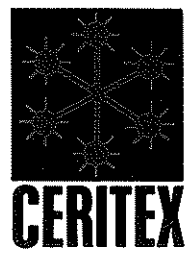


DESDE
1959
AL
SERVICIO
DE LA
INDUSTRIA
TEXTIL

revista de la INDUSTRIA TEXTIL



ORGANO OFICIAL DE LA CAMARA DE DIRECTIVOS, TECNICOS Y ADMINISTRATIVOS DEL ARTE TEXTIL

N.º 355

PRECIO DE ESTE EJEMPLAR
1.000,- PESETAS

FEBRERO 1998

TECNOPLAST

Tecnoplast S.r.l. 20051 Limbate (MI)
Stabilimento: Via dell'Arigianato, 3
Tel. 02/99.61.894 - Fax 02/99.61.921
Internet: WWW.DARITALIA.COM

TECNOMATIC UNA INVERSION
LIMITADA PARA REDUCCION
DE LOS COSTOS DE
PRODUCCION



Carros giratorios
porta tejidos

**Dosificacion
de productos
auxiliares
y quimicos**

CAMPOS DE EMPLEO:
Jigger - Jet - Autoclaves -
Mercerizacion - Armario de madejas
- Fulard - Autoclaves de tintura de
hilo - Floca - Tops

Representante para España:
Alberto Benguerel Coll Bolivia, 239-5-08020- Barcelona
Telefono: 93/266.01.22 Fax-93/266.06.02

Aplicación de liposomas multilamelares incluyendo colesterol como carriers de colorantes de complejo metálico 1:2 en la tintura de la lana

*A. de la MAZA, **A.M. MANICH, *L. CODERCH, ***S. SERRA y *J.L. PARRA

* Departamento de Tensioactivos

** Ecotecnologías - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.)
Centro de Investigación y Desarrollo (C.I.D.)

*** Serra, Tints i Blanqueig, S.A., Reina Elionor, 49, 08025 Sabadell, Spain.

PALABRAS CLAVE

- Tintura de la lana
- Liposomas multilamelares
- Fosfatidilcolina
- Colesterol
- Cinéticas de tintura
- Adsorción y fijación del colorante
- Suavidad de las muestras teñidas

CORRESPONDENCIA:

- Dr. A. de la Maza
Departamento de Tensioactivos
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.)
Centro de Investigación y Desarrollo (C.I.D.)
c/ Jorge Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain
Tel. (34-3) 400 61 00
Fax (34-3) 204 59 04

RESUMEN. Se ha investigado el uso de liposomas multilamelares (MLV) de tamaño definido (400 nm) conteniendo cantidades crecientes de colesterol (CH) como vehículos de colorantes de complejo metálico 1:2 en la tintura de la lana. Se utilizaron liposomas preparados a partir de fosfatidilcolina de huevo (PC) conteniendo el colorante C.I. Acid Yellow 129 a relaciones molares PC:CH comprendidas entre 10:0 y 6:4. La concentración total de lípidos en liposomas y la concentración de colorante permanecieron constantes con valores de 1.25 mM y 1% sobre peso de fibra respectivamente. La estabilidad física de estos sistemas fue determinada midiendo la distribución media de tamaños de los liposomas después de preparación y durante el proceso de tintura. Se investigaron asimismo aspectos cinéticos relacionados con la adsorción y de la unión del colorante a las muestras de lana virgen teñidas por medio de liposomas. Este proceso condujo a un agotamiento controlado del colorante sobre la fibra de lana, que fue dependiente de la composición lipídica de los liposomas. Cantidades crecientes de CH en las bicapas dieron lugar a un progresivo aumento tanto del agotamiento del colorante sobre la fibra de lana como de la cantidad total de colorante unido a esta fibra. Asimismo, se mejoraron tanto las propiedades de difusión del colorante en las fibras de lana como la suavidad de las muestras teñidas.

ABSTRACT. Studies on the use of multilamellar lipid vesicles (MLV) of defined size (400 nm) containing increasing amounts of cholesterol (CH) as carriers of a 1:2 metal complex dye to untreated wool fibers are described. We investigated liposomes made from egg phosphatidylcholine (PC) containing the C.I. Acid Yellow 129 dye (weakly polar 1:2 metal complex dye) at PC:CH molar ratios ranging from 10:0 to 6:4. The total lipid concentration of liposomes and the dye concentration remained constant (1.25 mM and 1% o.w.f. respectively). The physical stability of these systems was assessed by measuring the mean vesicle size distribution of the vesicle suspensions after preparation and during the dyeing process. Kinetic aspects involving dye adsorption and bonding on untreated wool samples by means of these liposomes were also investigated. This process led to the controlled exhaustion of dye in wool samples, which was dependent on the liposome lipid composition. Increasing amounts of CH in bilayers resulted in a progressive rise in both the dye exhaustion and in the total amounts of dye bonded to wool fibers. The diffusion properties of wool fibers as well as the smoothness of the dyed samples given as a measure of the handle of dyed fabrics, were also improved.

ABREVIACIONES

- CMC, cell membrane complex
- PC, fosfatidilcolina
- CH, colesterol
- TEM, microscopía electrónica de transmisión
- MLV, vesículas multilamelares
- TLC-FID, cromatografía en capa fina asociada a un detector de ionización de llama
- C_b, porcentaje relativo de colorante fijado a la fibra (%)
- C_a, cantidad de colorante absorbido (agotamiento del colorante dado en mg colorante/gr lana)
- C_e, cantidad total de colorante extraído con etanol y amoníaco (mg colorante/gr lana)

ABBREVIATIONS

- CMC, cell membrane complex
- PC, phosphatidylcholine
- CH, cholesterol
- TEM, transmission electron microscopy
- MLV, multilamellar vesicles
- TLC-FID, thin-layer chromatography/flame ionization detection
- C_b, relative percentage of bonded dye (%)
- C_a, amount of absorbed dye (dye exhaustion given in mg dye/g wool)
- C_e, total amount of extracted dye with pure ethanol and ammonia solution (mg dye/g wool)

INTRODUCCION

Las fibras de lana merino contienen aproximadamente el 1% en peso de lípidos, siendo el colesterol (CH) uno de los componentes más importantes (1-3). Estos lípidos forman la barrera hidrofóbica del «Cell Membrane Complex» (CMC) y están estructurados en dos bicapas lipídicas similares a aquellas existentes en las membranas del estrato córneo de la piel, las cuales son capaces de formar estructuras múltiples de bicapa (4). Se cree que las propiedades de tintura de la lana y la difusión de los colorantes a través de sus fibras están gobernadas por la estructura lipídica de los espacios intercelulares del CMC que pueden actuar como «disolventes» de reactivos químicos textiles de naturaleza hidrofóbica (5). La microscopía electrónica de transmisión ha evidenciado que en general los colorantes difunden preferencialmente a través de regiones como el CMC (difusión intercelular) que a través de células cuticulares (difusión transcelular) (6).

