

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

**Programa de Doctorado:
“Ciència i Tecnologia de Col·loides i Interfases”**

Bienio: 2001-2003

Tutora: Carmen González

**Memoria presentada por Susana Vilchez Maldonado,
Licenciada en Biología, para optar al grado de Doctor**

Susana Vilchez Maldonado

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Departamento de Tecnología de Tensioactivos del Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales (IIQAB) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) bajo la dirección de la Doctora Pilar Erra Serrabasa que autoriza su presentación:

Dra. Pilar Erra Serrabasa

Barcelona, Octubre de 2005

AGRADECIMIENTOS

Durante el tiempo que ha transcurrido desde mi llegada al grupo de Química de Superficies, he tenido la oportunidad de conocer a muchas personas con las que he compartido buenos momentos y a las que me gustaría mostrar mi agradecimiento.

A la Dra. Pilar Erra por brindarme la oportunidad de realizar esta Tesis y por mostrarme su apoyo y confianza durante todo este tiempo.

A la Dra. Carmen González, por haber aceptado la tutoría de esta Tesis y por ayudarme en los múltiples trámites.

Al Dr. Petar Jovancic por iniciarme en esta interesante línea de investigación, así como por la ayuda prestada.

Al Dr. Albert Manich, por atenderme de buen grado cada vez que lo he necesitado.

A Pablo Vigo, por mostrarme lo mejor de los diseños y por estar siempre dispuesto a prestarme su ayuda.

A Amalia Vilchez por sus buenos consejos y por enseñarme a ver siempre lo más positivo.

A Carmen Domínguez por ser tan buena compañera y amiga, por hacer más agradable el día a día y por llevarnos tan bien a pesar de ser tan distintas.

A mis compañeros de laboratorio, Isabel Muñoz, María Dolcet, Ricardo Molina y Cristina Canal por todas las vivencias y los buenos momentos compartidos.

A la Dra. M^a Rosa Julià por la amabilidad y atención que siempre me ha demostrado.

Al Dr. Dragan Jovic y al Dr. Roshan Paul por esa predisposición que han demostrado durante el tiempo que hemos coincidido en el Grupo Química de Superficies.

A Marta Angelet y Carmen Morán por los buenos ratos que hemos pasado juntas y que espero seguir pasando durante muchos años más.

A Paqui Izquierdo por su comprensión y por hacer más agradable los ratos libres compartidos.

A los compañeros del Departamento de Tecnología de Tensioactivos con los que he pasado buenos momentos.

A Eric Jover, por ceder a la ciencia una de sus pertencencias más preciadas.

A la Dra. Elisabeth Heine por la buena acogida que tuve durante mi estancia en su laboratorio en el DWI RWTH Aachen.

A J. M. Fortuño del ICM-CSIC por la obtención de las imágenes de microscopía electrónica de barrido.

A los chicos de Informática porque siempre están dispuestos a resolver los “n” problemas que surgen en el momento más inoportuno.

A mi familia, que no es poca, por su confianza, apoyo y comprensión y por animarme en todo momento.

Y a Jordi quisiera agradecer su infinita paciencia, comprensión y ayuda y por saberme entender, aunque a veces sea bastante complicado.

*Conocer para pensar,
pensar para dudar,
dudar para saber.*

INDICE

Glosario de símbolos.....	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. LANA.....	1
1.1.1. Biología.....	1
1.1.2. Composición química	2
1.1.3. Morfología de la fibra	7
1.1.4. Encogimiento.....	14
1.2. QUITOSANO	17
1.2.1. Fuentes y métodos de obtención del quitosano	17
1.2.2. Caracterización físico-química.....	19
1.2.2.1.Determinación del grado de acetilación	20
1.2.2.2.Determinación del peso molecular	23
1.2.2.3.Solubilidad.....	24
1.2.3. Propiedades funcionales.....	24
1.2.4. Propiedades biológicas.....	26
1.2.5. Hidrólisis enzimática del quitosano.....	27
1.2.6. Aplicaciones	27
1.3. ENZIMAS	30
1.3.1. Factores que afectan a la actividad enzimática	30
1.3.2. Unión del enzima al sustrato y acción enzimática.....	31
1.3.3. Clasificación de los enzimas	33
1.3.4. Enzimas en la industria textil	34
1.3.5. Proteasas.....	34
1.4. PLASMA.....	37
1.4.1. Definición.....	37
1.4.2. Tipos de plasmas	37
1.4.3. Componentes de un equipo de plasma.....	38
1.4.4. Ventajas del plasma	38
1.4.5. Modificaciones inducidas en la lana tratada con plasma	39
1.5. DISEÑO DE EXPERIMENTOS	40
1.5.1. Método tradicional de experimentación.....	41

