
APLICACIÓN DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA MEJORA MEDIOAMBIENTAL DE LOS PROCESOS DE TINTURA.



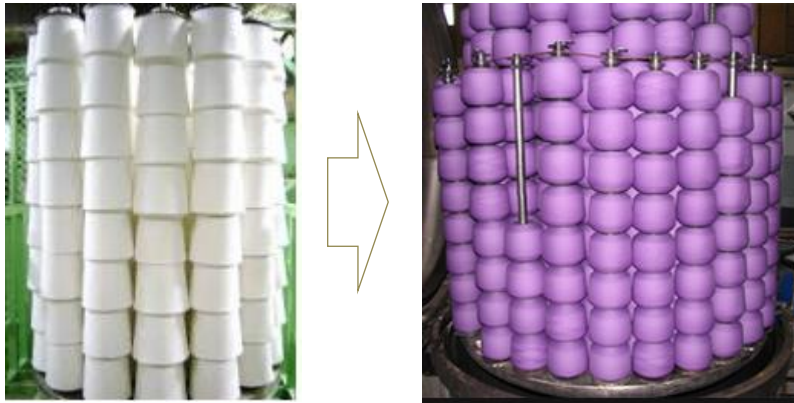
INFORME JUSTIFICATIVO RESULTADOS

Índice de contenidos

I. OBJETIVO.....	3
II. ENZIMAS	5
1. Tratamiento enzimático materia prima	5
1.1. Experimental:.....	5
Se ha trabajado con distintos tipos de enzimas, concretamente con:	5
Se han modificado tanto los tiempos como las concentraciones empleadas.....	5
En el caso de la lana se ha tratado de incluir el tratamiento enzimático tanto en el proceso de tintura como en el proceso de descrudado de la lana.....	5
1.2. Caracterización.	5
1.3. Conclusiones.....	7
2. Tratamiento enzimático aguas residuales.....	7
2.1. Experimental.	7
2.2. Caracterización.	7
2.3. Conclusiones.....	9
III. LIPOSOMAS.....	10
1. Experimental	11
2. Caracterización	11
3. Conclusiones.	12
IV. ENCAPSULACIÓN COLORANTES.	13
1. Experimental.	13
2. Caracterización	14
3. Conclusiones.	16
V. COLORANTES NATURALES	17
1. Experimental	17
2. Caracterización	18
3. Conclusiones.	20

I. Objetivo.

Se entiende como tintura al proceso que proporciona un color uniforme en la superficie de la materia textil. Esta operación se lleva a cabo mediante la puesta en contacto entre el colorante, en dispersión o disolución, y la materia textil que durante el proceso de tintura lo absorbe y retiene fijándose en su interior y obteniendo así el matiz deseado.



Una de las problemáticas de este proceso es que no todo el colorante empleado en el baño es absorbido o fijado por la fibra, quedando una cantidad residual en el agua que varía en función de la familia de colorantes y la materia textil empleada, produciéndose baños residuales de gran impacto ambiental.

El objetivo principal del LIPOENZYM, es reducir el impacto ambiental del proceso de tintura mediante la implementación de distintas estrategias biotecnológicas actuando en los principales factores involucrados: La materia prima, el proceso y los residuos generados.

Así se han seleccionado diferentes técnicas de actuación para cada uno de los factores:

Materia prima:

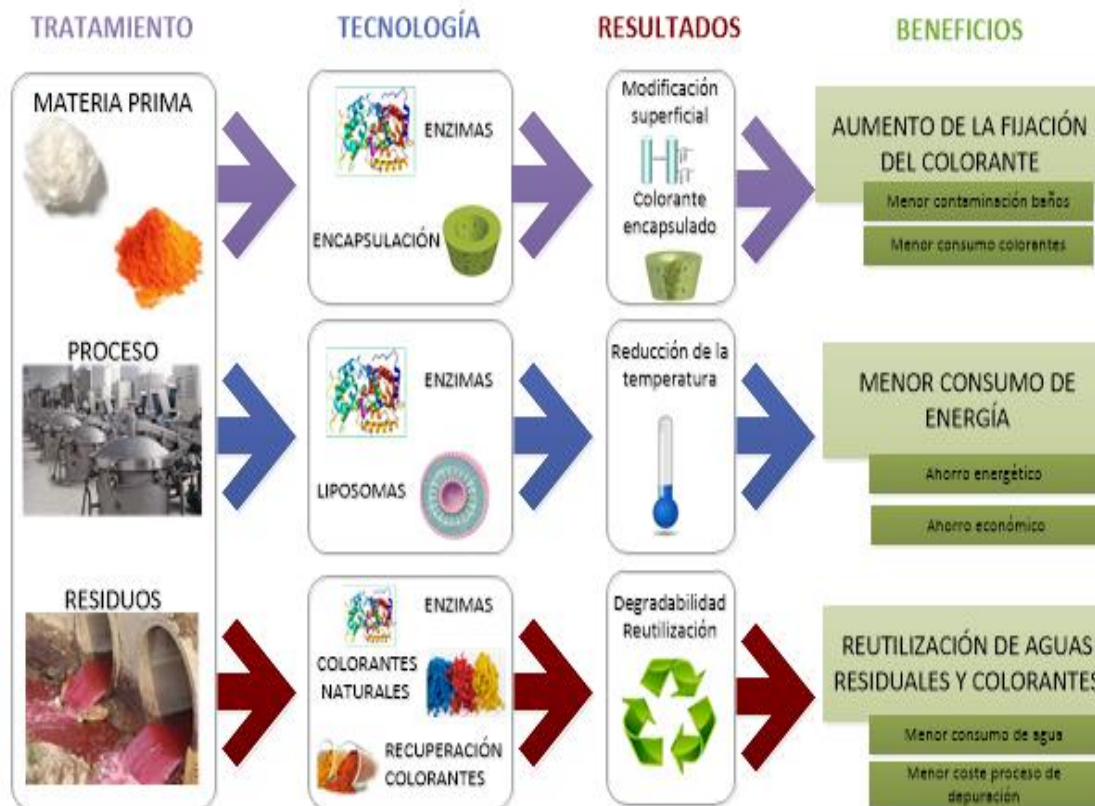
- Tecnología enzimática: Modificación superficial de las fibras para aumentar su hidrofiliidad de forma que se reduzca la temperatura del proceso de tintura y se aumente la cantidad de colorante fijado a la fibra.
- Colorantes: La tintura con colorantes encapsulados en ciclodextrinas permite obtener baños residuales con menos colorantes disueltos.

