

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Facultat de Química

Departament d'Enginyeria Química



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES

CIENTÍFICAS

Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales de Barcelona (IIQAB)

Departamento de Tecnología de Tensioactivos



NUEVOS TRATAMIENTOS DE LANA CON ENZIMAS

Susana Vilchez Maldonado

Barcelona, Octubre 2005

3. EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES

3.1.1. Lana

Tejido de calada. Se han utilizado cuatro lotes diferentes que se han denominado: TPC1, TPC2, TPC3 y TPT.

Tejido de punto de lana merino (22 μm) siendo el factor de cobertura 1,22 tex/mm suministrado por Pulligan International S.A. (España). El factor de cobertura determina la densidad del punto y está relacionado con algunas propiedades del tejido, especialmente con el encogimiento. A mayor factor de cobertura menor encogimiento.

3.1.2. Quitosano

En los tejidos de calada se utilizó quitosano con una viscosidad y grado de desacetilación 775 cps y 83,7% respectivamente (QS I) y en el tejido de punto utilizado en el diseño de experimentos, quitosano con una viscosidad y un grado de desacetilación de 369 cps y 84,9% respectivamente (QS II). Ambos quitosanos fueron suministrados por la empresa Vanson, U.S.A. y se solubilizaron en 0,4% de ácido acético glacial (CH_3COOH , Panreac).

3.1.3. Enzimas

Se utilizaron tres preparaciones enzimáticas diferentes tipo proteasa, Bactosol WO, Esperase 8.0L, y Purafect 4000L suministrados por las empresas Clariant Ibérica (España), Novo (Dinamarca), y Genencor International Inc. (Australia) respectivamente.

3.1.4. Cabello

Cabello castaño de raza caucasiana, extraído con diclorometano durante 3 horas, posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente y se aclaró con etanol y agua permutada. Finalmente se dejaron acondicionar (20°C, 65% HR).

3.2. PRODUCTOS QUÍMICOS

Batanado y Encogimiento

Detergente SM 49 (suministrado por Henkel KGaA) cuya formulación está de acuerdo con la norma ISO 105-CO6 y consta de una mezcla de tensioactivos aniónicos y sales inorgánicas.

Alquilfenil sulfonato de sodio lineal (C _{11,5})	8 %
Alcohol graso etoxilado (14EO)	2,9%
Jabón sódico (C ₁₂₋₁₆ : 13-26%; C ₁₈₋₂₂ : 74-87%)	3,5%
Trifosfato de sodio	7,5%
Silicato de sodio (SiO ₂ : Na ₂ O=3,3:1)	7,5%
Silicato de magnesio	1,9%
Carboximetilcelulosa	1,2%
Etilendiaminotetraacetato de sodio	0,2%
Sulfato de sodio	21,2%
Agua	<u>9,8%</u>
	100,0%

Extracción de lana con diclorometano

El tejido de punto fue extraído con diclorometano (CH₂Cl₂), de grado reactivo estabilizado con etanol y suministrado por Scharlau.

Detección del quitosano en la lana

Para detectar quitosano en la lana se utilizó una solución formada por el colorante Procilan Red E-3B (C.I. Reactive Red 180), suministrado por Imperial Chemical Industries y el agente humectante Liogeno WD, tensioactivo de carácter no iónico, suministrado por Sandoz.

Tratamiento enzimático

El tratamiento enzimático se realizó a pH 9,2 utilizándose una solución reguladora de carbonato de sodio (Na₂CO₃) anhidro e hidrógeno carbonato de sodio (NaHCO₃), ambos suministrados por Panreac. Para inactivar el enzima tras finalizar el tratamiento se empleó una disolución de ácido acético glacial (CH₃COOH, de calidad purísimo, suministrado por Panreac) a pH 4 y T^a= 70°C.

Microscopía óptica

Parafina líquida, suministrada por Merck.

Tintura

Ácido sulfúrico (H₂SO₄), suministrado por Merck

Sulfato sódico (Na₂SO₄·10H₂O) (>99%), suministrado por Probus.

Avolan SCN 150, suministrado por Lanxess.

Colorante Amarillo RE 250

Colorante Burdeos RM 100

Colorante Azul LG 250

Solidez de tintura

SM49. Detergente suministrado por Henkel KGaA con formulación de acuerdo con la norma ISO 6330 (ver en este apartado).

Determinación del ángulo de contacto

Agua Milli-Q (purificada en Millipore).

Decano (purísimo), suministrado por Fluka.

Determinación del contenido de proteína de Esperase 8.0L

El contenido de proteína de Esperase 8.0L se determinó utilizando Bio-Rad DC Assay, suministrado por Bio-Rad Laboratories y albúmina bovina como proteína patrón, suministrada por Sigma.

Marcaje del enzima con fluorescencia

Isotiocianato de fluoresceína (FITC), suministrado por Sigma.

Proteasa (Subtilisina Carlsberg), suministrado por Sigma.

Cortes transversales de lana

Resina Historesin™, suministrado por Leica

Determinación de la actividad enzimática

Azocaseína (Sulfanilamida-azocaseína), suministrado por Sigma.

