

Caracterización de sericina obtenida a partir de aguas de desengomado de seda natural

Characterization of sericin obtained from water degumming natural silk

Catalina Álvarez¹, Catalina Arredondo^{2,3}, Ana E. Casas^{2,4}, Mónica M. Cardona^{2,3},
Gustavo A. Hincapié¹, Adriana Restrepo-Osorio^{2,3,5}

¹Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana.

Email: catalina.alvarezl@upb.edu.co

²Facultad de Ingeniería Textil.

³Semillero de investigaciones en Textiles.

⁴Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología (CIBIOT)

⁵Grupo de Investigación Sobre Nuevos Materiales (GINUMA)

Recibido 09/09/13, Aceptado 04/12/2013

RESUMEN

La sericina es una proteína globular parcialmente soluble en agua, que se obtiene luego de un proceso conocido como desengomado. Estudios indican que ésta puede ser reticulada, copolimerizada, y mezclada con otros materiales para introducir mejoras en ellos, además presenta diferentes actividades biológicas. Estos factores hacen de ella un ingrediente valioso para la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. En este trabajo se evaluaron características químicas y térmicas de la sericina presente en las aguas de desengomado de la seda extraída con jabón de coco (JC) y bicarbonato de sodio (BS), simulando procedimientos semiindustriales realizados por la Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca – CORSEDA (Popayán-Colombia). La precipitación de la sericina se lleva a cabo con etanol al 75%. Luego se caracteriza, estableciendo el contenido de proteína por el método Kjeldahl. Se observa que la sericina extraída tiene un 63,8% de pureza, con presencia de JC y BS, lo cual se evidencia en los ensayos de espectroscopía infrarroja (IR) y análisis termogravimétrico (TGA). De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que la precipitación con etanol permite recuperar la sericina de las aguas del desengomado, sin embargo, de acuerdo a las aplicaciones se requieren posteriores tratamientos que incrementen la pureza de las muestras.

Palabras clave: Caracterización; Desengomado; Proteína; Seda; Sericina.

ABSTRACT

Sericin is a water-soluble globular protein, which surrounds the silk filament (fibroin). Studies have shown that sericin has biological activities. In addition, it can be crosslinked, copolymerized and mixed with other natural and artificial polymers, to obtain new materials and improve their properties. These factors make it be a valuable natural ingredient for food, pharmaceutical and cosmetic industries. By the above, the objective of this study is to evaluate the chemical and thermal characteristics of sericin obtained after degumming process of silk. The extraction process (degumming) is performed according to procedures used by Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca – CORSEDA, (Popayán-Colombia), who use coconut soap (CS) and sodium bicarbonate (SB). Sericin is precipitated using 75% ethanol. The result obtain by TGA, FTIR and protein content (Kjeldahl) (63.8%) show that precipitation with ethanol leaves residues of CS and CB, then more treatments are required to increases the purity of the samples.

Keywords: Characterization; Degumming; Protein; Silk; Sericin.

1. INTRODUCCIÓN

Durante el proceso de obtención de hilos de seda natural se generan subproductos tales como la borra, la pupa y la sericina, los cuales son aprovechados y comercializados en países asiáticos donde la cadena productiva de la seda está bien consolidada [1,2]. En Colombia se desarrolla esta actividad a nivel artesanal y semiindustrial, en CORSEDA-Cauca, una corporación que agrupa productores y artesanos sericultores, quienes realizan los procesos productivos requeridos para obtener fibras, hilos y prendas de seda. Los subproductos generados de esta actividad, no son aprovechados comercialmente. Por ejemplo, las pulpas obtenidas luego del proceso de devanado son enterradas, y en algunos casos son destinadas al consumo de los animales domésticos como las gallinas. Por otro lado, la sericina que resulta del proceso de lavado (desengomado) de los hilos de seda, es descargada en los sistemas de alcantarillado (~10-15 g/L) [3,4], situación que lleva a un problema ambiental debido al incremento de la DBO/DQO en los efluentes acuosos [2]. En el mundo la producción de sericina se estima cerca a 50.000 ton cada año, lo que corresponde a una producción de aproximadamente 400.000 ton de capullos secos [2,3].