Proceso:

- Liposomas: Permiten una mejor difusión del colorante en la fibra por lo que permiten reducir la temperatura del proceso.

Residuos:

- Tecnología enzimática: Decoloración de las aguas residuales.
- Recuperación de Colorantes: Recuperación del colorante no fijado de las aguas residuales para su reutilización.
- Reciclar aguas residuales.
- Colorantes naturales: Aumentan la degradabilidad de los residuos.



II. Enzimas

Las enzimas son moléculas proteicas que tienen la función especial de acelerar las reacciones químicas para que éstas se lleven a cabo en el menor tiempo posible.

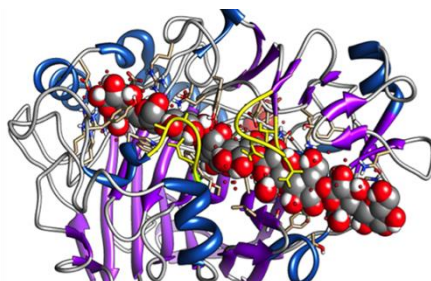


Figura. 1.- Representación enzima.

Son catalizadores extraordinariamente eficaces y específicos, capaces de aumentar la velocidad de reacción hasta 10^{17} veces. En ocasiones su eficacia es tan alta que la reacción está controlada por la difusión.

Puesto que cada tipo de reacción requiere para su correcta aceleración un tipo especial de entorno y las enzimas están diseñadas estructuralmente para favorecer un determinado tipo de reacción, no es habitual encontrar un enzima que catalice, a la vez y eficazmente, dos tipos de reacciones distintas.

1. Tratamiento enzimático materia prima

1.1. Experimental:

Se ha trabajado con distintos tipos de enzimas, concretamente con:

- Proteasas para la lana y poliamida
- Amidases para la poliamida

Se han modificado tanto los tiempos como las concentraciones empleadas.

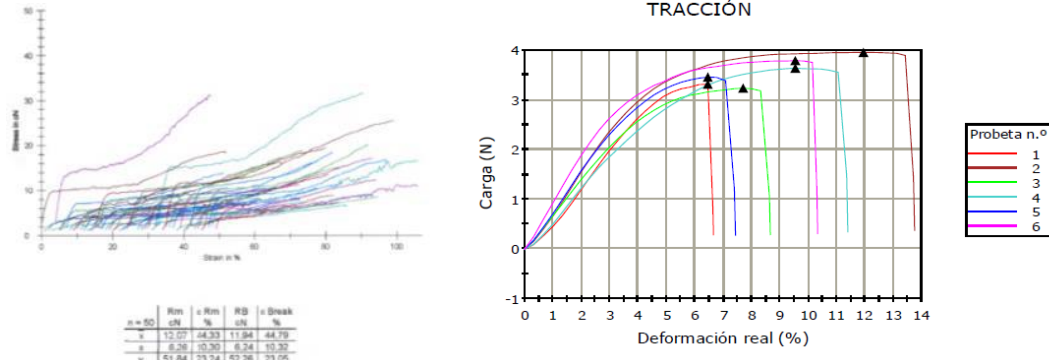
En el caso de la lana se ha tratado de incluir el tratamiento enzimático tanto en el proceso de tintura como en el proceso de descrudado de la lana.

1.2. Caracterización.

Los prototipos tratados con enzimas se han caracterizado mediante los siguientes ensayos:

• **Resistencia a la tracción y elasticidad**

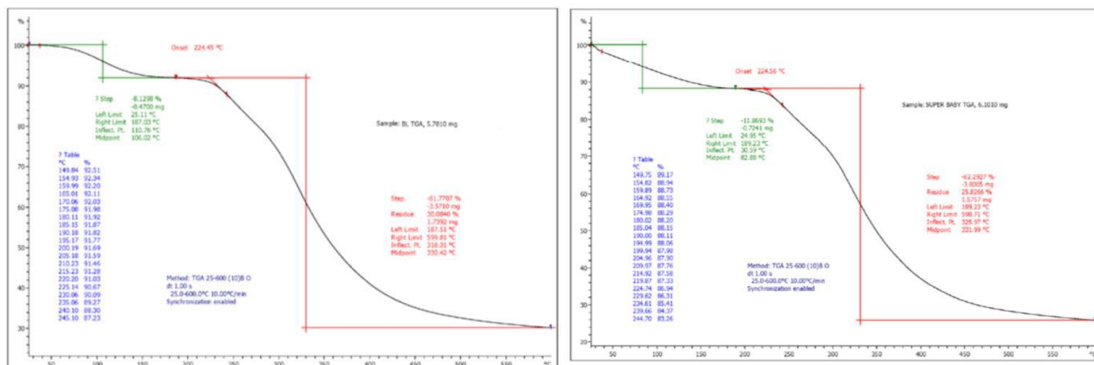
Este ensayo nos permite conocer las propiedades mecánicas de las fibras, hilos o tejidos, cada uno de ellos con sus respectivas normas de aplicación.



