, J. (2013). Deshidratación de frutas y hortalizas por ventana refractiva®. *Revista Reciteia*, 13(2), 36–46.
- Mosharraf, M., Malmberg, M., y Fransson, J. (2007). Formulation, lyophilization and solid-state properties of a pegylated protein. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(2), 215–232.
- Murugesh Babu, K. (2013). *Silk: Processing, Properties and Applications*. Philadelphia: Elsevier.
- Nagura, M., Ohnishi, R., Gitoh, Y., y Ohkoshi, Y. (2001). Structures and physical properties of cross-linked sericin membranes. *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, 70(2).
- Naskar, D., Barua, R., Ghosh, A., y Kundu, S. (2014). Introduction to silk biomaterials. In *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (pp. 41–77). Woodhead Publishing Limited.
- Norihisa, K., Seiji, S., Atsushi, Y., Hideyui, Y., Naozumi, F., y Masakazu, N. (1998). Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*.
- Padamwar, M., Pawar, A., Daithankar, A., y Mahadik, K. (2005). Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 4, 250–257.
- Padamwar, M., y Pawar, a. (2004). Silk sericin and its applications: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63(4), 323–329.
- Patel, R., y Modasiya, M. (2011). Sericin: Pharmaceutical Applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(3), 913–917.
- Patil, S., George, T., y Mahadik, K. (2015). Green synthesized nanosilver loaded silk fibroin gel for enhanced wound healing. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 30, 30–36.
- Patiño Ospina, N. (2008). *Extracción y caracterización del extracto proteico del subproducto bisu del proceso de obtención de seda*. Universidad Tecnológica de Pereira. Retrieved from <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1783/1/6382P314.pdf>
- Pérez Chabela, M., y Ponce Alquicira, E. (2013). *Tecnología de Carnes Manual de prácticas de laboratorio*. Mexico: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Pescio, F., Basso, C., Divo, M., Frank, S., Pelicano, A., y Vieites, C. (2009). *Sericultura. Manual para la producción*. Buenos Aires. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología

Institucional.

- Rajkhowa, R., Wang, L., Kanwar, J., y Wang, X. (2011). Molecular Weight and Secondary Structure Change in Eri Silk During Alkali Degumming and Powdering. *Applied Polymer Science*, 119, 1339–1347.
- Ramirez Acero, R. I. (2009). *Tecnología de carnicos*. Bogota.
- Ramírez Navas, J. S. (2006). *Liofilización de Alimentos*. (R. ReCiTeIA, Ed.). Cali, Colombia: Revista ReCiTeIA.
- Ramírez-Navas, J. S. (2010). Espectrocolorimetría en caracterización de leche y quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 61, 52–58.
- Rangel Marrón, M. (2004). *Liofilizacion de guacamole*. Universidad de las Americas Puebla.
- Resh, V., y Cardé, R. T. (2009). *Encyclopedia of Insects* (2a ed.). New York: Academic Press.
- Rodríguez, A., Vargas, J., Ventura, A., Martínez, A., Rodríguez, J., Ehsan, M., y Lara, F. (2012). *Manual de Sericultura*. Mexico: Alquimia.
- Rodríguez Rivera, V. M. (2008). *Bases de la Alimentación Humana*. Netbiblo.
- Romero del Castillo Shelly, R., y Mestres Lagarriga, J. (2004). *Productos lácteos: tecnología* (illustrate). Univ. Politèc. de Catalunya.
- Sasaki, M., Yamada, H., y Kato, N. (2000). A Resistant Protein, Sericin Improves Atropine-Induced Constipation in Rats. *Food Sci. Technol. Res.*, 6(4), 280–283.
- Sasaki, M., Yamada, H., & Kato, N. (2000). Consumption of silk protein, sericin elevates intestinal absorption of zinc, iron, magnesium and calcium in rats. *Nutrition Research*, 20(10), 1505–1511.
- Shaw, J., y Smith, S. (1951). Amino acid of silk sericin. *Nature*, 168(4278), 745–745.
- Sheng, J., Xu, J., Zhuang, Y., Sun, D., Xing, T., y Chen, G. (2013). Study on the application of sericin in cosmetics. *Advanced Materials Research*, 796, 416–423.
- Silva, R., Singh, R., Sarker, B., Papageorgiou, D., Juhasz, J., Roether, J., Boccaccini, A. (2016). Soft-matrices based on silk fibroin and alginate for tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Silva, V., Ribani, M., Gimenes, M., y Scheer, a. (2012). High molecular weight sericin obtained by high temperature and ultrafiltration process. *Procedia Engineering*, 42, 833–841.
- Sookne, A., y Harris, M. (1939). Electrophoretic studies of wool. *Textil Research Journal*, 9, 437–443.
- Sothornvit, R., Chollakup, R., y Suwanruji, P. (2010). Extracted sericin from silk waste for film formation. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 32(1), 17–22.
- Sprange, K. U. (1975). The Bombyx mori silk proteins: characterization of large polypeptides.


