

Estudio del residuo proteico obtenido en la hidrólisis parcial de las fibras de lana previamente tratadas con soluciones de lauril sulfato sódico

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

Resumen

La interacción entre el lauril sulfato sódico y las fibras de lana promueve la formación de un residuo insoluble de carácter proteico durante la etapa hidrolítica posterior de las muestras de lana. Se describen una serie de experiencias relacionadas con el origen de dicho material proteico y se estudia su comportamiento químico frente a la reacción de sulfitólisis.

1. Introducción

En las investigaciones realizadas sobre la sulfitólisis de las fibras de lana, se ha utilizado en la mayoría de los casos el método propuesto por Ellman (1) para determinar el contenido en cisteína de dichas fibras tratadas con soluciones de bisulfito sódico (2-6). Alternativamente, existen otros métodos analíticos para evaluar la escisión reductora de los enlaces disulfuro de los restos de cisteína incorporados en el armazón macromolecular de las fibras de lana. Leach (7), ha propuesto un método polarográfico basado en el bloqueo de los grupos tiol de la cisteína mediante el I-Hg-CH_3 y, subsiguiente valoración amperométrica de la solución mercurial que ha permanecido sin reaccionar. Este método analítico no requiere la hidrólisis de la proteína, pero su realización experimental está condicionada por la disponibilidad instrumental del polarógrafo.

Otros autores (8) han descrito el análisis de cisteína al estado de carboximetilcisteína mediante el bloqueo previo de los grupos tiol con soluciones de iodoacético. El análisis ulterior de la carboximetilcisteína es fácilmente realizable en un Autoanализador de Aminoácidos.

No obstante, dado el carácter reversible de la reacción de sulfitólisis, es necesario tomar una serie de precauciones a fin de poder realizar correctamente el análisis de cisteína.

Se ha descrito en un trabajo anterior (9), que cuando la sulfitólisis de las fibras de lana se efectúa después de haber pretratado las mismas con soluciones del tensioactivo aniónico Lauril sulfato sódico, las muestras de lana no se hidrolizaban adecuadamente utilizando las condiciones hidrolíticas habituales del método analítico propuesto por Ellman (1).

En la presente comunicación, se ha intentado indagar la naturaleza y el comportamiento químico del residuo que permanece sin hidrolizar en una serie de experiencias de distinta índole manteniendo como denominador común la influencia que puede tener en este fenómeno la acción del lauril sulfato sódico. Por otra parte, se ha investigado la composición química de este residuo proteico y su reactividad intrínseca frente a soluciones de bisulfito sódico.

2. Experimental

2.1. Fibras de lana

Se ha utilizado lana merina de calidad 64'S. Previamente, se eliminaron las raíces y las puntas de las fibras de lana y, posteriormente, se purificaron dichas fibras me-

dian­te extracción en un Soxhlet con éter etílico, durante 24 horas, y ulterior lavado con alcohol etílico y agua destilada. Finalmente, se dejaron secar a temperatura ambiente.

2.2. Agentes reductores

Los enlaces disulfuro de los restos de cistina presentes en las fibras de lana, se redujeron utilizando soluciones de bisulfito sódico y de ácido tioglicólico, respectivamente. La calidad de ambos reductores fue de grado analítico.

2.3. Tensioactivo aniónico

El tensioactivo aniónico utilizado en la realización experimental de este trabajo fue el Lauril sulfato sódico (BDH) de calidad para análisis.

2.4. Tratamiento de las fibras de lana con soluciones de Lauril sulfato sódico (LSNa) y su posterior sulfitolisis.

Las fibras de lana (1 g) se han tratado con 100 ml de una solución de laurilsulfato sódico al 2 %, a 50° C durante 120 minutos.

El baño de tratamiento se mantuvo a la temperatura deseada introduciendo el matraz de reacción en un termostato. Las muestras de lana se agitaron mecánicamente (20 r.p.m.).

Finalizado el tratamiento, y a fin de eliminar el tensioactivo que impregnaba la lana, las fibras se lavaron con 100 ml de agua aprovechando el mecanismo de succión de una trompa de vacío.