Izq. Gráfica tracción fibras, dcha. Gráfica tracción hilos.

• **TGA.**

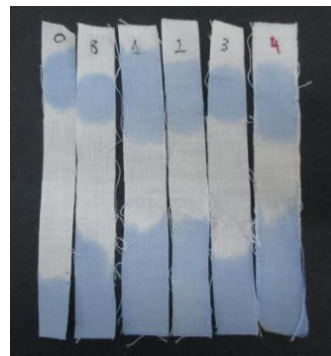
La termogravimetría analítica mide el peso de una muestra frente al tiempo o la temperatura en una atmósfera específica.



Izq. lana original y dcha. lana tratada.

• **Aumento de hidrofiliad.**

Se ha medido mediante la capilaridad de la muestra y la absorción de agua.



• Microscopia SEM

Este ensayo nos permite obtener una imagen de la morfología del complejo obtenido.



1.3. Conclusiones.

Tras la ejecución del paquete de trabajo 2 se puede afirmar que:

- Se ha tratado con enzimas sustratos de lana y poliamida aumentando su hidrofiliidad.
- El tratamiento enzimático de la lana se ha podido integrar con éxito en el tratamiento de descrudado, no siendo viable su aplicación en la tintura, dado que los pH inhiben las enzimas.
- Las propiedades mecánicas se ven alteradas con el uso de enzimas, reduciéndose considerablemente en el caso de la lana.
- No se ha comprobado que el aumento de esta hidrofiliidad conlleve un incremento en la intensidad del tejido y por tanto una reducción de materia prima.

2. Tratamiento enzimático aguas residuales.

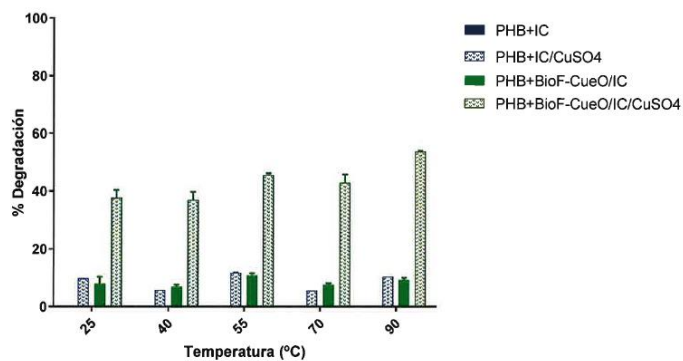
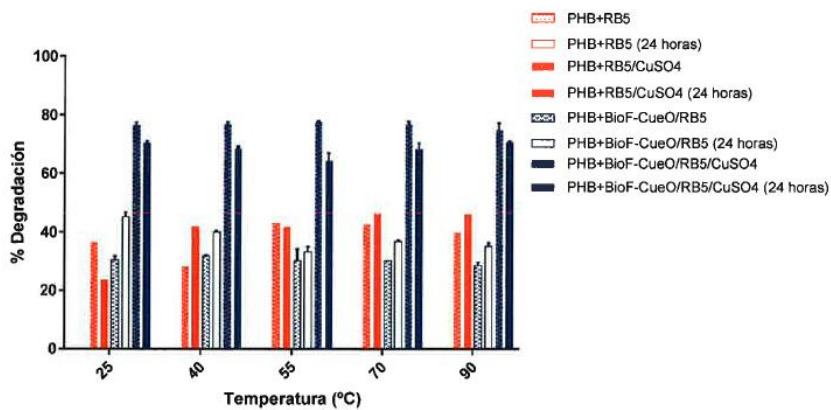
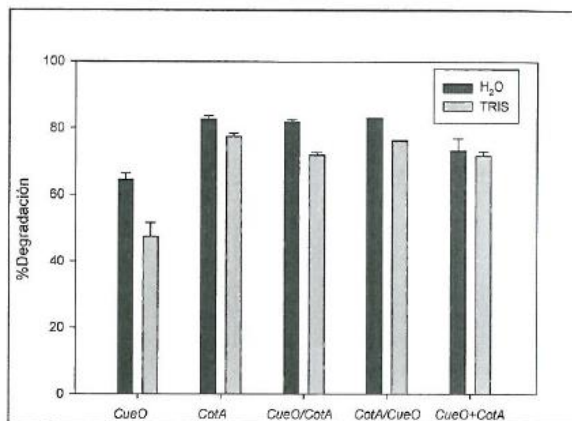
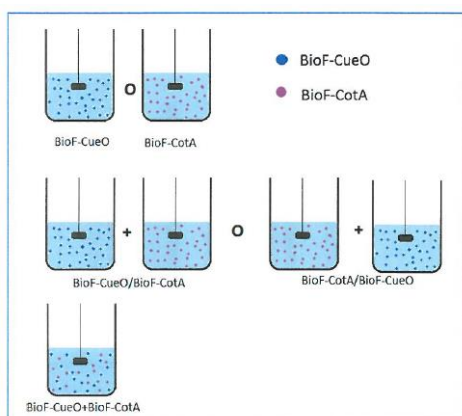
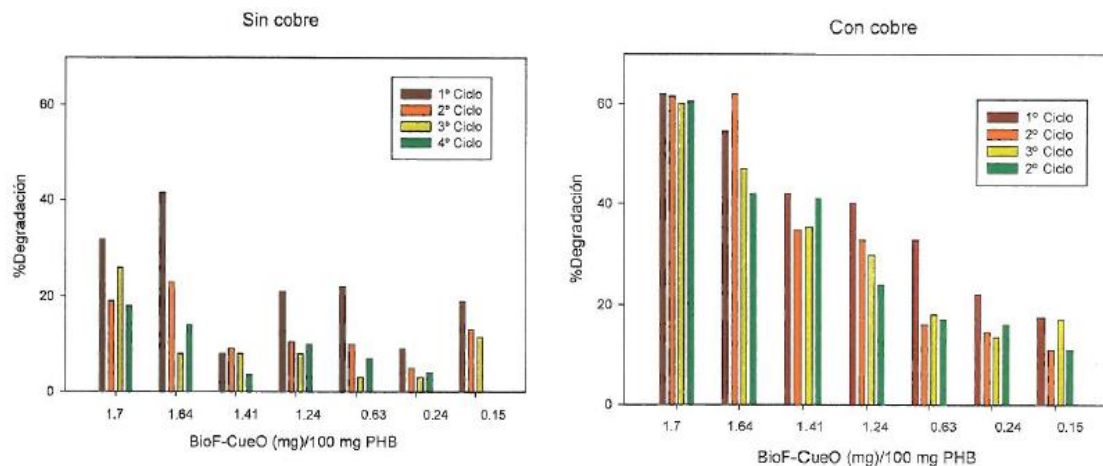
2.1. Experimental.