La sericina constituye entre un 20-30% en peso de la fibra de seda, su función es la cohesión de las estructuras fibrilares durante la formación del capullo [5]. Es una proteína globular parcialmente soluble en agua, secretada en la región media de la glándula sericígena del gusano de seda. Es altamente hidrofílica y se compone esencialmente por glicina, serina y ácido aspártico [6]. La sericina se clasifica en A, B y C de acuerdo a la solubilidad que presenta, y a su peso molecular [2,7]. Las sericinas A y B se disuelven fácilmente en agua a temperaturas cercanas a los 60°C, mientras que la sericina C requiere temperaturas superiores a 83°C para solubilizarse. La sericina A, se encuentra en la capa más exterior de las fibras de seda, la sericina B se encuentra en la capa media, y la sericina tipo C se encuentra en la capa interna [8]. La sericina de menor peso molecular es usada frecuentemente en cosméticos para el cuidado del cabello y la piel, así como en medicamentos. Por otro lado, la sericina de alto peso molecular, es usada principalmente en materiales biomédicos, biomembranas funcionales, hidrogeles y en la elaboración de fibras funcionales [3].

Recientemente se ha demostrado que la sericina resiste la oxidación, es antibacterial, biocompatible, y absorbe y libera humedad con facilidad. Puede ser reticulada, polimerizada y usada en mezclas con diferentes materiales. Exhibe una gran cantidad de actividades biológicas, por ejemplo, inhibe la actividad de la tiroxinas, presenta funciones farmacológicas y anticoagulantes, tiene actividad contra el cáncer, promueve la digestión en humanos

y es considerada como una fuente de nitrógeno. Además, se ha mostrado que su ingesta mejora en la biodisponibilidad del Zn, Fe, Mg y Ca en ratas, ayuda a prevenir la muerte celular y promueve el crecimiento celular sin efectos tóxicos y secundarios. Por lo anterior, la sericina se ha sugerido como un ingrediente natural en la industria de alimentos y como materia prima en cosméticos y farmacia [2,9,10].

De acuerdo a estudios realizados, el peso molecular de la sericina se ve afectado por factores como la temperatura, el pH y el tiempo del proceso de desengomado [11,12]. Este proceso ha sido tradicionalmente realizado en baños alcalinos con agentes como jabón de coco y bicarbonato de sodio, debido a que dichos agentes permiten la hidrólisis de la sericina, rompiendo el enlace péptido de los aminoácidos, y formando pequeñas moléculas que llevan a la dilución de la sericina en agua [13]. Hoy en día este método es el más empleado, ya que además de darle a la seda buen brillo, permite que se conserven propiedades como su resistencia y elasticidad [14].

En la literatura se reportan diferentes procedimientos para realizar el desengomado de la fibra de seda en baños alcalinos. Generalmente, el proceso consiste en sumergir la seda en soluciones calientes que contienen jabón y bicarbonato en relaciones previamente establecidas [15]. Todos los ingredientes son mezclados y mantenidos a temperatura de ebullición por un tiempo determinado. En la tabla 1, se presentan las relaciones de agua, bicarbonato y jabón de coco utilizados para el desengomado por distintos artesanos de CORSEDA. Estas formulaciones están expresadas para el desengomado de un kilo de seda.

Tabla 1. Formulaciones de desengomado expresadas por kilo de seda.

Table 1. Conditions of degummed by a kilo silk.

Artesana	Agua (L)	Bicarbonato de sodio (g)	Jabón de coco (g)	Tiempo (min)
A	50	100	40	40-45
B	30	70	50	60
C	30	90	40	60
D	30	60	40	60
E	30	90	60	45

Fuente: Datos proporcionados por artesanos de CORSEDA

La recuperación de la sericina de las aguas del desengomado se puede lograr mediante diferentes metodologías. Algunas de las técnicas más usadas a nivel mundial son: precipitación con etanol [16], hidrólisis enzimática [11], y filtración por membrana [2]. La precipitación en etanol, uno de los métodos más reportados en la literatura, con-

siste en tomar las aguas residuales del desengomado y secarlas para eliminar la humedad, quedando la muestra pulverizada. La muestra seca se disuelve posteriormente en agua destilada y se mezcla con etanol. Como el etanol reduce la polaridad del disolvente, se da lugar a una precipitación de la sericina, la cual se puede separar por procesos de centrifugación. Dependiendo de la concentración de la solución de etanol se obtienen diferentes rendimientos de sericina (ver tabla 2) [16,17].