Ácido tricloroacético (TCA), suministrado por Merck.

Hidróxido de sodio (NaOH), suministrado por Carlo Erba.

3.3. APARATOS E INSTRUMENTAL

3.3.1. Batanado y determinación del encogimiento

Lavadora Wascator modelo FOM 71 LAB de la firma Electrolux (Suecia).

3.3.2. Tratamientos con quitosano y enzimas

Baño termostatzado con agitación de la firma Memmert (Schwabach, Alemania).

Foulard de laboratorio de la firma Mathis (Zurich, Suiza) que permite eliminar el exceso de solución del tejido.

Aparato de tintura Labomat BFA-12 de la firma Mathis (Zurich, Suiza).

3.3.3. Tratamiento con plasma de vapor de agua

Reactor de plasma de radiofrecuencia diseñado y construido en el Departamento de Física Aplicada y Óptica de la Universidad de Barcelona (Bertrán y col., 1994). Está fabricado a base de acero inoxidable, y contiene una cámara de reacción en la que se genera el plasma y donde se llevaron a cabo los tratamientos. Una serie de mirillas situadas en las paredes del reactor permiten llevar a cabo un control visual del proceso. El reactor está acoplado a un equipo de bombas diseñadas para realizar alto vacío, a las entradas de gases, a los instrumentos de medida de presión adecuados, y al suministro de potencia eléctrica de radiofrecuencia.

Los plasmas se inducen en un reactor de radiofrecuencia (13,56 MHz) acoplado capacitivamente. La cámara de reacción comprende dos electrodos simétricos, paralelos (400 cm² de área), separados una distancia de 9 cm y cuatro paredes de confinamiento (Viera, 1999).

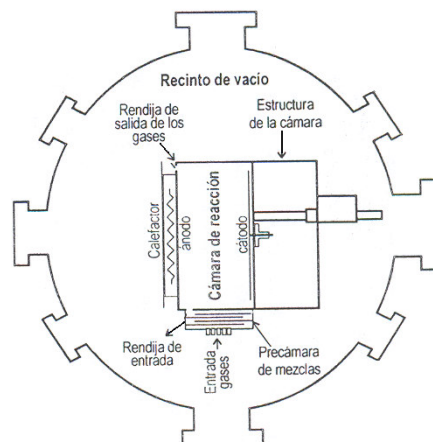


Figura 3.1. Esquema del reactor de plasma de radiofrecuencia.

3.3.4. Determinación del grado de blanco, de amarilleamiento y K/S

Espectrofotómetro Color-Eye 3000, de la firma Macbeth (Regensdorf, Suiza).

3.3.5. Caracterización superficial de las fibras de lana

3.3.5.1. Microscopía óptica

Microscopio óptico Reichert Polivar® 2, equipado con una video cámara y un PC con el software Leica IM (500) para la captura de imágenes, de la firma Reichert (Leica) (Depew, EEUU).

3.3.5.2. Microscopía electrónica de barrido

“Sputtering” POLARON SC500, de la firma Polaron (Newhaven, Inglaterra) para realizar el recubrimiento de oro de las muestras.

Microscopio electrónico de barrido modelo HITACHI S-3500, con presión variable, de la firma Hitachi (Rodgau, Alemania).

3.3.5.3. Tensiometría

Tensiómetro Processor Tensiometer K20 de la firma Krüss (Hamburgo, Alemania), para realizar las medidas de tensión superficial de los líquidos de mojado.

Tensiómetro Sigma 70 de la firma KSV Instruments (Helsinki, Finlandia), para realizar las medidas de ángulo de contacto en fibras individuales por la técnica de Wilhelmy.

3.3.5.4. Detección de quitosano

Baño termostatzado de la firma Memmert (Schwabach, Alemania)

3.3.6. Tintura

Aparato de tintura Labomat BFA-12, de la firma Mathis (Zurich, Suiza).

Espectrofotómetro UV-visible modelo UV-265, de la firma Shimadzu (Kyoto, Japón).

3.3.7. Análisis propiedades mecánicas

Coefficiente de fricción, Espesor y Compresibilidad

MT-LQ, de la firma Micro Systems (Godalming, Reino Unido).

Resistencia a la rotura y a la deformación

Dinamómetro Instron 5500 R, de la firma Instron (Massachussets, EEUU).

Resistencia a la abrasión

Abrasímetro Martindale, de la firma Shirley Developments Ltd. (Inglaterra).

3.3.8. Análisis térmico

Termobalanza modelo TG 50, de la firma Mettler Toledo (Greinfensee, Suiza).

Calorímetro modelo DSC 821^e, de la firma Mettler Toledo (Greinfensee, Suiza).

Los resultados se procesaron con el Software Star^e system.

3.3.9. Marcaje del enzima con FITC, cortes transversales y observación

Colector de fracciones Aekta Prime (Amersham-Pharmacia Biotech, Freiburg, Alemania).

Columna Superdex G75 (Pharmacia, Suecia)

Micrótopo Supercut 2050 de la firma Leica (Wetzlar, Alemania).

Microscopio de fluorescencia MPM 03 (Zeiss, Jena).

