

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

EFFECTO DE LOS CATIONES DIVALENTES SOBRE EL NIVEL
DE ABRASIÓN PRODUCIDO POR LAS CELULASAS
ÁCIDAS EN PRENDAS DE ALGODÓN

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

FRANCISCO JAVIER NAVARRO SOZA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, MAYO DE 1999

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR



Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de tesis titulado:

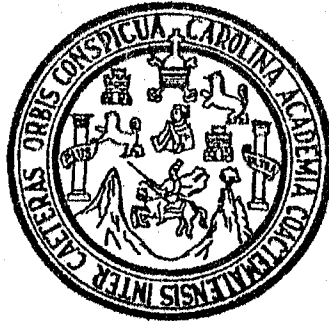
EFFECTO DE LOS CATIONES DIVALENTES SOBRE EL NIVEL DE ABRASIÓN PRODUCIDO POR LAS CELULASAS ÁCIDAS EN PRENDAS DE ALGODÓN,

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 23 de febrero de 1999.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'F' followed by several horizontal strokes.

Francisco Javier Navarro Soza

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Herbert René Miranda Barrios
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Carlos Humberto Pérez Rodríguez
VOCAL III	Ing. Jorge Benjamín Gutiérrez Quintana
VOCAL IV	Br. Dimas Alfredo Carranza Barrera
VOCAL V	Br. José Enrique López Barrios
VOCAL VI	Inga. Gilda Marina Castellanos de Illescas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN
GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Herbert René Miranda Barrios
EXAMINADOR	Ing. Otto Raúl De León De Paz
EXAMINADOR	Ing. Rodolfo Espinoza Smith
EXAMINADOR	Ing. Antonio Del Cid Pacheco
SECRETARIA	Inga. Gilda Marina Castellanos de Illescas

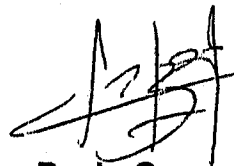
Guatemala, 5 de Abril de 1999

Ing. Otto Raúl de León
Director de la Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Atentamente me dirijo a usted para informarle que he revisado el informe final de tesis, "Efecto de los cationes divalentes sobre el nivel de abrasión producido por las celulasas ácidas en prendas de algodón", del estudiante Francisco Javier Navarro Soza, con número de carné 9311889, encontrándolo satisfactorio, por lo que otorgo la aprobación respectiva

Sin otro particular,

Atentamente,



Ing. Paulo Cesar Boj
Colegiado No. 754



FACULTAD DE INGENIERIA

Guatemala, 9 de abril de 1,999.

Ingeniero
Otto Raúl de León de Paz
Director Escuela Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero de León.

Por medio de la presente me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que he revisado el Informe Final de Tesis del estudiante **Francisco Javier Navarro Soza**, titulado: **EFEECTO DE LOS CATIONES DIVALENTES SOBRE EL NIVEL DE ABRASION PRODUCIDO POR LAS CELULASAS ACIDAS EN PRENDAS DE ALGODON**. Dejo constancia de aprobación para la autorización del respectivo trabajo.

Sin otro particular y agradeciéndole la atención que se sirva dar a la presente, le saluda.

Atentamente,

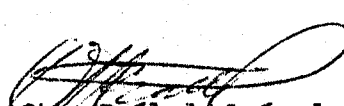
ID Y ENSEÑAD A TODOS

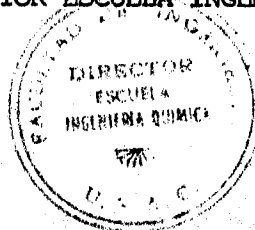
Ing. Rodolfo Espinosa Smith
REVISOR



FACULTAD DE INGENIERIA

El Director de la Escuela de Ingeniería Química; Ingeniero Otto Raúl de León de Paz, después de conocer el dictamen del asesor con el Visto Bueno del Jefe de Departamento, al trabajo de Tesis del estudiante Francisco Javier Navarro Soza, titulado: EFECTO DE LOS CATIONES DIVALENTES SOBRE EL NIVEL DE ABRASION PRODUCIDO POR LAS CELULASAS ACIDAS EN PRENDAS DE ALGODON, procede a la autorización del mismo.


Ing. Otto Raúl de León de Paz
DIRECTOR ESCUELA INGENIERIA QUIMICA



Guatemala, 11 de mayo de 1,999.



FACULTAD DE INGENIERIA

El Decano de la Facultad de Ingeniería, luego de conocer la autorización por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de Tesis titulado: **EFECCIO DE LOS CATIONES DIVALENTES SOBRE EL NIVEL DE ABRASION PRODUCIDO POR LAS CELULASAS ACIDAS EN PRENDAS DE ALGODON** del estudiante **Francisco Javier Navarro Soza**, procede a la autorización para la impresión de la misma.

IMPRIMASE:


Ing. Herbert René Miranda Barrios
DECANO



Guatemala, 11 de mayo de 1,999.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

María Aura, Jesús (Q.E.D.) y Rigoberto, con todo mi amor y admiración.

A MIS HERMANOS

Margarita, María Jesús y Ricardo.

A MI NOVIA

Xiomara, con todo mi amor y respeto.

A MIS AMIGOS

Por su apoyo y compañía, en especial a: Alexa, Vivian, Frances, Tulio, Marco Tulio y Fernando.

AGRADECIMIENTO

A MIS PADRES

Por su apoyo y ejemplo.

A MIS HERMANOS

Por su amistad y apoyo.

AL ING. PAULO BOJ

Por su asesoría en la realización de este trabajo.

AL ING. RODOLFO ESPINOZA **Por su colaboración y tiempo dedicado en la revisión de esta tesis.**

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	III
LISTA DE SÍMBOLOS	V
GLOSARIO	VI
RESUMEN	X
INTRODUCCIÓN	XI
JUSTIFICACIÓN	XIII
OBJETIVOS	XIV
HIPÓTESIS	XV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Enzimas	5
2.2 Cofactores enzimáticos	5
2.3 Celulosa	5
2.4 Enzimas celulasas	9
2.5 Características de las celulasas ácidas y neutras	11
2.6 Factores físicos que afectan la actividad enzimática	12
2.6.1 Temperatura	12
2.6.2 pH	13
2.6.3 Concentración de enzima	13
2.6.4 Concentración de sustrato	14
2.6.5 Concentración de cofactores	14
2.7 Procedimiento estandar de lavado industrial	15
2.7.1 Desengome o desengomado	15
2.7.2 Tallado o abrasión	16

2.7.3	Lavado	16
2.7.4	Bajado	16
2.7.5	Neutralización	16
2.7.6	Suavizado	16
2.7.7	Extracción y secado	17
3.	RESULTADOS	18
4.	DISCUSION DE RESULTADOS	28
	CONCLUSIONES	32
	RECOMENDACIONES	33
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
	BIBLIOGRAFÍA	35
	APÉNDICE	36
A.	Método de investigación	37
B.	Procedimiento estadístico para la interpretación de los Resultados	42
	ANEXO	46
1.	Procedimientos y métodos de pruebas físicas	47

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

No.	Título	Pág.
1.	Forma de la celulosa	7
2.	Enzimas que degradan la celulosa	10
3.	Acción de las celulasas	11
4.	Efecto de la variación de los factores físicos sobre una reacción catalizada enzimáticamente.	13
5.	Saturación de la enzima con sustrato	15
6.	Comparación de las fuerzas de resistencia a la tracción de la lona en dirección de la urdimbre de los diferentes procesos evaluados.	23
7.	Comparación de las fuerzas de resistencia a la tracción de la lona en dirección de la trama de los diferentes procesos evaluados.	24
8.	Comparación de las fuerzas de resistencia al rasgado de la lona en dirección de la urdimbre de los diferentes procesos evaluados.	25
9.	Comparación de las fuerzas de resistencia al rasgado de la lona en dirección de la trama de los diferentes procesos evaluados	26
10.	Comparación del peso de la lona en Kg/m ² de los diferentes procesos evaluados.	27

TABLAS

No.	Título	Pág.
I	Composición química de la celulosa de las fibras de algodón	8
II	Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado con abrasión enzimática sin utilizar cationes divalentes.	19
III	Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado con abrasión enzimática agregando 1 mM de cloruro de manganeso.	20
IV	Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado con abrasión enzimática agregando 1 mM de cloruro de magnesio.	21
V	Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado con abrasión enzimática agregando 1 mM de cloruro de cobalto.	22
VI	Resultados del análisis estadístico	44
VII	Resultados del análisis estadístico	45

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descripción
H_0	Hipótesis nula
H_1	Hipótesis alternativa
K	Número de tratamientos sin incluir el control.
α	Nivel de significancia conjunto.
s^2	Varianza muestral
SSE	Suma de cuadrados del error
n	Observaciones por tratamiento
m	mili / metro
M	Concentración molar
N	Newton
Kg	Kilogramo

GLOSARIO

- Abrasión** Se le llama así al desgaste de la superficie de una prenda ocasionado por la fricción de ésta, con algún material abrasivo, con la superficie de la máquina o entre las mismas prendas.
- Algodón** Materia textil con la cual se elaboran tejidos; está compuesto, en su mayor parte por, celulosa.
- Aminoácido** Cualquier molécula que contenga tanto un grupo amino ($-NH_2$) como un grupo carboxilo ($-COOH$).
- Amorfo** Que no tiene una forma o estructura interna y externa definida. Sólido amorfo: sólido que carece de organización tridimensional periódica de átomos y moléculas.
- Anti-redepositante** Es un compuesto que evita la redepositación de la mugre o partículas sólidas sobre la tela. Por ejemplo, la carboximetilcelulosa.
- Catalizador** Es una sustancia que aumenta el grado o velocidad de una reacción química sin cambiar su estructura durante este proceso. La mayoría de catalizadores biológicos son enzimas.

Catión	Ion con carga neta positiva.
Celulasas	Enzimas que hidrolizan la celulosa nativa hasta glucosa.
Engomado	Acción por la cual se recubre la mezclilla para su protección y mejor manejo.
Engomante	Agente con el cuál se lleva a cabo el engomado. Por ejemplo: el almidón de papa.
Enzimas	Proteínas que funcionan como catalizadores biológicos en las reacciones celulares. Se caracterizan por tener enorme poder catalítico, gran especificidad y actividad regulada.
Hidrólisis	Reacción de una molécula cualquiera con el agua.
Humectante	Sustancia que promueve la adsorción de agua de otra sustancia.
Ion	Partícula cargada que se forma cuando un átomo neutro o un conjunto de átomos ganan o pierden uno o más electrones.

Mezclilla	Tela construida con hilo 100 % algodón, teñida de color índigo. También conocida como Lona.
Neutralizado	Paso en el proceso de lavado, mediante el cual se reducen los agentes oxidantes que blanquean las prendas.
Péptido	Compuesto polimérico que resulta de la unión de dos o mas aminoácidos por medio de el enlace amida, es decir, del grupo amino (-NH ₂) de un aminoácido con el grupo carboxilo (-COOH) de otro.
pH	Término que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución. Se trata de una medida de la acidez de la disolución. El término se define como el logaritmo inverso de la concentración de iones H ⁺ (protones).
Puentes de hidrógeno	Tipo especial de interacción entre un átomo de hidrógeno enlazado con un átomo de un elemento muy electronegativo (F, N, O) y otro átomo de uno de los tres compuestos electronegativos.
Proteína	Polipéptido de peso molecular mayor de alrededor de 5000, consiste en 50 o más aminoácidos.

