

# UTILIZACIÓN DE LIPOSOMAS UNILAMELARES EN LA TINTURA DE LA LANA. ESTABILIDAD DE LOS SISTEMAS COLORANTE-LIPOSOMA Y SU APLICACIÓN SOBRE LANA NO TRATADA. <sup>●</sup>

A. de la Maza \*, J. L. Parra \*\*, P. Bosch \*\*\*\* y L. Coderch \*\*\*\*

## 0.1. Resumen

Se han realizado estudios relacionados con la utilización de liposomas unilamelares de tamaño grande (LUV) como agentes de transporte sobre lana no tratada de colorantes ácidos en procesos de tintura. A tal fin, se han utilizado liposomas preparados con fosfatidilcolina, conteniendo los colorantes ácidos comerciales Rojo Polar (Ciba Geigy), C.I. Acid Red 349 y Azul Polar 6B, Acid Blue 83. En primer lugar se ha estudiado la estabilidad físico-química de dichos liposomas, determinando la distribución media de tamaño de las vesículas después de su preparación y durante el proceso de tintura. Asimismo se ha investigado la posible hidrólisis de las moléculas fosfolípicas, midiendo la posible alteración de los ácidos grasos que forman las estructuras liposómicas. En segundo lugar, se han investigado aspectos cinéticos relacionados con la adsorción y fijación sobre la lana de dichos colorantes aplicados vía LUV liposoma a diferentes concentraciones lipídicas.

Este proceso promueve una cierta inhibición del agotamiento de los colorantes sobre la lana, mejorando su afinidad con dichas estructuras queratinicas.

**Palabras clave:** Liposomas LUV, estabilidad físico-química de los liposomas, colorantes ácidos, cinética de tintura de la lana, agotamiento y fijación de colorantes.

## 0.2. Summary. LARGE UNILAMELLAR VESICLE LIPOSOME FOR WOOL DYEING: STABILITY OF DYE-LIPOSOME SYSTEMS AND THEIR APPLICATION ON UNTREATED WOOL

Studies involving the use of large unilamellar liposomes (LUV) as carriers of dyes to untreated wool

in the dyeing process are described. To this end, liposomes made with egg phosphatidylcholine and containing the commercial acid dyes Polar Red B (Ciba-Geigy), CI Acid Red 249, or Polar Blue 6B, CI Acid Blue 83 have been investigated. We first studied the physico-chemical stability of liposomes by means of the measurements of the mean particle size distribution of phospholipid vesicles after preparation and during the dyeing process and we also investigated the possible hydrolysis of phospholipid molecules, studying the alteration of fatty acids built up on the liposomic structures.

Second we investigated the kinetic aspects involving dye adsorption and bonding on untreated wool samples via LUV liposomes at different lipid concentrations. This process leads to an inhibition of dye exhaustion in untreated wool fibres improving dye bonding to the keratinic structures of these acid dyes.

**Key words:** Large unilamellar vesicle liposomes, physico-chemical stability of liposome, acid dyes, wool dyeing kinetics, dye exhaustion and bonding on untreated wool.

## 0.3. Résumé. UTILISATION DE LIPOSOMES UNILAMELLAIRES DANS LA TEINTURE DE LA LAINE. STABILITÉ DES SYSTÈMES COLORANT-LIPOSOME ET LEUR APPLICATION SUR LAINE NON-TRAITÉE

On a réalisé des études concernant l'utilisation de liposomes unilamelaires à grande taille (LUV) comme agents de transport sur laine non-traitée de colorants acides en processus de teinture.

Dans ce but on a utilisé des liposomes préparés avec phosphatidylcoline, contenant les colorants acides commerciaux Rouge Poalire (Ciba Geigy), CI Acid Red 349 et le Blue Polaire 6B, Acid Blue 83. D'abord, on a étudié la stabilité physico-chimique de ces liposomes, en déterminant la distribution moyenne de taille des vésicules après leur préparation et pendant le processus de teinture. On a examiné, aussi, la possible hydrolyse des molécules phospholipidiques, en mesurant la possible altération des acides gras formant les structures liposomiques. Ensuite, on a examiné des aspects cinétiques concernant l'adsorption et le fixage sur la laine de ces colorants appliqués par voie LUV iposome à différentes concentrations lipidiques. Ce processus a promu une certaine inhibition de l'épuisement des colorants sur la

● Trabajo publicado en el Textile Research Journal 62, 406-413, (1992).

\* Dr. Alfonso de la Maza Ribera, Colaborador Científico del CSIC en el Centro de Investigación y Desarrollo (CID) del CSIC de Barcelona.

\*\* Dr. José Luis Parra Juez, Profesor de Investigación del CSIC en el Centro de Investigación y Desarrollo (CID) del CSIC de Barcelona.

\*\*\* Dra. Pilar Bosch Verderol, Colaboradora Científica del CSIC, en el Centro de Investigación y Desarrollo (CID) del CSIC de Barcelona.

\*\*\*\* Dra. Luisa Coderch Negra, Colaboradora Científica del CSIC en el Centro de Investigación y Desarrollo (CID) del CSIC de Barcelona.

