

Sulfitolisis de las fibras de lana sometidas previamente a la acción de soluciones alcalinas

por J.L. Parra, J.J. García Domínguez y A. de la Maza

Resumen

Se analiza el comportamiento de las fibras de lana frente a las soluciones de bisulfito sódico, habiendo sometido previamente a las fibras a la acción de soluciones alcalinas a diferentes temperaturas de tratamiento.

1. Introducción

La reacción de las fibras de lana con las soluciones de bisulfito sódico ha sido objeto de un número considerable de trabajos de investigación dado el peculiar interés que presenta industrialmente dicho agente reductor (1-5).

El conocimiento del mecanismo de reacción implicado en la sulfitolisis de las fibras de lana se generó, inicialmente, estudiando el comportamiento de los enlaces disulfuro del aminoácido cistina (6). Posteriormente, los trabajos de J. B. Speckman (7) y de H. Phillips, F. F. Elsworth, W. R. Middlebrook y E. G. H. Carter (8-10), se cifieron a las fibras de lana permitiendo vislumbrar la existencia de una serie de fracciones de diferente reactividad química frente a la acción de los iones bisulfito.

En los últimos diez años, las investigaciones en este campo se han centrado en el estudio de la reactividad selectiva que presentan los enlaces disulfuro existentes en las fibras de lana cuando éstas reaccionan con soluciones de bisulfito sódico a diferentes valores de pH.

P. Miró y J. A. Hueso en 1968 (11), describieron por primera vez este fenómeno pero realmente no fue aceptado de un modo absoluto hasta que en 1975, J. L. Parra y colaboradores (12), aportaron una serie de datos concluyentes sobre este característico comportamiento de los restos de cistina presentes en las fibras de lana, cabello humano y en sus respectivas fracciones cuticulares. Otros autores (13), han confirmado este hallazgo utilizando un planteo experimental distinto al empleado por los autores anteriormente citados (11, 12).

El objeto de estas investigaciones se basó en intentar aportar ciertas evidencias que permitieran asociar esta rotura selectiva de los enlaces disulfuro en función del pH del tratamiento reductor, con la diferente incorporación inter- o intra-cadena de los restos de cistina en la estructura macromolecular de las fibras de lana.

En la presente comunicación se describen una serie de experiencias basadas en el estudio del comportamiento de las fibras de lana frente a las soluciones de bisulfito sódico, habiendo sometido previamente a la proteína queratínica a la acción de diversas soluciones alcalinas que merman de un modo progresivo el contenido en cistina que presentan las fibras de lana sin tratar.

2. Experimental.

2.1. Fibras de lana.

En la realización experimental del presente trabajo, se ha utilizado como sustrato queratínico, lana Merino Australiana de calidad 64'S. Previamente, se seleccionaron las

fibras de lana cortando sus raíces y sus puntas y, a continuación, se extrajeron con éter etílico en un Soxhlet durante 24 horas. Posteriormente, se lavaron las fibras con alcohol etílico, agua corriente y agua destilada, dejándolas secar, finalmente a temperatura ambiente.

2.2. Bisulfito sódico.

El bisulfito sódico que se utilizó como agente reductor, era de calidad para análisis. Las soluciones de bisulfito sódico utilizadas experimentalmente se prepararon inmediatamente antes de su utilización y su concentración fue del 3,0 %.

2.3. Tratamientos alcalinos de las fibras de lana.

Las fibras de lana (3 gr) se trataron, previamente, con soluciones de hidróxido potásico 0,1N a 50° C durante 30 minutos. La relación de baño utilizada fue de 1:100. Durante el tratamiento alcalino, las fibras de lana se sometieron a una agitación mecánica lenta (20 r.p.m.). Posteriormente, las muestras de lana se lavaron con 200 ml de agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Asimismo, se efectuaron tratamientos de las fibras de lana con soluciones de KCN 0,6 M a 50° C durante 30 minutos. Las condiciones experimentales utilizadas fueron idénticas a las descritas anteriormente.

2.4. Análisis de cistina.

El contenido en cistina de las fibras de lana se determinó analíticamente mediante el método colorimétrico de Folin (14).