3.4. TÉCNICAS Y MÉTODOS

3.4.1. Batanado

El batanado es una operación que se realiza a la lana para conseguir el efecto de relajación.

Se realizó en la lavadora Wascator según la norma ISO 6330 (5 A) siendo las condiciones las siguientes:

- 1 Kg de carga por ½ Kg máximo de muestra
- 1 g/L de detergente SM49
- tiempo: 30 minutos
- temperatura: 40°C

Posteriormente las muestras se secaron a temperatura ambiente.

3.4.2. Extracción de lana con diclorometano

Se llevó a cabo en un Soxhlet realizándose siete sifonadas. Después la muestra se secó a temperatura ambiente, se enjuagó con etanol y posteriormente con agua permutada. Finalmente se dejó secar en una habitación acondicionada (20°C, 65% HR). Esta operación, que se realiza tras el batanado, tiene como fin eliminar los ensimajes que se introducen durante el procesado del hilo y del tejido.

3.4.3. Determinación del pH del extracto acuoso en lana

El pH del extracto acuoso se refiere al que resulta después de agitar mecánicamente un peso determinado de lana en agua.

Dos gramos de lana se sumergen en 100 mL de agua destilada, se agitan durante 1 hora, y se mide el pH. El proceso se realiza por triplicado.

3.4.4. Determinación de la solubilidad en urea-bisulfito

Se conoce como solubilidad en urea-bisulfito la pérdida porcentual de peso que experimenta la lana después de permanecer sumergida en una disolución de urea y meta-bisulfito de sodio durante 1 hora a 65°C. Se determinó de acuerdo con la Norma UNE 40.20572.

Este método de análisis nos permite conocer el dañado que ha sufrido la lana durante los distintos tratamientos a los que ha sido sometida, así como la posible introducción de enlaces intercatenarios. La disminución de la solubilidad en urea-bisulfito está correlacionada con la formación de nuevos enlaces y nos proporciona información sobre el dañado alcalino que ha sufrido la lana (Rouette, 2001).

Reactivos y soluciones de análisis:

Solución de metabisulfito y urea: se disuelven 50 g de urea en agua destilada, se añaden 3 g de metabisulfito sódico y 2 mL de NaOH 5N y se enrasa a 100 mL. Se mide el pH y en caso necesario se ajusta a $\text{pH } 7,0 \pm 0,1$

Solución de urea: se pesan 25 g de urea y se enrasa a 100 mL con agua destilada.

Procedimiento:

La solubilidad en urea-bisulfito se determina por tratamiento de 0,5 g de lana con 50 mL de solución de metabisulfito y urea a 65°C durante 1 hora. El residuo se filtra a través de un crisol de placa filtrante nº 1 y se lava sucesivamente con la solución de urea

y finalmente con agua destilada. A continuación se seca el crisol y su contenido a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, se deja enfriar en el desecador y se pesa hasta peso constante. El resultado se expresa como pérdida de peso seco.

$$S(\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.1.}$$

siendo,

P_1 el peso seco de la probeta

P_2 el peso seco del residuo

3.4.5. Tratamiento enzimático

El tratamiento enzimático de los tejidos de calada se realizó según el método de agotamiento en un baño termostatzado. Las condiciones experimentales para el tratamiento fueron las siguientes:

- relación de baño: 1:15
- temperatura: 55°C
- solución reguladora: $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 0,2 M pH= 9,2
- tiempo de tratamiento: 15-75 minutos

Se utilizaron diferentes concentraciones de Bactosol WO, Esperase 8.0L, y Purafect 4000L.

El tratamiento enzimático del tejido de punto se realizó en el aparato de tinte Labomat BFA-12 según las condiciones de concentración de Esperase 8.0L y tiempo de tratamiento enzimático del diseño experimental híbrido para tres variables (**Tabla II**). Las condiciones de relación de baño, temperatura y pH del tratamiento enzimático fueron las mismas que las empleadas en el tejido de calada.

Tras finalizar el tratamiento las muestras se dejaron durante 5 minutos en una solución a pH 4 y a una temperatura de 70°C . Posteriormente las muestras se aclararon con agua destilada y se escurrieron con el foulard de laboratorio (presión 3 bar, velocidad 3 m/min) y finalmente se dejaron secar a temperatura ambiente.

3.4.6. Tratamiento con quitosano

El tratamiento con quitosano se realizó en un baño termostatzado mediante el método de agotamiento. Las condiciones experimentales para el tratamiento de tejido de calada fueron las siguientes:

- solución de quitosano: 3 g/L
- relación de baño: 1:20
- temperatura: 25°C
- tiempo de tratamiento: 20 minutos

El género de punto de lana se trató con las mismas condiciones de relación de baño, temperatura y tiempo de tratamiento que las empleadas en el tejido de calada pero a distinta concentración de quitosano según el diseño experimental que se muestra en la **Tabla II**. Tras finalizar el tratamiento las muestras se escurrieron en el foulard de laboratorio (Mathis, Suiza), (presión 3 bar, velocidad 3 m/min).

Tabla II: Condiciones experimentales de concentración de Esperase 8.0L, tiempo de tratamiento enzimático y concentración de quitosano (QS) según el diseño híbrido para tres variables.

