

Desarrollo del proceso de aplicación de un extracto enzimático, obtenido a partir de *Bacillus* sp, para el mejoramiento de la calidad de tejidos de lana

De Giuda, M., Píppolo, D., Fernández, A., Martínez, A.

Sector Textiles, LATU, Montevideo, Uruguay

Belobrajdic, L., Vázquez, A., Berrutti, A., Varela, H.

Depto de Bioingeniería, UDELAR, Montevideo, Uruguay

1.0 Introducción

Para las industrias textiles uruguayas es una meta importante la obtención de lana inencogible que permita la producción de telas, que además de tener las muy apreciadas propiedades de la lana, no presenten la tendencia natural al encogimiento por afieltramiento.

Los diferentes procesos para obtener lana inencogible son una buena prueba de lo antes mencionado. Todos los procedimientos para tratar a la lana con agentes enérgicos como cloro, realizan un ataque agresivo a la misma y son muy riesgosos para los operarios que los manipulan. La presencia de estos agentes oxidantes en los efluentes constituyen un serio problema para el medio ambiente.

Efectos similares a aquellos obtenidos en telas de lana sujetas a un tratamiento oxidativo (cloración, peróxido de hidrógeno) son obtenidos cuando se aplican enzimas proteolíticas sobre dichas telas de forma de: obtener buenas propiedades de tacto y de incrementar el rendimiento tintóreo (1) (2) (3).

Este tratamiento enzimático reduce parcialmente la tendencia al afieltramiento de la lana durante el lavado acuoso (5). El Departamento de Bioingeniería de la Facultad de Ingeniería produjo un extracto enzimático (4) con las características antes mencionadas. Aplicado dicho extracto enzimático sobre tejidos de lana, se evaluaron, por el Sector Textiles del LATU, propiedades tales como la resistencia a la tracción, el encogimiento en lavarropas doméstico, la solidez al lavado, diferencias de color Cielab entre telas tratadas y no tratadas y el agotamiento del baño de tinte.

A fin de obtener los niveles de encogimiento requeridos por el Test Methods 31 de la IWS (encogimiento en el segundo ciclo de lavado en Wascator inferior a 8% en área), se realizaron diferentes estudios sobre lana tratada y sin tratar. Se realizaron diferentes

tratamientos enzimáticos y luego se evaluó la continuación del proceso con agentes oxidativos (6).

2.0 Materiales y métodos

2.1 Microorganismo y producción del extracto enzimático

2.1.1 Microorganismo

Se trabajó con una cepa autóctona de *Bacillus* sp. aislada por el Depto. de Bioingeniería en un programa de screening (7) (8), la que fue conservada a 4 °C en tubos inclinados de agar nutriente.

2.1.2 Medio de cultivo y condiciones de crecimiento

Medio de inóculo (g L^{-1}): glucosa, 5; caldo nutriente, 8; extracto de levadura, 3; K_2HPO_4 , 0.7; KH_2PO_4 , 0.3; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.1; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01.

Medio de fermentación (g L^{-1}): glucosa, 13; caldo nutriente, 8; extracto de levadura, 3; K_2HPO_4 , 0.7; KH_2PO_4 , 0.3; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01.

En todos los casos se ajustó el pH a 7.0 con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N y luego se esterilizó en autoclave durante 15 min a 121 °C.

2.1.3 Experiencias a nivel de matraces agitados

La biomasa de tubos inclinados de *Bacillus* sp, incubados a 37 °C, fue resuspendida en 10 mL de una solución salina estéril. La suspensión de células se agitó suavemente para disgregarla y se empleó de inóculo en Erlenmeyers de 1000 mL conteniendo 100 mL de medio de inóculo. Los matraces se incubaron a 37 °C, por 12 horas, con una agitación de 300 rpm. La concentración de células al comienzo de la fermentación fue de 0.2 g/L^{-1} . La biomasa fue medida turbidimétricamente a 650 nm.

2.1.4 Determinación de la actividad proteolítica

Se empleó la técnica de Arima (9) modificada. Se define como 400 U la cantidad de enzima que coagula el sustrato en 60 segundos a 35 °C. Se utiliza como sustrato una solución al 10% (p/v) de leche descremada en polvo en CaCl_2 0.01 M.