*laine tout en améliorant leur affinité avec ces structures kératiniques.*

**Mots-clés:** *Liposomes unilamellaires, stabilité physico-química de liposomes, colorants acid, cinétique teinture de la laine, épauisement an affinité de les colorants.*

## 1. INTRODUCCIÓN

El comportamiento de los colorantes ácidos migrando desde el baño de tintura hacia el interior de las fibras de lana depende en principio de los siguientes procesos:

- a) Migración del colorante desde el baño de tintura a la interfase.
- b) Adsorción del colorante en la superficie de la fibra.
- c) Difusión del colorante desde dicha superficie hacia el centro de la fibra.
- d) Finalmente la unión electrostática del colorante sobre el sustrato queratínico <sup>22)</sup>.

Los colorantes polares, presentan como principal característica que difunden mucho más lentamente que los típicos "levelling acid dyes". Sin embargo, sus propiedades de migración y recubrimiento son inferiores, lo que determina la utilización de agentes niveladores <sup>2)</sup>.

Los liposomas se definen como estructuras formadas por bicapas lipídicas que presentan un cierto volumen interno. Estas estructuras han sido el centro de interés de un gran número de científicos por dos razones muy diferentes. En primer lugar, los liposomas proporcionan excelentes modelos de membranas celulares <sup>10,13)</sup>. En segundo lugar, estas bicapas fosfolipídicas han sido desarrolladas como sistemas de transporte y liberación de distintos agentes terapéuticos <sup>3,12,21)</sup>. Estas vesículas son por lo general excelentes agentes de transporte tanto para agentes químicos hidrofílicos como hidrofóbicos. Así, Barni cita la utilización de vesículas sintéticas en la tintura de poliéster con colorantes dispersos, obteniendo buenos resultados tanto en el nivelado como en la migración de los mismos <sup>1)</sup>. Asimismo, los liposomas se han utilizado como vehículo de agentes oxidantes en la cloración de la lana <sup>8)</sup>.

La utilización de liposomas como transportadores de colorantes ácidos en procesos de tintura puede suponer una interesante aplicación de estas estructuras lipídicas, mejorando tanto la adsorción de colorantes como su fijación sobre los sustratos queratínicos.

En el presente trabajo, se describen una serie de investigaciones encaminadas al estudio de la estabilidad fisico-química de liposomas formados por vesículas unilamellares de tamaño grande, conteniendo dos tipos de colorantes ácidos, en un rango de concentraciones lipídicas comprendidas entre 0,5 mM y 4,0 mM y su aplicación sobre lana no pretratada. Se estudian asimismo algunos aspectos relacionados con la migración y adsorción de dichos colorantes.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Materiales

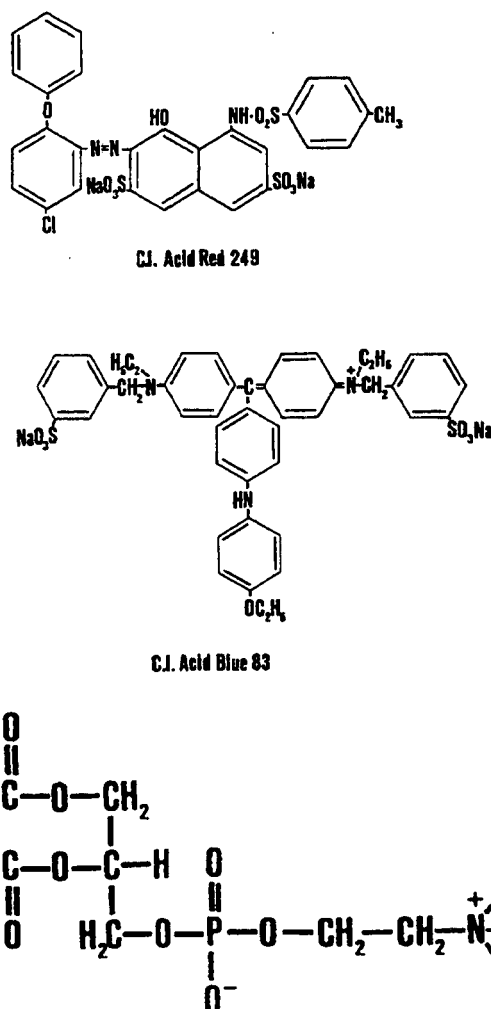
Los tejidos de lana utilizados fueron de lana tipo botany R64/2. Las muestras se lavaron con Soxhlet durante 2 horas con cloruro de metileno y se aclararon con agua Millipore secándose a temperatura ambiente.

La fosfatidilcolina (PC) se purificó a partir de lecitina de huevo (Merck) según el método descrito por Singleton <sup>17)</sup>. Su estructura química se indica en la Figura 1.

El tensioactivo Triton X-100 (octilfenol etoxilado con 10 moles de óxido de etileno y una concentración en materia activa del 100%) fue suministrado por Tenneco S.A.

Las membranas de policarbonato de 400 nm y 800 nm, fueron suministradas por Nucleopore.

Los colorantes utilizados fueron suministrados por Ciba-Geigy. Dichos colorantes fueron el Rojo Polar B, CI Acid Red 249 y el Azul Polar 6B, CI Acid Blue 83 cuyas estructuras químicas se indican asimismo en la Figura 1.