Tabla 2. Rendimiento de la sericina de acuerdo a la concentración de la solución de etanol.

Table 2. Yield of sericin according to the concentration of the ethanol solution.

Concentración de etanol	Rendimiento (%)
25%	12,5 ± 0,2
50%	36,7 ± 0,8
75%	74,5 ± 0,6

Adaptado de: Hanjin, Ji Young, y Moo, 2010 [17]

Por lo anterior, el presente trabajo investigó características químicas y térmicas de sericina extraída de las aguas de desengomado de la seda, utilizando jabón de coco (JC) y bicarbonato de sodio (BS), simulando procedimientos semi- industriales realizados por la Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca CORSEDA con el fin de determinar a futuro usos potenciales a nivel industrial.

2. Metodología

Para la extracción de la sericina se utilizaron madejas de seda sin desengomar suministradas por CORSEDA. El proceso de desengomado se llevó a cabo con jabón de coco y bicarbonato de sodio de acuerdo a formulaciones de CORSEDA (ver tabla 3, artesana A). Para la precipitación se usó etanol grado analítico marca MERCK. Antes de los procesos de extracción las muestras se secaron en un horno de vacío marca Vaciotem-T a 40°C y una presión de vacío de 0,4 bar por 12 h, para retirar la humedad presente en ellas.

Para el proceso de desengomado se calentó agua hasta alcanzar una temperatura aproximada de 50°C. Posteriormente, se adicionaron el jabón de coco y el bicarbonato de sodio hasta su dilución. Cuando el agua comenzó a ebulir, se incorporaron las madejas de seda, se agitó suavemente para homogenizar los productos y se dejaron en la solución durante aproximadamente 45 min en agitación constante. Transcurrido este tiempo se retiró la madeja de seda, y el líquido resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, la muestra fue concentrada

en un rotaevaporador hasta obtener una reducción significativa del volumen inicial. Se utilizó un equipo marca Laborota 4010 a 40°C, 65 mb y 100-120 rpm. La muestra concentrada se secó en una estufa de calentamiento a 40°C durante 48 h con el fin de retirar el exceso de humedad. La muestra obtenida fue rotulada como "S".

La muestra seca se disolvió en agua destilada (10% w/v), posteriormente se diluyó hasta obtener una mezcla al 75% de etanol. Para recuperar la sericina precipitada se procedió a centrifugar la muestra en un equipo marca EBA 20 HETTICH Zentrifuge durante 20 min a 3500 rpm. El sobrenadante obtenido, que contiene principalmente etanol, fue descartado, y el precipitado se llevó a un horno de convección forzada a 40°C por 48 h con el fin de eliminar el agua y el etanol presentes en la muestra. La muestra seca fue almacenada y rotulada como "SE".

La determinación del contenido de nitrógeno de las muestras se realizó por duplicado empleando el método Kjeldahl. La digestión se llevó a cabo en un digestor Kjeldahl DKL heating digestor marca Velp Scientifica, utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado (95-97%) y como catalizador sulfato de potasio y selenio. La rampa de calentamiento empleada se observa en la tabla 3. Posteriormente las muestras se dejaron en reposo a temperatura ambiente por 30 min. La destilación se realizó en un equipo UDK 149 marca Velp Scientifica, con previa neutralización utilizando NaOH al 32% (w/v), de esta forma se libera el ion amonio a partir del sulfato de amonio formado en la digestión, el cual se recoge en una solución de ácido bórico (H₃BO₃) al 4%.

La muestra destilada se tituló en un equipo 888 Titrande marca Metrohm empleando ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,1 N. El porcentaje de nitrógeno presente en la muestra es multiplicado por un factor de conversión (6,25) para obtener el porcentaje de proteína presente en la muestra.

Tabla 3. Rampa de calentamiento utilizada en el método Kjeldahl.