En general, el tipo de interacción de los colorantes de complejo metálico 1:2 con las fibras de lana ha sido poco estudiado. En estos colorantes el átomo metálico está completamente coordinado con los dos ligandos del colorante y, en consecuencia, no es posible la coordinación de los iones metálicos del colorante con ligandos tales como los grupos amino o carboxilo de la fibra. En consecuencia, las interacciones hidrofóbicas entre el colorante y las regiones hidrofóbicas de la fibra son importantes en cuanto a la substantividad del colorante (7).

En la última década, se han desarrollado numerosas investigaciones usando diferentes «vehículos» capaces de reducir el efecto degradativo que se produce en la tintura convencional de la lana. Así, la tecnología de microencapsulación ha producido una serie de innovaciones utilizando los principios básicos del «targeting», difusión controlada y protección de esta fibra (8). La potencial aplicación de liposomas como «carriers» en el acabado de la lana se basa en los siguientes aspectos (a) la similaridad existente entre la estructura de bicapa de la CMC y la de los liposomas, (b) el importante papel que juega el CMC en el transporte de reactivos químicos al interior de la fibra y (c) la relevante importancia de las interacciones hidrofóbicas en la organización estructural de la lana. En este sentido, los liposomas hechos con fosfatidilcolina (PC) o conteniendo lípidos presentes en el CMC tales como el colesterol, han sido usados con éxito como vehículos de soluciones acuosas de cloro en procesos de coloración de la lana (9,10). Estas aplicaciones dieron lugar a una mejora tanto en la regularidad como en la homogeneidad de estos tratamientos oxidativos, minimizando la degradación de la lana y facilitando los tratamientos sucesivos del procesado de la misma. Se ha investigado

asimismo el uso de liposomas como vehículos de colorantes comerciales de tipos ácido y disperso en la tintura de la lana (11-13).

En el presente estudio se extienden estas investigaciones analizando el efecto causado por el uso de liposomas conteniendo CH en la tintura de lana virgen utilizando el colorante de complejo metálico 1:2 C.I. Acid Yellow 129, extensamente usado en la industria de la lana. A tal fin, se ha estudiado la estabilidad de los liposomas multilamelares conteniendo este colorante a diferentes relaciones molares PC:CH, permaneciendo constante la concentración tanto del colorante como de los lípidos constituyentes de los liposomas. Esta aplicación ha sido estudiada prestando principal atención a los aspectos cinéticos de adsorción y fijación del colorante a las fibras de lana.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Se utilizó género de punto de lana tipo Botany (R64/2 tex count 2/28). Las muestras de lana fueron extraídas en Soxhlet durante 2 horas con cloruro de metileno, lavadas con agua Milli-Ro (Millipore) y secadas a temperatura ambiente. Se utilizó el colorante comercial de complejo metálico 1:2 Amarillo Irgalan 2GL KWL (C.I. Acid Yellow 129) suministrado por Ciba-Geigy. Su estructura química se indica en la **Figura 1**.

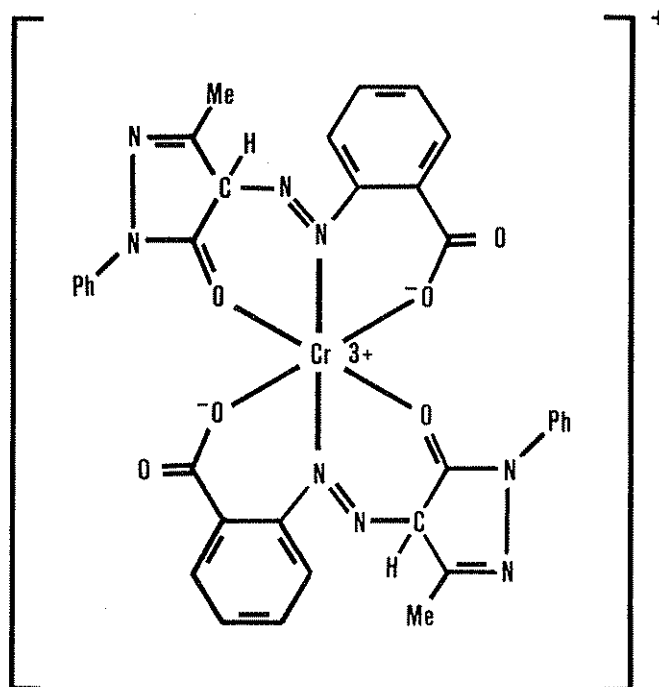


FIGURA 1. Estructura química del colorante de complejo metálico 1:2, Amarillo Irgalan 2GL KWL (C.I. Acid Yellow 129)

La fosfatidilcolina (PC) utilizada se purificó a partir de lecitina de huevo (Merck, Darmstadt, Germany) según el método descrito por Singleton (14) y se analizó su pureza por cromatografía en capa fina (TLC). El colesterol (CH) fue suministrado por Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Los lípidos utilizados se guardaron disueltos en cloroformo en atmósfera de nitrógeno y a -20°C hasta su uso. Las membranas de policarbonato de 400 y 800 nm utilizadas para la extrusión de los liposomas fueron suministradas por Nucleopore (Peasanton, CA).

El tensioactivo no-iónico Triton X-100 (octifenol polietoxilado con 10 unidades de óxido de etileno y una proporción de materia activa del 100%) fue suministrado por Tenneco S.A. (Barcelona, España).