**Fig. 1.** Estructuras químicas de los colorantes Rojo Polar B, CI Acid Red 249 y Azul Polar 6B, CI Acid Blue 83 y de la fosfatidilcolina.

## 2.2. Métodos

### 2.2.1. Preparación de Liposomas formados por vesículas grandes unilamelares (LUV).

Las suspensiones de liposomas formados por vesículas grandes y unilamelares de tamaño definido se prepararon por el método de evaporación en fase reversa en atmósfera de nitrógeno según el protocolo descrito por Paternostre y Rigaud <sup>14,15</sup>. Este procedimiento fue esencialmente extraído de otro más general desarrollado por Szoka y Papahadjopoulos <sup>19</sup>. Se formó un film lipídico eliminando el disolvente orgánico en el que estaba disuelta la fosfatidilcolina por evaporación rotatoria. Este fosfolípido fue entonces redissuelto en eter dietílico, añadiéndose a dicha solución eterea una fase acuosa que contenía los componentes de la tintura (1% de colorante, 9% de sulfato sódico anhidro y ácido acético hasta pH = 5.5). El sistema de dos fases resultante se sonicó con un sonicador de ultrasonidos Labsonic 1510 B. de Braun utilizando una potencia de 70W durante un periodo de 3 minutos a una temperatura de 5° C hasta obtener una emulsión estable. Entonces, se evaporó suavemente el disolvente por medio de un rotavapor a 20° C bajo presión controlada (400 mm Hg). Se formó en primer lugar un gel viscoso que paulatinamente se transformó en una solución acuosa de liposomas. Finalmente, la suspensión de liposomas formada se extruyó a través de membranas de policarbonato de 800 nm y 400 nm de tamaño de poro hasta obtener un tamaño uniforme de distribución de partícula <sup>20</sup>. Las vesículas así obtenidas se separaron del material no encapsulado por separación a través de una resina Sephadex G-50 medium (Pharmacia), por cromatografía en columna.

### 2.3. Caracterización y estabilidad de las preparaciones de liposomas

#### 2.3.1. Valoración del contenido en fósforo de los liposomas

La determinación de la concentración en fosfolípidos de las suspensiones de liposomas se realizó por el método del ácido ascórbico, utilizando el método espectrofotométrico de valoración del fósforo total <sup>18</sup>.

#### 2.3.2. Determinación del tamaño medio de las vesículas de liposoma

El tamaño medio y la polidispersidad de las preparaciones de LUV liposomas se determinó por medio de un Espectrofotómetro correlador de fotones (Malvern Autosizer II C). Las muestras se ajustaron a la concentración adecuada y las medidas se realizaron a 20° C con un ángulo de detección de 90° C.

#### 2.3.3. Medidas de agregación

El estado de agregación de las vesículas se consideró como una medida de la estabilidad física de las suspensiones de liposomas. Dicha determinación se realizó midiendo la variación del tamaño medio de las vesículas liposómicas con el tiempo.

### 2.3.4. Determinación de la composición en ácidos grasos

Las suspensiones de liposomas fueron sometidas a sucesivas extracciones con hexano. Los extractos así obtenidos se secaron con MgSO<sub>4</sub>, obteniéndose los lípidos por eliminación del disolvente a presión reducida.

Los ácidos grasos así separados se determinaron cuantitativamente como derivados del ester metílico correspondiente <sup>5</sup>, utilizando un cromatógrafo de gase Hewlett Packard 5840A equipado con un detector de ionización de llama y utilizando como patrón interno el ácido heptadecanoico (Fluka nº 51610). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se prepararon por el método del diazometano <sup>7</sup>.

### 2.3.5. Determinación de la eficiencia de encapsulación de los liposomas

Los porcentajes de colorante encapsulado en los liposomas (expresados en % v.) se determinaron por medio de un método espectrofotométrico. Las vesículas de fosfolípido se limpiaron previamente del material no encapsulado por separación a través de la resina Sephadex G-50 medium (Pharmacia) por cromatografía en columna. Entonces, la concentración de colorante se evaluó por espectrofotometría, después de la destrucción de las vesículas por adición del tensioactivo no iónico Triton X-100 <sup>6,23</sup>.

## 2.4. Cinética de tintura

Las muestras de lana se trataron con los liposomas recientemente preparados en las condiciones siguientes:

- Concentración de lípidos en los liposomas entre 0,5 mM y 4,0 mM.
- Peso de lana 1g.
- Concentración de colorante 1% respecto a peso de fibra.
- Sulfato de sodio 5% respecto a peso de fibra.
- Relación de baño 60:1.
- pH 5,5 (ácido acético).
- Temperatura inicial de tintura 50° C, aumentando 0,9° C por minuto a partir de los 10 minutos de tintura hasta alcanzar los 90° C.
- Tiempo de tintura 120 minutos.

