

USO ALTERNATIVO DE LIPOSOMAS MIXTOS EN LA DISPERSION DE COLORANTES ANTRAQUINONICOS Y SU VEHICULIZACION EN LA TINTURA DE LANA^o.

A. de la Maza*, A.M. Manich**, J.L. Parra*** y L. Coderch****

0.1. Resumen

Se estudia la aplicación de liposomas de tamaño de vesícula definido (400 nm) conteniendo cantidades crecientes de colesterol (CH) como carriers de colorantes dispersos de tipo antraquinónico en la tintura de la lana. Se utilizaron vesículas multilamelares (MLV) constituidas por fosfatidilcolina de huevo (PC) y que contenían el colorante disperso de tipo antraquinónico Oracetblau 2R, (C.I. Disperse Violet 1) a diferentes concentraciones relativas PC:CH. Se estudió la estabilidad física de dichos liposomas midiendo el tamaño medio de las vesículas después de su preparación y durante el proceso de tintura. Se investigaron asimismo aspectos cinéticos relacionados con la adsorción y fijación de colorante sobre muestras de lana no pretratada utilizando vesículas multilamelares a diferentes relaciones molares PC:CH. Este proceso conduce a un agotamiento controlado del colorante sobre la lana, que está directamente relacionado con la concentración de fosfolípido en los liposomas. Cantidades crecientes de CH en las bicapas promueven una disminución en el agotamiento del colorante aunque mejoran la cantidad total de colorante fijado a las fibras de lana. Esta aplicación mejora asimismo la eficacia dispersante de estos sistemas con respecto al uso de agentes dispersantes convencionales. La aplicación óptima de estos sistemas tanto en el agotamiento de colorante como en la cantidad total de colorante fijado sobre lana no pretratado está directamente relacionada con la relación en peso de colorante/lípido correspondiente al nivel máximo de eficacia de encapsulación del sistema.

Palabras clave: liposomas, tintura, lana, colorantes dispersos, fosfatidilcolina, colesterol, vesículas multilamelares, encapsulación.

0.2. Summary. ALTERNATIVE USE OF MIXED LIPOSOMES IN THE DISPERSION ON ANTHRAQUINONE DYES AND ITS APPLICATION IN WOOL DYEING

Studies on the use of liposomes of defined size (400nm) containing increasing amounts of cholesterol (CH) as carriers of anthraquinone disperse dyes to wool fibres are described. Multilamellar lipid vesicles (MLV) made up by egg phosphatidylcholine (PC) and containing the anthraquinonic disperse dye Oracetblau 2R, (C.I. Disperse Violet 1) at different PC:CH relative concentrations were used. The physical stability was studied by measuring the mean vesicle size of liposome suspensions after preparation and during the dyeing process. Kinetic aspects involving dye adsorption and bonding on untreated wool samples by means of multilamellar vesicles at different PC:CH molar ratios were also investigated.

This process led to the controlled exhaustion of dye in wool samples, which was directly dependent on the liposome lipid concentration. Increasing amounts of CH in bilayers resulted in a decrease in the dye exhaustion although improving the total amounts of the dye bonded to the wool fibres. This potential application also improved the dispersing efficiency of these systems with respect to the use of conventional dispersing agents. The optimum application of these systems both in the dye exhaustion and in the total amounts of bonded dye on untreated wool samples was directly correlated with the dye/lipid weight ratio for the maximum level of dye encapsulation efficiency.

Key words: liposomes, wool dyeing, disperse dyes, phosphatidylcholine, cholesterol, multilamellar vesicles, encapsulation.

●) Publicado en el J.S.D.C. 111, 30-35 (1995).

- * Dr. A. De La Maza, Colaborador de Investigación en el Departamento de Tensioactivos del Centro de Investigación y Desarrollo (C.I.D.) de Barcelona, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- ** Dr. J.L. Parra, Investigador del Departamento de Tensioactivos en el C.I.D. de Barcelona, del C.S.I.C.
- *** Dr. A.M. Manich, Colaborador de Investigación en el Departamento de Ecotecnologías del C.I.D. de Barcelona, del C.S.I.C.
- **** Dra. L. Coderch, Colaboradora de Investigación en el Departamento de Tensioactivos en el C.I.D. de Barcelona, del C.S.I.C.