Preparación de liposomas multilamelares (MLV)

Se prepararon liposomas multilamelares de tamaño definido (400 nm), de una concentración lipídica de 1.25 mM y variando la composición lipídica (relaciones molares PC:CH comprendidas entre 10:0 y 6:4) siguiendo el método descrito por Bangham y colaboradores (15). La concentración de colorante se mantuvo constante en todos los ensayos (1% sobre peso de fibra). Se formó un film lipídico eliminando el disolvente orgánico (cloroformo/metanol 2:1) de las mezclas de PC y CH a diferentes relaciones molares por medio de evaporación rotatoria en atmósfera de nitrógeno bajo vacío (350 mm Hg). La concentración total de lípidos en los liposomas fue 1.25 mM. Fases acuosas conteniendo los componentes del baño de tintura (colorante al 1% sobre peso de fibra, que corresponde a 0.016% en peso/volumen y ajustado a pH 5.5 con ácido acético) fueron entonces añadidas a este film. Las soluciones fueron entonces agitadas a fin de dispersar los lípidos todavía adheridos en las paredes del matraz y así formar suspensiones homogéneas de liposomas multilamelares. Las suspensiones lechosas resultantes fueron agitadas en un vortex durante 5 minutos y sonicadas durante 15 minutos a 25°C y a una potencia de 75 W (Labsonic 1510 B. Braun, Melsungen AG, Alemania). Los liposomas resultantes fueron extruídos a través de membranas de policarbonato de entre 800 y 400 nm a fin de obtener una uniforme distribución en el tamaño de las vesículas formadas (16). Después de su preparación los liposomas se mantuvieron en reposo durante 15 minutos y a continuación se aplicaron a la tintura de la lana. Las vesículas fueron liberadas del colorante no encapsulado por medio de una separación cromatográfica en columna a través de la resina Sephadex G-50 (Farmacia) (17,18), a fin de determinar la eficiencia de encapsulación de los liposomas así como la influencia del colorante encapsulado en la tintura de la lana.

Procedimiento de tintura

Se trataron muestras de género de punto con liposomas multilamelares recientemente preparados a una concentración lipídica de 1,25 mM (aproximadamente 5% sobre peso de fibra) a diferentes relaciones molares PC:CH (desde 10:0 hasta 6:4), la concentración de colorante se mantuvo constante (1% sobre peso de fibra). La tintura se realizó a pH constante (pH 5.5, controlado por adición de ácido acético) y a una relación de baño 60:1.

La tintura se inició a una temperatura de 50°C y se aumentó a razón de $0.9^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ hasta 90°C . El tiempo de tintura fue de 120 minutos. Finalizada la tintura las muestras se lavaron con agua durante 10 minutos y se secaron a temperatura ambiente. La tintura se realizó en un aparato de tintura Multi-Mat (Renigal, España). Muestras de lana se tiñeron en ausencia de liposomas usando un baño de tintura conteniendo 0.5% de Albigal A y 5% de sulfato sódico (sobre peso de fibra) a pH constante de 5.5 (ácido acético) las mismas condiciones de tintura que las usadas anteriormente en presencia de liposomas.

El agotamiento del baño de tintura se analizó espectrofotométricamente usando un espectrofotómetro Shimadzu UV-265FW. Alicuotas del baño de tintura conteniendo liposomas (0.5 ml) se añadieron periódicamente a cubetas de cuarzo conteniendo 2 ml de una solución acuosa del tensioactivo no-iónico Triton X-100 (2% peso/volumen). La interacción entre el Triton X-100 y los liposomas dio lugar a la completa solubilización de los liposomas vía formación de micelas mixtas (19), transformando las suspensiones de liposomas en soluciones transparentes. La **Figura 2** muestra el efecto de la solubilización de los liposomas por Triton X-100 en el espectro de absorción del colorante (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4). Puede observarse que el λ_{max} del colorante usado en este estudio no cambió en presencia de cantidades crecientes de CH en las micelas mixtas lípido/tensioactivo.

Distribución media del tamaño de la vesícula y estabilidad de los liposomas

El tamaño medio de las vesículas así como la polidispersidad de las suspensiones de liposomas se determinaron por medio de un espectrómetro correlador de fotones (Malvern Autosizer 4700c PS/MV). El estudio de la distribución media de las partículas se realizó por medición del número de partículas. Las muestras se ajustaron a un rango de concentraciones apropiado y las mediciones se realizaron a 25°C con un ángulo de detección de 90° . El estado de agregación de las vesículas fue estimado como medida de la estabilidad física de los liposomas y se realizó midiendo la variación de la distribución media del tamaño de los liposomas con el tiempo.

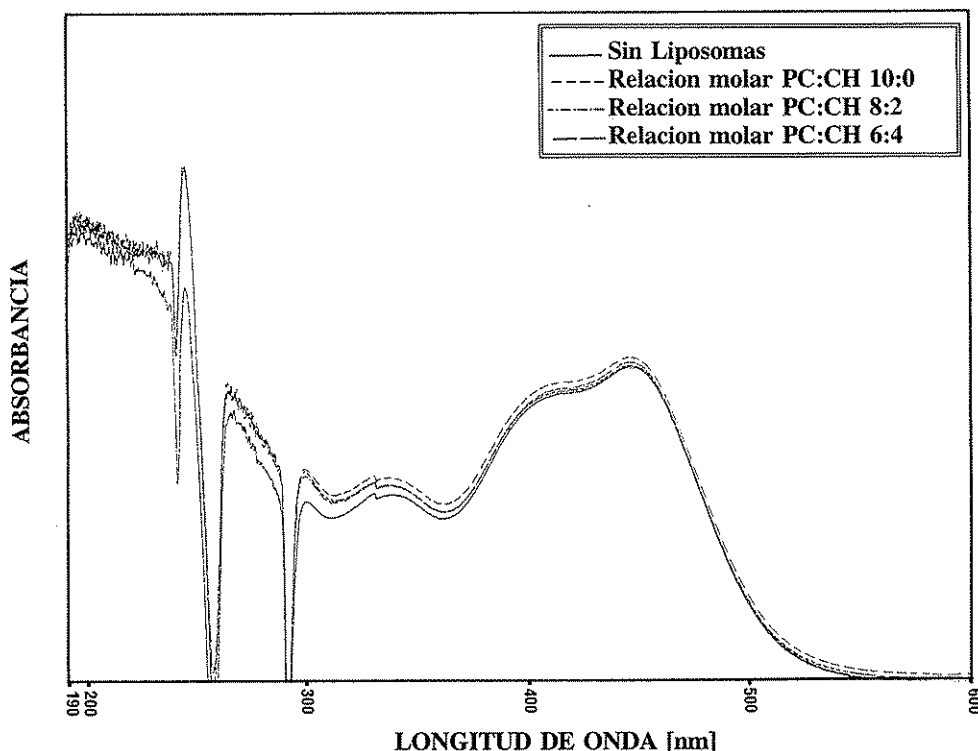


FIGURA 2. Espectro de adsorción del colorante de complejo metálico 1:2, Amarillo Irgalan 2GL KWL (Acid Yellow 129) en presencia de micelas mixtas lípido/Triton X-100 a diferentes relaciones molares PC:CH en las bicapas.