1.5.2. Diseño estadístico de experimentos.....	42
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	47
2.1. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	47
2.2. OBJETIVOS	49
2.3. PLAN DE TRABAJO	49
3. EXPERIMENTAL	53
3.1. MATERIALES	53
3.1.1. Lana	53
3.1.2. Quitosano	53
3.1.3. Enzimas	53
3.1.4. Cabello	53
3.2. PRODUCTOS QUÍMICOS.....	54
3.3. APARATOS E INSTRUMENTAL	56
3.3.1. Batanado y determinación del encogimiento	56
3.3.2. Tratamiento con quitosano y enzimas	56
3.3.3. Tratamiento con plasma de vapor de agua.....	56
3.3.4. Determinación del grado de blanco, amarilleamiento y K/S	57
3.3.5. Caracterización superficial de las fibras de lana	57
3.3.5.1. Microscopía óptica	57
3.3.5.2. Microscopía electrónica de barrido.....	57
3.3.5.3. Tensiometría	57
3.3.5.4. Detección de quitosano.....	57
3.3.6. Tintura.....	57
3.3.7. Análisis propiedades mecánicas	58
3.3.8. Análisis térmico.....	58
3.3.9. Marcaje del enzima con FITC, cortes transversales y observación.....	58
3.4. TÉCNICAS Y MÉTODOS	58
3.4.1. Batanado.....	58
3.4.2. Extracción de lana con diclorometano.....	59
3.4.3. Determinación del pH del extracto acuoso en lana	59
3.4.4. Determinación de la solubilidad en urea bisulfito.....	59

3.4.5. Tratamiento enzimático.....	60
3.4.6. Tratamiento con quitosano	60
3.4.7. Tratamiento con plasma de vapor de agua.....	61
3.4.8. Determinación de la pérdida de peso.....	62
3.4.9. Determinación del grado de blanco, amarilleamiento y K/S	62
3.4.10. Determinación del encogimiento.....	63
3.4.11. Determinación de la suavidad	64
3.4.12. Determinación de la humectabilidad	65
3.4.13. Caracterización superficial de las fibras de lana	65
3.4.13.1. Microscopía óptica	65
3.4.13.2. Microscopía electrónica de barrido.....	66
3.4.13.3. Medida del ángulo de contacto	66
3.4.13.4. Detección de quitosano.....	68
3.4.14. Tintura.....	68
3.4.15. Determinación de la solidez de la tintura.....	69
3.4.16. Análisis propiedades mecánicas	70
3.4.17. Análisis térmico.....	71
3.4.18. Determinación del contenido de proteína	72
3.4.19. Marcaje de subtilisina con FITC	73
3.4.20. Determinación de la actividad enzimática	73
3.4.21. Cortes transversales de lana marcada con FITC.....	73
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
4.1. TRATAMIENTOS PRELIMINARES EN LANA CON ENZIMAS PROTEOLÍTICOS	77
4.1.1. Caracterización de los tejidos de lana.....	77
4.1.2. Pérdida de peso.....	78
4.1.3. Grado de blanco.....	79
4.1.4. Resistencia al encogimiento	80
4.2. EFECTOS DE LOS ENZIMAS PROTEOLÍTICOS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE TRATAMIENTO EN LANA PRETRATADA CON QUITOSANO	82
4.2.1. Pérdida de peso.....	82