2.5. Análisis de lantionina y lisinoalanina .

El estudio de la degradación sufrida por las fibras de lana durante el tratamiento alcalino, se complementó mediante el análisis de lantionina y lisinoalanina de las muestras queratínicas, utilizando para ello el método analítico propuesto por P. Miró y J. J. García Domínguez (15).

2.6. Sulfitolisis de las fibras de lana.

Las muestras de lana tratadas previamente con soluciones alcalinas de KOH, se sometieron posteriormente a la acción de soluciones de bisulfito sódico. 0,1 gr de lana se humectaron con 25 ml de agua destilada; posteriormente, se añadió al matraz de reacción 25 ml de una solución de bisulfito sódico del 3,0 %. La reacción de sulfitolisis se llevó a cabo a 30° C durante 60 minutos, manteniendo el pH de tratamiento constante mediante el uso de un Valorador automático del pH. La solución de tratamiento se mantuvo en agitación mecánicamente (20 r.p.m.).

Finalizado el tratamiento, las fibras de lana se lavaron con 50 ml de agua destilada y se secaron finalmente al vacío sobre P₂O₅.

2.7. Análisis de cisteína.

El contenido en cisteína de las muestras de lana reducidas se determinó analíticamente mediante el método colorimétrico propuesto por Ellman (16).

3. Resultados

3.1. Formación de lantionina y lisinoalanina durante el tratamiento alcalino de las fibras de lana.

El tratamiento de las fibras de lana con soluciones alcalinas de KOH promueve una cierta degradación de los restos de cistina y, a su vez, genera la formación de nuevos enlaces transversales del tipo de la lantionina y la lisinoalanina.

Tabla I

Contenido en Lantionina, Lisinoalanina y Cistina de las fibras de lana tratadas con soluciones de KOH 0, 1N, durante 30 minutos a diferentes temperaturas de tratamiento. Se indican, igualmente, dichos valores analíticos obtenidos en el tratamiento de la lana con KCN 0, 6M a 50° C durante 30 minutos.

	LANTIONINA (%)	LISINOALANINA (%)	CISTINA (%)
40°C	1,03	0,90	9,16
45°C	2,24	1,23	8,49
50°C	2,84	1,67	7,28
60°C	3,19	2,16	5,31
LANA VIRGEN	0,27	0,20	12,2
CNK 0,6M a 50°C, 30'	1,74	-----	9,79

En la Tabla I, se indica el contenido en cistina, lantionina y lisinoalanina de las muestras de lana tratadas con soluciones alcalinas de KOH 0, 1N a diferentes temperaturas de tratamiento.

Asimismo, se indica en dicha Tabla, el contenido en cistina y lantionina de las fibras de lana sometidas a un tratamiento con una solución de KCN 0, 6M a 50° C durante 30 minutos.

Es bien conocido, que las fibras de lana tratadas con soluciones de KCN experimentan un mecanismo de reacción distinto al que tiene lugar en presencia de soluciones alcalinas de NaOH o KOH, dando lugar a una formación preferente de lantionina e inhibiéndose de un modo prácticamente total la formación de lisinoalanina.

3.2. Sulfitolisis de las fibras de lana.

Las distintas muestras de lana sometidas a un tratamiento alcalino, se han tratado con soluciones de bisulfito sódico (1,5 %) a diferentes valores de pH, con objeto de estudiar el comportamiento de los restos de cistina que permanecen en las fibras de lana frente a la acción de los iones bisulfito. Paralelamente, las fibras de lana virgen se han sulfitado a fin de poder disponer de un punto de referencia que permita apreciar diferencias de reactividad de los restos de cistina a medida que disminuye su contenido como consecuencia de la progresiva degradación alcalina sufrida por las muestras de lana.

Tabla II

Contenido en cisteína de las fibras de lana tratadas con soluciones de NaSO_3H a diferentes valores de pH: Influencia de un pretratamiento de la lana con soluciones de KOH 0, 1N, durante 30 min., a diferentes temperaturas.