Sólido cristalino	Sólido que posee orden rígido de largo alcance; sus átomos, moléculas o iones ocupan posiciones específicas.
Surfactante	Agentes orgánicos o sintéticos humectantes y limpiadores que tienen la propiedad de reducir la tensión superficial del agua.
Trama	Conjuntos de hilos paralelos entre los que pasa la urdimbre para formar la tela. En las prendas de lona o mezclilla éstos hilos son de color blanco.
Urdimbre	Conjunto de hilos paralelos entre los que pasa la trama para formar una tela. En prendas de lona estos hilos son pretratados y cubiertos con colorante Indigo.

RESUMEN

En este estudio se determinó el efecto de los cationes divalentes; manganeso, magnesio y cobalto sobre el nivel de abrasión producido por la enzima celulasa ácida modificada *T. ressei*, en prendas de algodón. Este efecto se analizó por medio de procesos de lavado industrial con abrasión enzimática. Estos procesos se realizaron manteniendo constantes las condiciones y variables del proceso, es decir: la misma lavadora, temperatura, cantidad y tipo de enzima, concentración de auxiliares de lavado, cantidad de agua en el baño, concentración de los cationes y tiempo de proceso.

El nivel de abrasión se determinó evaluando las propiedades físicas y apariencia visual de las prendas de algodón después de procesos de lavado con abrasión enzimática, utilizando los cationes antes mencionados en concentraciones de 1.0 mM cada uno, agregados individualmente, y sin la presencia de éstos. Las propiedades físicas evaluadas fueron: resistencia a la tracción en dirección de la trama y urdimbre, resistencia al rasgado en dirección de la trama y urdimbre, y peso; las cuales se obtuvieron por medio del análisis de las prendas de algodón.

Se observó que no existe diferencia significativa en la apariencia visual de las prendas tratadas en presencia de los cationes manganeso, magnesio y cobalto, en relación a la prueba control (prueba sin presencia de cationes). Además, se determinó que no hay disminución en la resistencia física de las prendas al ser tratadas en presencia de dichos cationes, con respecto al control.

INTRODUCCIÓN

La fabricación de materiales textiles ha sido una de las más antiguas actividades conocidas por la humanidad. En este siglo se han visto avances significativos en el área textil, como el empleo de diferentes tipos de fibras, naturales y sintéticas, y la implementación de diversos tratamientos químicos y biológicos.

En la actualidad, existe una creciente tendencia por implementar procesos biotecnológicos en la industria y en forma simultánea ha habido un crecimiento concurrente respecto al uso de productos enzimáticos, tanto en la industria alimenticia, producción de detergentes y en el lavado y terminado de materiales textiles.

Las textileras japonesas fueron la primeras en utilizar enzimas para el mejoramiento de la textura y calidad superficial de las prendas. El biopulido, bioacabado o lavado enzimático fue desarrollado en Japón en 1989.

En años recientes, la industria textil ha tenido un crecimiento significativo en la industria guatemalteca, especialmente en el área de lavanderías industriales, las cuales utilizan procesos enzimáticos para el lavado de prendas de algodón en general, especialmente las prendas de mezclilla o "jeans". La optimización, la tecnificación y desarrollo de sistemas enzimáticos más eficientes se ha convertido en una necesidad dentro de esta industria, para la reducción de costos y tiempos de producción.

Los lavados enzimáticos o biolavados consisten en el tratamiento de la prenda de algodón, con el fin de modificar la apariencia superficial de la tela, esto se hace especialmente para prendas de mezclilla o lona, dándoles apariencia de gastada, las cuales sustituyen o reducen el uso de piedra pómez en los lavados tipo "stone wash". El uso de estas enzimas permite acabados consistentes de las fibras, sin daños en las prendas como con el uso de la piedra.

Por medio de la modificación y mejoramiento del medio en el cual se lleva a cabo la reacción enzimática es posible optimizar el uso de las celulasas.

JUSTIFICACIÓN

Debido a la creciente demanda de la industria textil a nivel nacional, es necesario optimizar los procesos de biolavado industrial. Esto se logra por medio de la selección de sistemas enzimáticos que tengan la mayor actividad específica y que favorezcan la reducción de tiempos de lavado y cantidad de enzima utilizada.

Incidir en el desarrollo tecnológico de nuevos productos enzimáticos de uso potencial en el lavado industrial de textiles.

OBJETIVOS

Objetivo general

1. Determinar el efecto provocado por los cationes divalentes: manganeso, magnesio y cobalto; sobre el nivel de abrasión producida por las celulasas ácidas en prendas de algodón en un proceso de lavado industrial.

Objetivo específico

2. Medir el efecto abrasivo producido por las celulasas ácidas mediante la realización de pruebas físicas a las prendas de algodón tratadas con y sin la presencia de cationes divalentes.

HIPÓTESIS

Si se utilizan cationes divalentes en la etapa de abrasión de un proceso de lavado industrial, se obtendrá un aumento en el nivel de abrasión producido por las enzimas celulasas sobre las prendas de algodón.

1. ANTECEDENTES

La industria textil se remonta a tiempos inmemorables, y en forma definitiva, ha sufrido una serie de transformaciones hasta hoy. Estos cambios ha permitido producir materiales textiles diversos y prendas de vestir en una forma económica y eficiente. Sin embargo, la diversidad en metodologías, condiciones de procesamiento, innovaciones en reactivos y materias primas, más que facilitar, dificultan la estandarización de procesos en el lavado industrial.

El uso de enzimas se ha ramificado ha diversos tipos de industria, como producción de alimentos y acabado de fibras textiles. En forma similar para la producción de detergentes.

En 1989 las textileras japonesas fueron las primeras en utilizar enzimas en la mejora de texturas y calidad de superficie de sus telas (Chikkodi, S.V. et al., 1995) denominado biopulido o bioacabado. Derivándose de aquí varios conceptos tecnológicos que en la actualidad se aplican para evaluar la calidad final de un producto textil.

En estos últimos años, debido al crecimiento mundial del uso de enzimas para el acabado de fibras textiles, y debido a la necesidad de reducir la concentración de productos biológicos como las enzimas, en las aguas de desecho, existe la necesidad de optimizar el uso de las mismas.

Una de las técnicas que plantea un método fácil para la optimización del uso de enzima es la utilización de cofactores enzimáticos que ayuden a aumentar la actividad enzimática. De esta forma se reduce la cantidad de enzima necesaria y se disminuyen los tiempos de biolavado.

Estudios realizados *in vitro* por Shinaka y colaboradores, demostraron que algunos iones divalentes como el cobalto y manganeso favorecen y estimulan la actividad enzimática, teniendo un efecto contrario los iones mercurio y plomo.

Jermyn realizó estudios *in vitro* sobre la acción de la *A. Oryzae* sobre sustratos de carboximetilcelulosa con varios tipos de compuestos como agentes reductores, hormonas de crecimiento, ácidos aldónicos y con algunos iones metálicos. De los compuestos y iones probados, los iones metálicos de cobalto (Co^{2+}), cadmio (Cd^{2+}), níquel (Ni^{2+}), hierro (Fe^{3+}) y magnesio (Mg^{2+}) a concentraciones de 0.001 molar provocaron un aumento en la actividad enzimática hasta del 20%. Los iones plomo (Pb^{2+}), cobre (Cu^{2+}), cromo (Cr^{3+}), zinc (Zn^{2+}), aluminio (Al^{3+}), manganeso (Mn^{2+}) y plata (Ag^+) no tuvieron efecto a la misma concentración.

En 1954, Enebo demostró que la celulasa producida por la *C. thermocellulase* es sensible a la inhibición por medio de los iones plata (Ag^+), cobre (Cu^+), mercurio (Hg^{2+}), hierro (Fe^{3+}) y cromo (Cr^{3+}), pero no por los iones manganeso (Mn^{2+}), calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}).

En 1981, Ng y Zeikus, encontraron que la *C. thermocellulase* es inhibida por los iones mercurio (Hg^{2+}), cobre (Cu^{2+}) y zinc (Zn^{2+}); los iones manganeso (Mn^{2+}) y calcio (Ca^{2+}) no tuvieron efecto. El fundamento para la inhibición de las celulasas bacterianas por iones metálicos aún no es conocido.

La compañía japonesa Kao, aislando tres cepas de *Bacillus alcalófilos*, KSM-19, KSM-64 y KSM-520, produjeron las celulasas denominadas K-19 Y, K-64 Y K-520, respectivamente. Las actividades de estas enzimas no fueron inhibidas por iones metálicos, observando un aumento en la actividad enzimático al agregar los iones cobalto y manganeso en concentraciones de 0.001 molar.

En la actualidad, no existe información sobre el comportamiento de los iones metálicos como activadores o inhibidores en procesos industriales de lavado enzimático.

1. MARCO TEÓRICO

2.1 Enzimas

"Las enzimas son la clase más numerosa y especializada de las proteínas que funcionan como catalizadores biológicos para las reacciones celulares. Las enzimas tienen enorme poder catalítico, gran especificidad y actividad regulada, intervienen en la transformación de la energía en diversas formas de trabajo." (Ref. 1).

"La acción de las enzimas se conoce y aprovecha por los humanos desde tiempos prehistóricos, el pan, el queso, el yogurt, el vino, la cerveza e innumerables otros productos se deben al efecto de las enzimas." (Ref. 1).

El estudio de las enzimas es inmenso e importante. Las enzimas han llegado a ser herramientas prácticas en la industria química, en el procesamiento de alimentos y en la agricultura. Las enzimas juegan una parte muy importante de las actividades cotidianas como la preparación de alimentos y la limpieza.

Con la excepción de un pequeño grupo de moléculas catalíticas, todas las enzimas son proteínas. Su poder catalítico depende de la conformación de la proteína nativa. Si la enzima es desnaturalizada o disociada, el poder catalítico es usualmente perdido. Si la enzima es quebrada o dividida en aminoácidos, la actividad catalítica de la enzima se pierde. (Ref. 2).

Las enzimas, al igual que otras proteínas, tienen pesos moleculares arriba de 12,000 hasta 1 millón.

"Las enzimas pueden ser proteínas simples hechas enteramente de aminoácidos o ser conjugadas con un grupo no proteico indispensable para su actividad biológica. Algunos términos requieren definición precisa:

Apoenzima: Es el término que se aplica a la parte proteica de la molécula de enzima.

Sustrato: Es la sustancia o sustancias sobre las que se ejercita la acción de la enzima.

Sitio Activo: Es el área específica de la molécula de enzima que se une al sustrato durante la reacción formando un complejo activado del que se separan los productos y la enzima se libera para iniciar un nuevo ciclo de reacción." (Ref. 1).

2.2 Cofactores enzimáticos

En muchos casos el término cofactor es referido a todos los componentes no enzimáticos de una reacción que tienen particular interés durante la reacción. Un cofactor enzimático es un componente de una reacción enzimática, el cual, no es convertido estequiométricamente a otras formas. Ejemplos de estos tipos de componentes pueden ser los iones metálicos y los intermediarios catalíticos. (Ref. 3).

Los cofactores enzimáticos contribuyen a la actividad de la enzima porque añaden al sitio activo arreglos moleculares indispensables o porque forman un puente entre el sustrato y la enzima.