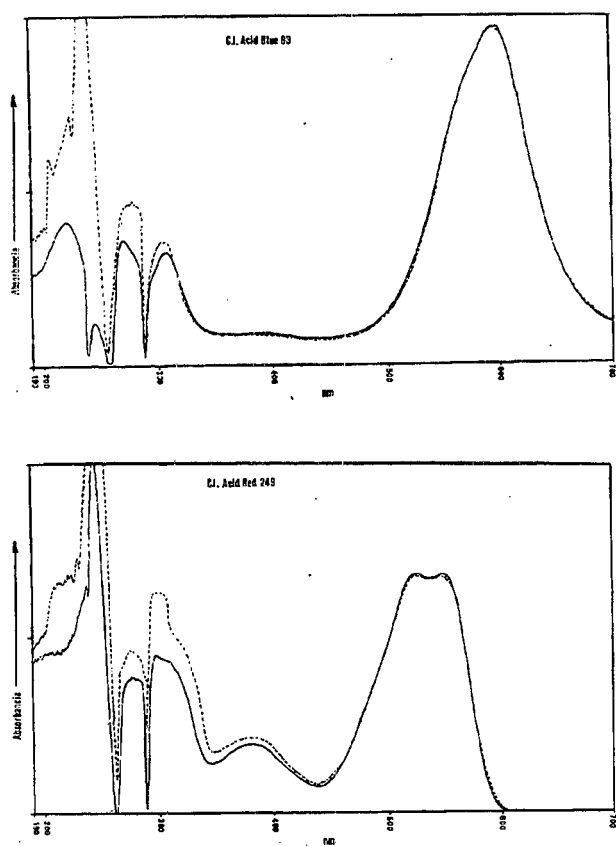
Finalizada la tintura, las muestras se lavaron con agua durante 10 minutos y se secaron a temperatura ambiente.

Las tinturas se realizaron en un aparato de tintura de laboratorio Multi-Mat de (Renigal). El agotamiento del baño de tintura se determinó por métodos espectrofotométricos, utilizando el espectrofotómetro Shimadzu UV-265FW.

Alicuotas de liposomas (0,5 ml) se añadieron periódicamente a una cubeta de cuarzo que contenía 2 ml de solución acuosa de Tritón X-100 (1% w/v), suplementada con sulfato sódico (5%), y ácido acético

a pH 5,5. La interacción entre el tensioactivo no iónico Triton X-100 y las estructuras liposómicas promueve la solubilización de las vesículas fosfolípídicas vía formación de micelas mixtas<sup>9,11)</sup> transformando las suspensiones de liposomas en soluciones completamente transparentes.

La Figura 2 muestra el efecto de la ruptura de las vesículas liposómicas por el tensioactivo Triton X-100 en el espectro de adsorción de los colorantes Azul Polar 6B (Fig. 2-A) y Rojo Polar B (Fig. 2-B) para concentraciones de fosfolípido (4 mM). Puede observarse que el valor de  $\lambda_{max}$  de los colorantes utilizados en este trabajo no presenta cambios en presencia de las micelas mixtas de fosfolípido-tensioactivo.



**Fig. 2.** Espectros de adsorción de los colorantes Azul Polar 6B (2-A) y Rojo Polar B (2-B) en presencia (línea discontinua) y en ausencia (línea continua) de micelas mixtas de fosfolípido-Triton X-100.

### 2.5. Extracción de las muestras teñidas

El colorante superficial unido a las fibras de lana por fuerzas no polares (interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno), fue extraído con etanol puro a 25° C durante 60 minutos<sup>16)</sup>. Subsiguientes extracciones con amoníaco (0,5% a 60° C durante 15 minutos) demostraron el colorante difundido en el interior de la fibra unido iónicamente a ésta<sup>22)</sup>.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Estabilidad física de las preparaciones de liposomas

Los cambios en el tamaño de las vesículas debido a la agregación o solubilización de los liposomas fue determinado midiendo las variaciones del tamaño medio de las vesículas durante el proceso de tintura, utilizando un método de "quasi-elastic light scattering"<sup>4)</sup>. Los resultados obtenidos para los dos colorantes investigados (concentración de fosfolípido 4 mM) se indican en la Tabla 1. Puede observarse que durante el proceso de tintura se produce un ligero descenso del tamaño de las vesículas manteniéndose el índice de polidispersidad inferior a 1,5 después del tratamiento.

**TABLA 1**  
*Tamaño medio de las vesículas liposómicas (nm)*

TIEMPO minutos	ROJO POLAR B	AZUL POLAR 6B
0	402	404
5	402	404
15	398	399
30	396	396
60	401	400
90	420	419
120	430	428

Distribución del tamaño medio de partícula de suspensiones de liposomas (concentración lipídica 4 mM) conteniendo los colorantes Rojo Polar B y Azul Polar 6B durante en proceso de tintura.

### 3.2. Hidrólisis de las cadenas hidrocarbonadas fosfolípídicas

Se realizaron análisis secuenciales de la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos utilizando un cromatógrafo de gases a fin de determinar los cambios en las concentraciones de ácidos grasos intactos en las suspensiones de liposomas. Los resultados obtenidos indican que dichas suspensiones liposómicas, conteniendo el ácido heptadecanoico como patrón interno, no presentaron hidrólisis durante el proceso de tintura.