2.5. Tratamiento de las fibras de lana con soluciones de NaHSO₃ en ausencia y en presencia de Lauril sulfato sódico.

Las fibras de lana (1 g) se humectaron con 25 ml de agua destilada durante 10 minutos y, posteriormente, se adicionaron al matraz de reacción, 25 ml de una solución de bisulfito sódico al 3 %. Los tratamientos se realizaron a pH 3,25 y a 30° C durante 60 minutos. En el caso de los tratamientos de sulfitolisis en presencia de LSNa, se adicionó al baño, 25 ml de una disolución al 2 % de dicho tensioactivo aniónico, en lugar de los 25 ml de agua destilada.

2.6. Tratamiento de las fibras de lana con soluciones de ácido tioglicólico en ausencia y en presencia de lauril sulfato sódico.

Las condiciones experimentales utilizadas en la realización de esta serie de tratamientos fueron semejantes a las indicadas en el apartado anterior para el bisulfito sódico, si bien la concentración del ácido tioglicólico fue del 5 % y la temperatura del tratamiento 37° C.

2.7. Hidrólisis de las fibras de lana tratadas

El método hidrolítico utilizado fue el recomendado por Ellman (1) en la descripción de su método analítico. Las fibras de lana (200 mg) se introdujeron en un matraz aforado de 25 ml y se añadieron 10 ml de H₂SO₄ 6N. La hidrólisis se efectuó a una temperatura de 106° C (± 1° C), manteniendo el matraz destapado durante los 60 minutos iniciales del proceso hidrolítico. Finalizado el período de tiempo propuesto, el residuo que permanecía sin disolver se filtró a través de un crisol de placa n.º 4, previamente tarado a fin de poder calcular el porcentaje de dicho material, respecto al peso de las fibras de lana sometidas originalmente al proceso hidrolítico.

2.8. Composición en aminoácidos del material que permanece sin disolver

El contenido de los distintos aminoácidos presentes en el material que permanece sin disolver después de la hidrólisis convencional propuesta por Ellman (1), se determinó mediante un Analizador Automático de Aminoácidos utilizando el método de una sola columna (10). Previamente, dicho material se hidrolizó totalmente mediante una solución de HCl 6N a 108° C durante 24 horas.

2.9. Sulfitolisis del residuo hidrolítico en función del pH de tratamiento.

El residuo hidrolítico de aspecto pulverulento se sometió a la acción de soluciones de bisulfito a diferentes valores de pH utilizando unas condiciones experimentales semejantes a las descritas en el apartado 2.5.

3. Resultados

3.1. Hidrólisis de las fibras de lana tratadas previamente con soluciones de Lauril sulfato sódico (LSNa)

Las fibras de lana se han tratado con soluciones acuosas de LSNa al 1 % a diferentes valores de pH. Posteriormente, las distintas muestras de lana se han hidrolizado con ácido sulfúrico 6N durante diferentes períodos de tiempo.

En la tabla I se indica el porcentaje del residuo obtenido durante los diferentes períodos de tiempo hidrolítico a que han sido sometidas las distintas muestras de lana tratadas con el tensioactivo aniónico en solución acuosa.

Tabla I

Hidrólisis de las fibras de lana tratadas previamente con soluciones acuosas de Lauril sulfato sódico a distintos valores de pH: Porcentaje del residuo obtenido a diferentes períodos de hidrólisis.

	Blanco (pH 2,0)	LSNa (pH 2,0)	LSNa (pH 3,0)	LSNa (pH 5,0)	ALCOHOL LAURICO (pH 2,0)
60 min	32	57	47	40	47
90 min	13	23	21	17	16
120 min	5	18	17	11	11
150 min	3	17	16	10	10
180 min	2,5	16	16	8	7,5

En dicha tabla I se incluyen, igualmente, los porcentajes del residuo queratínico obtenido en la prueba en blanco de las fibras de lana y en el tratamiento de las mismas con alcohol láurico o fracción hidrófoba del tensioactivo aniónico.

La variación del porcentaje del residuo queratínico en función de la duración del proceso hidrolítico se representa gráficamente en la figura 1.

Paralelamente, se realizaron una serie de experiencias similares utilizando un medio hidroalcohólico (50:50) para las soluciones de LSNa, en lugar de las soluciones de carácter acuoso.