2.1.5 Extractos enzimáticos

Los extractos enzimáticos usados fueron identificados como PK2-i y PC. El primero es el extracto obtenido con el medio de fermentación detallado en 2.1.2, usado con tres actividades proteolíticas diferentes: 350 U/mL (PK2-1), 436 U/mL (PK2-2) y 1422 U/mL (PK2-3). PC es un producto comercial de uso común en Uruguay, que se aplica a telas de lana de forma de conferirles inencogibilidad. El complejo comercial PC fue usado al 3% (80 U/mL), condiciones recomendadas por el proveedor.

2.2 Proceso textil

2.2.1 Telas de lana

Para los ensayos se utilizaron telas de lana de las siguientes características:

- urdimbre 3200 hilos; título 1/21; tpm 340 S; 100 % lana; 23 μ
- trama 1700 pasadas; título 1/21; tpm 340 S; 100 % lana; 23 μ
- masa por unidad de área: 300 g/m²; ancho: 150 cm; diseño : twill 2/1.

2.2.2 Colorantes

Se utilizaron colorantes reactivos Drimalan F: Rojo Brillante Drimalan FB, Azul Brillante Drimalan FB.

2.2.3 Tinción de lana tratada

Debido a la modificación de la superficie de la fibra, la lana resistente al encogimiento y tratada para evitar el afieltramiento exhibe un cambio en el comportamiento tintóreo con respecto a la lana sin tratar. La transferencia de masa de colorante del baño de tintura a la fibra, comienza a temperaturas más bajas, con la lana tratada respecto a la lana sin tratar. La velocidad de transferencia aumenta con la temperatura, siendo este incremento mayor en el caso de la lana tratada. Por ésta razón los métodos de tintura deben adaptarse a estas condiciones a fin de evitar desigualaciones en el tejido teñido.

La lana tratada de esta forma también tiene peores propiedades de solidez en húmedo y particularmente en tinturas de tonos medios a oscuros. Por esta razón no es recomendado el empleo de colorantes ácidos de poco poder igualador. Por esta razón es esencial una cuidadosa selección de los colorantes (10). Se decidió el empleo de colorantes reactivos recomendados para lanas tratadas (con métodos oxidativos) y el método usado fue Optilan con una relación de baño de 1/100:

a) temperatura del baño 40 °C

adición: 1 g/L acetato de sodio

X% Drimalan FB

1% de Lyogeno FN líquido

pH = 5 ácido acético

b) subir en 40 minutos a 85 °C

c) dejar entre 30 - 60 minutos a 85 °C

Las telas fueron teñidas en cuatro tonos diferentes (2% y 0.2% de Azul Brillante Drimalan FB y 2% y 0.2% de Rojo Brillante Drimalan FB).

2.2.4 Determinación del agotamiento

Se midió el agotamiento final de los baños de tintura a varias longitudes de onda, mediante el empleo de un espectrofotómetro Unicam UV2.

2.2.5 Medida de las diferencias de color

Método empleado ITR TEX T023 Sector Textiles (LATU)

Equipo empleado : Elrepho 2000

Iluminante : luz D 65

Observador : 10 °

Spot : 12mm

Las diferencias de color y tolerancias entre las referencias (tela) y la lana tratada (tela) fue expresada como diferencia total (ΔE) usando la formula L^*a^*b CIE 1976.

2.2.6 Métodos para la resistencia a la tracción (tira deshilada)

Método empleado: Protocolo TEX 004 Sector Textiles (LATU) (basado: ASTM D 5035-95).

La incertidumbre combinada expandida del método es 2.82 kg/25 mm

2.2.7 Solidez al lavado domestico e industrial

Método empleado: Protocolo TEX 005 Sector Textiles (LATU) (basado en AATCC 61 1996)

Multifibra: N° 10 Testfabric

Se analiza el sangrado sobre: lana, acrílico, poliéster, nylon, algodón, acetato.

Se realiza la comparación con Escala de Grises para evaluación de la transferencia de color ISO R105/1 Parte 3.

Incertidumbre: un punto para toda la escala, tipo B determinada por interlaboratorio.