Se ha desarrollado un biorreactor compuesto por las lacasas CueO de escherichia coli y CotA de bacilus subtilis inmovilizadas a través de etiquetas de afinidad BioF, además de un biorreactor mixto.

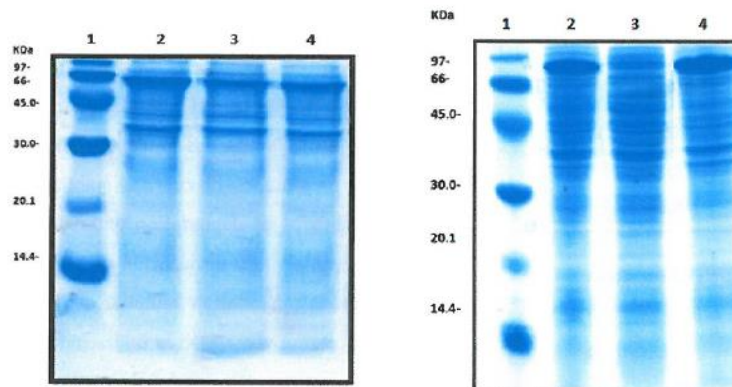
2.2. Caracterización.

- **Ensayos de degradación de colorantes.**

Este ensayo nos indica la degradación del colorante por la enzima en distintas condiciones. Se ha valorado a distintos pH, temperatura y con distintos auxiliares.



- **Estudios de expresión**



2.3. Conclusiones.

Tras la ejecución del paquete de trabajo 6 se puede afirmar que:

- Se ha conseguido inmovilizar de manera activa la proteína BioF-CueO al soporte bioplástico sin necesidad de purificar, inmovilizando otras proteínas de forma inespecífica.
- La actividad de la lacasa CotA inmovilizada en el soporte PHB es dependiente del pH. mostrando un actividad máxima frente DMF a pH 8.
- La combinación de las enzimas no da lugar a un efecto sinérgico, sin embargo permite cubrir un amplio rango de pH de 6.5-8.
- La lacasa Bio-CueO es efectiva en la degradación de los colorantes a temperaturas de 90°C.
- La degradación depende del colorante y oscila entre 1 y 24 horas.
- La presencia de CuSO₄ es necesaria para alcanzar la máxima actividad enzimática.
- El soporte puede ser reciclado si se mantiene el aporte de cobre de forma externa.
- Los auxiliares de tintura no afectan la actividad enzimática, a excepción del ácido acético (y probablemente otros ácidos) que inactiva irreversiblemente la enzima.
- Se puede inmovilizar sobre el PHB extractos de Escherichia coli BL21 que sobreproduzca BioF-CueO sin purificar, siempre que se cumplan las normativas de bioseguridad.

III. Liposomas

Un liposoma es una vesícula esférica y hueca compuesta principalmente por fosfolípidos que constan de una cabeza hidrosoluble y de una cola liposoluble, organizados en bicapas. Las colas lipofílicas de los fosfolípidos entran en contacto entre ellas formando una membrana de doble capa que es hidrófila en sus partes exteriores y lipófila en su interior, esta membrana encierra un interior acuoso.

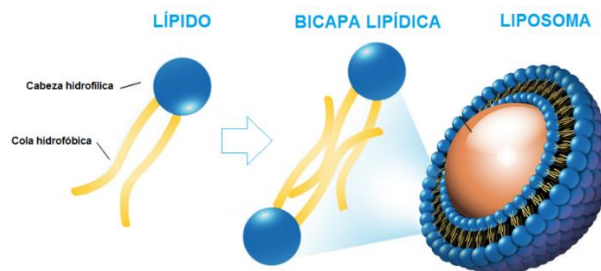


Figura. 2.- Formación de los liposomas.

El liposoma es un sistema complejo permeable y, desde un punto de vista termodinámico, es una estructura metaestable. Tanto por su estructuración en bicapa como por su composición básicamente fosfolipídica, estas vesículas tienen una estructura análoga, a la de la membrana celular y también a las membranas de los orgánulos celulares.