Biochemistry, 14(5), 925–931.

- Takechi, T., Maekawa, Z., y Sugimura, Y. (2011). Use of Sericin as an Ingredient of Salad Dressing. *Food Science and Technology Research*, 17(6), 493–497.
- Takechi, T., y Takamura, H. (2014). Development of Bread Supplemented with the Silk Protein Sericin. *Food Sci Technol Res*, 20(5), 1021–1026.
- Takeda, S. (2009). Sericulture. In V. Resh & R. Cardé (Eds.), *Encyclopedia of Insects* (2a Ed). China: Academic Press.
- Tang, X., Qiao, X., y Sun, K. (2015). Effect of pH on the interfacial viscoelasticity and stability of the silk fibroin at the oil/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 486, 86–95.
- Tao, W., Li, M., y Xie, R. (2005). Preparation and structure of porous silk sericin materials. *Macromolecular Materials and Engineering*, 290(3), 188–194.
- Terada, S., Nishimura, T., Sasaki, M., Yamada, H., y Miki, M. (2003). Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology*, 40, 3–12.
- Teramoto, H., y Miyazawa, M. (2005). Molecular orientation behavior of silk sericin film as revealed by ATR infrared spectroscopy. *Biomacromolecules*, 6(March), 2049–2057.
- The New Silk Road, I. Silk Protein Food Powder is GRAS (2001).
- Tretinnikov, O., y Tamada, Y. (2001). Influence of casting temperature on the near-surface structure and wettability of cast silk fibroin films. *Langmuir*, 17(August), 7406–7413.
- Tsukada, M. (1980). Effect of casting temperature on the structure of silk sericin. *J. Appl. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed*, 18(1), 133–134.
- Tsukada, M., Goto, Y., Freddi, G., Matsumura, M., Shiozaki, H., y Ishikawa, H. (1992). Structure and Physical Properties of Epoxide-Treated Tussah Silk Fibers. *Applied Polymer Science*, 44, 2203–2211.
- Ude, A., Eshkoo, R., Zulkifili, R., Ariffin, A., Dzuraidah, A., y Azhari, C. (2014). Bombyx mori silk fibre and its composite: A review of contemporary developments. *Materials & Design*, 57, 298–305.
- Vaithanomsat, P., y Kitpreechavanich, V. (2008). Sericin separation from silk degumming wastewater. *Separation and Purification Technology*, 59, 129–133.
- Valencia, F., y Román, M. (2006). Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *Revista de La Facultad de Química Farmacéutica*, 13(2), 54–60.
- Vázquez Martínez, C., De Cos Blanco, A., y López Nomdedeu, C. (2005). *Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico* (Díaz de Sa).
- Vepari, C., y Kaplan, D. (2007). Silk as a Biomaterial. *Prog Polym Sci*, 32(6), 991–1007.