2.2.8 Cambios dimensionales en lavarropa automático doméstico para telas y tejidos de lana y en equipo Wascator

Lavarropa automático domestico:

Método Empleado: ITR TEX E029 Sector Textiles (LATU): AATCC 135

Equipo empleado : lavadora automática Electrolux

Temperatura del lavado : 40° C

Ciclo de lavado : 3 (lavado común, no ciclo de lana)

Secado: al aire

Planchado: a vapor a 148 ° C

Se realizaron experiencias en equipo Wascator para verificar el cumplimiento de los requisitos de la IWTO.

2.2.9 Identificación de la fibra

Método empleado: Protocolo Tex 406 a Sector Textiles (LATU) (basado en AATCC 20 A - 1995)

Equipo empleado: Microscopio de luz polarizada Leitz Laborlux 12 Pol (T13) con equipo fotográfico incorporado.

2.3 Proceso de mejora

2.3.1 Tratamiento enzimático

El tratamiento enzimático se realizó en jigger piloto (John Jeffreys), tratando 8 m de tela en baño 1.0 L (RB = 1/3). Se trabajó a 60 °C durante 60 minutos. Se utilizaron los complejos enzimáticos PK2-1, PK2-2, PK2-3 y PC.

Luego del tratamiento enzimático se realizó un tratamiento de lavado, durante 10 minutos a 80 °C.

Se verificó luego de cada tratamiento que la actividad coagulante en el baño final fuese despreciable.

2.3.2 Tratamiento oxidativo

Consistió en: H₂O₂ 33 % (p/v), 2 g/L Na₄ P₂O₇, pH = 9.0, relación de baño = 1/30, temperatura = 70 °C

tiempo de tratamiento = 1 h

3.0 Resultados y discusión

3.1 Lana tratada exclusivamente con extracto enzimático

3.1.1 Tenacidad de la fibra

La tenacidad no fue afectada por los tratamientos enzimáticos. La tenacidad de la fibra fue reducida sólo 4 % o menos que la de la fibra de lana no tratada.

3.1.2 Resistencia a la tracción de la tela (tira deshilada)

La resistencia a la tracción de las telas tratadas con los diferentes procedimientos enzimáticos fue determinada por el método de la tira deshilada. Los resultados (ver Figura 1) mostraron que el tratamiento enzimático no modificó la propiedad tensométrica. La disminución de la resistencia a la tracción fue de 4.0 kgf/25 mm, pero la incertidumbre combinada expandida del método fue 2.82 kgf/25 mm.

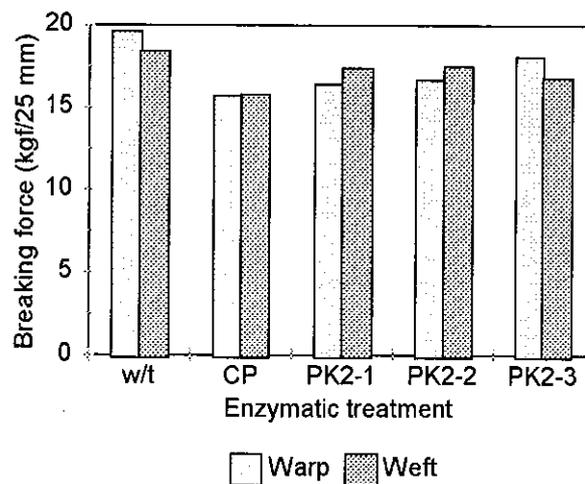


Figura 1 Estudio de la resistencia a la tracción con PK2-1, PK2-2, PK2-3 y PC usando el método de la tira deshilada. (w/t:: sin tratamiento enzimático)

3.1.3 Diferencias de color Cielab

La diferencia de color de la tela tratada, respecto a la sin tratar fue mayor en los tonos claros (0.2%). Se obtuvo ΔE 2.11 para celeste con PK2-3 y 1.69 con PC. En algunos casos el

rendimiento con el producto comercial fue superior (ΔE 3.12 para rojo con PC y ΔE 2.81 con PK2-2). En otros casos el rendimiento mejoró cuando la actividad coagulante aumentó (celeste).