Se emplean como transportadores eficaces de diversas sustancias entre el exterior y el interior de la célula con un amplio campo de aplicación: medicina, cosmética y biotecnología. Los liposomas se pueden modificar, según la naturaleza de los fosfolípidos empleados, para que la sustancia activa pueda liberarse en un espacio de tiempo. Además, poseen una tendencia natural a ligarse a células y tejidos, logrando la máxima eficacia.

Sus principales propiedades son:

- Aumentan la eficacia y disminuyen los efectos no deseados de los principios activos (toxicidad)
- Prolongación de la biodisponibilidad del principio activo.
- Mejor absorción, penetración y difusión del principio activo.
- Estabilización del principio activo.

El tamaño y la homogeneidad de los liposomas afecta a su estabilidad, al comportamiento físico, y condiciona la liberación de los principios activos ya que los de mayor tamaño liberan más espacio. El método de preparación es crítico en el tamaño obtenido, por eso se debe escoger de acuerdo con la liberación deseada.

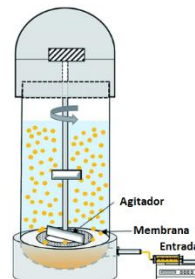
1. Experimental

Se han sintetizado liposomas mediante distintas técnicas:

Rotavapor



Encapsulación de membrana



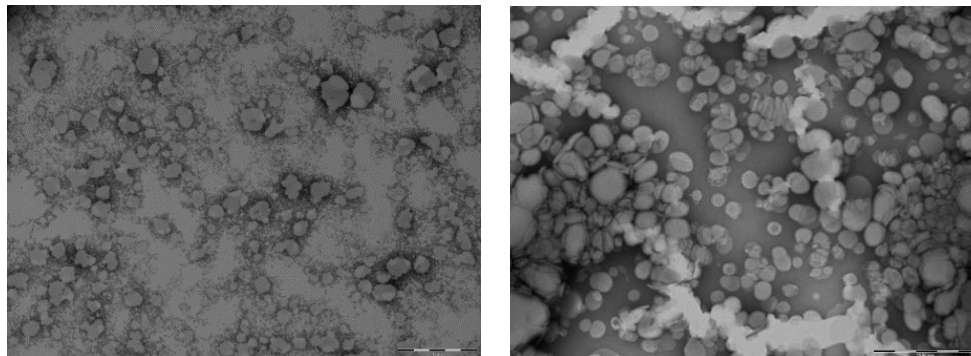
Durante la primera anualidad se sintetizaron liposomas vacíos, mientras que en esta segunda anualidad los liposomas encapsulaban los colorantes.

2. Caracterización

Los liposomas han sido caracterizados mediante los siguientes ensayos:

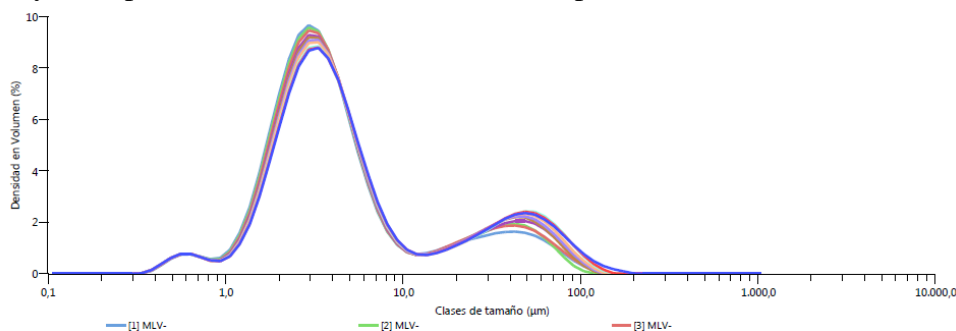
- **Microscopia TEM**

Este ensayo nos permite obtener una imagen de la morfología del complejo obtenido.



- **Distribución de tamaño**

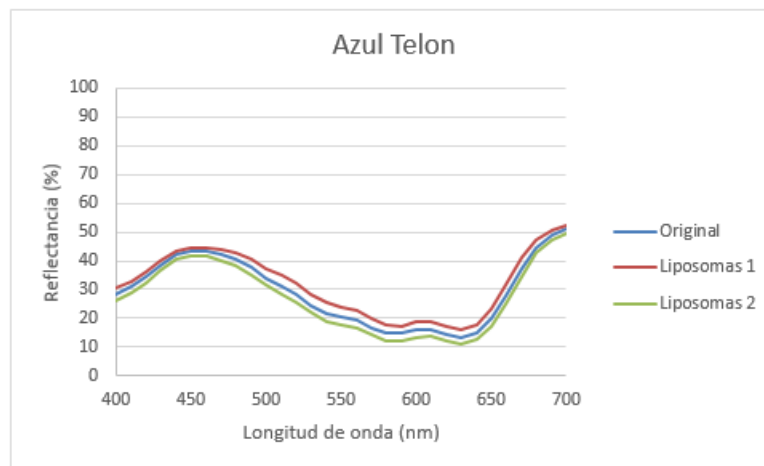
Este ensayo nos permite conocer el tamaño de los liposomas sintetizados.



Los tejidos tintados con liposomas se han caracterizados en términos de

- **Reflectancia en el visible**

Este ensayo nos permite obtener el espectro de los tejidos y observar las diferencias de color que se producen entre las distintas muestras.



- **Solidez a la luz y al lavado**

Este ensayo nos permite conocer el comportamiento del color respecto al envejecimiento a la luz y al envejecimiento al lavado.