Table 3. Heating rate used in the Kjeldahl method.

Temperatura (°C)	170	230	320	420
Tiempo (min)	15	15	45	45

Fuente: Manual de instrucciones equipo digestor Kjeldahl DKL heating digestor marca Velp Scientifica

La composición química de las muestras de sericina fue analizada mediante la técnica de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con un dispositivo de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR), con un espectrómetro marca Nicolet 6700 Series. 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 determinó el comportamiento térmico de las muestras empleando una balanza termogravimétrica (TGA) Mettler Toledo TGA/SDTA85IE/1LF/1610, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min, desde temperatura ambiente hasta 800°C, en una atmósfera inerte de N₂ para evitar procesos oxidativos. El jabón de coco y el bicarbonato de sodio también fueron estudiados con ambas técnicas con el fin de analizar comparativamente los resultados.

3. RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que el porcentaje de proteína de la muestra "S" fue de un 63,8%, mientras que la muestra "SE" alcanzó un 70,1%. Esto indica que el proceso de precipitación con etanol permite incrementar el grado de pureza de la sericina aproximadamente en un 6,1%. Las pruebas de espectroscopia infrarroja y el análisis termogravimétrico permitieron evidenciar en ambas muestras la presencia de jabón de coco y bicarbonato de sodio (ver figuras 1 y 2).

Los espectros del bicarbonato de sodio muestran picos ubicados aproximadamente a 2500, 1900, 1580, 1450, 1250, 1000, 800 y 700 cm⁻¹. En el caso del jabón de coco se evidencia la presencia de 5 picos principales; 3348, 2916 y 2839 cm⁻¹ correspondientes a vibraciones C-H de las cadenas alquilo, 1575 y 1457 cm⁻¹ relacionadas con cadenas grasas y 1100 cm⁻¹ atribuido a cadenas de hidrocarburos [18-19]. Las bandas asociadas a polipéptidos y proteínas, las cuales están relacionadas con el grupo CONH, se conocen como bandas amida en el plano (A, B, I, II y III) y fuera de éste (IV, V, VI y VII) [20]. El espectro de las muestras S y SE muestran picos característicos de esta proteína [21-23]. El pico ubicado a 1639 cm⁻¹, correspondiente a la banda amida I, se asocia a la absorción más intensa de las proteínas y se rige principalmente por la vibración del enlace C=O [21]. Los picos a 1515 cm⁻¹ y 1238 cm⁻¹, indican el estiramiento y la deformación de los enlaces CN y NH y están relacionados con la banda amida II y amida III respectivamente [21,22]. Las vibraciones a 3400 y 2919 cm⁻¹, están asociadas al enlace NH y corresponden a la presencia de bandas amida A y B respectivamente [21].

Si bien los picos de ambas muestras de sericina se encuentran a la misma longitud de onda, indicando el comportamiento característico de esta proteína, se observan cambios en la intensidad de algunas vibraciones entre la muestra S y SE, esto puede atribuirse a la presencia de jabón de coco y bicarbonato de sodio, los cuales permanecen luego del proceso de desengomado y no son removidos completamente en el proceso de precipitación con etanol (ver figura 1) [24]. En las muestras S y SE, los picos a 1451 y 848

cm⁻¹ son bandas asociadas a la presencia del bicarbonato de sodio, mientras que las bandas que se encuentran en 2849 y 1047 cm⁻¹ indican la presencia de jabón de coco. La banda amida B presenta una interferencia causada por la presencia de jabón de coco [21]. Adicionalmente, algunos cambios se pueden atribuir a modificaciones que genera el etanol en la estructura secundaria de la sericina [23].

En la figura 2 se observan las curvas de pérdida de peso de los productos JC, BS, y las muestras S y SE. El contenido de cenizas para cada una de las muestras fue de 25,3; 64,4; 39,4 y 37,3% respectivamente. Para el JC y el BS se observa un solo evento de degradación térmica. El BS presenta una temperatura de máxima degradación a 160°C, el cual puede estar relacionado con la evaporación del carbonato, ya que la ebullición del sodio se presenta por encima de los 800°C [25,26]. Adicionalmente se observa un pequeño pico por debajo de los 100°C, atribuido a la humedad de la muestra. La temperatura de máxima degradación del JC se presenta a 497°C (ver figura 3).