3.1.4 Encogimiento en lavarropa automático

Los resultados pueden verse en la Figura 2. Los tratamientos fueron efectivos en reducir el encogimiento debido al lavarropa automático doméstico (no en ciclo de lana). Esta reducción fue del orden del 65 %. Esta mejora no tiene relación con el incremento de la actividad coagulante del extracto usado.

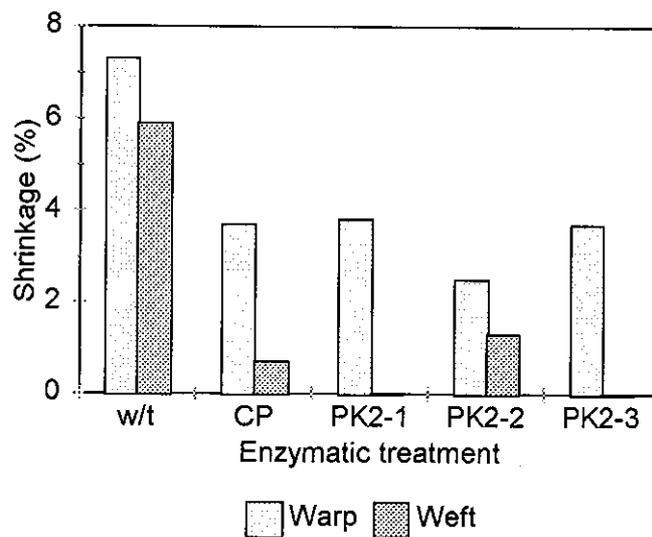


Figura 2 Encogimiento de la tela con los diferentes tratamientos enzimáticos PK2-1, PK2-2, PK2-3 y PC. (w/t sin tratamiento enzimático)

3.1.5 Solidez al lavado

Los resultados obtenidos tanto para la tintura en color rojo como azul, fueron de transferencia o sangrado 5 o 4-5 en toda las fibras de la Multifibra N ° 10, para todos los tratamientos.

3.1.6 Agotamiento de los baños de tintura

El mayor agotamiento de los baños de tintura fue obtenido con telas tratadas. Los resultados se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1 Agotamiento de los baños de tintura

| Extracto enzimático | Agotamiento (%) | |
|---------------------|-----------------|------|
| | Rojo | Azul |
| S/T | 75.2 | 93.2 |
| PC | 80.9 | 96.1 |
| PK2-1 | 69.7 | 94.3 |
| PK2-2 | 83.9 | 94.1 |
| PK2-3 | 85.0 | 95.1 |

S/T: sin tratamiento

Tabla 2 Encogimiento en Wascator

| Tratamiento | Encogimiento (%) | | |
|--------------|------------------|------|------|
| | 1c | 2c | 3c |
| S/T | 17.1 | 32.8 | 45.9 |
| S/T + OXID | 11.4 | 28.3 | 42.0 |
| PC | 7.6 | 21.1 | 31.2 |
| PC + OXID | 5.5 | 13.9 | 22.9 |
| PK2-1 | 11.1 | 28.3 | 43.3 |
| PK2-1 + OXID | 8.0 | 21.0 | 33.5 |
| PK2-2 | 10.5 | 24.6 | 37.1 |
| PK2-2 + OXID | 10.2 | 11.5 | 26.0 |
| PK2-3 | 10.1 | 27.8 | 41.7 |
| PK2-3 + OXID | 11.3 | 22.2 | 36.8 |

Nota: S/T: sin tratamiento enzimático, PC: producto comercial
OXID: tratamiento oxidativo. 1c, 2c, 3c: ciclos de Wascator
PK2-i + OXID: tratamiento enzimático seguido de tratamiento oxidativo

El diseño y el tratamiento oxidativo fueron realizados por la Dra. Juliá (CID - CSIC, Barcelona, España), así como los resultados de encogimiento en Wascator con excepción del PK2-2 + OXID que fue realizado en el laboratorio de una empresa privada uruguaya.

3.2 Lana tratada enzimáticamente y con tratamiento oxidativo

3.2.1 Encogimiento de las telas tratadas por el proceso enzimático - oxidativo

En la Tabla 2 se puede observar en todos los casos una disminución en el encogimiento de los tejidos de lana tratados enzimáticamente con respecto a los sin tratar. Esta disminución se ve incrementada al tratar oxidativamente dichos tejidos luego del tratamiento enzimático. La lana sometida a la acción del producto enzimático PK2-2, seguido por un proceso oxidativo, es el único que se acerca a los requerimientos de la IWS para lana inencogible (menos de 8% para el segundo lavado en equipo Wascator).