0.3. **Résumé. UTILISATION ALTERNATIVE DE LIPOSOMES MIXTES DANS LA DISPERSION DE COLORANTS ANTHRAQUINONEUX ET LEUR VÉHICULISATION DANS LA TEINTURE DE LA LAINÉ**

On étudie l'application de liposomes mixtes de taille de vésicule définie (400 nm) contenant des quantités croissantes de cholestérol (CH) comme véhicules de colorants dispersés du type anthraquinoneux dans la teinture de la laine. On a utilisé des vésicules multilamellaires (MLV) constituées par de la phosphatidylcholine d'oeuf (PC), contenant le colorant dispersé du type anthraquinoneux Oracetblau 2R, (C.I. Disperse Violet 1) à différentes concentrations relatives PC:CH. On a étudié la stabilité physique desdits liposomes en mesurant la taille moyenne des vésicules après leur préparation et pendant le processus de teinture. On a également fait des recherches sur des aspects cinétiques relationnés avec l'adsorption et la fixation des colorants sur des échantillons de laine non prétraitée en utilisant des vésicules multilamellaires à diverses relations molaires PC:CH. Ce processus mène à un épuisement contrôlé du colorant sur la laine, en relation directe avec la concentration de phospholipide dans les liposomes. Des quantités croissantes de CH dans les bicouches entraînent une diminution dans l'épuisement du colorant bien qu'elles améliorent la quantité totale de colorant fixé aux fibres de laine. Cette application améliore également l'efficacité dispersante de ces systèmes par rapport à l'utilisation d'agents dispersants conventionnels. L'application optimale de ces systèmes, aussi bien dans l'épuisement du colorant que dans la quantité totale de colorant fixé sur de la laine non prétraitée, est en relation directe avec la proportion en poids de colorant/lipide correspondant au niveau maximum d'efficacité d'encapsulation du système.

Mots clé: liposomes, teinture laine, colorants dispers, phosphatidylcholine, cholestérol, vésicules multilamellaires, encapsulation.

1. INTRODUCCION

En la última década se han realizado un número importante de investigaciones encaminadas a promover el uso de vehículos capaces de reducir el efecto degradativo que se produce en la lana durante los procesos de tintura convencionales. Así, se ha aplicado la tecnología de la microencapsulación para la protección de fibras sensibles¹⁾. Sin embargo, estas aplicaciones no han resuelto los problemas tecnológicos relacionados con la tintura de mezclas de lana y poliéster con colorantes dispersos a altas temperaturas²⁾. La

selección del colorante disperso apropiado y el uso del carrier adecuado son factores importantes en la prevención de dichos efectos no deseados^{3,4)}.

La lana merino contiene aproximadamente un 1% en peso de lípidos, siendo el colesterol (CH) uno de los componentes más importantes⁵⁻⁷⁾. Estos lípidos constituyen la barrera hidrofóbica del "Cell Membrane Complex" (CMC) y están estructurados en forma de dos bicapas lipídicas similares a aquellas existentes en las membranas queratinizadas del estrato córneo de la piel, las cuales son capaces de formar estructuras múltiples de bicapa⁸⁾. Se cree que tanto la tintura de la lana como las particulares propiedades de difusión de la fibra están gobernadas por la estructura lipídica de los espacios intercelulares de la fibra que actúan como "disolventes" de los productos químicos hidrofóbicos utilizados en el proceso textil⁹⁾. Existen asimismo evidencias de que los colorantes difunden preferentemente a lo largo de regiones tales como el CMC (difusión intercelular) en comparación con otras zonas como a través de las células cuticulares (difusión transcelular)¹⁰⁾. La posible aplicación de los liposomas como "carriers" en el acabado tecnológico de la lana se basa en tres factores importantes: la semejanza existente entre la estructuración en bicapas del Cell Membrane Complex y la de los liposomas, el importante papel desempeñado por el CMC en la penetración de los reactivos químicos al interior de las fibras así como el papel de las interacciones hidrofóbicas en la organización estructural de la lana. Así, se han usado liposomas constituidos por fosfatidilcolina y conteniendo lípidos presentes en el CMC tales como el colesterol como vehículos de soluciones acuosas de cloro en procesos de coloración de la lana¹¹⁾. Estas aplicaciones dieron lugar a mejoras en la regularidad y homogeneidad de estos tratamientos oxidativos, minimizando la degradación de la lana y mejorando los tratamientos subsiguientes en el procesado tecnológico de la lana. En este mismo sentido se han publicado estudios sobre la aplicación de liposomas como "carriers" de colorantes comerciales del tipo "milling acid dyes" y de tipo disperso en la tintura de la lana^{12,13)}.