4.2.2. Grado de blanco y amarilleamiento.....	85
4.2.3. Solubilidad en Urea-Bisulfito.....	88
4.2.4. Resistencia al encogimiento.....	91
4.2.5. Cambios morfológicos.....	94
4.2.5.1. Microscopía óptica.....	94
4.2.5.2. Microscopía electrónica de barrido.....	104
4.2.6. Comportamiento tintóreo.....	109
4.2.6.1. Cinética de tinte.....	109
4.2.6.2. K/S.....	111
4.2.6.3. Solidez al lavado.....	113
4.3. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPERASE 8.0L EN LANA PRETRATADA CON QUITOSANO.....	116
4.3.1. Pérdida de peso.....	116
4.3.2. Grado de blanco y amarilleamiento.....	117
4.3.3. Resistencia al encogimiento.....	117
4.3.4. Propiedades mecánicas.....	120
4.3.4.1. Fricción.....	120
4.3.4.2. Espesor, compresibilidad y linealidad de compresión....	121
4.3.4.3. Resistencia al estallido y a la deformación.....	123
4.3.4.4. Abrasión.....	124
4.3.5. Análisis térmico.....	125
4.3.5.1. Termogravimetría.....	125
4.3.5.2. Calorimetría diferencial de barrido.....	127
4.4. EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL QUITOSANO Y ESPERASE 8.0L EN DIFERENTES PARÁMETROS DE LA LANA APLICANDO UN DISEÑO EXPERIMENTAL.....	134
4.4.1. Pérdida de peso.....	135
4.4.2. Grado de blanco.....	138
4.4.3. Resistencia al encogimiento.....	143
4.4.4. Optimización conjunta de pérdida de peso y área de encogimiento.....	146
4.4.5. Estudio de las propiedades hidrófilas.....	149
4.4.6. Solubilidad en Urea-Bisulfito.....	154
4.4.7. Propiedades mecánicas.....	155

4.4.7.1.	Resistencia a la rotura.....	155
4.4.7.2.	Deformación a la rotura.....	158
4.4.7.3.	Coefficiente de fricción dinámico	161
4.4.7.4.	Compresibilidad	163
4.4.7.5.	Linealidad de compresión.....	167
4.4.7.6.	Suavidad	171
4.4.8.	Permanencia del quitosano en los tejidos	175
4.4.9.	Cambios morfológicos de fibras de los tejidos tratados con QS+Esperase 8.0L.....	182
4.4.9.1.	Microscopía óptica	182
4.4.9.2.	Microscopía electrónica de barrido.....	187
4.4.10.	Cambios morfológicos de fibras de los tejidos tratados con Plasma+QS+Esperase 8.0L	189
4.4.10.1.	Microscopía óptica	189
4.4.10.2.	Microscopía electrónica de barrido.....	194
4.4.11.	Cortes transversales	196
5.	CONCLUSIONES	203
6.	BIBLIOGRAFÍA	209
7.	PUBLICACIONES	225

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

- DA:** grado de acetilación/ acetylation degree
- DD:** grado de desacetilación/ deacetylation degree
- DSC:** calorimetría diferencial de barrido/ differential scanning calorimetry
- E:** enzima
- ES:** complejo enzima-sustrato
- F_A:** fracción molar de residuos N-acetilglucosamina
- FITC:** Isotiocianato de fluoresceína
- GlcN:** glucosamina
- GlcNAc:** N-acetilglucosamina
- GPC:** cromatografía de permeación en gel
- K_M:** constante de Michaelis-Menten
- KIF:** filamentos intermedios de queratina
- NT:** no tratado
- P:** producto
- QS:** quitosano
- S:** sustrato
- SEM:** microscopía electrónica de barrido/ scanning electron microscopy
- T_g:** temperatura de transición vítrea
- TCA:** ácido tricloroacético
- TG:** termogravimetría
- TMA:** análisis termomecánico
- TPC:** tejido plano crudo
- TPT:** tejido plano teñido
- U:** unidad de actividad
- UB:** urea bisulfito
- WI:** índice de blancura
- YI:** índice de amarillez