Valor de pH	CONTENIDO EN CISTEINA (%)				
	Lana no tratada con alcalis	PRETRATAMIENTO ALCALINO			
		40°C	45°C	50°C	60°C
3,00	3,88	2,37	2,82	1,80	1,30
3,25	4,24	3,56	2,76	2,97	1,53
3,50	4,34	3,32	3,22	2,40	1,66
3,75	4,28	3,16	2,96	2,45	1,70
4,00	4,16	3,16	3,10	2,82	1,70
4,25	4,10	3,22	2,78	2,52	1,73
4,50	4,30	3,34	2,86	2,17	1,68
4,75	4,34	3,11	2,88	2,26	1,72
5,00	4,18	3,10	2,65	2,26	1,58
5,25	3,84	2,98	2,00	2,25	1,46

En la Tabla II, se indica el contenido en cisteína de las distintas muestras de lana, previamente tratadas con soluciones alcalinas, y posteriormente sometidas a la acción de soluciones de bisulfito sódico a diferentes valores de pH.

4. Discusión

El conocimiento del mecanismo de reacción de la cistina con los iones bisulfito data de las experiencias iniciales de Clarke (6). Desde entonces, se han proseguido los trabajos de investigación en este campo en dos vertientes paralelas: la reacción frente a las soluciones de bisulfito sódico de los restos de cistina incorporados en las proteínas globulares de secuencia conocida y el estudio del comportamiento de los enlaces disulfuro edificados en la estructura macromolecular de las proteínas queratínicas.

En la sulfitolisis de las proteínas globulares se ha observado en general, dos máximos de formación de cisteína que corresponden a las zonas de pH 3,50 - 4,00 y 6,50 - 7,25 respectivamente. Por su parte, en las fibras de lana consideradas como un prototipo de las proteínas queratínicas, se han podido apreciar dos máximos de sulfitolisis: uno en la zona de pH 3,25 - 3,50 y otro en el intervalo de pH 4,75 - 5,00.

Sin profundizar en implicaciones de índole molecular, es curioso observar que las fibras de lana reaccionan de un modo preferente con los iones bisulfito ya que la sulfitolisis es máxima a aquellos valores de pH en los que la forma iónica predominante en la solución reductora es el ión bisulfito (17) (Figura 3). Por otra parte, en la sulfitolisis de las proteínas globulares existen dos zonas de pH suficientemente diferenciadas en las que se produce una formación máxima de cisteína.

FIGURA 3

Porcentaje de las distintas formas disociales y moleculares existentes en las soluciones de bisulfito sódico a diferentes valores de pH (17).

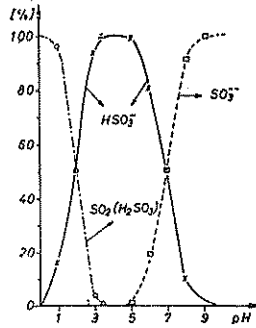
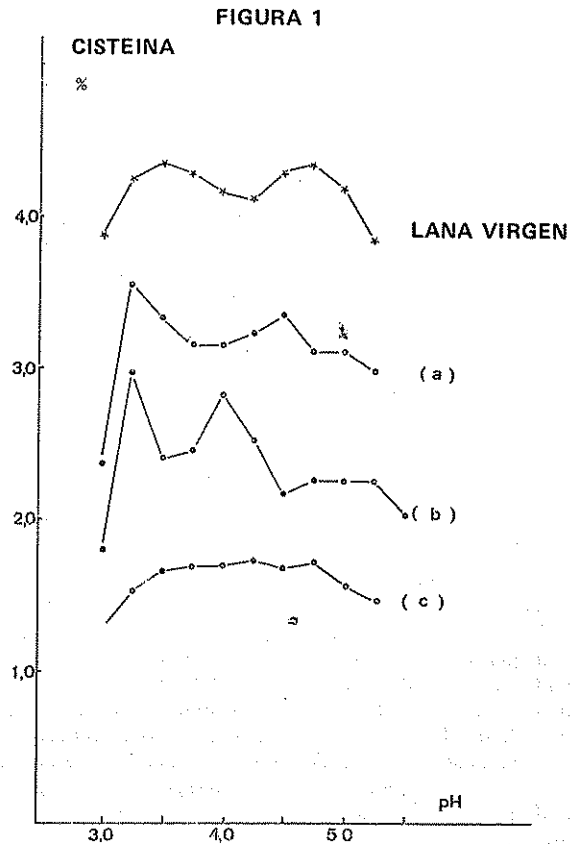


Fig. 1. Variación del contenido en cisteína de las fibras de lana sulfitadas en función del pH de tratamiento. La lana se ha sometido a un pretratamiento alcalino con soluciones de KOH 0, 1N: (a) 40° C; (b) 50° C; (c) 60° C.