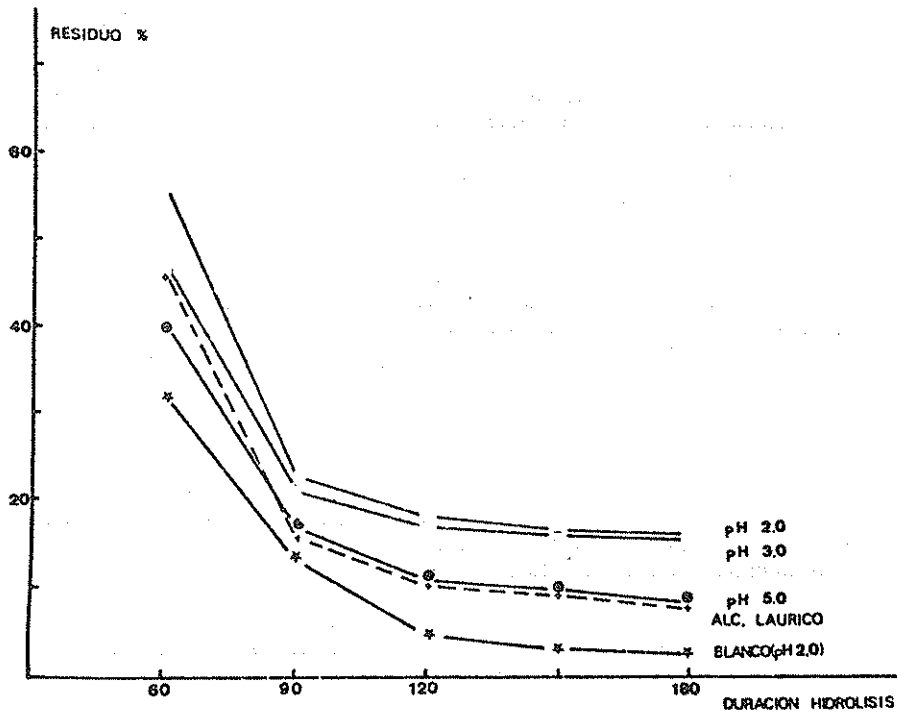


Figura 1

Los resultados obtenidos sobre el porcentaje del residuo obtenido durante la hidrólisis parcial de las distintas muestras de lana tratadas se indican en la tabla II y se representan gráficamente en la figura 2, en función de la duración del proceso hidrolítico.

En las figuras 3, 4, 5 y 6 se representa gráficamente la variación del porcentaje del residuo hidrolítico obtenido durante períodos de 120-180 minutos en función del pH de tratamiento de las fibras con LSNa en solución acuosa e hidroalcohólica, respectivamente.

Tabla II

Hidrólisis de las fibras de lana tratadas previamente con soluciones hidroalcohólicas (50:50) de Lauril sulfato sódico a distintos valores de pH: porcentaje del residuo obtenido a diferentes períodos de hidrólisis.

	Blanco (pH 2,0)	LSNa (pH 2,0)	LSNa (pH 3,0)	LSNa (pH 5,0)
60 min	31	52	51	46
90 min	8	26	17	17
120 min	5	19	13	10
150 min	3	18	11	7
180 min	2,5	16	10	5

Tabla III

Porcentajes del residuo obtenido durante la hidrólisis (90 min) de las muestras de lana tratadas previamente con soluciones de LSNa a 50°C durante 15 y 120 minutos, a distintos valores de pH y a diversas concentraciones del tensioactivo aniónico.

	LSNa (2 %)						LSNa (5 %)	
	pH 1,0		pH 2,0		pH 3,0		pH 3,0	
	15'	120'	15'	120'	15'	120'	15'	120'
Residuo (%)	33	28	27	21	21	18	23	20