En el presente trabajo se estudia la inclusión de colesterol en los liposomas a fin de mejorar su aplicación en la tintura de la lana con colorantes dispersos. Con este fin, se ha estudiado la estabilidad física de liposomas multilamelares (MLV) conteniendo el colorante antraquinónico disperso "Oracetblau 2R" utilizando diferentes relaciones molares de PC:CH para una concentración constante de colorante. Se ha estudiado asimismo la aplicación de estas estructuras en la tintura de lana no pretratada analizando especialmente los aspectos cinéticos de adsorción y fijación de colorante a las fibras de lana.

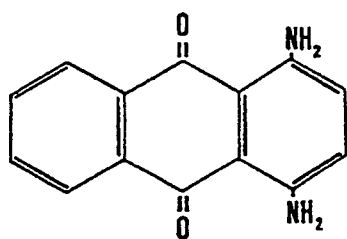
2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales

Se ha utilizado género de punto de lana tipo Botany R64/2 tex. Previamente se realizó una extracción de las muestras con Soxhlet durante 2 horas con cloruro de metileno. Posteriormente las muestras se lavaron con agua desionizada (Milli-Ro system de Millipore) y se secaron a temperatura ambiente. La fosfatidilcolina (PC) fue purificada a partir de lecitina de huevo (Merck) según el método descrito por Singleton¹⁴, determinándose su pureza por TLC. El colesterol (CH) fue suministrado por Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Los lípidos fueron almacenados a -20°C en cloroformo hasta su uso.

Se utilizó el colorante disperso Oracetblau 2R, (Merck, C.I. Disperse Violet 1). Su estructura química se indica en la Figura 1. Este colorante se seleccionó ya que siendo un colorante antraquinónico disperso típico, presenta una reducida solubilidad en agua (0.3 mg/l a 25°C) y necesita una considerable concentración de agente dispersante para ser dispersado (17 mg de colorante por litro en una solución al 1% de sodio oleil-p-anisidinio sulfonato) (Lissapol LS)¹⁵. El tensioactivo noiónico Triton X-100 (octilfenol con 10 unidades de óxido de etileno y un 100% de materia activa) fue especialmente preparado por Tenneco S.A. (Barcelona, España).

Las membranas de policarbonato de 400 nm y 800 nm, usadas para la extrusión de los liposomas fueron suministradas por Nucleopore (Pleasanton, CA).



C.I. Disperse Violet 1

FIGURA 1: Estructura química del colorante Oracetblau 2R dye, (C.I. Disperse Violet 1)

2.2. Preparación de liposomas multilamelares

Se prepararon vesículas multilamelares de un tamaño definido de vesícula (400 nm), y diferentes concentraciones lipídicas (desde 1.25 mM hasta 3.0 mM), conteniendo diversas concentraciones de colesterol (relaciones molares PC:CH desde 9.5:0.5 hasta 8.0:2.0), para una concentración constante de colorante (1.0 mM), siguiendo el método descrito por Bangham¹⁶.