### 3.3. Eficacia de encapsulación de los liposomas

Los porcentajes de colorante encapsulado en las bicapas lipídicas se indican en la Tabla 2 (concentración de fosfolípido comprendida entre 0,5 mM y 4,0 mM). El porcentaje de encapsulación de colorante aumenta a medida que aumenta la concentración de fosfolípido, alcanzando un valor máximo del 25% para una concentración de lípido 4 mM. Sin embargo, no

puede establecerse ninguna relación entre los porcentajes de encapsulación y la estructura química de los colorantes.

El alto porcentaje de encapsulación de colorante en LUV liposomas podría ser explicado por la estructura unicompartimental de estos liposomas, que normalmente presenta un elevado volumen interno.

**TABLA 2**  
**Porcentajes de eficacia de encapsulación en LUV liposomas**

LIPID CONC.	ROJO POLAR B	AZUL POLAR 6B
4 mM	25,1	24,8
2 mM	12,6	12,1
1mM	6,1	5,9
0,5mM	3,2	3,2

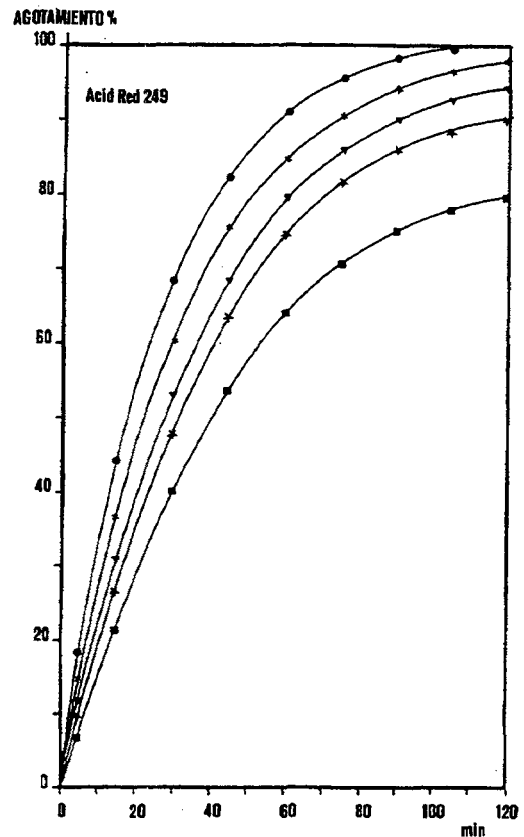
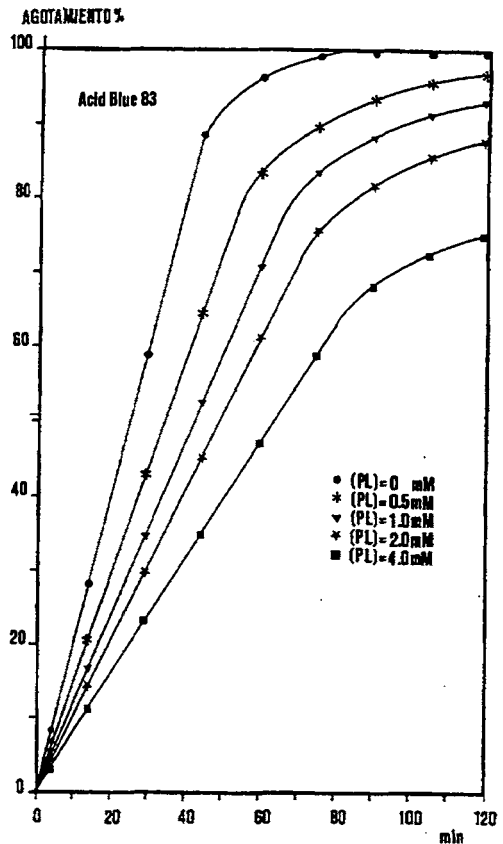
Porcentajes de eficacia de encapsulación del LUV liposomas conteniendo los colorantes Rojo Polar B y Azul Polar 6B a diferentes concentraciones de lípido (de 0,5 a 4,0 mM).

### 3.4. Cinética de tintura

Se realizaron estudios cinéticos del agotamiento de colorante sobre lana no tratada vía sistemas de colorante-liposoma, para concentraciones de fosfolípido comprendidas entre 0,5 mM y 4,0 mM. Los resultados obtenidos se indican en la Figura 3. Puede observarse que se produce una clara inhibición en el agotamiento del colorante para los dos colorantes investigados. Esta inhibición parece estar estrechamente relacionada con la concentración de fosfolípido en los liposomas, alcanzando su máximo valor para una concentración 4 mM y permaneciendo constantemente todo el proceso de tintura.

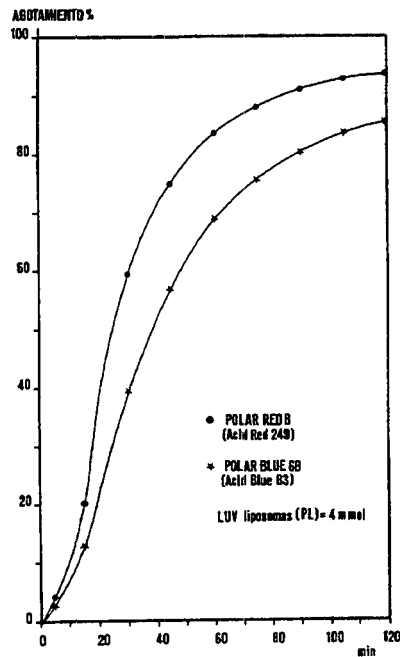
El agotamiento final del colorante Azul Polar 6B fue aproximadamente del 79% (Figura 3-A), mientras que el correspondiente al colorante Rojo Polar Red B fue ligeramente superior (alrededor del 80%) (Figura 3-B).