Nº experiencia	Variables codificadas			Variables sin codificar		
	x1	x2	x3	[Esperase 8.0L] % spf	Tiempo min	[QS] % spf
1	0	0	2	0,25	45	1
2	0	0	-2	0,25	45	0
3	-1,414	-1,414	1	0,073	23,79	0,75
4	1,414	-1,414	1	0,427	23,79	0,75
5	-1,414	1,414	1	0,073	66,21	0,75
6	1,414	1,414	1	0,427	66,21	0,75
7	2	0	-1	0,5	45	0,25
8	-2	0	-1	0	75	0,25
9	0	2	-1	0,25	75	0,25
10	0	-2	-1	0,25	15	0,25
11	0	0	0	0,25	45	0,5
12	0	0	0	0,25	45	0,5
13	0	0	0	0,25	45	0,5

3.4.7. Tratamiento con plasma de vapor de agua

Se utilizó un reactor de plasma de radiofrecuencia que trabaja a 13,56 MHz, utilizando como gas generador del plasma vapor de agua. La lana se colocó en la cámara de vacío, la cual se llevó a una presión de 10 Pa antes de generar el plasma. La distancia entre los electrodos fue de 8,5 cm, y las muestras se colocaron en el centro del reactor entre los electrodos. Durante el tratamiento, la presión y la potencia incidente se mantuvieron constantes a 100 Pa y 100 W, respectivamente. El tiempo de tratamiento con plasma fue de 120 segundos.

Dicho reactor permite el tratamiento de muestras no superiores a 15x15 cm.

3.4.8. Determinación de la pérdida de peso

La pérdida de peso se determinó después de acondicionar las muestras al menos 48 horas a 20°C y 65 % de humedad relativa.

$$Pérdida\ de\ peso = \frac{(P_1 - P_2)}{P_1} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.2.}$$

siendo,

P_1 el peso de la muestra antes de realizar el tratamiento enzimático

P_2 el peso después del tratamiento.

3.4.9. Determinación del grado de blanco, amarilleamiento y K/S

Se realizaron medidas de reflectancia de los tejidos con el espectrofotómetro Color-Eye 3000 con el iluminante D65 y el observador 10°.

La blancura es definida por ASTM como “el atributo por el que el color de un objeto se considera que se acerca al blanco preferencial”. Hay disponibles diversos índices de blancura. En esta Tesis el índice de blancura (WI) que se ha utilizado es el CIE Ganz 82 cuya fórmula es la siguiente:

$$WI = Y + 800(x_w - x) + 1700(y_w - y) \quad \text{Ecuación 3.3.}$$

dónde Y es el valor tristímulus de la muestra, x e y son los valores colorimétricos y x_w e y_w son las coordenadas de cromaticidad de la fuente de iluminación bajo las cuales fueron medidas.

La amarillez es definida por ASTM como “el atributo por el que el color de un objeto se considera que se desvía de incoloro o un blanco preferencial hacia el amarillo. Los índices de amarillez ASTM están pensados para el uso de las muestras casi blancas que tienen una longitud de onda dominante entre 570 y 580 nm.

Los índices de amarillez indican un valor cero para las mediciones que igualan el blanco preferencial hacia el amarillo; los negativos, que la muestra preferencial se desvía del blanco preferencial hacia el azul.

El índice de amarillez (YI) utilizado ha sido ASTM E313, el cual se aplica a gran diversidad de materiales blancos o casi blancos como textiles, pinturas y plásticos.

La ecuación para el índice de amarillez ASTM E313 es la siguiente:

$$YI = 100 \times \left[1 - \frac{0,847Z}{Y} \right] \quad \text{Ecuación 3.4.}$$

dónde X, Y y Z son los valores triestímulo para la muestra calculados usando el iluminante C de CIE.

La medida del color en superficies se determina por reflexión. Como los materiales textiles reflejan la luz de forma difusa, la medida de la reflectancia de superficies textiles es más compleja que la medida de transmisión en soluciones o medios transparentes. Así como la transmitancia de una solución coloreada es proporcional a la concentración siempre y cuando se cumpla la ley de Lambert-Beer. La reflectancia de superficies coloreadas no está relacionada linealmente con la concentración de colorante.

La teoría óptica que predice la reflectancia de los colores en una superficie fue propuesta en 1931 por Kubelka y Munk. Esta teoría considera la absorción y la dispersión de la luz dentro del medio, el cual es caracterizado empíricamente introduciendo los parámetros ópticos K y S, conocidos como coeficientes de absorción y dispersión Kubelka-Munk y la ecuación se conoce como función Kubelka-Munk:

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad \text{Ecuación 3.5.}$$

dónde R es la reflectancia de la muestra a una determinada longitud de onda. Esta función es directamente proporcional a la concentración del colorante (Jocic, 1997).

Se determinaron los valores Kubelka-Munk (K/S) a la longitud de onda de máxima absorción.

3.4.10. Determinación del encogimiento

La determinación del área de encogimiento se realizó según la Norma Woolmark Company TM31. Para ello se empleó la lavadora Wascator (Modelo FOM 71) utilizándose el programa 5A. La determinación del área se realiza en relax húmedo, es decir, las muestras se miden sumergidas en una cubeta con agua.