El cofactor es indispensable para la actividad enzimática y puede ser un ion metálico o una molécula orgánica. Cuando es un ion metálico recibe el nombre de activador. Si es una molécula orgánica compleja no proteica puede estar unida a la apoenzima por uniones débiles no covalentes que permiten su disociación fácil y entonces se llama *coenzima*. Si la molécula orgánica compleja está fuertemente unida a la proteína se nombra *grupo prostético*. (Ref. 1).

Se han realizado estudios sobre carboximetilcelulosa con cultivos de *A. Oryzae*, utilizado como cofactores agentes reductores, hormonas de crecimiento, ácidos aldonicos y iones metálicos. Los resultados más interesantes fueron asociados a los iones metálicos. Los iones Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} a concentraciones de 10^{-3}M dieron resultados de hasta el 20% de activación. Los iones Cu^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} y Ag^{2+} no tuvieron el mismo efecto en la misma concentración. (Ref. 4).

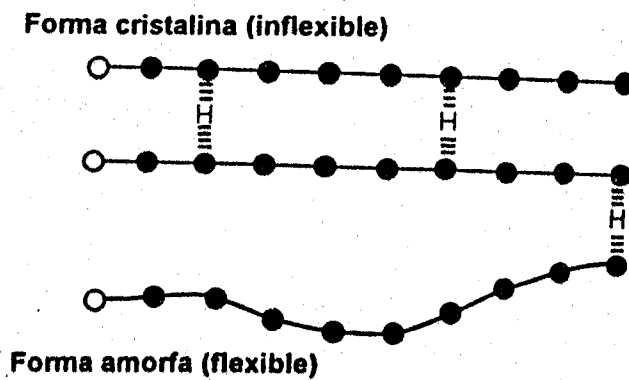
2.3 Celulosa

La celulosa es probablemente el compuesto biológico más abundante en la tierra. Se encuentra como celulosa lignificada (madera), y en forma más o menos pura, en papel y textiles.

Las cadenas de celulosa se unen por puentes de hidrógeno para formar unidades más grandes. Se piensa que una molécula puede tener áreas con una estructura ordenada, rígida e inflexible (celulosa cristalina) y otras áreas con una estructura flexible, amorfa. Esto se ilustra en la figura No.1.

Figura 1. Forma de la celulosa

Tipo: Homopolisacárido
Azúcar: Glucosa
Tipo de cadena: Lineal
Enlace: β -1,4



FUENTE: Ref. 6

Los constituyentes químicos de la celulosa incluyen celulosa, hemicelulosa, lignina, y una amplia variedad de materiales y pequeñas proporciones de compuestos inorgánicos. (Ref. 4). Los porcentajes promedios de estos constituyentes en el algodón se indican en la tabla I.

Tabla I. Composición química de la celulosa de las fibras de algodón

Constituyentes	Porcentaje
Holocelulosa ^a	94.0
α -celulosa ^b	89.0
Hemicelulosa ^c	5.0
Lignina	0.0
Proteína (N x 6.25)	1.3
Materiales extraños	2.5
Ceniza	1.2

^a Carbohidratos totales de la fibra

^b Fracción de holocelulosa insoluble en NaOH al 17.5%

^c Fracción de holocelulosa soluble en NaOH al 17.5%

FUENTE: Ref. 4

“Cuando las fibras de celulosa absorben agua, se hinchan. Este hinchamiento se limita a las zonas amorfas de la fibra. La fuerte red formada por los puentes de hidrógeno en las regiones cristalinas prohíben la adsorción de agua. Para que las celulosas hidrolicen eficientemente la celulosa se debe dar a ésta un pretratamiento para promover la adsorción de agua. La complejidad y el costo de este pretratamiento pueden ser factores cruciales en la determinación económica de la hidrólisis enzimática de la celulosa. El hinchamiento puede ser mejorado por procesos físicos o mecánicos, tales como tratamiento con vapor, molienda y ultrasonido. Además, los ácidos minerales y álcalis en altas concentraciones rompen los puentes de hidrógeno de la red y permiten que el agua penetre en las zonas cristalinas”. (Ref. 6).

2.4 Enzimas celulasas

"Las celulasas hidrolizan la celulosa nativa hasta glucosa (Ver figuras 2 y 3). La celulasa es el nombre trivial que se le da a las enzimas que tienen el nombre sistemático β -1-4-glucan-4-glucanohidrolasa. (Ref. 5). Estas enzimas pueden atacar a la celulosa de dos modos. Las endocelulasas son capaces de hidrolizar enlaces β (1-4) al azar a lo largo de la cadena de celulosa. Las exocelulasas hidrolizan moléculas de glucosa en un extremo de la cadena de celulosa. Estos modos de acción también se observan en otras enzimas." (Ref. 6).

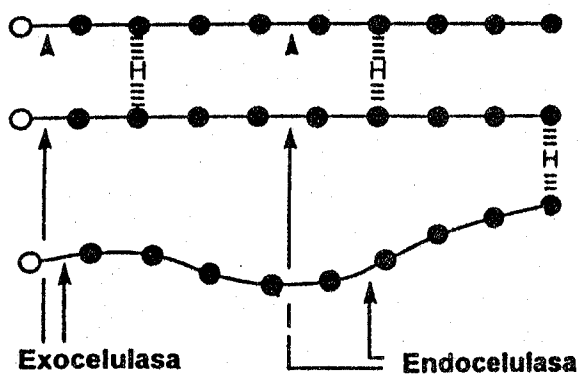
Se ha encontrado que las preparaciones enzimáticas que contienen solamente endocelulasas tienen un efecto mínimo en la celulosa nativa. Por otro lado, las que contienen endo como exocelulasas la degradan significativamente. Además, las endo y exocelulasas actúan de un modo sinérgico sobre la celulosa nativa. (Ref. 6).

"El producto de la hidrólisis simultánea de endo y exocelulasas es el disacárido celobiosa. Conforme su concentración se incrementa en la mezcla, la actividad exocelulasa se inhibe. Para obtener una hidrólisis extensiva de la celulosa se requiere remover la celobiosa. La enzima celobiasa puede descomponer el disacárido en dos moléculas de glucosa." (Ref. 6).

"Aunque un gran número de microorganismos produce celulasas, sólo unos cuantos dan altos rendimientos de la enzima. Se ha señalado que el mejor productor de celulasa es *Trichoderma viride* también conocido como *T. reesei*. La mayor parte de los estudios de la fisiología de formación de celulasas se han llevado a cabo en este organismo. Sin embargo, no se debe ignorar que existen otros microorganismos que también las producen." (Ref. 6).

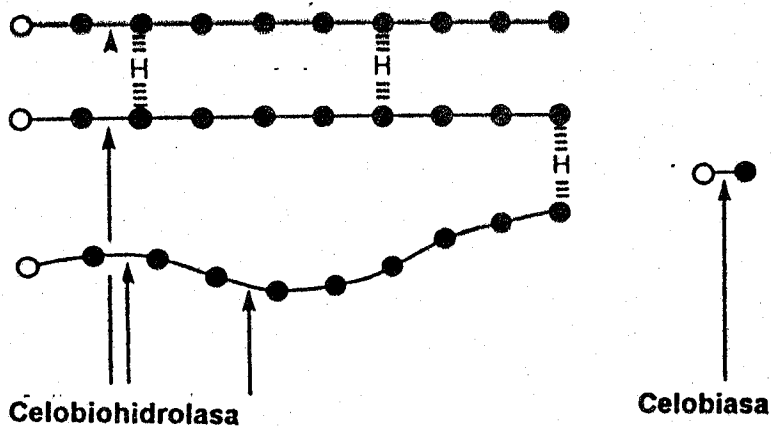
Figura 2. Enzimas que degradan la celulosa.

<u>Enzima</u>	<u>Acción</u>
Endocelulasa	Hidroliza enlaces glucosídicos internos al azar
Exocelulasa	Hidroliza sistemáticamente glucosa de los extremos no-reductores de la cadena



Celobihidrolasa Sistemáticamente hidroliza celobiosa de los extremos no-reductores de la cadena.

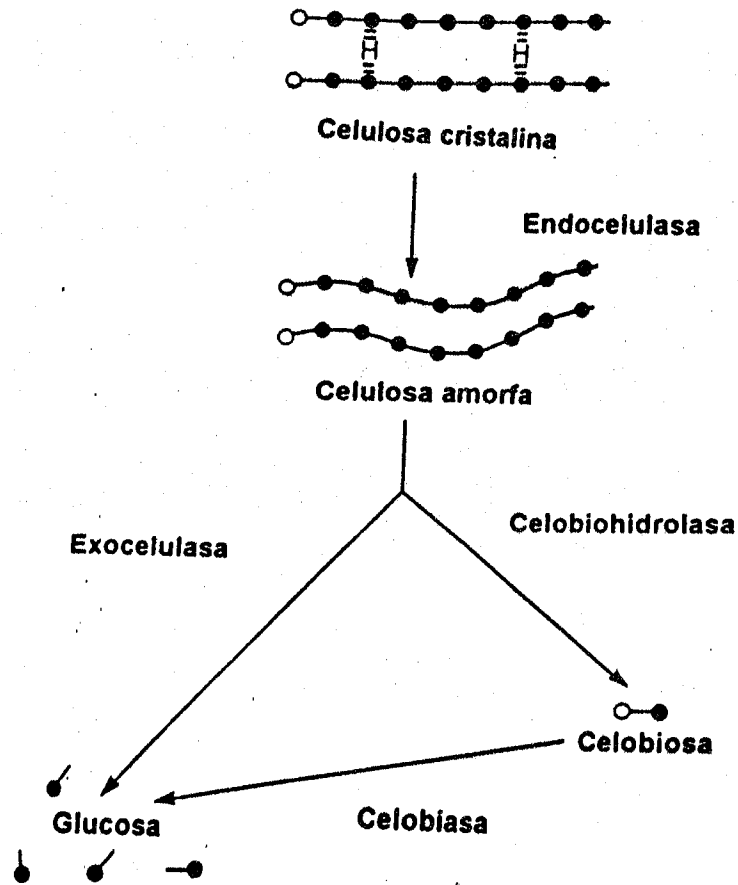
Celobiasa Hidroliza celobiosa para formar glucosa



o-denota extremo no-reductor

FUENTE: Ref. 6.

Figura 3. Acción de las celulasas en la celulosa.



FUENTE: Ref. 6.

2.5 Características de las celulasas ácidas y neutras

Las celulasas ácidas son un tipo de enzimas que trabajan mejor en el rango de pH de 4.5 a 5.5. El desempeño de éstas se caracteriza por:

- Acción altamente agresiva sobre el algodón, lo cual resulta en una efectiva abrasión química en cortos periodos de tiempo.
- Alta redepositación de índigo sobre la mezclilla o lona.

Las celulasas neutras son un tipo diferente de enzimas, su nombre se debe a que se activan dentro de un rango de pH de 6 a 8, pero su pH óptimo es de 6.0 . Se caracterizan por:

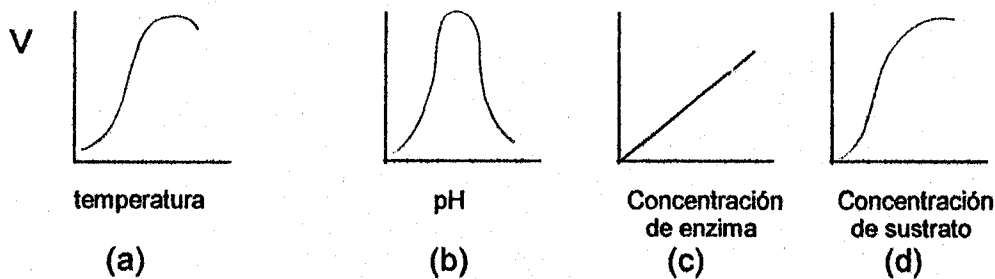
- Menor acción agresiva al algodón que las celulasas ácidas.
- Cuando son usadas apropiadamente no producen reposición del indigo sobre la mezclilla o lona.