En la Figura 1, se representan gráficamente dichos valores de cisteína en función del pH del tratamiento reductor.

Tabla III

Sulfitolisis de las fibras de lana previamente tratadas con una solución de KCN 0,6M a 50° C durante 30 minutos.

Valor de pH	Lana no tratada con alcalis	Lana tratada con KCN
3,00	3,88	3,00
3,25	4,24	3,35
3,50	4,34	3,21
3,75	4,28	3,10
4,00	4,16	3,38
4,25	4,10	2,98
4,50	4,30	3,06
4,75	4,34	3,40
5,00	4,18	3,19
5,25	3,84	2,91

Asimismo, en la Tabla III, se indican los valores del contenido en cisteína obtenidos en la sulfitolisis de la lana que previamente había sido tratada con una solución de KCN 0,6M, a 50° C durante 30 min. En la Figura 2, se reflejan gráficamente dichos datos en función de los valores de pH a los que se han efectuado los tratamientos de sulfitolisis de las fibras de lana.

Tanto en la Figura 1 como en la Figura 2, se indica a título comparativo, el comportamiento de las fibras de lana virgen frente a la acción de las soluciones de bisulfito sódico a diferentes valores de pH.

En el intervalo de pH ácido, puede considerarse que la forma iónica reactiva es el ión bisulfito mientras que en la zona de pH neutro, el responsable directo de la reducción de los restos de cistina debe ser el ión sulfito.

Es indudable que existen un número de factores adicionales intrínsecamente relacionados con el mecanismo de reducción en el fenómeno de sulfitolisis de los enlaces disulfuro (12). En este sentido, se ha intentado en este trabajo modificar estructuralmente las fibras de lana mediante un tratamiento alcalino previo, a fin de observar posibles variaciones de reactividad de los enlaces disulfuro que permanecen intactos en la estructura queratínica frente a las soluciones de bisulfito sódico.

Es bien conocido que el tratamiento alcalino de las fibras de lana promueve la rotura de los restos de cistina dando lugar a la formación de un compuesto intermedio, el ácido α -amino-acrílico, el cual a su vez origina nuevos enlaces transversales como la lantionina y la lisinoalanina (18). En nuestro trabajo experimental, se han utilizado unas condiciones alcalinas idóneas para conseguir una progresiva disminución del contenido en cistina y, en consecuencia, una formación gradual de lantionina y lisinoalanina. Estos efectos pueden apreciarse claramente observando los resultados analíticos obtenidos de cistina, lantionina y lisinoalanina en las fibras de lana tratadas con soluciones de hidróxido potásico utilizando las condiciones experimentales expuestas en la Tabla I.

Fig. 2. Sulfitolisis de las fibras de lana en función del pH, habiendo sometido previamente dichas fibras a la acción de una solución de KCN 0,6M a 50° C, durante 30 minutos.