Composición de los liposomas

La composición lipídica y la concentración de los liposomas se determinó por medio del aparato analizador latroscan MK-5 TLC-FID. El acoplamiento de la cromatografía en capa fina (TLC) a un sistema automático de detección de ionización de llama (FID) es una reciente innovación, que aumenta considerablemente la sensibilidad del TLC y ha permitido la cuantificación de distintos tipos de lípidos de diferentes orígenes (20,21). Este método ha demostrado ser adecuado para cuantificar mezclas de lípidos incluso cuando dichos lípidos se hallan formando liposomas en soluciones acuosas.

Extracción de colorante de las muestras teñidas

El colorante unido superficialmente a las fibras por medio de fuerzas no polares (interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno) se extrajo con etanol a 25°C durante 60 min (11). Sucesivas extracciones con amoníaco (0.5% a 60°C durante 15 minutos) eliminaron el colorante difundido en la fibra y no substancialmente unido por uniones de tipo iónico (23). La concentración de colorante extraído se evaluó espectrofotométricamente.

Los porcentajes de colorante unido a las fibras de lana se expresan por medio de la siguiente ecuación:

$$C_B = [(C_A - C_E)/C_A] \cdot 100 \quad [1]$$

donde C_B es el porcentaje relativo del colorante unido a la fibra (%), C_A es la cantidad de colorante absorbido (agotamiento de colorante dado en mg de colorante por gr de lana) y C_E es la cantidad total de colorante extraído con etanol y amoníaco (mg colorante por gr lana).

Suavidad de las muestras teñidas

La suavidad de las muestras teñidas, analizada como la medida de la fricción superficial de dichas muestras se determinó midiendo el coeficiente dinámico de fricción (fuerza de rozamiento) por medio del Instron textile tester 1122 adecuado para cumplir las normas de la «American Society for Testing and Materials Standards» (23).

Microscopía óptica y análisis de imagen

Se tomaron muestras representativas teñidas con liposomas a diferentes composiciones lipídicas (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4) o usando la tintura convencional en ausencia de liposomas. Las muestras se observaron directamente usando un microscopio óptico Reichert Polyvar (Leica, Wien, Austria). Se utilizó para la iluminación de las muestras una fuente de luz halógena de 100 W. El rango de aumentos usado para determinar la regularidad en la distribución del colorante sobre la superficie de la lana estuvo comprendida entre 200 y 1.000 aumentos. A fin de determinar los cambios en la difu-

sión de colorante en el interior de la fibra, debidos a la presencia de liposomas, fibras teñidas fueron embebidas en resina (resina lmedio, Perfecta Chemie B.V. Goes, Holland). Se realizaron secciones transversales de la misma por medio de un microtomo (Cuenca lana microtome, Ulloa Optico Oftalmología S.A., Madrid, España). Las secciones obtenidas fueron examinadas por medio de un microscopio Reichert Polivar 2.

Las observaciones más representativas se fotografiaron directamente usando una cámara reflex Yashica 108 multi program acoplada al microscopio óptico. Las imágenes obtenidas fueron digitalizadas con un escaner Epson GT 800, usando 400 bites por incha). Las superficies digitalizadas se estudiaron por medio de un analizador de imágenes, estableciéndose comparaciones estadísticas entre los diferentes niveles de difusión del colorante en el interior de las fibras y su distribución en la superficie de la lana.

RESULTADOS Y DISCUSION

Estabilidad de las suspensiones de liposomas

La estabilidad de las suspensiones de liposomas durante el proceso de tintura se estudió midiendo las variaciones en la distribución de los tamaños de las vesículas así como la polidispersidad de estas suspensiones en ausencia de muestras de lana, usando un método de «quasi-elastic light scattering» (24). Los resultados obtenidos para cada composición lipídica (relaciones molares de PC:CH comprendidas entre 10:0 y 6:4) se indican en la **Tabla 1**.

Se observó una inicial disminución en el tamaño de las vesículas (mínimo obtenido a los 30 minutos de tintura) seguido por un pequeño aumento en el tamaño de las mismas en las siguientes etapas de tintura. El índice de polidispersidad (PI) permaneció después de los tratamientos siempre inferior a 0.15, indicando que las suspensiones de liposomas presentaron una distribución de tamaño homogénea

TABLA I										
Valores medios de distribución de tamaño de vesícula e índices de polidispersidad, de los liposomas a diferentes composiciones lipídicas (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4). Concentración lipídica durante la tintura 1.25 mM.										
Tiempo min.	Tamaño medio vesículas (nm)					Índices Polidispersidad				
	PC:CH 10:0	PC:CH 9:1	PC:CH 8:2	PC:CH 7:3	PC:CH 6:4	PC:CH 10:0	PC:CH 9:1	PC:CH 8:2	PC:CH 7:3	PC:CH 6:4
0	405	404	404	401	398	0.091	0.087	0.086	0.085	0.082
5	403	402	400	400	398	0.092	0.087	0.876	0.085	0.084
10	402	401	400	399	395	0.094	0.089	0.088	0.087	0.086
15	400	399	398	396	394	0.120	0.110	0.107	0.105	0.099
30	399	397	396	395	392	0.123	0.114	0.109	0.104	0.102
45	411	409	407	400	398	0.130	0.118	0.114	0.110	0.106
60	420	419	418	416	405	0.132	0.121	0.117	0.113	0.110
75	425	423	422	418	409	0.134	0.122	0.120	0.116	0.114
90	430	427	425	419	411	0.142	0.129	0.125	0.123	0.122
105	435	433	431	423	415	0.144	0.134	0.130	0.129	0.128
120	440	437	435	429	417	0.150	0.141	0.135	0.132	0.130

durante todo el proceso de tintura. La presencia de cantidades crecientes de CH en los liposomas aumentó su estabilidad, reduciendo tanto el tamaño medio de las partículas como los correspondientes índices de polidispersidad. Este comportamiento está de acuerdo con los resultados publicados por Scherphof et al. (25) en estudios sobre estabilidad de liposomas.

La determinación del tamaño medio de las partículas así como de los índices de polidispersidad de los distintos baños de tintura finalizada la misma en presencia de muestras de lana demostró en estas suspensiones la presencia de liposomas estables (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4). Sin embargo, estos parámetros dieron valores ligeramente superiores (aproximadamente del 10 al 15%) con respecto a aquellos obtenidos 120 minutos después del tratamiento en ausencia de lana (Tabla I). Este comportamiento puede atribuirse a la capacidad espontánea de reconstitución de los liposomas en medio acuoso y abre la posibilidad de un nuevo proceso de tintura en continuo en el que los liposomas del baño residual pudieran ser reutilizados como «vehículos» de nuevas moléculas de colorante. Así, aunque la estabilidad de estos liposomas quedó afectada por la presencia de lana durante la tintura, los liposomas mostraron ser razonablemente estables a la agregación durante el proceso de tintura en las condiciones experimentales usadas.