Las condiciones fueron las siguientes:

- Kg de carga por ½ Kg máximo de muestra
- 0,3 g/L de detergente SM49
- temperatura: 40°C
- tiempo/ciclo: 40 minutos

Se realizan 3 ciclos de lavado 5A y se determina después de cada uno de ellos el porcentaje de encogimiento mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Área de encogimiento (\%)} = L(\%) + A(\%) - \frac{L(\%) \times A(\%)}{1000} \quad \text{Ecuación 3.6.}$$

$$L(\%) = 100 \times \left(\frac{L_0 - L}{L_0} \right) \quad \text{Ecuación 3.7.}$$

$$A(\%) = 100 \times \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \quad \text{Ecuación 3.8.}$$

siendo,

L(%) el cambio de longitud del tejido

A(%) el cambio de anchura del tejido

L₀ y A₀ la longitud y anchura inicial del tejido

L y A la longitud y anchura final del tejido

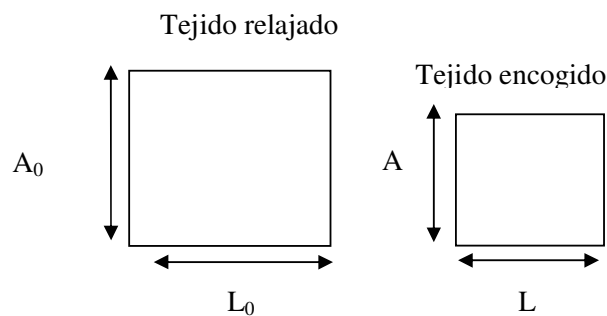


Figura 3.2. Esquema representativo del cálculo del área de encogimiento atendiendo a la longitud y anchura de los tejidos sin lavar y sometidos a lavado con el programa 5 A.

Se considera que la lana presenta propiedad de inencogibilidad cuando el área de encogimiento después del segundo ciclo de lavado es inferior a un 8% (Rakowski, 1995).

3.4.11. Determinación de la suavidad

Se llevó a cabo una valoración subjetiva de la suavidad por (n-1) personal no entrenado en realizar dichas valoraciones, siendo n el número de muestras a evaluar. La evaluación se realizó asignando un valor de 1 a 14 a los diferentes tejidos correspondiendo el valor de 1 al menos suave y 14 al más suave. Al evaluar la suavidad de forma subjetiva, el evaluador, normalmente, acaricia la superficie del tejido con uno o dos dedos (Aliouche y Viallier, 2000) y aprieta el tejido suavemente en la mano. Por lo tanto, la percepción de suavidad incluye diversos parámetros como la compresión, sensaciones táctiles y efectos de textura. El espesor y el peso también contribuyen profundamente en la evaluación subjetiva de la suavidad y la rugosidad del tejido.

3.4.12. Determinación de la humectabilidad

La humectabilidad de los tejidos se determinó mediante el ensayo de la gota según la norma AATCC Test method 39-180 que consiste en depositar una gota de agua en la superficie del tejido y medir el tiempo que éste tarda en absorberla.

En la **Figura 3.3.** se indica la disposición de las gotas en el tejido y a partir de los resultados obtenidos se calculó el promedio en segundos.

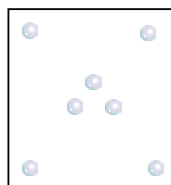


Figura 3.3. Disposición de las gotas en el tejido para realizar la determinación de la humectabilidad.

3.4.13. Caracterización superficial de las fibras de lana

3.4.13.1. Microscopía óptica

Fibras de lana sin tratar y tratadas fueron observadas en un microscopio óptico de campo claro. Para poder obtener una imagen clara se utilizó parafina líquida de índice de refracción 1,47 como medio de montaje ya que su índice de refracción es bastante similar al de la lana (1,5-1,7).

3.4.13.2. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM; Scanning Electron Microscopy) es una técnica especialmente útil para evaluar el estado de las fibras tras los tratamientos enzimáticos.

El montaje de las muestras se llevó a cabo sobre un portamuestras de aluminio, utilizando como adhesivo “adhesive tabs” (adhesivo conductor de doble cara) y plata coloidal. Como las fibras de lana no son conductoras se realizó un recubrimiento de oro mediante el método de “sputtering”, produciéndose una fina película de 180-200 Å de espesor.

La observación microscópica se efectuó aplicando un voltaje de 10 kV.

3.4.13.3. Medida del ángulo de contacto

En primer lugar se comprobó la tensión superficial de los líquidos a utilizar según el método de Wilhelmy que se basa en la fuerza de capilaridad ejercida sobre un sólido parcialmente sumergido en un líquido. Se utilizó una placa de platino de dimensiones conocidas y superficie con rugosidad del orden de la micra a fin de otorgar buenas propiedades de mojado. El ángulo de contacto sólido-líquido es nulo ya que los líquidos mojan perfectamente la placa, obteniéndose la tensión superficial del líquido directamente de la tensión de adhesión registrada (F/L).