REF	SOLIDEZ A LA LUZ	SOLIDEZ AL LAVADO						
		Degradación	WO	PAC	PES	PA	CO	AC
070	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
MLV70	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
SUV70	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5

3. Conclusiones.

En este paquete de trabajo se puede concluir que:

- Se ha conseguido sintetizar liposomas mediante diferentes tecnologías.
- Los liposomas vacíos no consiguieron incrementar el rendimiento del colorante a la fibra.
- Se ha conseguido sintetizar liposomas encapsulando colorantes tanto en la membrana como en el interior.
- Se ha conseguido aumentar la intensidad del color empleando liposomas con colorante encapsulado.
- Las solidesces del colorante no se ven modificadas por el uso o no de liposomas en la tintura.

IV. Encapsulación colorantes.

La encapsulación, de forma genérica se puede definir como retener una sustancia en el interior de un *envoltorio* lo que permite proteger la sustancia envuelta del exterior o la transformación de sustancias líquidas en sólidos, lo que ha permitido su aplicación en el campo textil.

La encapsulación es una tecnología muy versátil que es aplicada en muchos sectores puesto que permite proteger las propiedades del principio activo de factores externos como la luz, el pH o evitando interacciones entre distintos componentes en la formulación de un producto previniendo la descomposición de sus ingredientes o disminuyendo la volatilidad del producto para aumentar su persistencia.

A pesar de que las tecnologías de encapsulación se han empleado como una herramienta de liberación controlada de los principios activos, en la actualidad también se están empleando para recuperar de forma selectiva productos.

La versatilidad que presentan las distintas técnicas de encapsulación permite prácticamente el empleo tanto de cualquier principio activo como de una amplia gama de agentes encapsulantes dejando abierta la funcionalidad y la aplicación a la imaginación y necesidades de la industria.

La denominación genérica es microcápsulas y dentro de este grupo se engloban muy diversos tipos según el material encapsulante empleado, pero por el tipo de encapsulación o por las características propias de los materiales encapsulantes algunos de ellos tienen nombre propio.

1. Experimental.

El proceso de encapsulación de colorantes en ciclodextrinas se ha realizado mediante poniendo en contacto la ciclodextrinas y la disolución para proceder posteriormente a su esprayado

La matriz experimental ha contemplado disoluciones de concentración conocida, aguas residuales de tinte con y sin sal. Se ha seleccionado una tricomía de colorantes directos.

Se han seleccionado tres tipos de ciclodextrinas: β -CD, γ -CD y HP- γ CD.

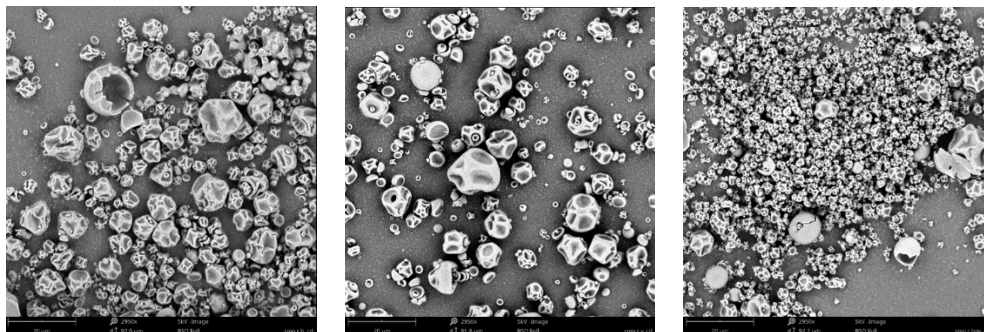


2. Caracterización

Los complejos de inclusión recuperados se han caracterizado en términos de:

- **Microscopia electrónica.**

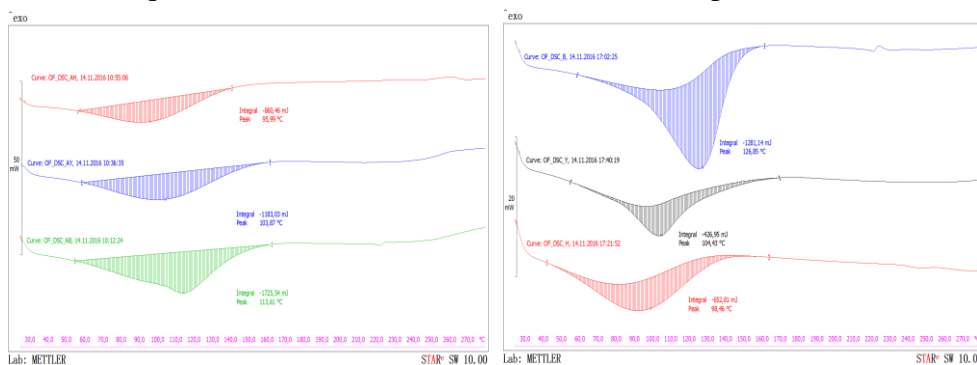
Este ensayo nos permite obtener una imagen de la morfología del complejo obtenido. .



Encapsulación rojo agua residual en β -CD (Izq.), γ -CD (centro) y HP- γ CD (dcha.).