Se formó un film lipídico evaporando en rotavapor en corriente de nitrógeno y a bajo vacío (350 mm Hg) el disolvente orgánico (cloroformo/metanol 2:1) de la disolución de PC/CH/colorante. Se añadió entonces al film formado una fase acuosa conteniendo 5% de sulfato sódico y ácido acético (pH 5.5). Las soluciones formadas se agitaron con ayuda de bolas de cristal a fin de facilitar la dispersión del material lipídico adherido a las paredes del matraz y así formar agregados lípido/colorante. Las suspensiones lechosas resultantes se agitaron con vortex durante 5 minutos y se sonicaron durante 15 minutos a 30°C y a una potencia de sonicación de 75 W, utilizando un sonicador Labsonic 1510 B, de Braun. Las suspensiones de liposomas se sometieron a extrusión a través de membranas de policarbonato de 800 y 400 nm a fin de obtener una distribución uniforme de tamaños de partícula¹⁷. Después de su preparación las suspensiones de liposomas se dejaron en reposo durante 15 minutos e inmediatamente se utilizaron para la tintura de la lana.

2.3. Procedimiento de tintura

Las muestras de lana se trataron con suspensiones de liposomas multilamelares recientemente preparadas a diferentes relaciones molares de PC:CH (desde 9.5:0.5 hasta 8:2) y en un rango de concentraciones lipídicas comprendido entre 1.25 mM y 3.0 mM, la concentración de colorante permaneciendo constante (1.0 mM que corresponde a 1.88 % sobre peso de fibra). El colorante se aplicó sobre las muestras de lana conjuntamente con un 5% sobre peso de fibra de sulfato sódico y ácido acético a pH 5.5 y a una relación de baño de 60:1.

La tintura se inició a 50°C aumentándose la temperatura en 0.9 grados/minuto hasta alcanzar los 90°C. La tintura se continuó durante 120 minutos. A continuación, las muestras se lavaron con agua durante 10 minutos y se secaron a temperatura ambiente. La tintura se realizó en un aparato de tintura de laboratorio Multi-Mat de Renigal.

El agotamiento del baño se determinó por espectrofotometría utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-265FW. Fracciones del baño de tintura (0.5 ml) fueron periódicamente colocadas en cubetas de cuarzo conteniendo 2 ml de una solución acuosa de Triton X-100 (20 g/l), complementada con sulfato sódico (5%). La interacción entre el tensioactivo noiónico Triton X-100 y los liposomas condujo a la solubilización de las vesículas lipídicas vía formación de micelas mixtas^{18,19}, transformando las suspensiones de liposomas en soluciones transparentes.

La Figura 2 muestra el efecto de la solubilización de las vesículas de liposomas por el tensioactivo Triton X-100 en el espectro de adsorción del colorante Oracetblau 2R a diferentes relaciones molares de PC:CH (desde 9.5:0.5 hasta 8:0). Puede

observarse que el λ_{\max} del colorante usado en este estudio no cambia en presencia de cantidades

crecientes de CH en las micelas mixtas de lípido/tensioactivo.