Los ángulos de contacto se calcularon a partir de las medidas de fuerza de mojado. La zona a medir de la fibra debe ser completamente recta y se debe introducir de forma perpendicular a la solución de mojado para que el perímetro sea constante durante las medidas.

La fibra se montó sobre un soporte de aluminio que fue suspendido del punto de apoyo de la electrobalanza. La cápsula con el líquido de inmersión asciende y desciende mediante una plataforma motorizada. Las fibras de cabello fueron medidas a lo largo de 1 mm a una velocidad de 0,5 mm/min, tanto en el modo de avance como en el de retroceso.

La resultante de las fuerzas que intervienen en el proceso de inmersión de la fibra en el líquido proviene de las siguientes contribuciones (Miller y Young, 1975).

$$F = F_m + F_g - F_f \quad \text{Ecuación 3.9.}$$

dónde,

F es la resultante de las fuerzas

F_m es la fuerza de mojado

F_g es el peso del sólido

F_f es la fuerza de flotación

El peso del sólido se suele anular al comenzar el experimento. La fuerza de flotación en este caso es despreciable ya que en el caso de fibras micrométricas es dos órdenes de magnitud menor que la fuerza de mojado. En estas condiciones se obtiene directamente a partir de la fuerza resultante la fuerza de mojado (Ecuación 3.10.).

$$F = F_m = L \cdot \gamma_L \cos \vartheta \quad \text{Ecuación 3.10.}$$

dónde,

L es el perímetro de la fibra

γ_L es la tensión superficial del líquido

θ es el ángulo de contacto sólido-líquido.

El ángulo de contacto sólido-líquido se puede calcular a partir de la Ecuación 3.10. utilizando líquidos de tensión superficial conocida y habiendo determinado el perímetro de las fibras.

El perímetro de cada fibra se calculó a través de la medida de la fuerza de mojado en decano, ya que su tensión superficial (23,8 mN/m) es inferior a la tensión superficial crítica de las fibras de cabello (≈ 26 mN/m) (Alter y Cook, 1969). Como el decano moja perfectamente las fibras de cabello se puede calcular el perímetro de éstas al dividir la fuerza de mojado por la tensión superficial del decano.

3.4.13.4. Detección del quitosano

Para detectar quitosano en los tejidos de lana se realizó una tinción en la que predominantemente se tiñe el quitosano. Las condiciones fueron las siguientes:

- 0,02 % (p/v) Procilan
- 0,01% Liogeno WD (tensioactivo de carácter no iónico)
- relación de baño: 1/60
- temperatura: 50°C
- tiempo: 5 min

El colorante Procilan al poseer grupos aniónicos (SO_3^-) en su estructura molecular interacciona vía enlace iónico con los grupos amino del quitosano. Después de la tinción mediante el espectrofotómetro Macbeth Color Eye 3000 se midió el valor de K/S de las muestras a la longitud de onda de máxima absorbancia utilizando el iluminante D65 y 10° observador.

3.4.14. Tintura

Las condiciones de tintura del tejido de calada fueron:

- relación de baño: 1:30
- mezcla de colorantes
 - Amarillo RE 250 0,6% (s.p.f.)
 - Burdeos RM 100 0,5% (s.p.f.)
 - Azul LG 250 0,3% (s.p.f.)
- Ácido sulfúrico: 3% (s.p.f.)
- Sulfato de sodio: 7,5% (s.p.f.)
- Avolan SCN 150: 0,6% (s.p.f.)
- tiempo de tintura: 90 minutos

Primero se prepararon los baños de tintura y se introdujeron las muestras de lana de 5 g, las cuales fueron estabilizadas durante 10 minutos a 40° C. Una vez transcurrido este tiempo se añadió la mezcla de colorantes y se incrementó la temperatura 1,3°C por minuto hasta alcanzar la temperatura de 100°C tal y como se indica en el esquema. Se tomaron alícuotas del baño (1 mL) a tiempos 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90 min y una vez diluídas a 5 mL se realizaron las lecturas de absorbancia a la longitud de onda de

máxima absorción $\lambda = 425 \text{ nm}$ y se calculó el porcentaje de agotamiento a los diferentes tiempos.

$$\% \text{ Agotamiento} = \left(\frac{A_0 - A_t}{A_0} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 3.11.}$$