- **DSC.**

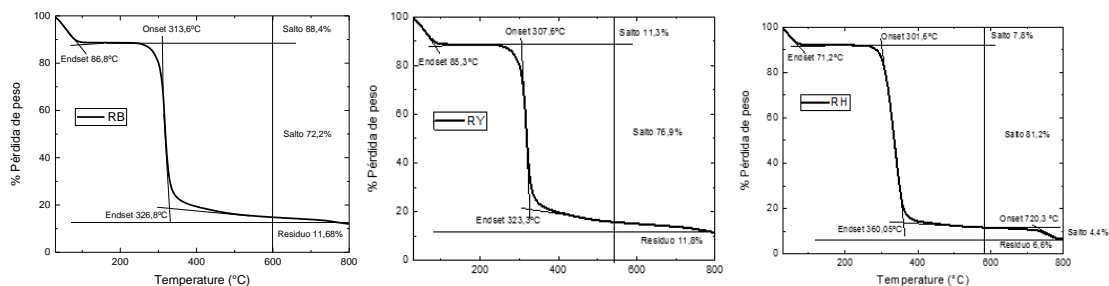
La calorimetría diferencial de barrido es una técnica experimental dinámica que permite analizar el calor que absorbe o libera una sustancia a una temperatura constante,



Izquierda complejos de inclusión amarillo. Dcha. ciclodextrinas vacías.

- **TGA.**

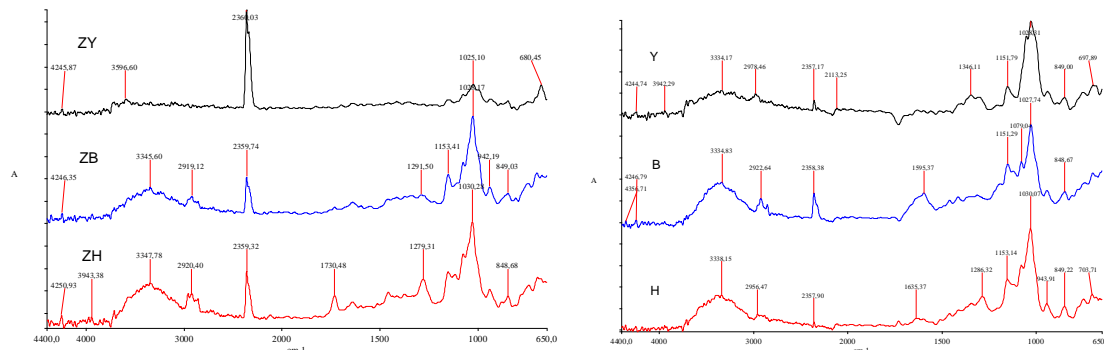
La termogravimetría analítica mide el peso de una muestra frente al tiempo o la temperatura en una atmósfera específica.



Espectros TGA complejos. Izq. Rojo/ β -CD, Centro rojo/ γ -CD y dcha. Rojo/HP- γ CD.

• **FTIR**

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier aporta información de los grupos funcionales de moléculas de estructura desconocida.



Izquierda complejos de inclusión azules Dcha. ciclodextrinas vacías.

Las aguas residuales recuperadas han sido caracterizadas mediante:

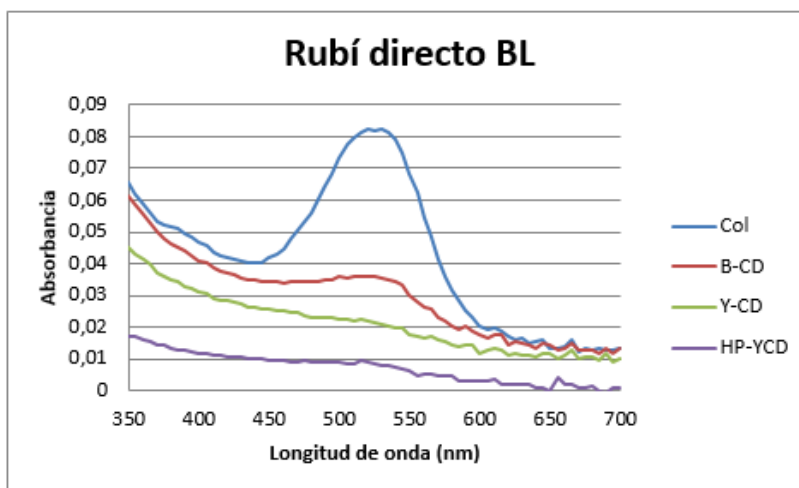
• **Conductividad**

Es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transmitir una corriente eléctrica, y se emplea para determinar el contenido de sales disueltas.

Los resultados obtenidos muestran muy baja conductividad debido a que aquellas disoluciones que incorporan sal, se precipita junto con el colorante encapsulado eliminándose del agua.

• **Espectroscopia**

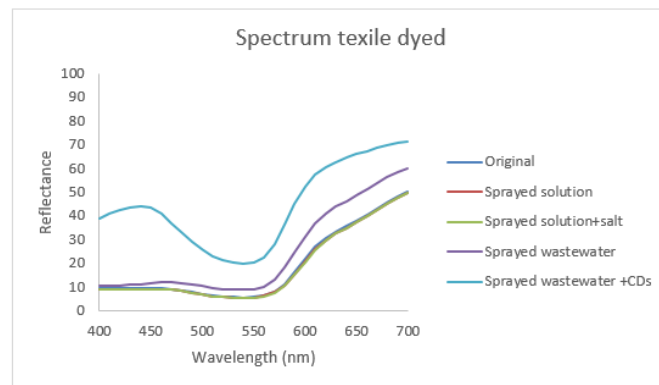
Determina la concentración de una sustancia desconocida en una disolución. .



Los tejidos tintados con los complejos recuperados o con las aguas residuales recuperadas han sido caracterizados mediante:

- **Reflectancia en el visible**

Este ensayo nos permite obtener el espectro de los tejidos y observar las diferencias de color que se producen entre las distintas muestras.