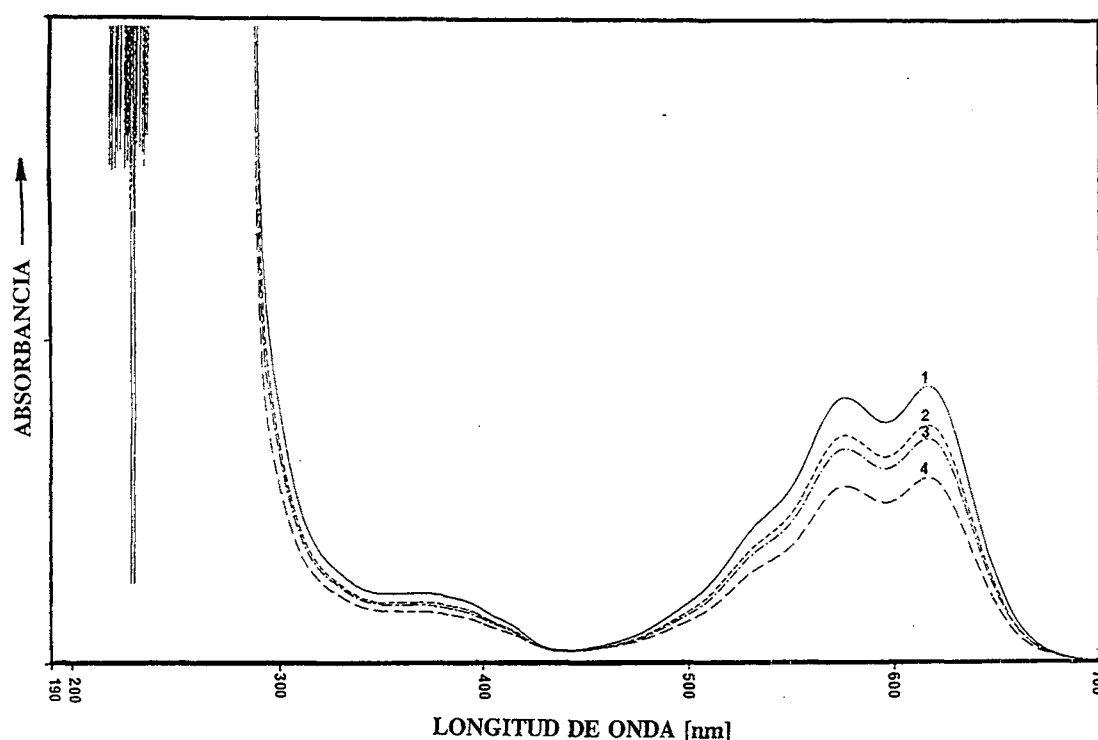


FIGURA 2: Espectro de adsorción del colorante Oracetblau 2R en presencia de micelas mixtas lípido/Triton X-100 para diferentes composiciones lipídicas de la bicapa [relaciones molares PC:CH 9.5:0.5 (1), 9.0:1.0 (2), 8.5:1.5 (3) y 8.0:2.0 (4)]

2.4. Tamaño de vesícula, eficacia de dispersión y medidas de agregación de las suspensiones de liposomas

Se determinó el tamaño medio de vesícula y la polidispersidad de las preparaciones de liposomas por medio de un espectrómetro correlador de fotones Malvern Autosizer 4700c PS/MV. La distribución media del tamaño de partícula se determinó por mediciones del número de partículas. Las suspensiones de liposomas se ajustaron a un rango apropiado de concentraciones y las determinaciones se realizaron a 25°C con un ángulo de detección de 90°.

Se define la máxima cantidad de colorante dispersado por medio de liposomas MLV como la relación en peso K entre el colorante dispersado y el lípido existente en los liposomas. Dicha relación se determinó espectrofotométricamente. Después de su preparación las suspensiones de liposomas se dejaron en reposo durante 12 horas a fin de que alcanzaran su equilibrio. A continuación se centrifugaron a 5000 rev./min durante 15 minutos a 25°C a fin de separar el colorante no encapsulado del dispersado. Finalmente, se evaluó la concentración de colorante dispersado espectrofotométricamente después de la destrucción

de las vesículas sobrenadantes por adición del tensioactivo Triton X-100^{18,19}.

El estado de agregación de las vesículas se consideró como una medida de la estabilidad física de las suspensiones de liposomas. Su determinación se realizó midiendo la variación en la distribución del tamaño de partícula de dichas suspensiones con el tiempo.

2.5. Composición de las bicapas lipídicas

La composición lipídica de las distintas poblaciones de liposomas estudiadas se determinó por medio del aparato latroscan MK-5 TLC-FID. Este instrumento fruto del acoplamiento de un cromatógrafo de capa fina (TLC) y un detector automático de ionización de llama es una innovación tecnológica que mejora considerablemente la sensibilidad del TLC y permite la cuantificación de materiales aislados y es adecuado para cuantificar fracciones lipídicas procedentes de diversos orígenes biológicos²⁰. Nuestra experiencia previa en el análisis de lípidos procedentes de tejidos queratínicos como la lana^{21,22} nos permite escoger este procedimiento para cuantificar estas mezclas de lípidos incluso cuando se encuentran formando liposomas en soluciones acuosas.