A fin de clarificar los mecanismos implicados en estos procesos de tintura, se realizaron una serie de experimentos basados en la determinación del agotamiento del baño de tintura de sistema colorante-liposoma utilizando únicamente el colorante encapsulado. Así, se trataron muestras de lana con liposomas cargados de colorante en un rango de concentraciones de liposoma comprendido entre 0,9 mM y 4,0 mM después de haber limpiado el material no encapsulado por separación cromatográfica utilizando resina Sephadex G-50<sup>9)</sup>.



**Fig. 3.** Cinéticas de agotamiento de los colorantes Azul Polar 6B (3-A) y Rojo Polar B (3-B) sobre fibras de lana no tratadas en tinturas vía LUV liposoma en el rango de concentraciones de fosfolípido comprendidas entre 0,5 mM a 4,0 mM.

La tintura se realizó en las condiciones ya indicadas. Los resultados obtenidos para una concentración de fosfolípido 4 mM se indican en la Figura 4.



**Fig. 4.** Cinéticas de agotamiento de los colorantes Rojo Polar B y Azul Polar Blue 6B sobre lana no tratada en tinturas vía LUV liposomas utilizando únicamente el colorante encapsulado (concentración de fosfolípido 4,0 mM).

La cinética de agotamiento del colorante sigue la misma tendencia para ambos colorantes. Inicialmente se obtuvo un bajo agotamiento de colorante (alrededor de 10-15% después de 15 minutos de tintura). El agotamiento, sin embargo, aumentó rápidamente al aumentar la temperatura a 60° C. Transcurridos 120 minutos el agotamiento del colorante Rojo Polar B fue del 93,5% mientras que el del Azul Polar fue algo inferior 83,7%.

Comparando los agotamientos obtenidos en tinturas vía liposoma completo o utilizando únicamente el colorante encapsulado (Figura 3 y 4 para concentraciones de fosfolípidos 4 mM), puede observarse que en el primer caso el agotamiento de colorante inicial es mayor pero disminuye al final.

### 3.5. Influencia de los liposomas en la interacción de los colorantes con la lana

Se realizaron extracciones de los colorantes agotados sobre las muestras teñidas. Dichas extracciones se realizaron con etanol<sup>16)</sup> y con una solución de amoníaco al 0,5%<sup>22)</sup>. Los resultados obtenidos se indican en la Tabla 3.

Las cantidades de colorante extraído parecen estar relacionadas con la concentración de fosfolípido de los liposomas. Así, las extracciones de colorante realizadas con etanol de muestras teñidas vía liposoma (concentración de fosfolípido 4 mM) dan valores inferior-

es a 0,05 mg/g lana, mientras que las extracciones realizadas con el mismo disolvente sobre muestras teñidas sin liposomas dan mayores cantidades de colorante extraído (alrededor de 0,2 mg/g de lana). Similares tendencias se observaron para extracciones realizadas con solución de amoníaco.

**TABLA 3**  
**Colorante extraído (mg dye/g wool)**

LIPID CONC.	ROJO POLAR B		AZUL POLAR 6B	
	A	B	A	B
4 mM	0,040	1,480	0,010	1,200
2 mM	0,080	2,080	0,024	1,900
1mM	0,100	2,180	0,038	2,080
0,5mM	0,140	2,800	0,052	2,980
0 mM	0,200	3,508	0,210	3,600

A.- mg col/g lana extraída con alcohol<sup>16)</sup>.  
B.- mg col/g lana extraída con amoníaco<sup>22)</sup>.

Cantidades de colorante extraído de muestras de lana teñida vía liposomas LUV completos a diferentes concentraciones lipídicas.

La Tabla 4 indica las cantidades de colorante extraído de muestras de lana teñidas utilizando únicamente colorante encapsulado en las bicapas lipídicas en el mismo rango de concentraciones. Observando estos datos parece observarse que las cantidades de colorante extraído siguen una tendencia inversa a la observada en la Tabla 3. Sin embargo, los porcentajes de colorante extraído con respecto a la cantidad total de colorante adsorbido siguen una tendencia similar. Así, las extracciones con amoníaco de muestras teñidas con una concentración de fosfolípido 4 mM fueron del orden del 4,5% - 7,6%, mientras que el uso de una concentración fosfolípídica de 0,5 mM dieron valores de extracción de colorante superiores (alrededor de 20,7% y 21,4% para ambos colorantes investigados).