Por su parte las curvas S y SE evidencian un mismo comportamiento con varios eventos de degradación. En ambas curvas se presenta un pico a aproximadamente a 100°C, debido a la evaporación del agua [27]. La sericina S posee un pico a 140°C y un pequeño hombro a 450°C, que pueden estar relacionados con la presencia de bicarbonato de sodio y jabón de coco respectivamente ya que estos coexisten con la sericina luego de la extracción [2] (ver figura 3), mientras que para SE, se observa que ambos picos desaparecen, esto debido a que el tratamiento con etanol arrastró residuos de bicarbonato y jabón de coco que se encontraban presentes en la muestra S.

Figura 1. Espectros infrarrojos de las muestras BS, JC, S, SE.
Figure 1. Infrared spectra of samples BS, JC, S, SE.

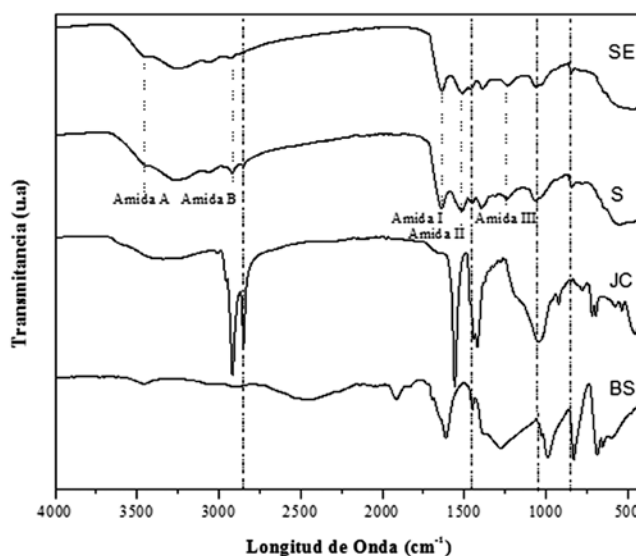
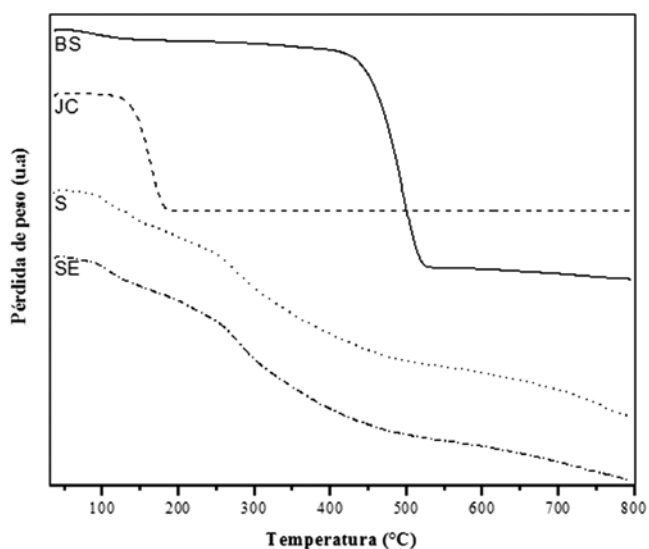
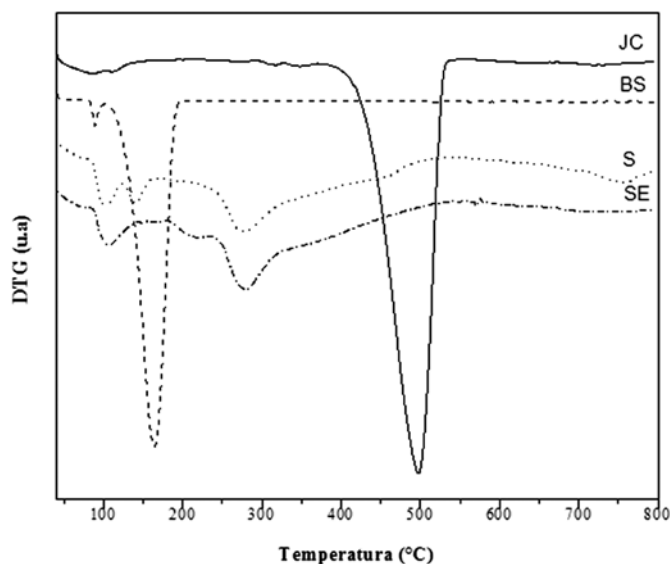


Figura 2. TGA de las muestras S, SE, JC y BS.
Figure 2. TGA of samples S, SE, JC y BS.