2.6 Factores físicos que afectan la actividad enzimática

2.6.1 Temperatura

La velocidad de las reacciones químicas catalizadas o no catalizadas es incrementada con la temperatura. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen la misma regla, sin embargo, como proteínas, las enzimas son afectadas adversamente por elevadas temperaturas. Como resultado de esto, si se plotea la velocidad de una reacción enzimática versus la temperatura se obtiene un máximo de velocidad a determinada temperatura o rango de temperaturas y luego un decaimiento de la velocidad como resultado de la desnaturalización de la enzima. Ver parte "a" de la figura 5.

Figura 4. Efecto de la variación de los factores físicos sobre una reacción catalizada por enzimas



FUENTE: Ref. 7.

2.6.2 pH

Las enzimas, siendo proteínas no pueden resistir la acción de ácidos fuertes o bases. Sin embargo, existe un pH en el cual la enzima no se inactiva y exhibe una actividad óptima. Este óptimo corresponde a una particular configuración de cargas eléctricas de las superficies reaccionantes de la superficie de la enzima, en la cual la condición de efecto de la enzima sobre el sustrato es más eficiente. Ver parte "b" de la figura 5.

2.6.3 Concentración de enzima

"La velocidad de una reacción catalizada es proporcional a la concentración del catalizador" (Ref. 7). La parte "c" de la figura 5 indica que esta generalización es verdadera para cualquier reacción enzimática.

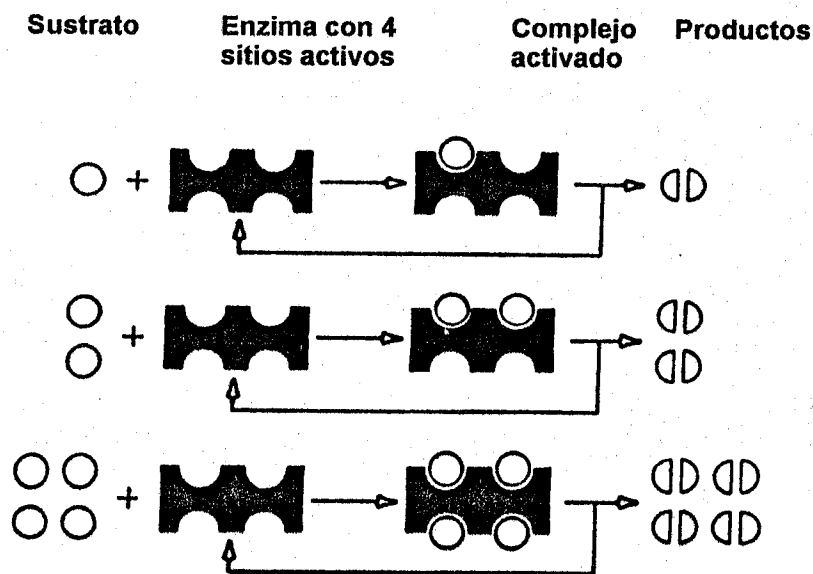
2.6.4 Concentración de sustrato

Al fijar la cantidad de enzima se esperaría que la velocidad de la reacción fuera proporcional a la concentración de sustrato. Esto es cierto hasta cierto punto, pero como muestra la parte "d" de la figura 5. Existe cierta concentración de sustrato arriba de la cual la velocidad de la reacción disminuye debido a la limitación de la cantidad de enzima. La explicación a este efecto es mostrado en la figura 6. Una enzima hipotética la cual contiene 4 sitios activos es mostrada conjuntamente con la combinación de tres niveles de concentración de sustrato; solo una fracción de los sitios activos esta ocupada. Al incrementar la concentración de sustrato los sitios activos de la enzima son ocupadas hasta llegar a la saturación de la enzima, después de la cual al agregar más sustrato la velocidad de la reacción podrá proceder únicamente al desocuparse los sitios activos de la enzima.

2.6.5 Concentración de cofactores

Si una enzima requiere para su actividad de la presencia de cofactores, como iones inorgánicos o coenzimas, la velocidad de la velocidad variará con la concentración de cofactor. En muchos casos el límite de la concentración determinado del mismo modo que para el sustrato.

Figura 5. Saturación de la enzima con sustrato



FUENTE: Ref. 6.

2.7 Procedimiento estándar de lavado industrial

El proceso de lavado industrial esta formado por 6 pasos básicos, los cuales son:

2.7.1 Desengome o desengomado

El propósito de esta etapa es eliminar todos aquellos compuestos que contienen la mezclilla conocidos como engomantes, mediante la adición de productos químicos tales como humectantes, antirredespositantes, surfactantes además de lubricantes y enzimas amilasas para eliminar directamente almidones, polivinil alcoholes y carboximetilcelulosas.

2.7.2 Tallado o abrasión

Este paso consiste en darle el acabado de abrasión según cada tipo de lavado. Se utilizan productos químicos abrasivos tales como tierras de diatomeas, piedra pómez, humectantes y enzimas celulasas.

2.7.3 Lavado

Este paso tiene como finalidad dar una limpieza y eliminar de las prendas cualquier exceso de productos antes utilizados. Se utiliza únicamente con agua a diferentes temperaturas y/o detergentes.

2.7.4 Bajado

Se realiza específicamente con cloro (hipoclorito de sodio o calcio) y pueden ser uno o dos pasos de bajado, según sea el acabado deseado.

2.7.5 Neutralización

Se lleva a cabo para detener la acción del cloro y no continúe cambiando el tono de las prendas, generalmente se hace con bisulfito de sodio.

2.7.6 Suavizado

Su función es darle un terminado de suavidad a las prendas. Se aplican diferentes tipos de suavizantes para darle diferentes texturas a la tela.

2.7.7 Extracción y secado

En este paso se extrae el agua de las prendas por medio de una centrifuga y posteriormente, las prendas se secan en una secadora de aire caliente.

Dependiendo del aspecto final de prenda, la fórmula de lavado puede estar compuesta por todos o algunos de los pasos antes mencionados.

En cada uno de los pasos se lleva el control de parámetros tales como:

- Tiempo de cada etapa o paso.
- Volumen de agua en el baño para cada paso.
- Concentración de productos químicos en cada etapa expresada en porcentaje de acuerdo al peso total de las prendas.
- Temperatura.
- pH de el baño en cada etapa.

3. RESULTADOS

Tabla II Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado enzimático agregando 1mM de Cloruro de Manganeso

No. de proceso	Resistencia a la tracción en dirección de la urdimbre, Newton	Resistencia a la tracción en dirección de la trama, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la urdimbre, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la trama, Newton	Peso de la lona Kg/m ²
1	889.433	711.546	61.193	60.704	0.465
2	871.644	671.522	61.193	56.790	0.464
3	871.644	680.416	57.279	61.193	0.467
4	871.644	689.311	60.215	59.236	0.458
5	933.905	658.180	58.258	60.704	
6	920.563	684.863	63.150	58.747	
7	925.010	702.652	56.790	55.323	
8	898.327	680.416	56.301	55.323	
9	902.775	693.758	56.790	53.366	
10	951.693	649.286	56.301	50.431	
11	822.726	658.180	46.517	50.431	
12	800.490	631.498	58.747	53.366	
Promedio	888.321	675.969	57.728	56.301	0.464
Total	10659.856	8111.630	692.735	675.613	1.854

Tabla III Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado enzimático agregando 1mM de Cloruro de Magnesio

No. de proceso	Resistencia a la tracción en urdimbre, Newton	Resistencia a la tracción en dirección de la trama, Newton	Resistencia al rasgado en urdimbre, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la trama, Newton	Peso de la lona Kg/m ²
13	898.327	711.546	60.215	52.877	0.465
14	764.912	680.416	58.747	58.258	0.468
15	800.490	689.311	62.661	56.301	0.461
16	813.831	649.286	62.171	60.215	0.462
17	836.067	649.286	61.193	54.834	
18	791.595	640.392	58.747	59.236	
19	902.775	680.416	60.704	52.877	
20	876.092	640.392	62.661	57.279	
21	951.693	684.863	66.085	54.834	
22	911.669	658.180	64.128	56.790	
23	902.775	631.498	58.747	51.409	
24	849.409	653.733	60.704	55.323	
Promedio	858.303	664.110	61.396	55.853	0.464
Total	10299.635	7969.319	736.762	670.232	1.856

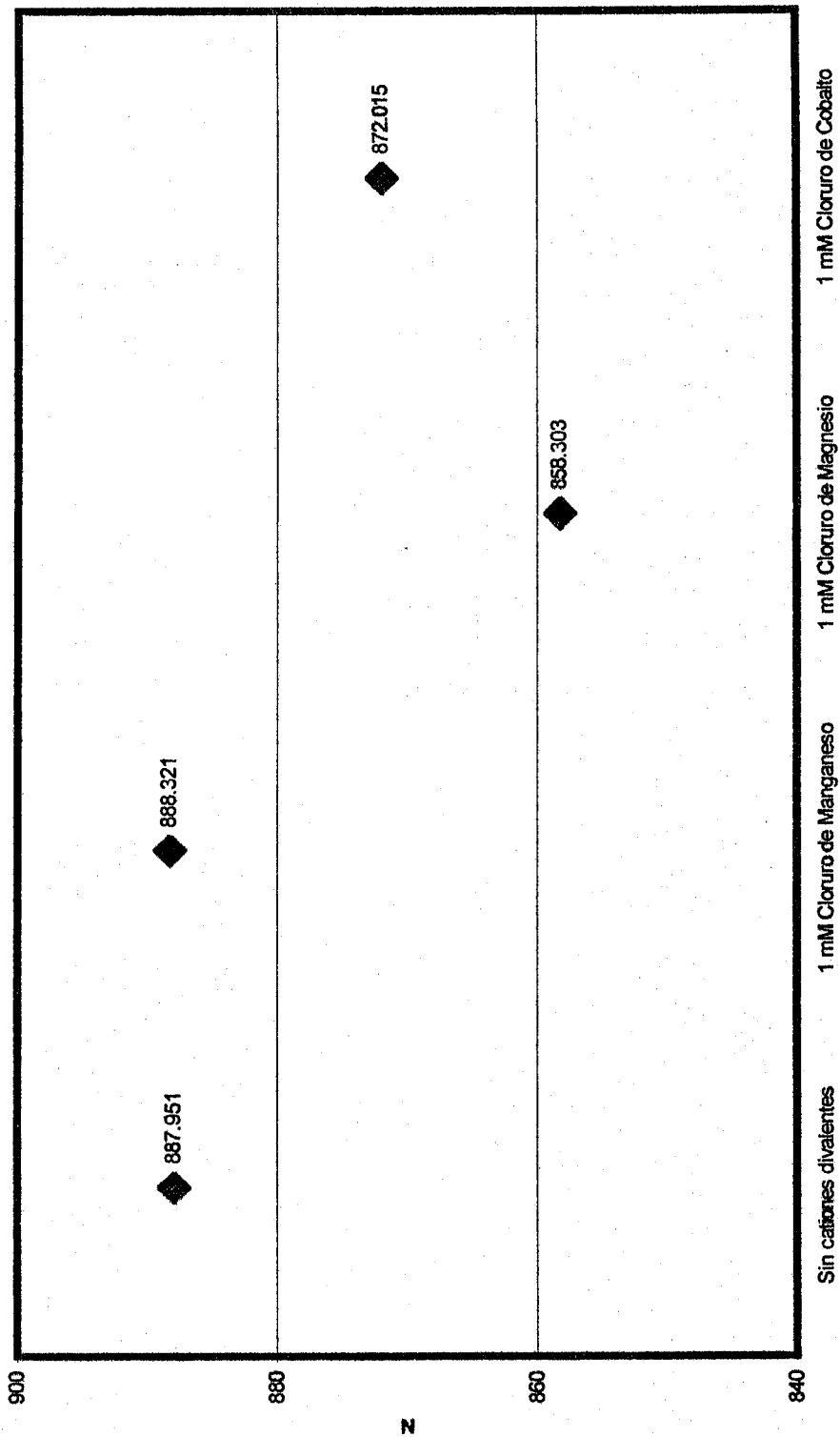
Tabla IV Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado enzimático agregando 1mM de Cloruro de Cobalto