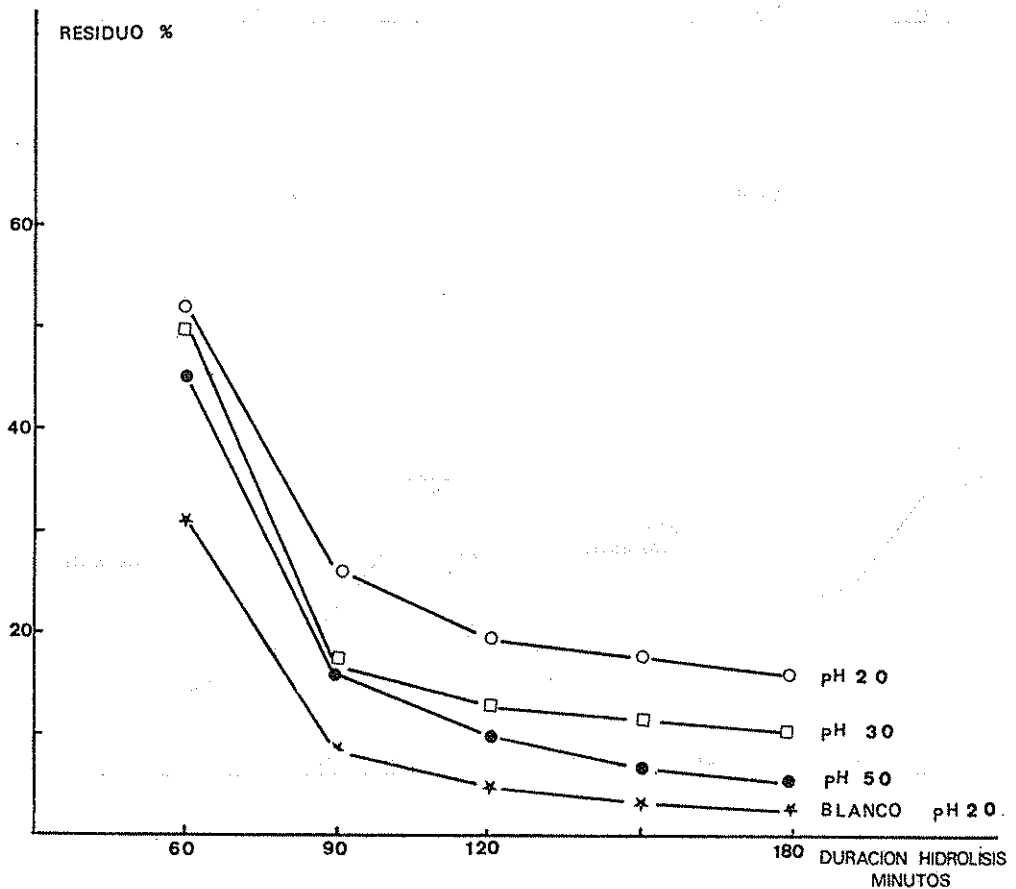


Figura 2

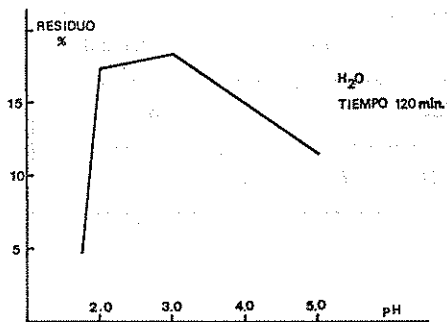


Figura 3

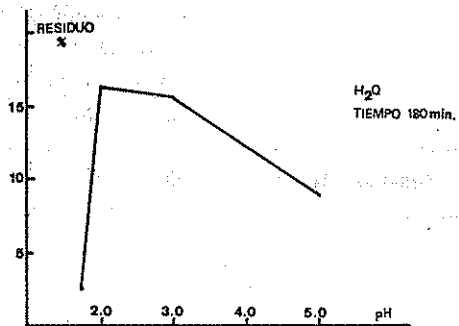


Figura 4

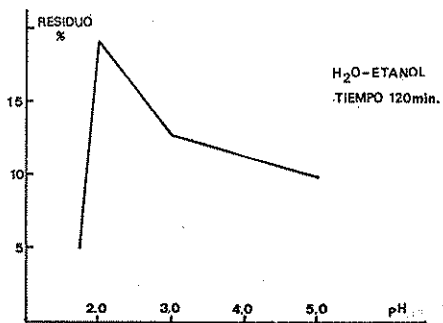


Figura 5

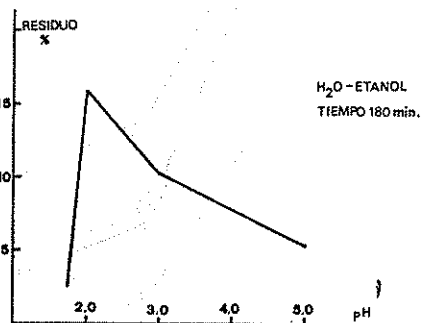


Figura 6

Igualmente, se ha estudiado la influencia que poseen los tratamientos de las fibras de lana con soluciones de LSNa a distintas concentraciones, en el porcentaje del residuo obtenido después de un proceso hidrolítico de 90 minutos. Los resultados obtenidos en la realización experimental de esta serie de tratamientos se indican en la Tabla III. Los tratamientos de las fibras de lana con soluciones del tensioactivo aniónico se realizaron con dos intensidades distintas de concentración (2 % y 5 %) y de duración (15 min y 120 min).