Tanto para la sericina S como para SE, se observa la presencia de un pico a 280°C, relacionado con la degradación de las cadenas laterales de los aminoácidos y a la ruptura de los enlaces peptídicos, y que corresponde a la principal pérdida de masa en estas muestras [9]. Este pico puede variar de acuerdo a los métodos utilizados para la extracción de la sericina [28]. El pico ubicado en SE aproximadamente a 215°C, puede corresponder a sericina de un menor peso molecular, formado luego del tratamiento con etanol [9].

Figura 3. DTG de las muestras S, SE, JC y BS.
Figure 3. DTG of samples S, SE, JC y BS.



4. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos, el método de extracción empleado para la recuperación de la sericina de las aguas residuales del desengomado de la seda, contribuye a incrementar el porcentaje de proteína en la muestra SE en un 6,1%. Esto se debe a la remoción de parte del bicarbonato de sodio y el jabón de coco presente en ella. Los ensayos realizados en la determinación de proteína, y en los análisis por FTIR y TGA corroboraron estos cambios. Para futuros trabajos se sugiere evaluar si realizar la precipitación de la sericina en más de una etapa puede incrementar la pureza de las muestras.
- El proceso de desengomado realizado bajo las condiciones de CORSEDA, y el método de precipitación con etanol, no garantizan la remoción del jabón de coco y el bicarbonato de sodio, por lo cual es necesario evaluar otras metodologías con miras a obtener un producto de mayor pureza.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Centro de Investigación para el Desarrollo y la Innovación – CIDI, de la Universidad Pontificia Bolivariana, sede Medellín, por la financiación del proyecto 917-A y a CORSEDA, por la donación de las muestras e información suministrada sobre las condiciones empleadas en el proceso de desengomado. Este trabajo de investigación ha sido posible gracias a su colaboración.

REFERENCIAS

[1] Wu, J-H., Wang, Z., and Xu, S-Y. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chem.*, 103 (4), 255-1262, 2007.

[2] Capar, G., Aygun, S.S., and RusenGecit M. Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. *J. Membr. Sci.*, 342 (1-2), 179-189, 2009.

[3] Zhang, Y.Q. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnol. Adv.*, 20 (2), 91-100, 2002.

[4] GoksenCapar, S., SeylanAygun, M., and Gecit, M.R. Treatment of silk production wastewaters by membrane processes for sericin recovery. *J. Membr. Sci.*, 325 (2), 920-931, 2008.

[5] Kundu, S., Dash, B., Dash, R., and Kaplan, D. Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: potential for biomedical and biotechnological applications. *Prog. Polym. Sci.*, 33 (10), 9981012, 2008.