**TABLA 4**  
**Col. adsorbido (mg col/g lana)**  
**Col. extraído (mg col/g lana)**

LIPID CONC.	POLAR ROJO B	POLAR AZUL B	POLAR ROJO B		POLAR AZUL 6B	
			A	B	A	B
4 mM	2,346	2,075	0,013	0,180	0,012	0,096
2 mM	1,219	1,116	0,010	0,134	0,012	0,095
1mM	0,600	0,565	0,002	0,081	0,009	0,054
0,5mM	0,317	0,313	0,000	0,068	0,000	0,065

A.- mg col/g lana extraída con alcohol<sup>16)</sup>.  
B.- mg col/g lana extraída con amoníaco<sup>22)</sup>.

Cantidades de colorante extraído de muestras de lana teñidas utilizando únicamente el colorante encapsulado en las vesículas de liposoma para diferentes concentraciones lipídicas.

Considerando que las extracciones con etanol extraen el colorante unido superficialmente a la fibra por fuerzas no polares, la presencia de liposomas en el medio de tintura conduce a una disminución del colorante superficial unido no iónicamente. Asimismo, las menores cantidades de colorante liberadas con amoníaco en relación a la concentración de lípidos en los liposomas, puede atribuirse a un incremento de la contribución de las fuerzas no polares en los enlaces colorante-fibra. Estas interacciones pueden jugar un importante rol en las uniones colorante-fibra en el interior de la misma, principalmente las de tipo hidrofóbico.

Los porcentajes totales de colorante unido a la fibra pueden expresarse por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ COL. UNIDO} = \frac{\text{Col. adsorbido (mg/g lana)} - \text{Col. total extraído (mg/g lanal)}}{\text{Col. adsorbido (mg/g wool)}} \cdot 100$$

La Tabla 5 indica los porcentajes totales de colorante unido a partir de la ecuación anterior, después de teñir la lana utilizando liposomas completos únicamente la parte de colorante encapsulada. La utilización de liposomas completos promueve unos menores porcentajes de colorante total unido respecto a los resultados obtenidos usando únicamente el colorante encapsulado, especialmente para el colorante Rojo Polar B.

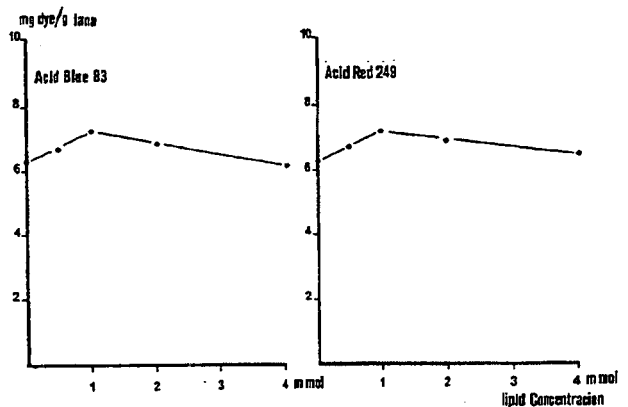
**TABLA 5**  
**% Colorante total fijado**  
**Liposomas completos**  
**Solo colorante encapsulado**

LIPID CONC.	ROJO POLAR B	AZUL POLAR 6B	ROJO POLAR B	AZUL POLAR 6B
4 mM	81,00	83,86	91,80	94,80
2 mM	76,00	78,13	88,20	90,50
1mM	75,95	77,42	86,20	88,90
0,5mM	68,81	68,61	78,80	79,52
0 mM	62,92	61,90	—	—

A.- mg col/g lana extraída con alcohol <sup>16)</sup>.  
B.- mg col/g lana extraída con amoníaco <sup>22)</sup>.

Porcentajes totales de colorante unido a la fibra, dado como la diferencia entre el colorante adsorbido y el extraído, para diferentes concentraciones de lípido.

La Figura 5 muestra las cantidades de colorante unido a la fibra en tinturas vía liposoma completo. Estas cantidades son dadas como la diferencia entre la cantidad total de colorante adsorbido por la fibra y la cantidad total de colorante extraído. Estos valores se representan respecto a la concentración total de fosfolípido de los liposomas. La máxima cantidad de colorante unido a la fibra se obtuvo para una concentración lipídica 1 mM, para ambos colorantes investigados.



**Fig. 5.** Cantidades totales de colorante unido a la fibra dado como diferencia entre el colorante adsorbido (Fig. 3) y la cantidad total de colorante extraído, respecto a la concentración de fosfolípido para LUV liposomas y para los colorante Rojo Polar Red B y Azul Polar 6B.

## 4. CONCLUSIONES

**4.1.** A partir de los resultados expuestos, podemos concluir que se ha desarrollado un nuevo método de tintura de la lana vía liposomas el cual puede ser considerado adecuado para controlar el agotamiento de los colorantes ácidos Rojo Polar B y Azul Polar 6B, mejorando asimismo las uniones colorante-fibra la lana no pretratada.

**4.2.** Las suspensiones de liposomas investigadas a pH 5,5 presenta una buena estabilidad físico-química durante el proceso de tintura para ambos colorantes investigados dentro de un rango de concentraciones de fosfolípido comprendido entre 0,5 mM y 4,0 mM.

**4.3.** La inhibición en el agotamiento del colorante está directamente relacionada con la concentración de fosfolípido en las vesículas liposómicas, la cual también determina el porcentaje de encapsulación de dichas vesículas.