No. de proceso	Resistencia a la tracción en urdimbre, Newton	Resistencia a la tracción en dirección de la trama, Newton	Resistencia al rasgado en urdimbre, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la trama, Newton	Peso de la lona Kg/m ²
25	862.750	631.498	62.171	58.258	0.468
26	876.092	640.392	65.107	54.834	0.465
27	809.384	653.733	56.301	57.279	0.470
28	800.490	662.628	56.790	52.388	0.469
29	849.409	671.522	56.301	53.366	
30	929.458	640.392	57.279	55.323	
31	876.092	693.758	58.258	59.725	
32	836.067	662.628	56.301	56.790	
33	862.750	671.522	54.834	59.236	
34	898.327	649.286	55.323	58.258	
35	911.669	680.416	57.769	54.344	
36	951.693	671.522	58.747	54.834	
Promedio	872.015	660.775	57.932	56.220	0.468
Total	10464.181	7929.297	695.181	674.635	1.872

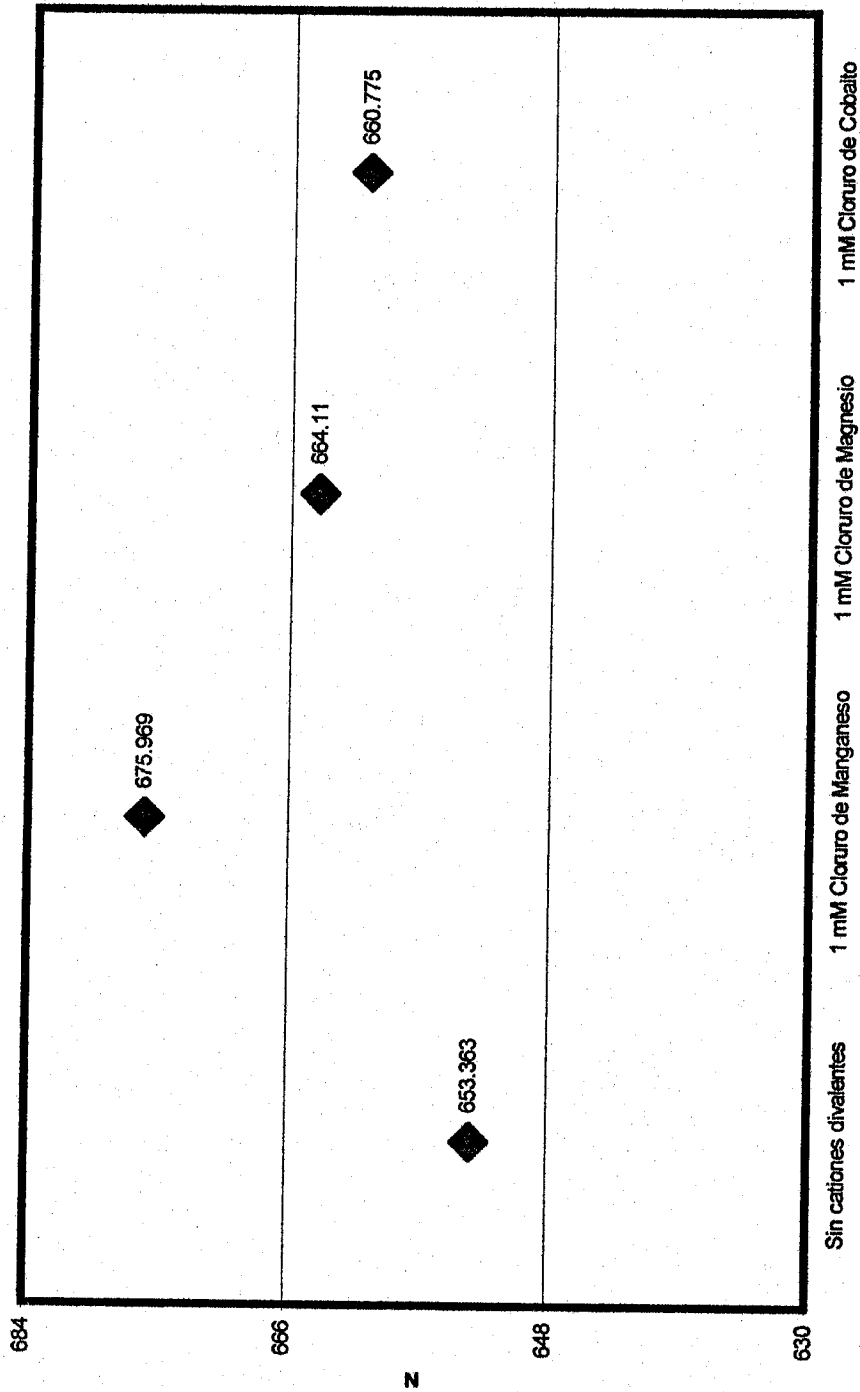
Tabla V Resultados de la resistencia a la tracción, rasgado y peso de la lona después del lavado enzimático sin utilizar cationes divalentes

No. de proceso	Resistencia a la tracción en dirección de la urdimbre, Newton	Resistencia a la tracción en dirección de la trama, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la urdimbre, Newton	Resistencia al rasgado en dirección de la trama, Newton	Peso de la lona Kg/m ²
37	884.986	693.758	59.725	56.790	0.466
38	898.327	649.286	54.834	56.790	0.466
39	889.433	689.311	64.128	58.747	0.458
40	836.067	582.579	56.790	53.366	0.461
41	822.726	640.392	57.769	53.855	
42	862.750	662.628	58.258	53.855	
43	858.303	702.652	56.301	60.704	
44	933.905	582.579	60.704	61.193	
45	965.035	613.709	58.258	58.747	
46	947.246	689.311	52.877	57.279	
47	907.222	671.522	54.344	57.279	
48	849.409	662.628	56.790	52.877	
Promedio	887.951	653.363	57.56	56.79	0.463
Total	10655.409	7840.355	690.778	681.484	1.852

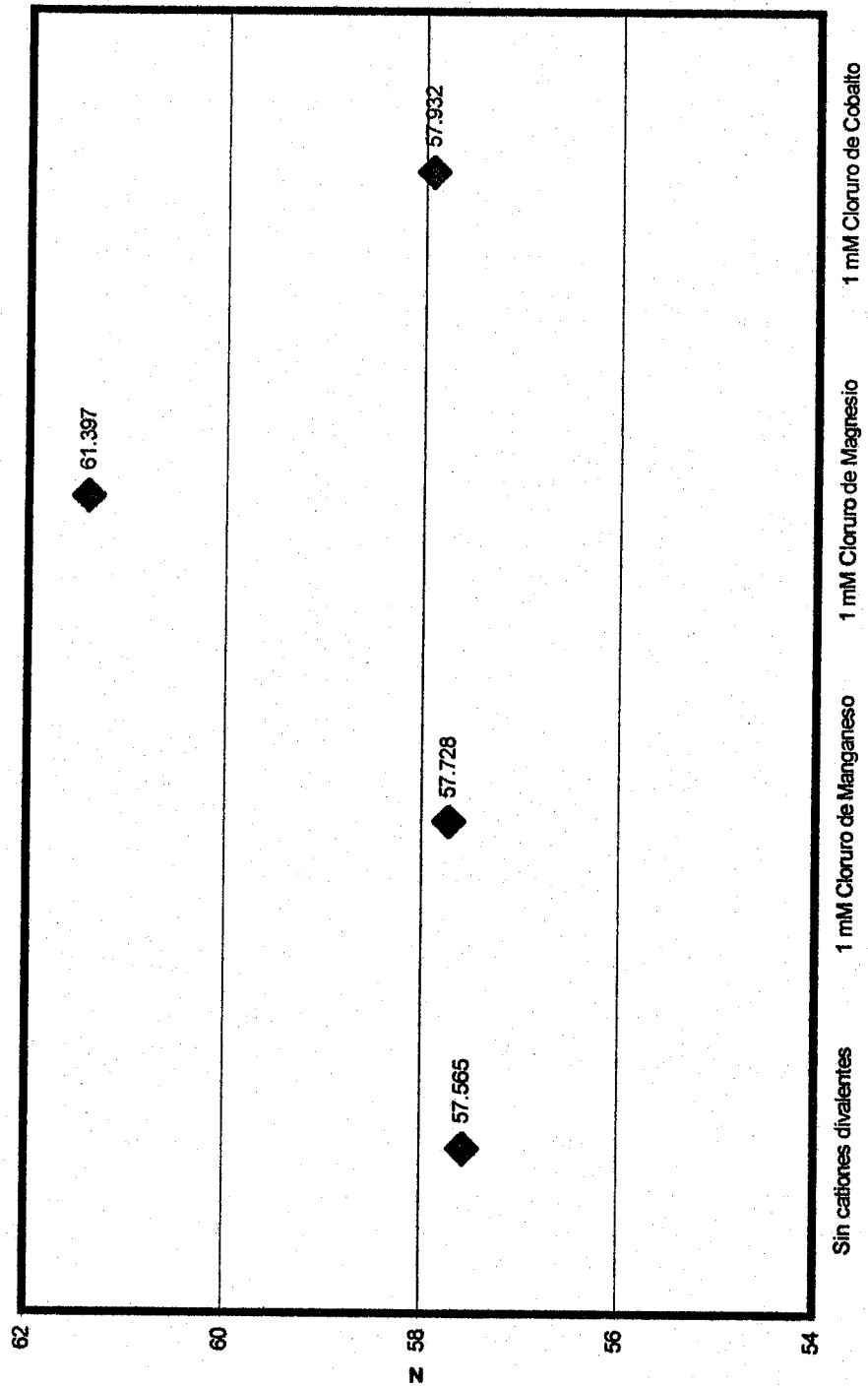
Gráfica 6. Comparación de las fuerzas de resistencia a la tracción de la lona en dirección de la urdimbre de los diferentes procesos evaluados