- Voegeli, R., Meier, J., y Blust, R. (1993). Sericin silk protein: unique structure and properties. *Cosmet Toilet*, 108(1), 101–108.
- Wahl, V., Khinast, J., y Paudel, A. (2016). Lyophilized protein powders: A review of analytical tools for root cause analysis of lot-to-lot variability. *Trends in Analytical Chemistry*, 82, 468–491.
- Wasan, T., y Prasong, S. (2011). Morphology , Secondary Structure and Thermal Properties of Silk Fibroin / Gelatin Blend Films : Case Study of Cross-linked Agent (PEGDE). *International Journal of Applied Chemistry*, 7(1), 25–34.
- Wong, J., Chan, H.-K., y Chrzanowski, W. (2014). silk for pharmaceutical and cosmeceutical applications. In *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (pp. 519–540).
- Wu, J. H., Wang, Z., y Xu, S. Y. (2007). Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chemistry*, 103, 1255–1262.
- Wu, J. H., Wang, Z., y Xu, S. Y. (2008). Enzymatic production of bioactive peptides from sericin recovered from silk industry wastewater. *Process Biochemistry*, 43, 480–487.
- Zayas, J. h F. (1997). *Functionality of Protein s in Food*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH.
- Zhang, H., Deng, L., Yang, M., Min, S., Yang, L., y Zhu, L. (2011). Enhancing Effect of Glycerol on the Tensile Properties of Bombyx mori Cocoon Sericin Films. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3170–3181.
- Zhang, X., Khan, M., Yamamoto, T., Tsukada, M., y Morikawa, H. (2012). Fabrication of silk sericin nanofibers from a silk sericin-hope cocoon with electrospinning method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(2), 337–347.
- Zhang, Y.-Q. (2002). Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology Advances*, 20, 91–100.
- Zhaorigetu, S., Sasaki, M., Watanabe, H., y Kato, N. (2001). Supplemental Silk Protein, Sericin, Suppresses Colon Tumorigenesis in 1,2-Dimethylhydrazine-Treated Mice by Reducing Oxidative Stress and Cell Proliferation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(10), 2181–2186.
- Zhaorigetu, S., Yanaka, N., Sasaki, M., Watanabe, H., y Kato, N. (2003). Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 71, 11–17.
- Zimmerman-Stein, K., y Ruiz-Espinoza, H. (2010). Estructura y funcionalidad de proteínas lácteas: Efecto de modificaciones inducidas por métodos físicos, químicos y enzimáticos. *Temas Selectos de Ingenieria de Alimentos*.
- Züge, L., Silva, V., Hamerski, F., Ribani, M., Gimenes, M.,y Scheer, A. (2015). Emulsifying Properties of Sericin Obtained from Hot Water Degumming Process. *Food Process Engineering*, 1–9.

ANEXOS

Anexo A. Resultado de % de contenido de aminoácidos para las muestras SSC y SSY, deshidratadas por las técnicas de deshidratación: liofilización y spray drying.



	LABORATORIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS	Código: F-LEM-04
		Versión 01
INFORME DE RESULTADOS		Página 4 de 6

IDENTIFICACION DE PROTEINAS POR ESPECTROMETRIA DE MASAS MALDI – TOF USANDO MASCOT 2.2

Fecha:	Diciembre 26 de 2016	Informe de Resultados No:	001 - 261216
DATOS GENERALES			
Nombre del solicitante: Universidad Pontificia Bolivariana – Diana Castrillon Martinez			
Dirección del Cliente: Circular 1 No 70-01 Bloque 3 Primer piso.			
E-mail: dianac672@hotmail.com			
Descripción de la muestra: Cuatro (4) muestras solidas en polvo contenidas en recipientes plásticos debidamente marcados			
Formato de recepción de muestras No: 0132	Código de muestra: SSCsd, SSYsd, SSCLi y SSYLl.		
Análisis solicitado: Digestión triptica e Identificación de proteínas por espectrometría de masas MALDI – TOF usando MASCOT 2.2.			
Fecha de realización del análisis: Diciembre 5, 6 y 7 – Repetición 19, 20 y 21 de 2016.			
DESCRIPCION DEL ENSAYO			
<p>Digestión Triptica. Se siguió el procedimiento de digestión triptica para proteínas en gel descrito por Schevenko, et al. [1].</p> <p>Identificación de proteínas por espectrometría de masas MALDI – TOF usando MASCOT 2.2. Las muestras fueron analizadas en un espectrómetro de masas Ultraflex extreme MALDI-TOF-TOF (Bruker Daltonics), operando en modo reflectron positivo, en un rango de masas de 700 – 3500 m/z. La identificación de las proteínas se llevó a cabo empleando los software Flexanalysis 3.4 y MASCOT 2.0. Se emplearon las bases de datos National Center for Biotechnology Information (NCBI nr), y la base de datos SwissProt. Se seleccionó la taxonomía de acuerdo a la información suministrada de las muestras.</p> <p>Digestion In silico. Empleando el software Sequence Editor 3.2 (Bruker Daltonics) se procedió a realizar la secuenciación <i>In silico</i> de la proteína Sericina para hacer comparación directa con los resultados obtenidos de la toma de espectro de masas de cada una de las muestras.</p>			



I.Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O and Mann, M. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.* 1996, 68, 850-858.