**4.4.** Las mayores cantidades de colorante unido a las fibras de lana utilizando el liposoma completo se obtuvieron a una concentración de fosfolípido 1mM, que corresponde aproximadamente a 45 mg de fosfolípido por gramo de lana (alrededor del 4,5% respecto a peso de fibra). Estos resultados se confirmaron para ambos colorantes investigados.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Barni, E. Carpignano, R., DiModica, G., Savarino, P., and Viscardi, G. Vesicle Precursors in the Dyeing of Polyester with Disperse Dyes. *J. Dispersion Science and Technology*, 9 (1), 75-87, (1988).
2. Bone, J. A., Shore, J., and Park, J. Selecting Dyes for Wool: Technical and Economic Criteria. *J. Soc. Dyers Color.* 104, 12-22, (1988).
3. Chapman, D. Physicochemical Properties of Phospholipids and Lipid-Water Systems, in "Liposome Technology", Vol. 1, G. Gregoriadis, Ed., CRC Press Inc., Boca Raton Florida, pp. 1-19, (1986).
4. Chong, C.S. and Colbow, K. Light Scattering and Turbidity Measurements on Lipid Vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 436, 260, (1976).
5. Christie, W.W. Gas Chromatography and Lipids. The Oily Press. AYR, Scotland (1989).
6. Deamer, D. W., and Uster, P. S. Liposome Preparation: Methods and Mechanisms, ch. 1 in "Liposomes", J. M. Ostro, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1983).
7. De Boer, T. J., Backer, H. J. Diazomethane. *Org. Synth. Coll.* 4, 250, (1963).
8. De la Maza, A. Parra, J. L., and Bosch, P. Using Liposomes in Wool Chlorination. Stability of Chlorine Liposomes and Their Applications on Wool Fibers. *Textile Res. J.* (in press).
9. Hellenius, A., and Simons, K. Solubilization of membranes by Detergents. *Biochim. Biophys Acta*, 415, 29-79, (1975).
10. Huang L. Liposome-Cell Interactions In Vitro ch. 3 in "Liposomes", J. M. Ostro, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1983).
11. Lichtenberg, B. R., Robson, J. and Dennis, E. A. Solubilization of Phospholipids by detergents. *Biochim. Biophys. Acta* 737, 285-304, (1983).
12. Mayhew, E. and Papahadjopoulos, D. Therapeutic Applications of Liposomes, ch. 7 in "Liposomes", J. M. Ostro, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1983).
13. Papahadjopoulos, D. and Miller, N. Phospholipidic Model Membranes. I Structural Characteristics of Hydrated Liquid Crystals. *Biochim. Biophys. Acta*, 135, 624, (1967).
14. Paternostre, M. T., Toux, M., and Regaud J. L. Mechanisms of Membrane Protein Insertion into Liposomes During Reconstitution Procedures Involving the Use of Detergents, 1. Solubilization of Large Unilamellar Vesicles (prepared by Reverse Phase Evaporation) by Triton X-100, Octyl Glucoside, and Sodium Cholate. *Biochemistry* 27, 2668, (1988).
15. Rigaud, J. L., Bluzat, A. and Buschlen S. Incorporation of Bacteriorhodopsin into Large Unilamellar Liposomes by Reverse Phase Evaporation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 111, 373, (1983).
16. Sánchez Leal, J., and García Domínguez J. J. Formation of Pseudomicelles as a New Contribution to the Adsorption of the Ionic Surfactants on Proteins Theory and its Application in Differential Printing. Premio Jorge Camp (1973).
17. Singleton, W. S., Gray, M. S., Brown, M. L. and White, J. L. Chromatographically Homogeneous Lecithin from Egg Phospholipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 42, 53, (1965).
18. "Standard Methods", 14th ed., Am. Public Health Assoc. Washington, D. C. 466 - 484, (1976).
19. Szoka, F., Olson, F., Heath, T., Vail, W., Mayhew, E. and Papahadjopoulos, D. Preparation of Unilamellar Liposomes of Intermediate Size (0,1 - 0,2  $\mu$ m) by a Combination of Reverse Phase Evaporation and Extrusion Through Polycarbonate Membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 601, 559-571, (1980).
21. Szoka, F. and Papahadjopoulos, D. Liposomes: Preparation and Characterization, ch. 3 in "Liposomes: From Physical Structure to Therapeutic Applications", C. G. Knight, Ed., Elsevier. Press, North Holland, Amsterdam (1981).
22. Trotman, E. R. "Dyeing and Chemical Technology of Textile Fibres", Ed. Charles Griffin and Company Ltd. (1984).
23. Weinstein, J. N., Ralston, E., Leserman, L. D., Klausner, R. D., Dragsten P., Henkart, P., and Blumenthal, R. Self-Quenching of Carboxyfluorescein Fluorescence: Uses in Studying Liposome Stability and Liposome-Cell Interaction. Vol. 3 ch. 13 in "Liposome Technology", G. Gregoriadis, Ed., CRC, Pres, Boca Raton Florida (1986).

Trabajo realizado en 1993-01-29.

Aceptado en 1993-02-26.