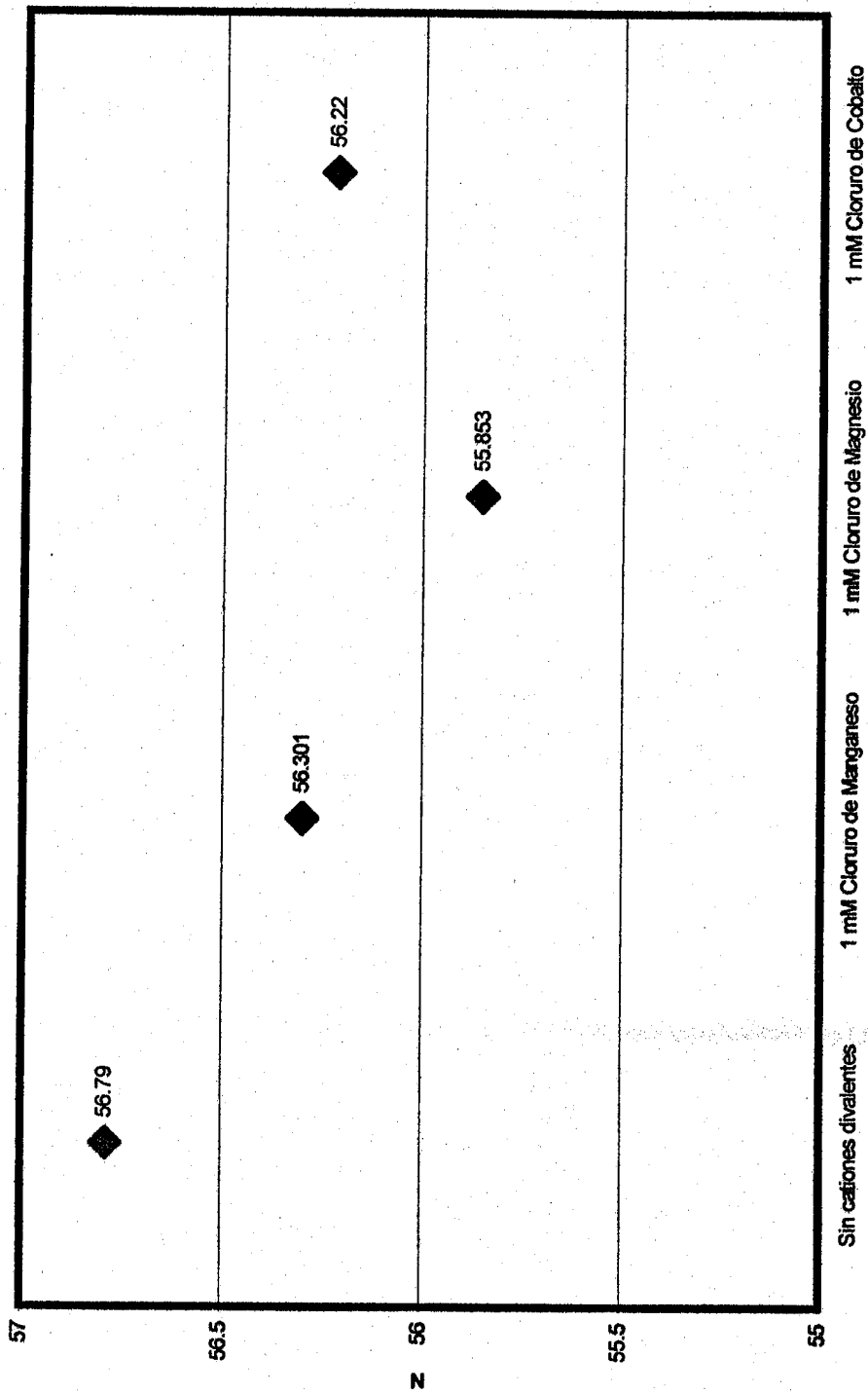
Gráfica 7. Comparación de fuerzas de resistencia a la tracción de la lona en dirección de la trama de los diferentes procesos evaluados



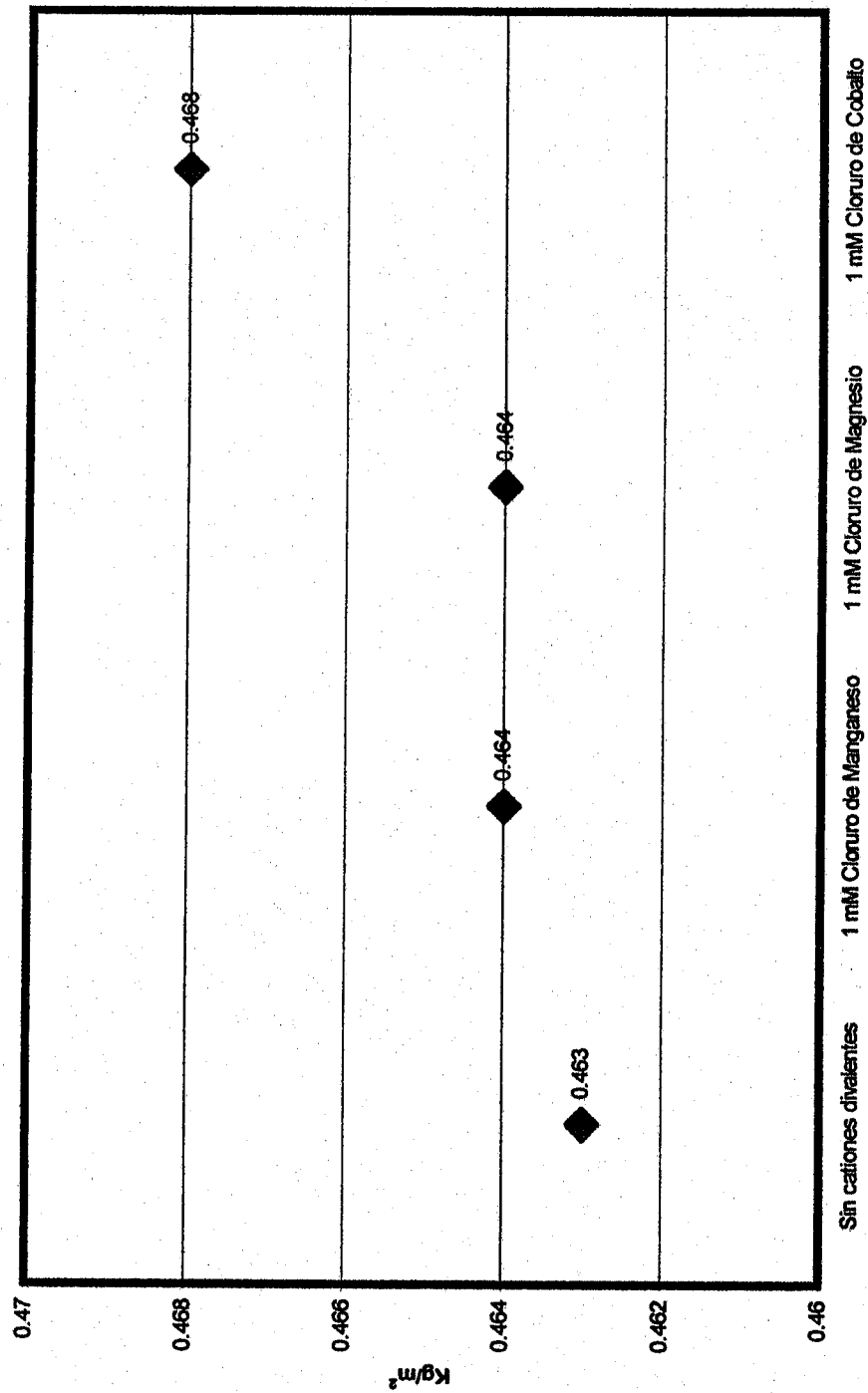
Gráfica 8. Comparación de las fuerzas de resistencia al rasgado de la lona en dirección de la urdimbre de los diferentes procesos evaluados



Gráfica 9. Comparación de las fuerzas de resistencia a la tracción de la lona en dirección de la trama de los diferentes procesos evaluados



Grafica 10. Comparación del peso de la lona en onzas/yarda cuadrada de los diferentes procesos evaluados



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El efecto de los cationes divalentes: manganeso, magnesio y cobalto; fue analizado por medio de lavados industriales con abrasión enzimática, utilizando iguales condiciones de proceso; es decir, la misma lavadora, cantidad de agua, cantidad de lona, tipo y cantidad de enzima (celulasa ácida modificada *T. reesei*), concentración de auxiliares de lavado, temperatura, pH y tiempo de proceso. En general, el mismo proceso, con la única variante en la utilización de los cationes antes mencionados, agregados en forma separada, a una concentración de 1 mM. Por otra parte, se realizó un proceso de lavado con abrasión enzimática sin agregar cationes; este proceso y los resultados que se obtuvieron se constituyeron los patrones de comparación para determinar el efecto de los cationes divalentes sobre el nivel de abrasión de las celulosas ácidas en la lona.

Para determinar el efecto de los cationes divalentes antes mencionados sobre el nivel de abrasión de la lona, se midieron las propiedades físicas de ésta, después de cada uno de los procesos de lavado con abrasión enzimática; con el fin de determinar el daño físico de las prendas, el cual se correlaciona directamente con la agresividad, desempeño y efecto de la enzima en el proceso. Al aumentar el efecto de la enzima, las propiedades físicas de las prendas disminuyen (Ref. 4). Este efecto se puede lograr por medio de un aumento en la concentración o cantidad de enzima en el baño, el tiempo total de tratamiento o creando las condiciones necesarias para su perfecto funcionamiento.

Los resultados obtenidos para cada una de las pruebas se resumen en las tablas II a la V y en las gráficas 6 a la 10, en donde se plotean los resultados de resistencia a la tracción en la dirección de la trama y la urdimbre, resistencia al rasgado en la dirección de la trama y urdimbre, y peso para cada una de las pruebas.

Para la prueba de lavado con abrasión enzimática con 1.0 mM de cloruro de manganeso se obtuvieron los valores más altos para la resistencia a la tracción de la lona en la dirección de la urdimbre (Gráfica 6) y para la resistencia a la tracción de la lona en la dirección de la trama (Gráfica 7). Para la resistencia al rasgado en ambas direcciones y para el peso, los valores se situaron cercanos al promedio.

Para la prueba de lavado con abrasión enzimática en presencia de 1.0 mM de cloruro de magnesio, hubo disminución en la resistencia a la tracción en dirección de la urdimbre (Gráfica 6), observándose el mismo efecto para la resistencia al rasgado en dirección a la trama (Gráfica 9). Sin embargo, este efecto de mejoramiento en el desempeño de la enzima, que mostró la utilización de cloruro de magnesio, se transformó en una situación contraria en pruebas restantes (Gráficas 7 y 8), en donde la prueba sin la presencia de cationes divalentes presentó los valores más bajos de resistencia física y en la gráfica 8 el cloruro de magnesio presentó los valores más altos de resistencia física.

Para el lavado con abrasión enzimático en presencia de 1.0 mM de cloruro de cobalto todos los valores se situaron cercanos a la media, excepto el peso, en donde presentó el valor más alto.

Variaciones de este tipo se encontraron para cada una de las pruebas, por lo que fue necesario realizar un análisis estadístico (Apéndice B), con el fin de comparar cada una de las pruebas contra un control. Se tomó como control el proceso de abrasión enzimática sin la adición de cationes divalentes. Se determinó que únicamente existe diferencia significativa entre el control y las pruebas con cationes divalentes para la utilización de cloruro de magnesio en la prueba de resistencia al rasgado en dirección de la urdimbre, en donde, de acuerdo a la gráfica 8, se obtuvo un aumento en la resistencia, lo cual indica que existe disminución en el nivel de abrasión producido. Para las pruebas restantes no existe diferencia significativa, es decir, no hay aumento o disminución de las propiedades físicas con respecto al control.