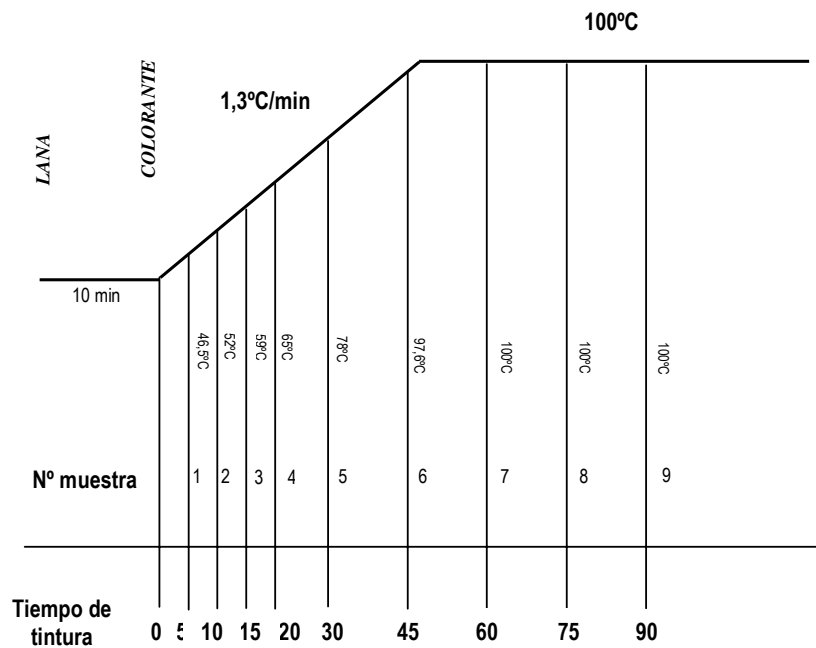


Figura 3.4. Esquema de la variación de la temperatura en el proceso de tinte.

3.4.15. Determinación de la solidez de la tinte

Se entiende por solidez de una tinte, a la resistencia que presenta a variar o perder su color al ser sometida a la acción de un determinado agente, pudiendo dar lugar a la degradación del color y/o a la descarga sobre otros textiles.

Se determinó la solidez al lavado según el test TM 193 (ISO 105-CO6) que se detalla a continuación:

Las muestras de lana teñidas se ponen en contacto con un tejido de algodón y otro tejido de lana y se tratan con 130 mL de una solución acuosa formada por 4 g/L del detergente SM49 y 1 g/L de perborato sódico trihidratado a $T=50^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos con agitación fuerte. Finalizado este tiempo se aclaran las muestras y se secan a temperatura ambiente.

Las solidez fueron determinadas evaluando visualmente la diferencia de color entre la lana teñida y la lana teñida sometida al tratamiento de solidez con una Escala de Grises Estándar (SM1 y SM2) de 1 a 5, asignando el valor 5 cuando no existe diferencia entre ellas, lo que significa que no hay pérdida de color.

3.4.16. Análisis propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas fueron determinadas en las condiciones estándar de 22°C de temperatura y 65% de humedad relativa.

Determinación del coeficiente de fricción

El coeficiente de fricción se determinó según el estándar IUP 51. Se emplearon dos tipos de lámina, aluminio y teflón. La presión a la cual se realizó el ensayo fue 0,53 kPa, la superficie de contacto fue de 108,8 cm² y la velocidad de desplazamiento de 8 mm/s.

Espesor, Compresibilidad y Linealidad de compresión

La compresibilidad del tejido se midió de acuerdo con el método de Kawabata. Los ensayos se realizaron bajo una probeta cilíndrica de 14 mm de diámetro a una velocidad de compresión de 0,1 mm/s hasta alcanzar la fuerza máxima de compresión de 7,551 N (40 kPa). Se mide el espesor de la muestra a 4,9 kPa, la compresibilidad en porcentaje al pasar de 0,78 a 40 kPa y la linealidad de compresión que varía entre 0 y 1 correspondiendo el 1 a una compresión lineal en la que la deformación fuera directamente proporcional a la fuerza.

Resistencia a la rotura y a la deformación

La resistencia a la rotura fue determinada según las condiciones descritas en la norma IUP9 (BS3144). Sobre una muestra de tejido circular de 35 mm de diámetro descende un cilindro de 9 mm de diámetro, con un radio de curvatura de 20 mm en la zona de contacto a una velocidad de 1,7 mm/s hasta la rotura del tejido. Los datos de resistencia a la rotura se registraron en N y la deformación en mm.

Resistencia a la abrasión

La resistencia a la abrasión se midió con el abrasímetro Martindale de acuerdo con el método British Standard BS 5690:1979. Las muestras circulares de tejido fueron

sometidas a 30.000 ciclos de abrasión contra el tejido estándar bajo una presión de 12 kPa. La resistencia a la abrasión se estima por la pérdida de peso de las muestras.

Resistencia a la tracción

Las medidas de carga-elongación de hilos procedentes del tejido de género de punto se realizaron en un dinamómetro Instron empleándose una célula de carga máxima de 1 kN. Cada hilo (100 mm) se sujetó entre dos mordazas, siendo la mordaza superior fija y la inferior móvil. La velocidad a la que se realizó el ensayo fue 60 mm/min.

Los valores de carga-elongación se procesaron con el software Merlín, de la firma Instron, que proporcionaba los valores de carga y deformación a la rotura para cada hilo. Se utilizaron diez hilos para cada muestra, proporcionando el programa los valores medios y el coeficiente de variación para cada muestra ensayada.