4.0 Conclusiones

- Ninguno de los tratamientos enzimáticos (PC y PK2) afecta a la resistencia a la tracción, ya que todos los valores obtenidos están comprendidos en la incertidumbre del método.
- Se disminuyó hasta en un 65% el encogimiento para lavados en lavarropas domésticos, en ciclo no correspondiente a lana, solamente con el tratamiento enzimático.
- De la observación visual de las telas teñidas se evidenció una mejora de los rendimientos tintóreos de hasta 10%.
- Los agotamientos de los baños de tinte fueron 13% superiores respecto a los agotamientos obtenidos para las tinturas de telas sin tratar, en el caso de la tinte con rojo. Para la tinte con azul es sólo un 2 % mayor.
- Las solideces al lavado fueron las deseadas: nivel 5 o 4-5, manchado inexistente.
- Los resultados de encogimiento obtenidos por la aplicación de los dos tratamientos sucesivos permiten afirmar que es un proceso promisorio para la obtención de productos que cumplan las exigencias de la IWTO.

Agradecimientos Se agradece a la Dra. María Rosa Juliá (CID - CSIC, Barcelona, España) el diseño y la implementación del tratamiento oxidativo, así como el análisis de encogimiento en lavarropas Wascator.

5.0 Bibliografía

- 1) Nolte, H, DP Bishop, H Hocker, Effects of proteolytic and lipolytic enzymes on untreated and shrink-resist treated wool, *J. Text. Inst.*, Vol. 87, part 1, No. 1, 1996, pp 212-227.
- 2) Riva, A, J Cegarra, R Prieto, Acción de una keatinasa en la reducción de la enfieltrabilidad de la lana, *Técnica Textil Internacional*, Vol. 2, 1994, pp 35-41.
- 3) De Giuda M, A Fernandez, D Pippolo, T Zinelli, L Belobrajdic, A Vazquez, and H Varela Mejoramamiento de las cualidades de la lana por tratamiento enzimático, *Revista de Química Textil*, No. 133, 1997, pp 62-67.
- 4) De Giuda M, D Pippolo, A Fernandez, A Martínez, T Zinelli, L Belobrajdic, A Vazquez, C Manancero, A. Berrutti and H Varela, Efecto del tratamiento con enzimas proteolíticas sobre tejidos de lana nacional, published at CD abstracts of the XV Latin America Congress of Textil Chemistry, Montevideo, Uruguay, 1998.
- 5) Riva A, J Cegarra, R Prieto, Influencia de tratamientos enzimáticos en la tintura de la lana, *Bol. Intexter*, Vol. 199, No. 100, pp 125 - 143.
- 6) Juliá, M. R, M Cot, P Erra, D Jovic, JM Canal, The use of chitosan on hydrogen peroxide pretreated wool, *Textile Chemists and Colorists*, Vol. 8, No. 30, 1998, pp 78-83.
- 7) Varela, H, MD Ferrari, L Belobrajdic, F Fonseca, R Bianco L Loperena and A Vázquez, Isolation, identification, and selection of bacteria with extracellular unhairing activity, published at the abstracts book of the XII SINAFERM Simposio Nacional de Fermentacoes, Sao Carlos, Brasil, Vol. 2, 1996, pp 756-761.
- 8) De Giuda M, T Zinelli L Belobrajdic A Vázquez and H Varela, Tratamiento de lanas con keratinasas, published at the IV Congress of Textile Technology Abstracts, La Plata, Argentina, 1996.
- 9) Arima K, J Yu, and S Iwasaki, Milk clotting enzyme from *Mucor pussilus* var. Lindt, *Proteolytic Enzymes Meths. Enzimol.*, Vol. 19, 1970, pp 446-460.
- 10) Cegarra J, J Gacén, J Valldeperas, Fundamentos científicos y aplicados de la tintura de materiales textiles, Universidad Politécnica de Barcelona, 1980.