Estos resultados se deben a que las enzimas en general son catalizadores biológicos con gran especificidad y gran poder catalítico (Ref. 2). La especificidad las limita, únicamente, a un número determinado o a un único sustrato, al mismo tiempo, que la acción activadora de ciertos cofactores y coenzimas que son efectivos para algunas enzimas no lo son para otras.

En estudios anteriores in vitro (ver antecedentes) se ha encontrado que ciertos cationes metálicos tienen un efecto inhibitor o regulador de la actividad enzimática de las enzimas celulasas. Los estudios realizados no muestran una correlación directa entre el tipo de catión metálico y el efecto producido. Esto indica que dependiendo del tipo de enzima utilizada, el efecto regulador o inhibitor de ciertos cationes metálicos será diferente.

Por otro lado, los estudios anteriores (ver antecedentes) han sido realizados in vitro, en donde las condiciones y parámetros de análisis, y la interpretación de los resultados son diferentes a una prueba a nivel industrial.

En un análisis in vitro se utilizan sustratos puros o monocomponentes, como por ejemplo la carboximetilcelulosa, lo cual no ocurre en las pruebas realizadas, en donde el sustrato es lona teñida de color índigo. En un estudio a nivel laboratorio o in vitro, el sustrato, las condiciones de análisis y los métodos de medición son más exactos que en una prueba a nivel industrial; en donde el sustrato contiene impurezas y las técnicas de medición únicamente determinan el daño físico y la apariencia final de la prenda de algodón. En las pruebas realizadas no se observó una diferencia significativa entre las pruebas utilizando cationes divalentes respecto a la prueba sin presencia de éstos.

Por otro lado, se evaluó la apariencia visual de las pruebas de lavado con abrasión enzimática con presencia de cationes divalentes contra la prueba control no encontrándose diferencia en el nivel de abrasión entre éstas.

De acuerdo a lo anterior no existe diferencia significativa entre la resistencia física y apariencia visual de las prendas de algodón tratadas con la enzima celulasa ácida modificada *T. reesei* en presencia de los cationes manganeso, magnesio y cobalto con respecto al control (prueba de lavado con abrasión enzimática sin presencia de cationes), únicamente para el lavado con abrasión enzimática con 1.0 mM de cloruro de magnesio, en donde se obtuvo un aumento en la resistencia física para el rasgado en la dirección de la urdimbre, lo cual indica una disminución en el nivel de abrasión.

CONCLUSIONES

1. La presencia de los cationes manganeso, magnesio y cobalto, en concentraciones de 1.0 mM, agregados individualmente en un proceso de lavado con abrasión enzimática utilizando la enzima celulasa ácida modificada *T. reesei*, no produce disminución en las propiedades físicas de las prendas de algodón tratadas, con respecto a un patrón tratado en un proceso sin presencia de cationes.
2. No existe diferencia significativa en la apariencia visual de las prendas tratadas en un proceso de lavado con abrasión enzimática utilizando la enzima celulasa ácida modificada *T. reesei*, en presencia de los cationes manganeso, magnesio y cobalto, comparado a un proceso sin presencia de cationes.

RECOMENDACIONES

- 1. En vista de los resultados obtenidos en este estudio no se deben utilizar los cationes manganeso, magnesio y cobalto como cofactores enzimáticos de la celulasa ácida modificada *T. reesei*, en los procesos de lavado con abrasión enzimática.**
- 2. Realizar estudios a nivel laboratorio para evaluar el efecto de cationes manganeso, magnesio y cobalto sobre la enzima celulasa ácida modificada *T. reesei*.**
- 3. Continuar con el estudio del efecto de los cationes divalentes en el nivel de abrasión producido por las celulasas en prendas de algodón, abarcando gran número de cationes divalentes a diferentes concentraciones y diferentes tipos de enzimas celulasas.**
- 4. Ampliar el estudio de los cofactores enzimáticos determinando el efecto de cofactores no metálicos como hormonas, surfactantes, agentes reductores, etc., en procesos de lavado con abrasión enzimática.**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Universidad Autónoma de México, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica. **Ensayos de bioquímica, enzimas.** (México: Impreso en Talleres Gráficos de la Facultad de Medicina, U.N.A.M., 1990), pp. 1-15.
2. Lehninger, et. al. **Principles of biochemistry.** (2ª. ed. Estados Unidos: Editorial Worth Publishers, 1993), pp. 199
3. Kent Plowman M. **Enzyme kinetics.** (Estados Unidos: Editorial Mc. Graw Hill, 1972), pp. 5
4. Elwin T. Resse. **Advances in enzimic hidrólisis of cellulosa and related materials.** (Gran Bretaña: Editorial Pergamon Press, 1963), pp. 5, 6, 90.
5. Paul D. Boyer. **The enzymes.** (3ª. ed. Estados Unidos: Editorial Academic Press Inc., 1971), pp. 306
6. Boyce, C.O.L. **Novo's handbook of practical biotechnology.** (2ª. ed. Inglaterra: s.p.i., 1986), pp. 63-91, 77-81.
7. Cantarrow, et. al. **Biochemistry.** (3ª. ed. Estados Unidos: Editorial W.B. Sauders Company, 1962), pp. 24, 233.

BIBLIOGRAFÍA

1. **GODFREY & REICHEL**. **Industrial enzymology**. Estados Unidos: Editorial Stockton Press, 1983.
2. **MATHEUS, Christopher K. et. al.** **Biochemistry**. Estados Unidos: Editorial Cumminings Publishing Company, Inc., 1990.
3. **WISEMAN, Alan.** **Topics in enzyme and fermentation biotechnology**. Inglaterra: Editorial Ellis Horwood Limited, 1993

APÉNDICE

Apéndice A. Método de investigación

Recursos materiales

1. Materia prima

Lona o mezclilla de 13.5 onzas/pie². 100% algodón color indigo.

2. Reactivos

- Auxiliar de desengome, Desize - K
- Surfactante no ionico a base de alcoholes etoxilados.
- Enzima α -amilasa termoestable, Amilase-K.
- Potenciador de enzimas amilasas, Enz-Cof.
- Enzima multicomponente celulasa ácida, *T. reesei* modificada.
- Agente limpiador alcalino, Clean Up.
- Trietanolamina
- Cloruro de Magnesio hexahidratado Merck. 99.0 - 101.0% de pureza.
- Cloruro de Manganeso 4-Hidrato. J.T. Baker. 99.0 % de pureza.
- Cloruro de Cobalto 6-Hidrato. J.T. Baker.
- Solución Amortiguadora de acetatos, pH 5.5.

Equipos

1. Equipo de lavandería

- Lavadora para pruebas Uni Wash. Modelo No. UW125R4. Capacidad 85 libras. Fabricante Uni Mac Co., Inc.
- Extractora Tupesa. Tipo TC-71-H
- Secadora Industrial

2. Equipo de laboratorio

- Razgómetro Heavy Duty Elmendorf. Fabricante Thwing-Albert Instrument Company.
- Tensómetro. Fabricante Scott Testers, Inc. Universal Wear Tester. Modelo CS22. Fabricante: Atlas Electric Devices Company.
- Escala de Grises para evaluación de Cambio de Color. ISO Estándar Internacional R105/I, Parte 2. AATCC
- Balanza Analítica.

Descripción del método

Preparación de las prendas antes del proceso de lavado enzimático:

- a. Acondicionamiento:** las prendas se introducen a la lavadora con una relación de peso de prendas : peso de agua, de 1 : 10. Se agrega el un compuesto auxiliar de desengome, el cual contiene agentes lubricantes, humectantes y surfactantes para permitir que el agua penetre en las fibras, además, que permita que las fibras se lubriquen y evitar la formación de rayas o dobleces indeseables en la prenda durante el desengome.
- b. Desengome:** para el proceso de desengome se utiliza enzima amilasa, Amilase-K, un auxiliar de desengome, Desize - K y un potenciador de la actividad enzimática de la amilasa, Enz - Cof. El relación de peso de prendas : agua utilizado es de 1 : 10.

- c. Lavado: al final se realiza un lavado con agua a 25 grados Celsius durante 3 minutos, con un relación de peso de prendas : agua de 1:12.

Nota: después de cada uno de los pasos antes mencionados se drena el agua de la lavadora.

- d. Fórmula de lavado:

Operación	Condición		Químicos	% peso	PH	Observaciones
Acondicionamiento	Agua (relación)	1:10	Desize - K	3	6-7	
	Temperatura	60 °C				
	Tiempo	5 min				
Drenar						
Desengome	Agua (relación)	1:10	Amilase - K	3	7.0	
	Temperatura	60°C	Desize - K	2		
	Tiempo	20 min	Enz - Cof	1		
Drenar						
Lavado o Enjuague	Agua (relación)	1:12				
	Temperatura	25°C				
	Tiempo	2 min				
Drenar						

El porcentaje en peso de los químicos se calcula en base al peso total de las prendas.

Lavado enzimático

- a. Abrasión: en este paso las prendas son sometidas a la acción de la enzima. Durante el paso de la abrasión se tiene un estricto control de la temperatura y pH. Para la regulación del pH se utiliza solución amortiguadora de Acetatos con un pH de 5.5. La temperatura es fijada al inicio del proceso. Hasta que las condiciones del medio son las óptimas, la enzima es agregada al baño. En este paso son agregados las sales de los cationes divalentes.

- b. **Desactivación:** este paso consiste en desactivar la enzima por medios físicos o químicos. Para la desactivación se realiza un lavado con detergente alcalino y trietanolamina a 70 °C y un pH mayor de 10. Estas condiciones de pH y temperatura garantizan la desnaturalización de la enzima y su desactivación. La relación de peso de prendas : agua utilizada es de 1:8.
- c. **Lavado:** se realizan dos lavados a 70°C para limpiar los residuos de índigo y otras impurezas depositadas sobre la tela. La relación de peso de prendas : agua utilizada es de 1:12.
- d. **Fórmula de lavado**

Operación	Condición		Químicos	% peso	pH	Observaciones
Abrasión	Agua (Rango)	1:10	Enzima Celulasa acida	0.3	5.5	Verificar el pH y tem-
	Temperatura	50 °C	Buffer de Acetatos	4.00		Peratura antes de
	Tiempo	45 min	Surfactante no Ionico	2.00		Agregar la enzima.
			Mezcla de Cationes			
Drenar						
Desactivación	Agua (Rango)	1:10	Clean Up	2.0	>10	
	Temperatura	70°C	Trietanolamina	0.5		
	Tiempo	10 min				
Drenar						
Lavado o Enjuague	Agua (Rango)	1:12				
	Temperatura	70°C				
	Tiempo	3 min				

El porcentaje en peso de los químicos se calcula en base al peso total de las prendas.

Extracción y secado

Después de ser sometidas las prendas al proceso de biolavado industrial son extractadas durante 2 minutos. Posteriormente, son secadas con aire caliente por 30-45 minutos a una temperatura de 65-100°C.