Cinéticas de tintura

Se realizaron estudios cinéticos sobre el agotamiento del colorante en tinturas de lana virgen usando sistemas colorante-liposomas y variando la composición de los liposomas (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4). La concentración lipídica de las bicapas y la del colorante permaneció constante (1.25 mM y 1.0% sobre peso de fibra respectivamente). Los resultados obtenidos se indican en la Figura 3-A. El uso de liposomas dió lugar a una inhibición en el agotamiento del colorante con respecto al obtenido en tinturas en ausencia de liposomas y usando las condiciones recomendadas por el fabricante (●) (ver parte experimental). Esta inhibición estuvo inversamente relacionada con la presencia de CH en los liposomas. Así, a medida que aumentó la relación molar de colesterol en estas estructuras menor fue inhibición en el agotamiento del colorante. Este comportamiento contrasta con aquel publicado por colorantes del tipo «milling acid» usando liposomas unilamelares, donde la presencia de concentraciones crecientes de CH aumentó la inhibición en el agotamiento del colorante (10).

Esta tendencia opuesta puede estar relacionada con dos aspectos mecanísticos. Por una parte la diferente estructura física de estos dos tipos de liposomas (estructuras unilamelares para los colorantes

«milling acid» y multilamelares en la presente investigación). Dichas diferencias pueden afectar la difusión del colorante encapsulado en el interior de los liposomas y, en consecuencia, el transporte y la adsorción de las moléculas de colorante sobre las fibras de lana. Por otra parte, la diferente estructura química de estos dos tipos de colorantes, que puede afectar tanto las propiedades asociativas de los sistemas colorante-liposoma como sus interacciones hidrofílicas con las regiones hidrofóbicas de la lana, afectando la difusión del colorante en el interior de la fibra.

A fin de clarificar estos mecanismos, se realizaron una serie de experimentos basados en el estudio del agotamiento de los baños de tintura, usando únicamente el colorante encapsulado en el interior de los liposomas. A tal fin, las vesículas de liposomas fueron primero separadas del colorante no encapsulado por medio de una separación cromatográfica en columna a través de la resina Sephadex G-50. Tras dicha separación se evaluó espectrofotométricamente la concentración de colorante después de la

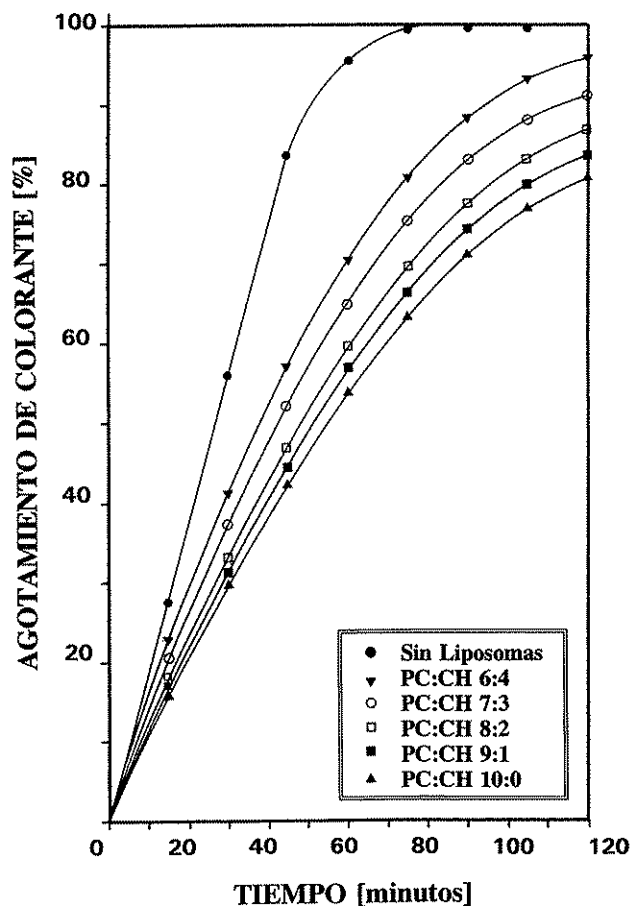


FIGURA 3-A Cinéticas de agotamiento del colorante Acid Yellow 129 aplicado sobre muestras de lana no tratada y teñida usando liposomas completos a diferentes relaciones molares de PC:CH, la concentración de colorante permaneciendo constante (1% sobre peso de fibra). Relaciones molares PC:CH 10:0 (▲), 9:1 (■), 8:2 (□), 7:3 (○) y 6:4 (▼), sin liposomas (●).

destrucción de los liposomas por adición del tensioactivo Triton X-100 (17,18). El porcentaje de colorante encapsulado en los liposomas (expresado en % en volumen) para las diferentes relaciones molares PC:CH investigadas se indica en la **Tabla II**. Los valores obtenidos variaron poco dando valores de encapsulación de aproximadamente el 1%, aunque la presencia creciente de CH en las bicapas aumentó ligeramente dicho porcentaje.

Las muestras de lana se trataron con suspensiones de liposomas liberadas del colorante no encapsulado (relaciones molares PC:CH desde 10:0 hasta 6:4) en las mismas condiciones usadas para los liposomas completos. Las curvas obtenidas de agotamiento del colorante con el tiempo se indican en la **Figura 3-B**. Las cinéticas de agotamiento del colorante mostraron diferentes tendencias dependiendo de la concentración de CH. Así, mientras que en el período inicial de tintura concentraciones crecientes de CH dieron lugar a un aumento en la inhibición del agotamiento del colorante, su agotamiento final estuvo directamente relacionado con la concentración de CH presente en las bicapas. Este comportamiento está de acuerdo con el publicado previamente para colorantes del tipo «milling acid» usando únicamente

el colorante encapsulado y para relaciones molares PC:CH menores de 8.5:1.5. Sin embargo, este comportamiento contrasta con aquel publicado para una relación molar de PC:CH de 8:2, donde concentraciones crecientes de CH dieron lugar a una reducción tanto de la inicial disminución como del final crecimiento del agotamiento del colorante encapsulado en los liposomas (10).

Es interesante resaltar que en el intervalo de tintura entre 25 y 35 minutos las curvas de agotamiento presentaron un punto de inflexión (correspondiente aproximadamente al 50% de agotamiento) en todos los casos. Un efecto similar ha sido descrito para colorantes del tipo «milling acid» usando PC:CH unilamelar liposomas (10). Esto significa que, en estos casos, este comportamiento no dependió del tipo de los liposomas o de la estructura química del colorante utilizados y que debe ser atribuido únicamente a la presencia de CH en las bicapas lipídicas.