3.4.17. Análisis térmico

Las técnicas de análisis térmico permiten determinar las alteraciones provocadas en las propiedades de un material en función de la temperatura. Si la propiedad a controlar es la masa, la técnica se conoce como termogravimetría (TG), la cual permite determinar, entre otras, la proporción de volátiles, la temperatura de descomposición y el contenido de cenizas de la muestra. Si la propiedad objeto de control es la variación del flujo de calor entre una muestra y una referencia inerte, se pueden determinar calores de reacción y fenómenos de fusión, cristalización, transiciones vítreas y polimorfismos experimentados por la muestra. En este caso la técnica se conoce como calorimetría diferencial de barrido DSC. Si la propiedad a estudiar son los cambios dimensionales de la probeta y, además, ésta puede someterse a esfuerzos periódicos de tracción, flexión o compresión, la técnica se conoce como análisis termomecánico TMA. Con esta técnica se puede determinar la evolución del coeficiente de dilatación y las transformaciones que afectan al comportamiento viscoelástico de los materiales con la temperatura.

Termogravimetría

La termogravimetría es una técnica térmica en la que se analiza el cambio de masa de una muestra mientras ésta se somete a una alteración de la temperatura (Hemminger y Sarge, 1998). Los instrumentos empleados en termogravimetría constan de: (1) una

balanza analítica sensible, (2) un horno, (3) un sistema de gas de purga para proporcionar una atmósfera de gas inerte (o algunas veces reactiva) y (4) un microprocesador para el control del instrumento y la adquisición y visualización de datos. La variación de la temperatura puede provenir de cualquier cambio de masa del analito. Por tanto, los métodos termogravimétricos están limitados por las reacciones de descomposición y de oxidación y por procesos tales como la vaporización, la sublimación y la desorción.

Los análisis termogravimétricos se realizaron en el intervalo de temperatura de 20 a 600°C, en atmósfera de nitrógeno, aplicando una velocidad de calentamiento de 10°C/min con muestras aproximadamente de 6 mg de lana en crisoles de óxido de aluminio de 70 µL.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica térmica que analiza el cambio en la diferencia de flujo de calor entre una muestra y una sustancia de referencia mientras están sometidas a una alteración de la temperatura (Hemminger y Sarge, 1998).

Se pueden distinguir dos métodos de DSC: DSC de flujo de calor (sistema de medida de disco o de cilindro) y DSC de compensación de potencia.

En esta Tesis se utilizó un calorímetro de flujo de calor de disco.

En un calorímetro de flujo de calor la diferencia de calor entre la muestra y la referencia se registra como una medida directa de la diferencia del flujo de calor entre la muestra y la referencia. En este tipo de calorímetros las muestras se colocan sobre un disco que puede ser de metal o cerámica y se mide la diferencia de temperatura entre ellas mediante unos sensores integrados en el disco o en contacto con la superficie.

Se emplearon muestras de 6 mg climatizadas durante un mínimo de 48 horas en atmósfera normalizada ($22\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 2\%$ RH). La curva DSC para cada muestra se obtuvo calentando desde 20 a 275°C con una velocidad de 10°C/min y utilizando atmósfera de nitrógeno (50 mL/min).

3.4.18. Determinación del contenido de proteína

El contenido de proteína se determinó según el método Bio-Rad DC el cual es un ensayo colorimétrico similar al método de Lowry pero con la ventaja de que la reacción

alcanza el 90% de desarrollo de color transcurridos 15 minutos. El ensayo se basa en la reacción de la proteína con una solución alcalina de tartrato de cobre y el reactivo de Folin. Se utilizó albúmina bovina como proteína estándar.

3.4.19. Marcaje de subtilisina con FITC

Se realizó mezclando 10 mg de isotiocianato de fluoresceína (FITC) con 50 mg de la proteasa Subtilisina en solución reguladora $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ a pH 8,5. Tras 3 minutos en el vórtex, la solución se centrifugó durante 10 minutos. Finalmente el sobrenadante se añadió a una columna de Sephadex G75 con el fin de separar el enzima marcado utilizando una solución reguladora 0,025 M Na_2PO_4 (pH= 6,5).

3.4.20. Determinación de la actividad enzimática

Se utilizó como sustrato a hidrolizar azocaseína disuelta en una solución reguladora 0,025 M Na_2PO_4 (pH= 6,5) y se realizaron medidas de absorbancia $\lambda=440$ nm. Tras la incubación de 200 μL de una solución de Esperase 8.0L (0,238 g/L) o subtilisina (0,0375 g/L) con 800 μL de solución de azocaseína (4g/L) durante 30 min a 50°C, se paró la reacción añadiendo 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 5% dando lugar la azocaseína hidrolizada a sustancias cromóforas solubles en ácido tricloroacético, precipitando la no hidrolizada. Se centrifugó la solución para eliminar la azocaseína que no había reaccionado y se añadió 1 mL de NaOH 1 N al sobrenadante. Bajo condiciones alcalinas (~pH 13) tiene lugar el desarrollo del color realizándose las medidas frente agua destilada transcurridos 30 minutos a $\lambda= 440$ nm (Kohn y Allen, 1995).

3.4.21. Cortes transversales de lana tratada con enzima marcado con FITC

Las fibras orientadas paralelamente se introdujeron en una resina de acrilato y posteriormente se realizaron cortes transversales de 20 μm de espesor con el micrótopo Supercut 2050. Las observaciones se realizaron utilizando un microscopio de fluorescencia con un reflector $\lambda_{\text{ex}} = 450\text{-}490$ nm, $\lambda_{\text{em}} \geq 520$ nm.