1.2 Estadística

Para probar la hipótesis nula contra la hipótesis alternativa bilateral para una situación experimental en la cual existen k tratamientos, sin incluir el control, y n observaciones por tratamiento, primero se calculan los valores:

$$d_i = \frac{y_i - y_o}{\sqrt{(2s^2/n)}}, \quad i = 1, 2, \dots, k$$

La varianza muestral s^2 se obtiene del cuadrado medio del error en el análisis de varianza.

El régimen crítico para rechazar H_0 , a nivel de significancia α , se establece por la desigualdad

$$|d_i| > d_{\alpha/2}(k, v)$$

donde v es el número de grados de libertad para el cuadrado medio del error.

La suma de cuadrados del error se puede calcular directamente a partir de la fórmula

$$SSE = \sum_{i=0}^k \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \sum_{j=0}^k T_j^2 / n$$

2. Resultados

De esta forma, al comparar con los valores absolutos de los datos obtenidos para los tratamientos, se concluye que no existe diferencia significativa para la utilización de los cationes divalentes cobalto, magnesio y manganeso en concentraciones de 1.0 mM, para las pruebas de peso y resistencia a la tracción, con respecto al control (proceso sin la adición de cationes divalentes).

Por otro lado, para el caso de la resistencia al rasgado, no existe diferencia significativa con respecto al control (proceso sin la adición de cationes divalentes) para el caso de 1.0 mM de cobalto y 1.0 mM de manganeso, mientras que si se encontró diferencia significativa para 1mM de magnesio.

Los resultados son expuestos en las tablas siguientes:

Tabla VI . Resultados del análisis estadístico

		Peso		Resistencia a la tracción en dirección de la trama		Resistencia a la tracción en dirección de urdimbre	
Tratamiento		Valor	Resultado	Valor	Resultado	Valor	Resultado
1 mM Cloruro de Cobalto	$ d_1 $	-0.46	$ d_1 < 2.68$	-0.580	$ d_1 < 2.44$	0.729	$ d_1 < 2.44$
1 mM Cloruro de Magnesio	$ d_2 $	-0.01	$ d_2 < 2.68$	-0.842	$ d_2 < 2.44$	1.357	$ d_2 < 2.44$
1 mM Cloruro de Manganeso	$ d_3 $	-0.01	$ d_3 < 2.68$	-1.771	$ d_3 < 2.44$	-0.017	$ d_3 < 2.44$
SSE		1.90E-3		35173.29		103115.89	
S^2		1.59E-4		2864.33		977.04	
$d_{0.025}(3,36)$		$d_{0.025}(3,12) = 2.68$		2.44		2.44	

Tabla VII. Resultados del análisis estadístico

		Resistencia al rasgado en dirección de la trama		Resistencia al rasgado en dirección de la urdimbre	
Tratamiento		Valor	Resultado	Valor	Resultado
1 mM Cloruro de Cobalto	$ d_1 $	0.422	$ d_1 < 2.44$	-0.26	$ d_1 < 2.44$
1 mM Cloruro de Magnesio	$ d_2 $	0.70	$ d_2 < 2.44$	-2.67	$ d_2 > 2.44$
1 mM Cloruro de Manganeso	$ d_3 $	0.36	$ d_3 < 2.44$	-0.12	$ d_3 < 2.44$
SSE		394.08		446.89	
S^2		10.95		12.41	
$d_{0.025}(3, 36)$		2.44		2.44	

ANEXO

Anexo 1. Procedimientos y métodos de pruebas físicas

Prueba del peso de la tela

1. Propósito

Este procedimiento determina el peso en kilogramos por metro cuadrado de prendas procesadas.

2. Aparatos

- 1 Balanza que lea con una exactitud de 0.01g
- 2 Molde cuadrangular de 152.4 mm x 152.4 mm (6" x 6")

3. Preparación del espécimen

Acondicionar el espécimen por un mínimo de 4h bajo condiciones controladas de temperatura ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($65 \pm 2\%$).

4. Preparación del equipo

- 1 Poner en cero la balanza.
- 2 Pesar el espécimen en gramos.

5. Cálculos

El peso de la tela en Kg/m^2 se obtiene multiplicando la lectura obtenida en gramos de la balanza analítica por 0.001 y dividiendo este dato entre el área de la plantilla utilizada.

$$\text{Area de la plantilla} = 0.1524 * 0.1524 = 0.01911 \text{ m}^2$$

$$\text{Peso de tela Kg/m}^2 = (\text{peso en gramos}) * 0.001 / 0.01911$$

6. Referencias

- 1 El contenido de este texto para esta prueba es una traducción al Español de "Weight of fabrics based on ASTM D3776-90" el cual constituye el método 21-95 de Levi Strauss & Co.. El original del mismo se encuentra en LSNA Physical Testing Laboratory, Certification Manual Pág. VI-14.0
- 2 Libro anual de Estándares de la ASTM, vol. 07.02, "Standard test method for mass per unit area (weight) of fabric" Pág. 85, Método 3776-96.
- 3 Norma Mexicana D.G.N.A. - 72 - 1964, "Prueba del peso por metro cuadrado de la tela de la prenda"

Determinación de la resistencia a la tracción, método Grab

1. Propósito

Esta prueba es para determinar la fuerza efectiva de una tela durante su uso, esto es, la fuerza de los hilos de una anchura específica junto con la fuerza adicional contribuida por los hilos adyacentes.

2. Aparatos

a. Máquina de prueba para el rasgado(CRE ó CRT)

- Dinamómetro Instron Modelo 1130 (o similar) con velocidad de cabeza cruzada de 12 ± 0.5 pulg/min (305 ± 10 mm/min)
- Dinamómetro de péndulo o de desplazamiento constante, Scott Tester modelo J con velocidad cruzada de 305 ± 10 mm/min (12 ± 0.5 pulg/min).
- Ambos aparatos tienen mordazas de 1X1" recubiertas como parte frontal y mordazas de 3X1" en la parte posterior. Pueden usarse mordazas anchas para disminuir el resbalamiento de la tela.

3. Preparación del espécimen

- #### **a.**
- Se preparan tres especímenes en cada dirección, urdimbre y trama. Se corta cada espécimen de 100 ± 1 mm (4") de ancho por al menos 150 mm (6") de largo con el lado más largo paralelo al sentido de los hilos o bien en la dirección que se va a ejercer la fuerza. Se dibuja una línea a 37 mm (1.5") desde la orilla del espécimen paralela a la dirección de prueba la cual se usará para centrar el espécimen en las mordazas. Dos especímenes paralelos no deben de contener el mismo grupo de hilos, ni en urdimbre ni en trama. Los especímenes no deben de ser cortados muy cerca de la

orilla. En lugar de cortar tres especímenes sencillos, puede cortarse un espécimen continuo de 300mm (12") por mínimo 150mm (6") en cada dirección.

4. Procedimiento:

- 1 Todos los especímenes de prueba deben acondicionarse en un período apropiado dependiendo del contenido de las fibras en la tela.
- 2 Preparar el aparato verificando que este en el cero de la escala antes de cada serie de pruebas. Verificar la distancia entre las mordazas semanalmente, para asegurar que la distancia entre ellas no varíe. Tal distancia es de $76 \pm 1 \text{ mm}$ ($3 \pm 0.05"$).
- 3 Seleccionar el rango de carga tal que el rompimiento ocurra entre 10 y 90% de la escala
- 4 Insertar el espécimen de prueba en las mordazas tal que la línea dibujada en la muestra corra paralelamente a la dirección de la prueba, la línea deberá estar adyacente al lado izquierdo entre la mordaza superior e inferior.
- 5 Operar la máquina y leer la carga de ruptura. Si el espécimen se rompe a la altura de las mordazas, si se resbala o si el resultado cae marcadamente por abajo de los demás, se desecha el resultado y se toma otro espécimen.
- 6 El criterio de rompimiento en la mordaza es que no ocurra dentro de los 5 mm cercanos a la mordaza lo cual resulta en un valor 50% abajo del promedio de los demás.

5. Reporte

Reportar el promedio de tres especímenes en cada dirección (urdimbre y trama), redondeando a la unidad de libra más cercana.

6. Referencias

- 1 Libro anual de Estándares de la ASTM, "Standard Test Method for Breaking Strength and Elongation of Textile Fabrics (Grab Test) D5034-95" Vol 07.02, Pág. 674
- 2 Norma Mexicana "Determinación de la resistencia a la Tracción y Alargamiento de las Telas" NOM-A-59-1964.
- 3 LSNA Physical Testing Laboratory, Certification Manual, "Tensile Strength/Breaking Load - Grab Method / ASTM D5034-95" pág VI-13.0

Prueba de resistencia al rasgado

1. Propósito

Este método determina la fuerza promedio necesaria para propagar una ruptura sencilla, a partir de un corte en la tela por medio de una columna de péndulo Elmendorf.

2. Aparatos

- 1 Columna de péndulo de descenso libre tipo Elmendorf modelo para trabajo pesado (Heavy Duty).
- 2 Pesos de Calibración
- 3 Moldes de corte y tijeras
- 4 Regulador de Presión de aire de entre 60 y 90 psi para mordazas neumáticas

3. Preparación del espécimen

- 1 Cortar tres especímenes en cada dirección, utilizando el molde.
- 2 Para el grupo del urdimbre, se orienta el lado más corto del espécimen a los hilos de trama tal que sean aquellos los rasgados y no éstos.
- 3 La dimensión crítica del espécimen es la distancia de $43 \pm 0.15\text{mm}$ la cual será rasgada durante la prueba.

4. Preparación del aparato

- 1** Seleccionar la capacidad del aparato tal que el rasgado ocurra entre el 20% y el 80%.
- 2** Verificar la alineación de la navaja, como se describe en el procedimiento de calibración.
- 3** Para las mordazas neumáticas, la presión debe de estar entre 60 y 80 psi.

5. Procedimiento:

- 1** Los especímenes de prueba deben acondicionarse apropiadamente de acuerdo al contenido de la fibra.
- 2** Levantar el péndulo a su posición de comienzo.
- 3** Colocar el espécimen entre ambas mordazas de tal forma que quede perpendicular a las mismas y procurando que el cuadro medio del espécimen quede centrado entre ambas; ciérrense las mordazas usando el dispositivo para ello. Los hilos a ser rasgados quedarán perpendicular a las mordazas.
- 4** Con la cuchilla, efectuar un corte de 20 ± 0.15 mm en el borde inferior del espécimen. La distancia a ser rasgada deberá de ser de 43 ± 0.15 mm.
- 5** Soltar el péndulo oprimiendo a fondo el botón liberador y deténgase al final de su carrera, después de que se efectuó el rasgado.
- 6** Tomar la lectura donde se encuentre la aguja indicadora lo más cercano a la siguiente división.

- 7 Cuando el espécimen resbala de las mordazas o cuando el rasgado se desvía 6 mm desde el corte hasta el final entonces la lectura obtenida no se toma en cuenta.

6. Reporte

Reportar la fuerza promedio en gramos, newton o libras fuerza necesaria para el rasgado del espécimen en cada dirección.

7. Referencias

- 1 Libro anual de Estándares de la ASTM, "Standard Test Method for Tearing Strength of Fabrics by Falling-Pendulum Type (Elmendorf) Apparatus D1424-96" Vol 07.02, Pág. 373
- 2 Norma Mexicana "Método de Prueba para determinar la resistencia al rasgado - Método del péndulo de descenso libre" INNTEX-NMX-A-109-1995
- 3 LSNA Physical Testing Laboratory, Certification Manual, "Tearing Resistance of Textile Fabrics / ASTM D1424-96" pág VI-12.0