RESULTADOS

 	LABORATORIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS	Código: F-LEM-04
		Version 01
INFORME DE RESULTADOS		Página 4 de 6



Muestra SSCLi

AMINOACID	Letter code	Total Number	%
Alanine	A	48	7.91
Arginine	R	26	4.28
Asparagine	N	14	2.31
Aspartic Acid	D	40	6.59
Cysteine	C	35	5.77
Glutamine	Q	20	3.29
Glutamic Acid	E	59	9.72
Glycine	G	17	2.80
Histidine	H	17	2.80
Isoleucine	I	15	2.47
Leucine	L	65	10.71
Lysine	K	60	9.88
Methionine	M	5	0.82
Phenylalanine	F	30	4.94
Proline	P	28	4.61
Serine	S	32	5.27
Threonine	T	34	5.60
Tryptophan	W	3	0.49
Tyrosine	Y	21	3.46
Valine	V	38	6.26

 	LABORATORIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS	Código: F-LEM-04
		Versión 01
INFORME DE RESULTADOS		Página 4 de 6

Muestra SSCsd

AMINOACID	Letter code	Total Number	%
Alanine	A	48	7.91
Arginine	R	26	4.28
Asparagine	N	14	2.31
Aspartic Acid	D	40	6.59
Cysteine	C	35	5.77
Glutamine	Q	20	3.29
Glutamic Acid	E	59	9.72
Glycine	G	17	2.80
Histidine	H	17	2.80
Isoleucine	I	15	2.47
Leucine	L	65	10.71
Lysine	K	60	9.88
Methionine	M	5	0.82
Phenylalanine	F	30	4.94
Proline	P	28	4.61
Serine	S	32	5.27
Threonine	T	34	5.60
Tryptophan	W	3	0.49
Tyrosine	Y	21	3.46
Valine	V	38	6.26

 	LABORATORIO DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS	Código: F-LEM-04
		Versión 01
INFORME DE RESULTADOS		Página 4 de 6

Muestra SSYL1.

AMINOACID	Letter code	Total Number	%
Alanine	A	60	3.41
Arginine	R	113	6.43
Asparagine	N	123	7.00
Aspartic Acid	D	208	11.83
Cysteine	C	1	0.06
Glutamine	Q	42	2.39
Glutamic Acid	E	195	11.09
Glycine	G	75	4.27
Histidine	H	31	1.76
Isoleucine	I	13	0.74
Leucine	L	26	1.48
Lysine	K	302	17.18
Methionine	M	2	0.11
Phenylalanine	F	18	1.02
Proline	P	99	5.63
Serine	S	266	15.13
Threonine	T	103	5.86
Tryptophan	W	0	0.00
Tyrosine	Y	36	2.05
Valine	V	45	2.56

Muestra SSYsd

AMINOACID	Letter code	Total Number	%
Alanine	A	60	3.41
Arginine	R	113	6.43
Asparagine	N	123	7.00
Aspartic Acid	D	208	11.83
Cysteine	C	1	0.06
Glutamine	Q	42	2.39
Glutamic Acid	E	195	11.09
Glycine	G	75	4.27
Histidine	H	31	1.76
Isoleucine	I	13	0.74
Leucine	L	26	1.48
Lysine	K	302	17.18
Methionine	M	2	0.11
Phenylalanine	F	18	1.02
Proline	P	99	5.63
Serine	S	266	15.13
Threonine	T	103	5.86
Tryptophan	W	0	0.00
Tyrosine	Y	36	2.05
Valine	V	45	2.56

Anexo B. Tablas con el contenido de aminoácidos hidrofóbicos/hidrofílicos y esenciales según resultados de los análisis del Anexo A.

MUESTRAS	HIDROFOBICOS (%)	HIDROFILICOS (%)	A. ESENCIALES (%)
SSY	14,95	85,05	34,12
SSC	38,21	61,77	51,88

Nota: construida a partir de las tablas del anexo A, donde el contenido de aminoácidos no varió entre método de deshidratación.