La comparación de la cantidad de colorante agotado usando liposomas completos (colorante encapsulado y no encapsulado) o usando solamente el colorante encapsulado (Figuras 3-A y 3-B) indica que en ambos casos el agotamiento final de colorante estuvo directamente relacionado con la concentra-

TABLA II

Cantidades de colorante adsorbido (mg colorante/gr lana), extraído (mg colorante/gr lana) y fijado (%) en muestras de lana teñidas usando liposomas completos o solamente el colorante encapsulado a diferentes relaciones molares PC:CH. La concentración de colorante permaneció constante (1% sobre peso de fibra). Se indica asimismo la eficacia de encapsulación (expresada en % en volumen) para cada composición lipídica utilizada.

Relaciones molares PC:CH	Liposomas completos				Sólo colorante encapsulado				
	Colorante adsorbido (mg col/gr lana)	Colorante extraído		Colorante fijado (%)	Colorante encapsulado (%)	Colorante adsorbido (mg col/gr lana)	Colorante extraído		Colorante fijado (%)
		A	B				A	B	
10:0	8,0	0.01	2.03	74.50	1.15	0.104	—	0.02	80.76
9:1	8,3	0.01	1.80	78.19	1.21	0.111	—	0.01	90.99
8:2	8,6	—	1.60	81.39	1.30	0.123	—	0.01	91.86
7:3	9	—	1.41	84.33	1.35	0.130	—	0.01	92.30
6:4	9,5	—	1.22	87.15	1.41	0.139	—	0.008	94.24
sin liposomas	10	0.15	2.74	71.10	—	—	—	—	—

A mg colorante/gr fibra de lana extraída con etanol (11)

B mg colorante/gr fibra de lana extraída con amoníaco (22).

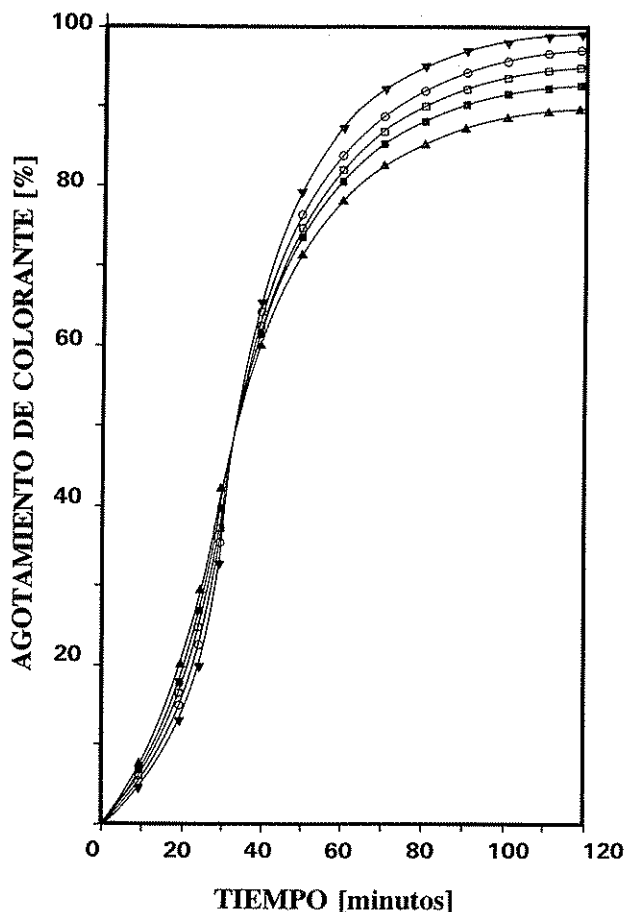


FIGURA 3-B Cinéticas de agotamiento del colorante Acid Yellow 129 aplicado sobre muestras de lana no tratada y teñida usando sólo el colorante encapsulado en el interior de los liposomas a diferentes relaciones molares de PC:CH, la concentración de colorante permaneciendo constante (1% sobre peso de fibra). Relaciones molares PC:CH 10:0 (▲), 9:1 (■), 8:2 (□), 7:3 (○) y 6:4 (▼).

ción de CH, aunque este efecto fue más acusado usando únicamente el colorante encapsulado. Sin embargo, la influencia inhibitoria del CH en el agotamiento inicial de colorante sólo se detectó usando el colorante encapsulado y, en consecuencia, debe ser atribuida a la difusión del colorante encapsulado a través de estructuras multilamelares del liposoma y su posterior interacción con la lana.

Estos efectos pueden explicarse teniendo en cuenta que el colesterol es uno de los principales componentes de los lípidos internos de la lana. Este lípido forma parte de la barrera hidrofóbica del «Cell Membrane Complex» (CMC estructurado como dos bicapas lipídicas), que desempeña un importante papel en la tintura y en las propiedades de difusión intercelular de la fibra (3,26). En consecuencia, la presencia de CH en los liposomas puede actuar como un activo agente en la adsorción, difusión y fijación del colorante en la fibra de lana, dada la importante contribución de las interacciones hidrofóbicas entre el colorante y la fibra de lana en la substantividad

del colorante. Asimismo, la presencia de CH en las bicapas afecta la difusión del colorante encapsulado y mejora la estabilidad de las vesículas (25).

Influencia de la composición del liposoma en la fijación del colorante a la fibra

A fin de determinar si las bicapas lipídicas (conteniendo cantidades crecientes de CH) como vehículos de un colorante de complejo metálico 1:2 afectaron a las fuerzas de enlace entre el colorante y la fibra después de la tintura, se realizaron extracciones de colorante de las muestras teñidas usando etanol (11) y soluciones amoniacaes (22). Las extracciones se realizaron en muestras teñidas usando liposomas completos o usando únicamente el colorante encapsulado. Los resultados correspondientes al colorante adsorbido (colorante agotado expresado en mg colorante por gramo de lana), el colorante extraído por etanol y amoníaco (mg colorante por gramo de lana) y el colorante fijado (valores de tanto por ciento obtenidos a partir de la ecuación 1) para las diferentes composiciones lipídicas usadas (relaciones molares PC:CH comprendidas desde 10:0 hasta 6:4) se indican en la **Tabla II**. Se indican asimismo los porcentajes de colorante encapsulado en los liposomas (eficacia de encapsulación expresada en % volumen). En términos generales, las cantidades de colorante extraído de las muestras teñidas en ausencia de liposomas fueron claramente mayores que aquellas extraídas de muestras teñidas en presencia de estas estructuras. Además, las cantidades de colorante extraído usando soluciones de amoníaco fueron en todos los casos mayores que aquellas extraídas con etanol, que fueron muy pequeñas. Adicionalmente, las cantidades de colorante extraído en ambos casos estuvieron estrechamente relacionadas con la composición lipídica de las bicapas. Así, a medida que aumentó la proporción de CH en las bicapas menores fueron las cantidades de colorante extraídas en ambas extracciones.