2.6. Extracción de colorante

El colorante unido superficialmente a las fibras por fuerzas no polares (interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals o enlaces por puentes de hidrógeno) se extrajo con etanol a 25°C durante 60 minutos¹²⁾. Subsiguientes extracciones con una solución de amoniaco al 0.5% durante 15 minutos a 60°C extrajo el colorante difundido en el interior de la fibra y unido iónicamente¹⁵⁾.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Eficacia de dispersión de los liposomas

La Figura 3 muestra la variación de la cantidad total de colorante dispersado vía MLV liposomas para diferentes composiciones de la bicapa (relaciones molares de PC:CH comprendidas entre 9.5:0.5 y 8.0:2.0), con respecto a la concentración de lípido en liposomas. Puede observarse que en todos los casos se establece una

dependencia lineal entre ambos parámetros. La relación en peso colorante/lípido (K) correspondió a la pendiente de la recta obtenida. Los valores de K obtenidos para cada composición de bicapa y los coeficientes de regresión de cada recta obtenida se indican en la Tabla 1. Los valores de K decrecieron a medida que la concentración de CH en la bicapas creció alcanzando el menor valor para las relaciones molares de PC:CH 8.0:2.0 (K 0.18). El uso de liposomas constituidos por PC:CH dio lugar a un gran incremento en la eficacia de dispersión del colorante al compararlo con la eficacia dispersante de los agentes dispersantes convencionales normalmente usados para dispersar este colorante^{13,15)}. En consecuencia, la aplicación óptima de estos sistemas, que correspondió a una relación molar de PC:CH 9.5:0.5, disminuyó en más de 140 veces la concentración lipídica necesaria para dispersar la misma cantidad de colorante con respecto a los agentes dispersantes convencionales. Esta proporción fue aproximadamente de 117 y 105 veces para las relaciones molares de PC:CH 9.0:1.0 y 8.0:2.0 respectivamente.