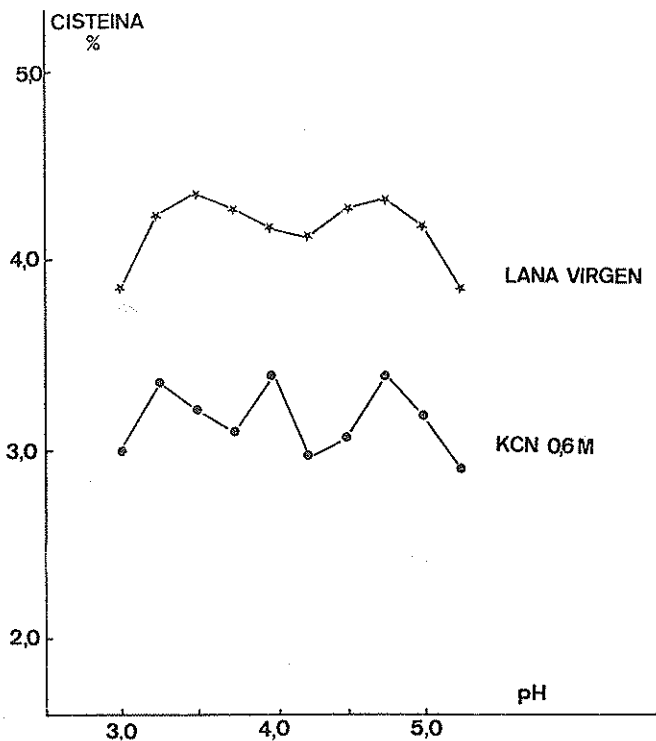


FIGURA 2

Actualmente, se acepta en general que los restos de cistina inter- o intra-cadena deben sufrir un mecanismo diferente de degradación alcalina. Esta argumentación se consideró en un principio igualmente válida para enjuiciar el mecanismo de reacción que tenía lugar durante la sulfitolisis de las proteínas conteniendo cistina.

En la Figura 1, se indican las distintas curvas de sulfitolisis de las fibras de lana previamente tratadas con soluciones alcalinas. Comparando las características de dichas curvas en relación con los dos máximos de formación de cistina en la sulfitolisis de las fibras de lana virgen, puede deducirse que existe una cierta regresión del segundo máximo de sulfitolisis sobre todo en las curvas a y b.

En la curva c este efecto desaparece; la explicación de este hecho podría basarse en la consideración de las condiciones alcalinas utilizadas ya que el contenido residual en cistina de las fibras de lana tratadas es pequeño lo cual podría impedir la visualización marcada de los dos máximos de sulfitolisis. No obstante, el valor de cistina que permanece en las fibras de lana tratadas con soluciones de KOH 0,1N a 60° C, representa un 5,31 % que constituye más de un 50 % de degradación de los restos

de cistina. Podría deducirse de este hecho que sólo existe una reactividad específica y preferente de algunos enlaces disulfuro de cistina debido a ciertos factores de accesibilidad o a determinadas características conformacionales de los restos de cistina edificados en la estructura macromolecular de las fibras de lana.

La disminución observada en el contenido en cisteína correspondiente al segundo máximo de sulfitolisis podría atribuirse a la degradación alcalina preferencial de los restos de cistina, inter-cadena, lo cual restringiría la teórica formación de cisteína durante la reacción de sulfitolisis a pH 4,75. Este postulado sería válido si se pudiera aceptar como viable la asignación del primer máximo de sulfitolisis a la reacción de los restos de cistina intra-cadena y del segundo máximo de formación de cisteína a la reducción de los restos de cistina inter-cadena.

Resulta curioso considerar el comportamiento de las fibras de lana durante la reacción de sulfitolisis, cuando dichas fibras han experimentado previamente la acción de una solución de KCN. Tal como se indica en la Tabla I, en las fibras de lana tratadas con soluciones de KCN, se forma lantionina pero el mecanismo de reacción implicado no permite la formación de lisinoalanina, por lo que el contenido en cistina de la lana tratada no experimenta una disminución muy acentuada al utilizar estas condiciones experimentales.

En la figura 2 se ha representado gráficamente el comportamiento de las fibras de lana, tratadas previamente con soluciones de KCN, durante la reacción de sulfitolisis a distintos valores de pH. En este caso, contrariamente a la postulación anterior, no se produce una disminución del segundo máximo de sulfitolisis a pesar de haberse formado durante el tratamiento alcalino un porcentaje considerable de lantionina. El motivo de este comportamiento anómalo podría deberse al diferente mecanismo de reacción implicado en el tratamiento de las fibras de lana con soluciones de KCN. Si se considera el valor medio de cisteína obtenido en el intervalo de pH 3,00-5,50 durante la sulfitolisis de las muestras de lana sometidas previamente a los diferentes tratamientos alcalinos se puede llegar a deducir un fenómeno interesante.

En la Tabla IV, se indica el porcentaje de rotura de los restos de cistina de las distintas muestras de lana durante la reacción de sulfitolisis. En la primera columna de dicha Tabla se indica el contenido en cistina de las distintas muestras de lana sometidas a las diversas condiciones alcalinas.

Tabla IV

Porcentaje de rotura de los restos de cistina de las distintas muestras de lana (previamente tratadas con soluciones alcalinas) durante la reacción de sulfitolisis.