Las cantidades de colorante extraído fueron en todos los casos menores que aquellas publicadas para extracciones similares en muestras de lana teñidas con colorantes del tipo «milling acid» vía liposomas usando similares concentraciones de PC (11). Estos resultados indican un mayor nivel de fijación de los colorantes de tipo complejo metálico 1:2 con respecto a los colorantes del tipo «milling acid» (7).

Las cantidades decrecientes de colorante extraído vía amoníaco al incrementar la concentración de CH puede atribuirse a la creciente contribución de las interacciones no polares en las uniones colorantes-fibra. Este resultado subraya la importante función desempeñada por el CH en las interacciones hidrofóbicas entre el colorante y las regiones hidrofóbicas de la fibra, que, como se indicó anterior-

mente, son esenciales en la substantividad del colorante. En la **Tabla II** se indican los porcentajes de colorante fijado (obtenidos a partir de la ecuación 1) después de la tintura de la lana usando liposomas completos o usando solamente el colorante encapsulado. La presencia de cantidades crecientes de CH hizo aumentar el porcentaje de colorante total fijado en ambos casos, aunque este efecto fue más pronunciado usando solamente el colorante encapsulado. Estos resultados están de acuerdo con los publicados para colorantes del tipo «milling acid» a diferentes concentraciones lipídicas (10).

A fin de obtener una información adicional sobre la distribución y difusión del colorante en el interior de las fibras de lana, se realizaron observaciones de microscopía óptica de muestras teñidas en ausencia y en presencia de liposomas para varias relaciones molares de PC y CH. Estas observaciones indicaron que el uso de liposomas dio lugar a una más regular distribución del colorante en la superficie de las fibras. El análisis de las secciones transversales de las fibras también demostró que la presencia de concentraciones crecientes de CH en las bicapas incrementó ligeramente la difusión del colorante en el interior de la fibra así como su regularidad de distribución en la superficie de la lana.

La comparación de distintas imágenes digitalizadas indicaron que el uso de liposomas aumentó aproximadamente el 5% tanto la difusión del colorante en el interior de la fibra como su regularidad de distribución en la superficie de la lana. La presencia creciente de CH en las bicapas dio también lugar a un aumento adicional en el porcentaje de colorante difundido en el interior de las fibras. Los mejores resultados (aumento en difusión del colorante del 10-12%) se lograron para la mayor proporción de CH en las bicapas (relación molar PC:CH 6:4). La regularidad en la distribución del colorante sobre la superficie de la lana también aumentó aproximadamente el 7-8% para la mayor proporción de CH.

Se estudió asimismo la suavidad de las muestras teñidas (expresada en forma de fuerza de rozamiento entre las muestras y una superficie metálica plana), a fin de relacionar la suavidad de las muestras teñidas con la composición lipídica de los liposomas usados en la tintura. Los valores obtenidos se indican en la **Figura 4** usando liposomas completos. La fuerza de rozamiento disminuyó a medida que la concentración de CH en los liposomas aumentó, de acuerdo con los resultados publicados para lana teñida con colorantes del tipo «milling acid» vía liposomas unilamelares (10). Sin embargo, aunque en la presente investigación la concentración total de lípido en las bicapas fue menor, la fuerza de rozamiento para la relación molar PC:CH 6:4 fue similar que aquella obtenida para «milling acid dyes» a la máxima

concentración de CH (concentración lipídica 4mM y relación molar PC:CH 8:2). El nivel de PC y de CH en las fibras de lana teñidas (expresado como la diferencia entre la concentración inicial lipídica y la del baño final de tintura) indicó que la concentración de lípido presente en la lana era aproximadamente del 15% con respecto al lípido inicial, siendo la adsorción de PC y CH por las fibras de lana proporcional a las relaciones molares PC:CH usadas en cada caso. Así a medida que aumentó la proporción de CH en las bicapas mayor fue la adsorción de ambos lípidos sobre la lana.

Dado que la presencia creciente de CH en las bicapas dio lugar tanto a una disminución en la fuerza de rozamiento en las muestras teñidas (**Figura 4**) como a un aumento en la tasa de CH adsorbido por la lana, se puede establecer una correlación directa entre la suavidad de las muestras teñidas y el nivel de CH adsorbido en las mismas después de la tintura.

La mayor contribución científica de este trabajo consiste en la extensión de la aplicación de liposomas a la tintura de la lana a colorantes de tipo com-

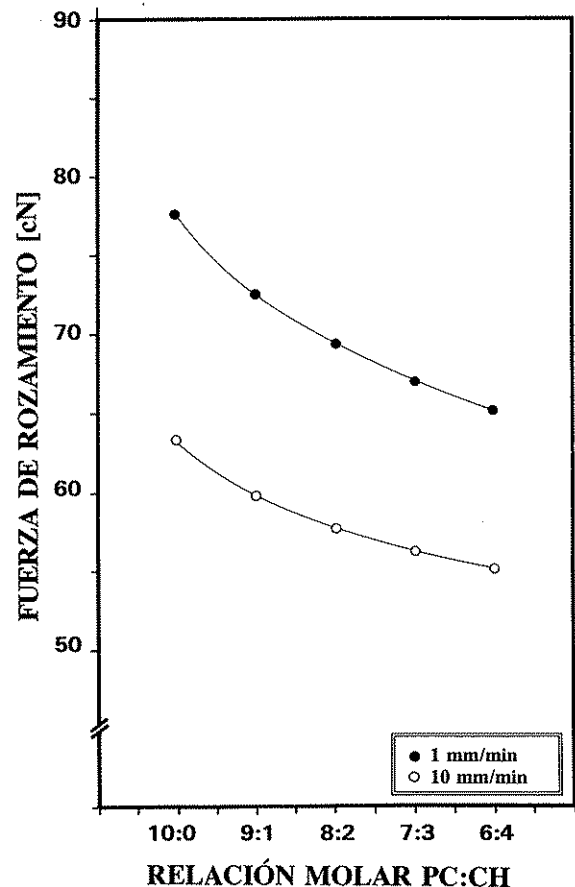


FIGURA 4. Suavidad de las muestras teñidas expresada en términos de fuerza de rozamiento entre las muestras de lana y una superficie metálica frente a las relaciones molares de PC:CH en los liposomas. La concentración del colorante permaneció constante (1% sobre peso de fibra). Niveles de velocidad de la superficie de fricción (●) 1 mm/min, (○) 10 mm/min.

plejo metálico 1:2, extensamente aplicados a la industria textil, usando una concentración lipídica similar a la usada para los aditivos convencionales (sulfato amónico, sales de Glauber, albegal, etc.).