- [6] Turbiani, F., Tomadon, J.J., Seixas F.L., and Gimenes, M.L. Properties and Structure of Sericin Films: Effect of the Crosslinking Degree. *Chem. Eng. Trans.*, 24 (1), 14891494, 2011.
- [7] Ji, H., Leeb, Y., KonKima, M., ChulUmc, I., and Lee, K.H. Refining hot-water extracted silk sericin by ethanol-induced precipitation. *Int. J. Biol. Macromol.*, 48 (1), 32-37, 2011.
- [8] Pandamwar M.N., and Pawar, A.P. Silk sericin and its applications: A review. *J. Sci. Ind. Res.*, 63 (1), 323-329, 2004.
- [9] Zhang, X., Rahman, M.M., and Yamamoto, T. Fabrication of silk sericin nanofibers from a silk sericin-hope cocoon with electrospinning method. *Int. J. Biol. Macromol.*, 50 (2), 337347, 2011.
- [10] Dash, B.C., Mandal, B.B., and Kundu, S.C. Silk gland sericin protein membranes: Fabrication and characterization for potential biotechnological applications. *J. Biotechnol.*, 144 (4), 321-329, 2009.
- [11] Vaithanomsat, P., and Kitpreechavanich, V. Sericin separation from silk degummin wastewater. *Sep. Purif. Technol.*, 59 (2), 129-133, 2008.
- [12] Fabiani, C., Pizzichini, M., Spadoni, M., and Zeddita, G. Treatment of waste water from silk degumming processes for protein recovery and water reuse. *Desalination*, 105 (1-2), 1-9, 1996.
- [13] Ho, M., Wang, H., and Lau, K. Effect of degumming time on silk fibre for biodegradable polymer composites. *Appl. Surf. Sci.*, 258 (8), 3948-3955, 2012.
- [14] Freddi, G., Allara, G., and Candiani, G. Degumming of silk fabrics whit tartaric acid. *J. Soc. Dyers. Colour.*, 112 (7-8), 191-195, 1996.
- [15] Pescio, F., Zunini, H., Basso, C.P., Divo, M., Frank, R.G., Pelicano, A.E., and Vieites, C.M. *Sericultura: Manual para la Producción. Biografías y Vidas*, 2004.
- [16] Jin-Hong, W., Zhang, W., and Shi-Ying, X. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food Chem.*, 103 (4), 1255-1262, 2007.
- [17] Hanjin, O., Ji-Youn, and Moo, K.K. Refining hot-water extracted silk sericin by ethanol-induced precipitation. *Int. J. Biol. Macromol.*, 48 (1), 32-37, 2010.
- [18] Plater, M.J, Silva, B., Gelbrich, T., Hursthouse, M.B., Higgitt, C.L., and Saunders, D.R. The characterization of lead fatty acid soaps in protrusions in aged traditional oil paint. *Polyhedron*, 22, 3171-3179, 2003.
- [19] Alba-Rubio, A.C., Alonso, M.L., Albuquerque, M.C.G., Mariscal, R., Cavalcante, C.L., and López M. A new and efficient procedure for removing calcium soaps in biodiesel obtained using CaO as a heterogeneous catalyst. *Fuel*, 95, 464-470, 2012.
- [20] Arrondo, J. L., Muga, A., Castresana, J., and Goni, F. M. Quantitative studies of the structure of proteins in solution by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 59, 23-56, 1993.
- [21] Sung, N.Y., Byon, E.B., Kwon, S.K., and Yoo, Y.C. Preparation and Characterization of High-Molecular-Weight Sericin by γ Irradiation. *J. Appl. Polym. Sci.*, 120 (4), 2034-2040, 2011.
- [22] Aramwit, P., Damrongsakkul, S., Kanokpanont, S., and Srichana, T. Properties and Antityrosinase Activity of Sericin from Various Extraction Methods. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 55 (2), 91-98, 2010.
- [23] Sarovart, S., Sudatis, B., Meesilpa, P., Grady, B., and Magaraphan, R. The use of sericin as an antioxidant and antimicrobial for polluted air treatment. *Adv. Mater.*, 5 (1), 193-198, 2003.
- [24] Goksen, C. Aygun, S.S., and Gecit, M.R. Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. *J. Membr. Sci.*, 342 (1-2), 179-189, 2009.
- [25] Dean, J.A. *Manual de Química Orgánica*, Mc Garw Hill, México, D.C., 1988.
- [26] Bakirtzisa, D., Delichatsiosa, M.A., Liidakisb, S., and Ahmed, W. Fire retardancy impact of sodium bicarbonate on ligno-cellulosic materials. *Thermochim. Acta.*, 486, 11-19, 2009.
- [27] Prasong, S., Wilaiwan, S., and Yaowalak, S. Characterization of silk fiber whit and whitout sericin component: A comparison between *Bombyx mori* and *Philosamia ricini* silks. *Pak. J. Biol. Sci.*, 12 (11), 872-876, 2009.
- [28] Miyake, H., Wakisaka, H., Yamashita, Y., and Nagura, M. Moisture characteristic and structure of high molecular weight sericin film. *Polym. J.*, 35 (8), 683-687, 2003.