		CISTINA	CISTEINA (Valor medio)	PORCENTAJE DE ROTURA
LANA SIN TRATAR		12,2	4,17	34,2
SOLUCION DE KOH	40°C	9,16	3,14	34,3
	45°C	8,49	2,74	32,2
	50°C	7,28	2,37	32,6
	60°C	5,31	1,63	30,7
SOLUCION DE KCN	50°C	9,79	3,16	32,2

En la segunda columna están indicados los valores medios de cisteína obtenidos al considerar globalmente cada uno de los puntos que constituyen las respectivas curvas de sulfitolisis. A partir de ambos datos analíticos (cistina y cisteína), se ha calculado el susodicho porcentaje de rotura de los restos de cistina, tal como se indica en la restante columna de la tabla IV.

Resulta sorprendente observar que dicho porcentaje de reducción de los restos de cistina está comprendido en todos los casos entre el 30 y el 35 %, tanto en la sulfitolisis de las fibras de lana sin tratar como en la sulfitolisis de las fibras de lana tratadas con soluciones de KOH 0, 1N a 60° C. Dado que no se produce durante la sulfitolisis de las fibras de lana una desaparición total de los iones bisulfito en el baño de tratamiento, parece que se puede deducir lógicamente la existencia de una accesibilidad inicial de los iones bisulfito a los enlaces disulfuro de los restos de cistina, que promueven la formación de restos de cisteína y cisteinsulfónico. Estos, a su vez, irían creando una cierta barrera iónica que, al alcanzar un porcentaje de rotura del 30-35 %, aproximadamente, impediría el ulterior ataque de los iones bisulfito remanentes en el baño de tratamiento. Estas consideraciones finales deben extenderse igualmente a las fibras de lana tratadas con soluciones de KCN, a pesar de estar sometidas a un mecanismo diferente de reacción preliminar.

En esta comunicación, se han planteado una serie de consideraciones relacionadas con el estudio particular de algunos aspectos químicos que podrían estar implicados en el mecanismo de reacción y cinética del fenómeno de la sulfitolisis de las fibras de lana.

Bibliografía

- (1) D. R. GODDARD y L. MICHAELIS, J. — *Biol. Chem.*, 106, 605 (1934).
- (2) F. F. ELSWORTH y H. PHILLIPS. — *Biochem. J.*, 32, 837 (1938).
- (3) H. PHILLIPS. — *J. Soc. Dyers Col.*, 54, 503 (1938).
- (4) G. VALK. — *Melliand Textilchem.*, 1, 18 (1965).
- (5) G. VALK. — *Proc. III Congreso Intern. Inv. Lanera*, París II, 481 (1965).
- (6) H. T. CLARKE. — *J. Biol. Chem.*, 97, 235 (1932).
- (7) P. T. SPEAKMAN. — *Biochem. Biophys. Acta*, 25, 347 (1957).
- (8) F. F. ELSWORTH y H. PHILLIPS. — *Biochem. J.*, 35, 135 (1941).
- (9) W. R. MIDDLEBROOK y H. PHILLIPS. — *Biochem. J.*, 36, 428 (1942).
- (10) E. G. H. CARTER, W. R. MIDDLEBROOK y H. PHILLIPS. — *J. Soc. Dyers Col.* 62, 203 (1946).
- (11) P. MIRO y J. A. HUESO. — *Text. Res. J.*, 38, 770 (1968).
- (12) J. L. PARRA, J. J. GARCIA DOMINGUEZ, T. SASTRE y A. ASENSIO. — *Proc. V Congreso Intern. Inv. Lanera* (1975; *Ann. Scient. Tex. Belges*, 1, 23 (1977)).
- (13) A. JOHNSON y D. E. THOMPSON. — *Proc. V Congreso Intern. Inv. Lanera Aachen III*, 144 (1975).
- (14) FOLIN. — *J. Biol. Chem.*, 106, 311 (1934).
- (15) P. MIRO y J. J. GARCIA DOMINGUEZ. — *Melliand Textilber.*, 47, 676 (1966).
- (16) G. L. ELLMAN. — *Biochem. Biophys.*, 82, 70 (1959).
- (17) F. PRAKKE y E. STIASNY. — *Rec. Trav. Chlm.*, 52, 615 (1933).
- (18) R. S. ASQUITH, P. MIRO y J. J. GARCIA DOMINGUEZ. — *Text. Res. J.*, 38, 1057 (1968).