- 3.2. Sulfitolisis de las fibras de lana a pH 3,0: Influencia de un pretratamiento de las fibras con LSNa y de la presencia del tensioactivo en el baño de tratamiento, en el porcentaje del residuo obtenido en la hidrólisis posterior de las muestras de lana tratadas.

En la figura 7, se representa gráficamente la variación del porcentaje del residuo queratínico en función de la duración del proceso hidrolítico de las muestras de lana que han sido sulfitadas en presencia de LSNa (2 %) durante 15 minutos (curva *a*). La curva *b* de dicha figura, representa la misma variación para las fibras de lana pretratadas con una solución de LSNa (2 %), durante 15 minutos y sometidas posteriormente a la acción de una solución al 1,5 % de bisulfito sódico.

La curva *c* corresponde al comportamiento de las muestras de lana pretratadas con agua destilada a pH 3,0 durante 15 min y sulfitadas posteriormente.

Finalmente, la curva *d* representa gráficamente la variación del porcentaje del residuo queratínico en función de los diversos periodos hidrolíticos de las fibras de lana sometidas únicamente a la reacción de sulfitolisis en ausencia de LSNa.

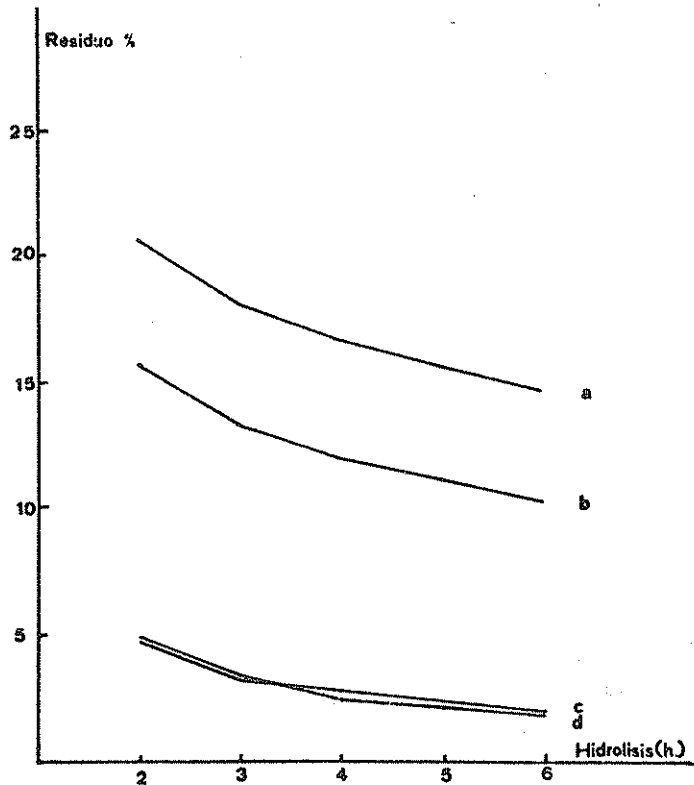


Figura 7

3.3. Tratamientos de las fibras de lana con soluciones de ácido tioglicólico: Influencia de un pretratamiento de las fibras con LSNa y de la presencia del tensioactivo en el baño de tratamiento en el porcentaje del residuo obtenido en la hidrólisis posterior de las muestras de lana tratadas.

La figura 8 permite apreciar una visión semejante a la descrita en el apartado anterior pero en este caso la realización experimental está referida al uso de soluciones de ácido tioglicólico.