Este método permite controlar el agotamiento del colorante sobre lana no tratada mejorando tanto las fuerzas de unión del colorante con la fibra como la distribución del colorante sobre la superficie de la fibra y su difusión en el interior de la misma. El diferente efecto causado por el CH en el agotamiento de colorantes del tipo «milling acid» y del tipo complejo metálico 1:2 puede atribuirse a la diferente estructura química de estos dos tipos de colorantes así como a las diferentes características de las estructuras de bicapa usadas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica (Proyecto N^o PB94-0043), España

REFERENCES

- Coderch, L. and Soriano, C., Role of Treatment Medium in Degradative Wool Shrinkproofing Process, *Textile Res. J.*, **63**, 369-370, (1993).
- Herrling, J. and Zahn, H., Investigation on the Composition of the Cell Membrane Complex and its Modification During Industrial Processing of Wool, *Proc. 7th Inter. Wool Textile Res. Conf.*, Vol I, p. 181 Tokyo 1985.
- Rivett, D.E., Structural Lipids of the Wool Fibre, *Wool Science Rev.* **67**, 1-25, (1991).
- Downing, D.T., Lipid and Protein Structures in the Permeability Barrier of Mammalian epidermis, *J. of Lipid Research*, **33**, 301-303, (1992).
- Leeder, J.D., The Cell Membrane Complex and its Influence of the Properties of the Wool Fibre, *Wool Science Rev.*, **63**, 3-35, (1986).
- Leeder, J.D., Rippon, J.A., Rothery, F.E. and Stapleton, I.W., Use of the Transmission Electron Microscope to Study Dyeing and Diffusion Processes, *Proc. 7th Inter. Wool Textile Res. Conf.*, Tokyo, Vol V, pp. 99-108, 1985.
- Burkinshaw, S.M., Dyeing Wool with Metal-Complex Dyes, chapters 6 and 7 in «Wool Dyeing», edited by D.M. Lewis, Society of Dyers and Colourists, Bradford, England, 1992.
- Nelson, G., Microencapsulates in Textile Coloration and Finishing, *Rev. Prog. Coloration*, **21**, 72-85, (1991).
- De la Maza, A., Parra, J.L. and Bosch, P., Using Liposomes in Wool Chlorination: Stability of Chlorine Liposomes and Their Application on Wool Fibers, *Textile Res. J.*, **61**, 357-362, (1991).
- De la Maza, A. and Parra, J.L., Unilamellar Lipid bilayers including Cholesterol in Wool Chlorination: Stability of Chlorine Liposomes and Their Application on Wool, *Textile Res. J.*, **63**, 44-50, (1993).
- De la Maza, A., Parra, J.L., Bosch P. and Coderch, L., Large Unilamellar Vesicle Liposomes in Wool Dyeing: Stability of Dye-Liposomes systems and Their Application on Untreated Wool, *Textile Res. J.*, **62**, 406-413, (1992).
- De la Maza, A., Parra, J.L., and Manich A., Lipid Bilayers Including Cholesterol as Vehicles for Acid Dyes in Wool Dyeing, *Textile Res. J.*, **63**, 643-649, (1993).
- De la Maza, A., Manich A.M., Coderch, L. and Parra, J.L., Multilamellar Liposomes including Cholesterol as Carriers of Azobenzene Dyes in Wool Dyeing, *Textile Res. J.*, **65**, 163-170, (1995).
- Singleton, W.S., Gray, M.S., Brown, M.L. and White, J.L., Chromatographically Homogeneous Lecithin from Egg Phospholipids, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **42**, 53-55, (1965).
- Bangham, A.D., Standish, M.M. and Watkins, J.C., Diffusion of Univalent Ions Across the Lamellae of Swollen Phospholipids, *J. Mol Biol.*, **13**, 238-245, (1965).
- Szoka, F., Olson, F., Heath, T., Vail, E., Mayhew, W. and Papahadjopoulos, D., Preparation of Unilamellar Liposomes of Intermediate Size (100-200 nm) by the Combination of Reverse Phase Evaporation and Extrusion Through Polycarbonate membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, **601**, 559-572, (1980).
- Deamer, D., and Uster, P.S., Liposome Preparation: Methods and Mechanisms, Chapter 1 in «Liposomes», J.M. Ostro, Ed., Marcell Dekker Inc., NY, 1983.
- Weinstein, J.N., Ralston, E., Lesermam, L.D., Klausner, R.D., Dragsten, P., Henkart, P., and Blumental, R., Self-Quenching of Carboxyfluorescein Fluorescence: Uses in Studying Liposome Stability and Liposome-Cell Interaction, ch. 13, in «Liposome Technology», vol III, G. Gregoriadis, Ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1986.
- Lichtenberg D., Robson J. and Dennis, E.A., Solubilization of Phospholipids by Detergents, *Biochim. Biophys. Acta*, **737**, 285-304, (1983).
- Ackman R.G., McLeod C.A. and Banerjee, A.K., An Overview of Analyses by Chromatod-latroscan TLC-FID, *J. of Planar Chrom.*, **3**, 450-490, (1990).
- Coderch L., Soriano, C., Pinazo, A., Parra J.L. and Erra, P., Degradative Wool Shrinkproofing Processes, Part II: Lipid Modification, *Textile Res. J.*, **62**, 704-709, (1992).
- Trotman, E.R. chapter 21, in «Dyeing and Chemical Technology of textile Fibres», Edited by Charles Griffin and Company Ltd., England, 1984.
- American Society For testing and Materials Standards, Coefficients of Friction of Surfaces, Part 48, ASTM D 1894-78, Philadelphia, PA, 1980.
- Chong, C.S. and Colbow, K. Light-Scattering and Turbidity Measurements of Lipid Vesicles, *Biochim. Biophys. Acta*, **426**, 260-274, (1976).
- Scherphof, G.L., J. Damen and J. Wilschut, Interaction of Liposomes with Plasma Proteins, chapter 14 in «Liposome Technology», Vol III, edited by G. Gregoriadis, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida 1986.
- Nogués, B., Coderch, L., Juliá R., and Erra, P., New Advances in the internal Lipid Composition of Wool, *Textile Res. J.* **58**, 338-342, (1988).

Publicado en Textiles Research Journal N.º 67(5) 325-333 (1997)