3. Conclusiones.

Las conclusiones alcanzadas tras la realización de este paquete de trabajo son:

- Es posible encapsular los colorantes residuales en las ciclodextrinas.
- La técnica de secado por pulverización permite recuperarlos en formato polvo, listos para un nuevo uso, además de recuperar el agua residual.
- Es posible reutilizar los colorantes recuperados en nuevos procesos de tintura sustituyendo a los colorantes originales.
- Las aguas residuales recuperadas pueden reutilizarse en nuevos procesos dado que apenas poseen color y la conductividad que presentan es muy baja.

V. Colorantes Naturales

Los colorantes naturales son definidos en el Color Index como “Los tintes y pigmentos naturales comprenden todos aquellos que se obtienen a partir de la materia animal o vegetal sin (o con poco) tratamiento químico.”.

Independientemente de la fuente de extracción, los colorantes y pigmentos naturales son obtenidos a partir de metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente. No todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los organismos. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género, a una familia, o incluso a algunas especies.

1. Experimental

Durante el proyecto se ha trabajado sobre tres sustratos: Lana, Algodón y Poliamida. Empleando los siguientes colorantes naturales:

Colorantes		
Cutch	Madder	Logwood
Sapanwood	Cochinilla	Logwood oxid.
Annatto	Weld	Tara
Lac Red	Chesnut	Rhamus
Golden doc	Acacia	Brasil
Cúrcuma	Espirulina	Sándalo rojo
Pétalos de rosa		

Los colorantes han sido tratados con los siguientes mordientes durante el proceso de tintura.

Mordientes
--
Alumbre
Alumbre + Crémor tártaro
Crémor tártaro
Sulfato férrico
Ácido tartárico
Aluminium triformiat

Se ha confeccionado un muestrario con todas las muestras obtenidas.

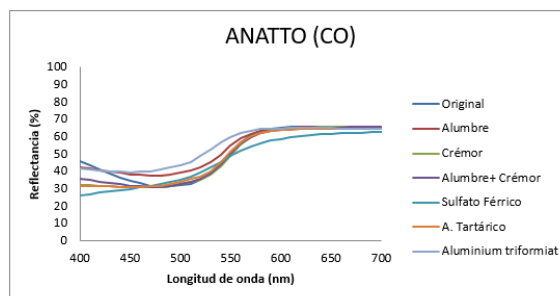
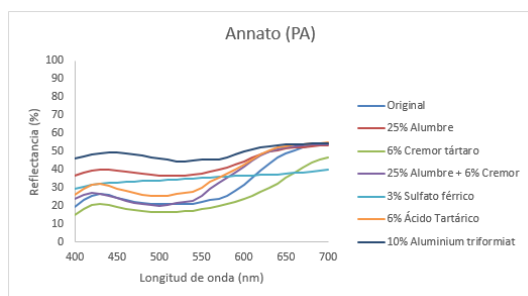


2. Caracterización

Los tejidos han sido caracterizados en términos de:

- **Reflectancia en el visible**

Este ensayo nos permite obtener el espectro de los tejidos y observar las diferencias de color que se producen debidas a los distintos mordientes y sustratos.



- **Solidez a la luz**

Este ensayo nos permite conocer el comportamiento del color respecto al envejecimiento a la luz.

WELD

Sustrato	--	A	C	AC	S	AT	AL
Lana	5	4	5	4-5	5-6	4-5	--
Algodón	5	1	5	1	1	5	1
Poliamida	5	4	4-5	4-5	3-4	5	4

- **Solidez al lavado**

Este ensayo nos permite conocer el comportamiento del color respecto al envejecimiento al lavado.

CHESNUT

	COLOR	Degradación	WO	PAC	PES	PA	CO	AC
Lana	--	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	A	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	C	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AC	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	S	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AT	3-4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AL	--	--	--	--	--	--	--
Algodón	--	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	A	3-4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	C	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AC	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	S	1-2	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AT	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AL	3-4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
Poliamida	--	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	A	5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	C	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AC	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	S	1-2	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AT	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	AL	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5

- **Solidez al frote**

Este ensayo nos permite conocer el comportamiento del color respecto al envejecimiento al frote.

LOGWOOD

Sustrato	--	A	C	AC	S	AT	AL
Lana	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4
Algodón	5	5	5	5	4	4-5	5
Poliamida	4-5	4-5	4-5	4-5	3-4	4-5	4-5

Las aguas residuales fueron caracterización mediante los ensayos de:

- **Conductividad**

Es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transmitir una corriente eléctrica, y se emplea para determinar el contenido de sales disueltas.

Los resultados obtenidos muestran una elevada conductividad debido al empleo de los mordientes que son sales metálicas.

- **Contenido en metales.**

Determina la concentración de metales en el agua residual. Se han analizado el Aluminio y el hierro, que son los dos metales presentes en los mordientes empleados.

Los resultados obtenidos una concentración mayor que la permitida por la EDAR.

3. Conclusiones.

Las conclusiones alcanzadas tras la realización de este paquete de trabajo son:

- Los colorantes naturales pueden ser aplicados en procesos convencionales de tintura, junto con los mordientes.
- Un mismo colorante puede dar tonos diferentes dependiendo del sustrato y del mordiente empleado.
- Se ha observado que algunos colorantes naturales ven modificado su color según se enjuaguen con agua destilada o del grifo, lo que puede ser debido a la diferencia de pH o a la presencia de distintos iones.
- Las solideces varían en función de la combinación de colorante, sustrato, y mordiente. Si bien en términos generales el metamordentado ahorra un proceso pero no aumenta las solideces.
- Aunque las aguas residuales dan valores elevados de conductividad y metales hay que tener en cuenta que en una industria el valor de vertido es la acumulación del agua de varios procesos, lo que generalmente hace disminuir estos valores.