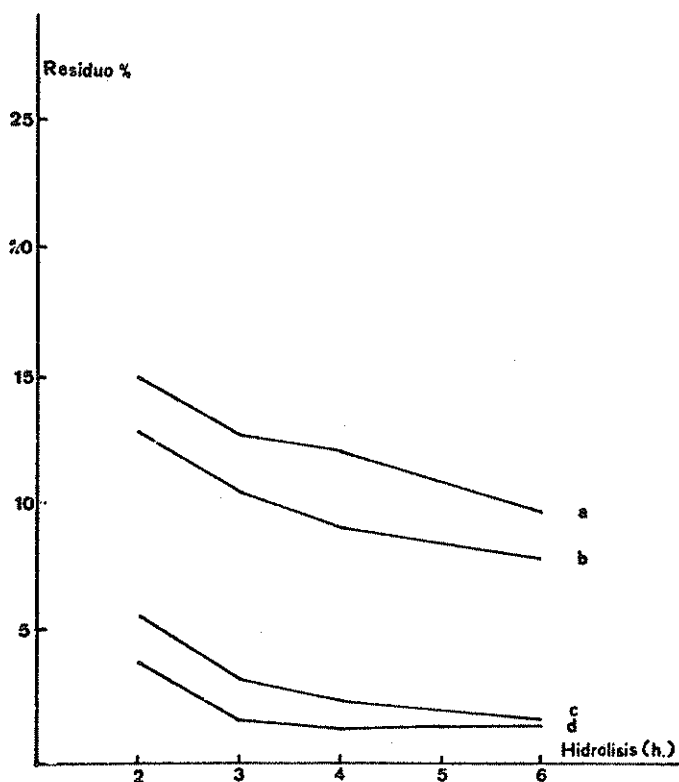


Figura 8

3.4. Sulfitolisis del residuo queratínico en función del pH.

El residuo obtenido en la hidrólisis parcial de las fibras de lana tratadas previamente con una solución de LSNa, se ha sometido a la acción del NaHSO₃, a distintos valores de pH, con objeto de apreciar el comportamiento químico de este material en forma pulverulenta frente a la reacción de sulfitolisis.

Previamente, se ha realizado un análisis del contenido en aminoácidos del residuo proteico con objeto de conocer su composición química. En la Tabla IV se indica el contenido en aminoácidos de dicho residuo queratínico, expresado en tanto por ciento sobre peso seco.

Tabla IV

Contenido en aminoácidos del residuo proteico expresado en tanto por ciento sobre peso seco de muestra.

	Residuo (%)	Fibras de lana
Acido Aspártico	7,10	8,54
Treonina	2,90	6,41
Serina	3,21	9,66
Acido Glutámico	17,94	15,95
Prolina	1,42	6,45
Glicina	1,08	5,60
Alanina	3,99	4,10
Cistina	11,01	12,07
Valina	5,43	5,47
Metionina	0,71	0,61
Isoleucina	4,70	3,42
Leucina	11,45	8,54
Tirosina	3,58	6,04
Fenilalanina	3,19	3,98
Lisina	3,60	3,49
Histidina	0,72	1,54
Arginina	7,72	9,79
Σ Aminoácidos	89,7	101,67

En dicha Tabla se indica, igualmente, a título comparativo la composición en aminoácidas de las fibras de lana sin tratar.

En la Figura 9, se representa gráficamente la curva de sulfitolisis obtenida al tratar dicho residuo proteico que contiene cistina con soluciones de bisulfito al 1,5 %, a distintos valores de pH de tratamiento.

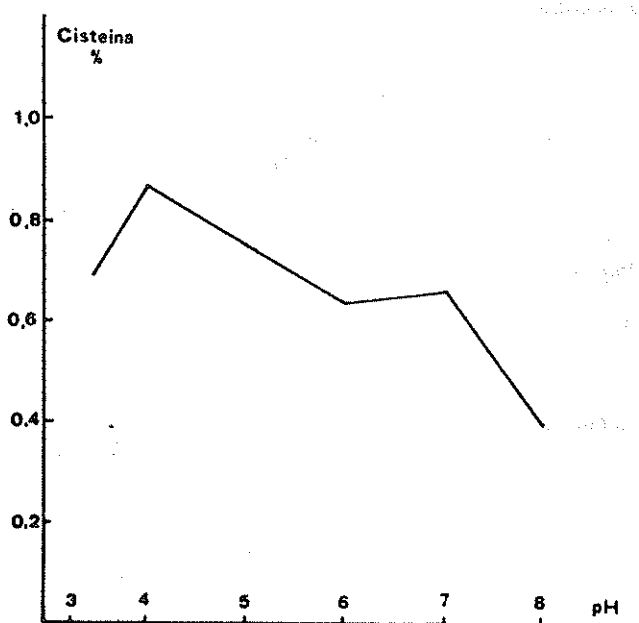


Figura 9

4. Discusión

Las interacciones que presentan los tensioactivos iónicos en la reacción de sulfitolisis de las fibras de lana han sido objeto de investigación por parte de distintos autores, (4, 5 y 9). Recientemente, se ha descrito un modo de inhibir la sulfitolisis de las fibras de lana sometiendo a éstas previamente a la acción de una solución de LSNa al 2 % e incluso a concentraciones inferiores (9). Adicionalmente, se ha podido constatar que en la realización analítica del método de Ellmán (1) para determinar el contenido en cisteína de las fibras de lana tratadas en las susodichas condiciones experimentales, aparece un material residual que permanece sin hidrolizar. Es bien conocido que la adsorción de un tensioactivo aniónico sobre las fibras de lana tiene lugar preferentemente a valores de pH ácidos. En la Figura 1, puede apreciarse como la interacción previa del Lauril sulfato sódico con las fibras de lana promueve una cierta inercia de las mismas durante su hidrólisis ulterior. En comparación con la curva de la prueba en blanco en la que no ha intervenido el tensioactivo aniónico, las distintas curvas indican un comportamiento paralelo de las fibras de lana durante la hidrólisis promoviéndose una mayor resistencia al agente ácido a medida que el tratamiento de las muestras de lana se realiza a valores de pH más ácidos. Utilizando la duración del período hidrolítico preconizada en el método de Ellman (120 min), en el caso de las muestras de lana tratadas con LSNa a pH 2,0, se alcanza un porcentaje del material residual del 18 % en relación con el 5 % que se obtiene normalmente con las fibras de lana que no han sido sometidas a la interacción del tensioactivo aniónico.

Hay que tener en cuenta, tal como se indicará posteriormente, que dicho residuo hidrolítico es de tipo proteico; por lo tanto, no puede asociarse con ningún tipo de

impureza debida a la mayor o menor presencia del tensioactivo absorbido sobre las fibras de lana. En este sentido, se realizaron una serie de experiencias paralelas a las anteriores pero empleando un medio hidroalcohólico que impide la formación de interacciones hidrófobas entre las distintas cadenas hidrocarbonadas del lauril sulfato sódico. Los resultados obtenidos sobre el porcentaje del residuo proteico a diferentes períodos de tiempo de hidrólisis, se indican en la Tabla II y se representan gráficamente en la Figura 2. En un principio, la conclusión que se puede deducir de los resultados expuestos en la Tabla II en comparación con los indicados en la Tabla I, es que la interacción responsable de este fenómeno es de carácter iónico entre los grupos $-\text{NH}_3^+$ de las cadenas laterales y terminales de los aminoácidos y los grupos sulfónicos negativos del tensioactivo aniónico, ya que en ambas Tablas se observa una cierta concordancia global entre los diversos resultados obtenidos. No obstante, si se representan gráficamente los porcentajes del residuo proteico para períodos hidrolíticos de 120 y 180 minutos, en función del pH de tratamiento de las fibras de lana con el tensioactivo aniónico, tanto en un medio acuoso como hidroalcohólico, pueden apreciarse los fenómenos siguientes (Figuras 3 a 6):

- En un medio acuoso, los tratamientos de las fibras de lana con soluciones de LSNa a pH 2,0 y 3,0 respectivamente, provocan una inercia hidrolítica similar en ambas muestras tratadas.
- En un medio hidroalcohólico, parece que existe una gradación más uniforme de los porcentajes del residuo hidrolítico obtenido para las muestras de lana tratadas con soluciones de LSNa a distintos valores de pH.

Si se realizan tratamientos de las fibras de lana con soluciones más concentradas del tensioactivo (5 %), el porcentaje del material proteico obtenido después de un período hidrolítico de 90 minutos, es algo más elevado como lo demuestran los valores porcentuales indicados en la Tabla III.

La existencia de este residuo proteico después de una hidrólisis convencional resulta difícil de explicar dadas las condiciones químicas enérgicas que se utilizan generalmente en cualquier proceso hidrolítico. Es indudable que pueden producirse los fenómenos siguientes o una combinación de ambos:

1. El tensioactivo aniónico se hidrolizará dando lugar a la formación de alcohol laúrico en la solución ácida que podría interferir en el proceso hidrolítico de la proteína.
2. Las interacciones del LSNa con los diversos centros iónicos de las fibras de lana promueve posiblemente en ciertas zonas morfológicas una serie de modificaciones estructurales que podrían impedir la accesibilidad del agente hidrolítico durante los períodos de tiempo estudiados.

La influencia de la interacción del tensioactivo con las fibras de lana, en la obtención de un residuo queratínico durante la hidrólisis de las muestras de lana tratadas, es aplicable tanto a los tratamientos reductores de las fibras de lana realizados en presencia de lauril sulfato sódico como a aquellos tratamientos reductores que han sido precedidos por la acción del tensioactivo aniónico sobre las fibras de lana.

En las figuras 7 y 8 puede constatarse la argumentación expuesta anteriormente para el caso de tratamientos de las fibras de lana con soluciones de bisulfito sódico y ácido tioglicólico, respectivamente.

En ambas figuras, se aprecia un mayor porcentaje del residuo proteico en aquellos tratamientos de las fibras de lana con soluciones de agentes reductores (bisulfito sódico y ácido tioglicólico) existiendo el tensioactivo aniónico en el baño de tratamiento.

Puede apreciarse igualmente en dichas figuras la diferencia existente entre el porcentaje del residuo obtenido en las fibras de lana tratadas con el tensioactivo aniónico y el obtenido en las muestras de lana sin tratar.

El estudio de la composición química del residuo obtenido después de la hidrólisis parcial de las fibras de lana tratadas con soluciones de lauril sulfato sódico, per-

mitió constatar que se trataba de un material proteico como lo demuestran los valores analíticos indicados en la Tabla IV sobre el contenido en aminoácidos de dicho residuo. La suma de los porcentajes parciales debidos a cada uno de los aminoácidos analizados permite deducir que dicho residuo está constituido de un modo casi absoluto por péptidos y proteínas. Resulta interesante señalar que la composición en aminoácidos del residuo proteico es semejante a la de las fibras de lana consideradas en su conjunto, sobre todo en lo que respecta a su elevado contenido en cistina.

Este residuo proteico presenta dos características muy significativas. En primer lugar, su aspecto físico es pulverulento a diferencia del carácter fibroso de la lana y, en segundo lugar, presenta un elevado contenido en cistina a semejanza con las fibras queratínicas.

J. J. García Domínguez y colaboradores (11, 12) han descrito la reactividad química selectiva que presentan los enlaces disulfuro incorporados en una proteína globular o en una proteína queratínica frente a los iones bisulfito a diferentes valores de pH. No deja de ser sorprendente el hecho de que el segundo máximo de sulfitolisis se produzca en las proteínas globulares a un valor de pH distinto (pH 6,50 — 7,25) del que tiene lugar en las proteínas queratínicas (pH 4,75 — 5,50). Este comportamiento diferencial podría estar relacionado con las características pulverulentas de las proteínas globulares en contraposición con el carácter fibroso de las fibras de lana.

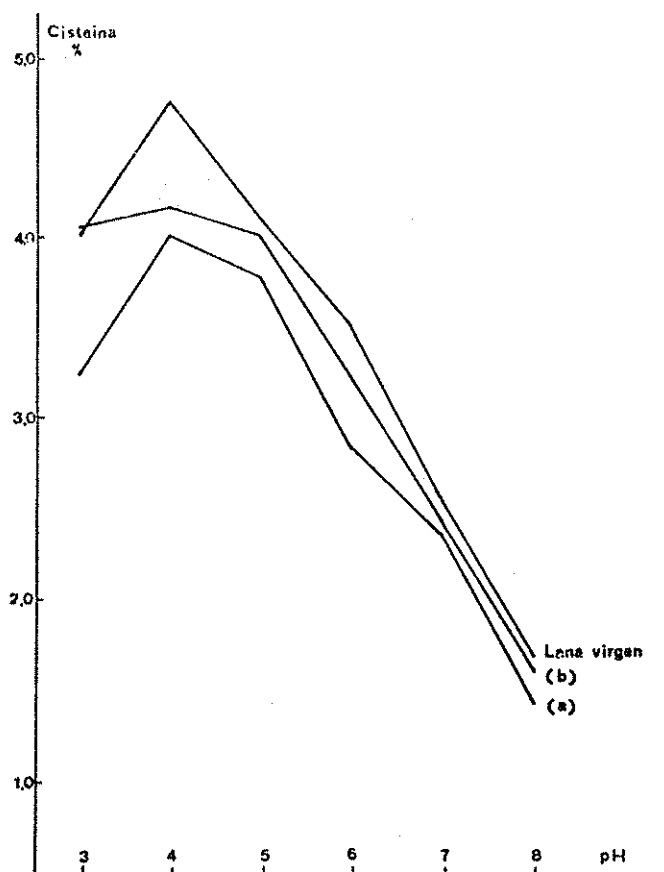


Figura 10