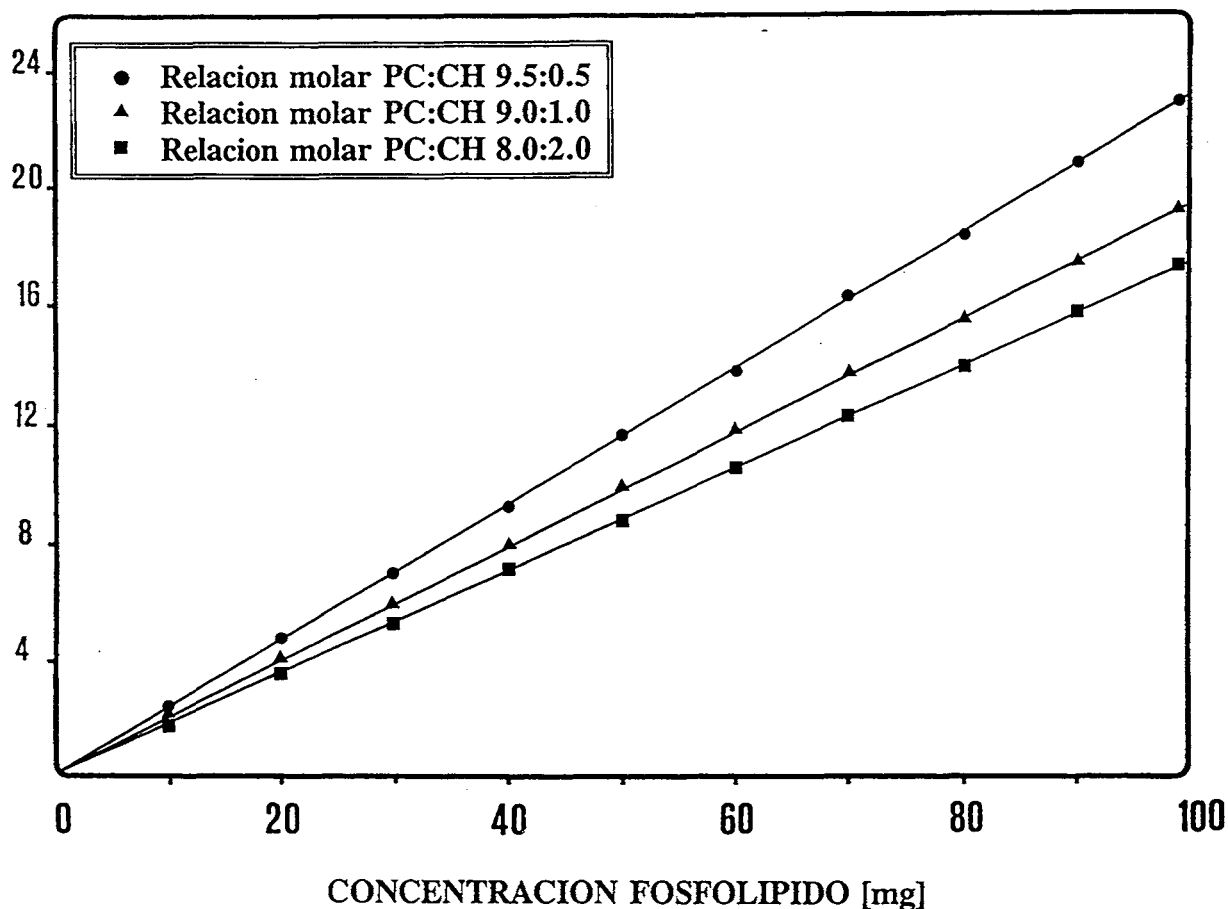


FIGURA 3: Máximas cantidades de colorante dispersado (mg) con respecto a la concentración lipídica de los liposomas (mg) para tres niveles de CH en las bicapas [relaciones molares PC:CH 9.5:0.5 (●) 9.0:1.0 (▲), y 8.0:2.0 (■)].

El aumento en la eficacia de dispersión da lugar a una mejora tanto en los costos del proceso (dado el similar costo de los agentes dispersantes convencionales y el de los lípidos comerciales existentes en el mercado) y de la concentración de colorante en el baño.

TABLA 1

Relaciones colorante/lípido en peso (K) correspondientes a la máxima eficiencia de dispersión de MLV liposomas conteniendo concentraciones crecientes de CH en las bicapas se indican asimismo los coeficientes de regresión de las rectas obtenidas.

Relaciones molares	Relación Peso K	Coefficientes Regresión r^2
9.5:0.5	0.24	0.994
9.0:1.0	0.20	0.993
8.0:2.0	0.18	0.992

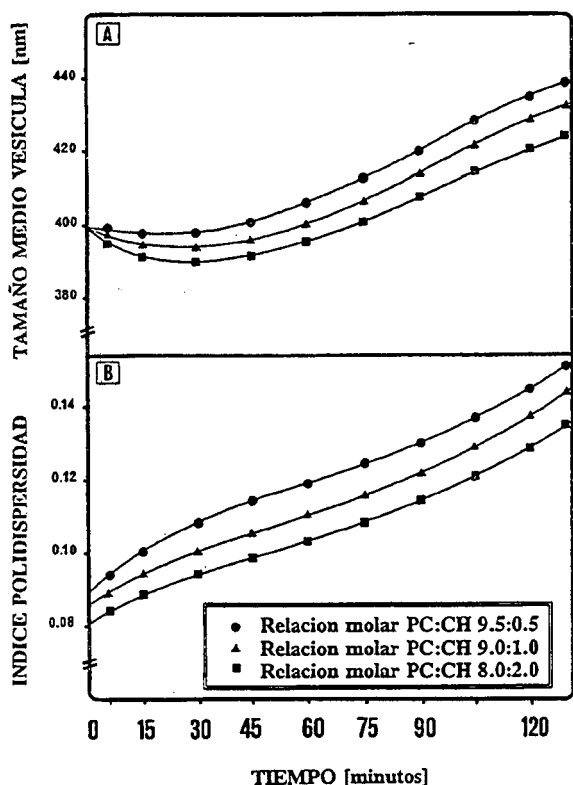


FIGURA 4: Tamaño medio de vesícula y polidispersidad de MLV liposomas a diferentes composiciones lipídicas bicapas [relaciones molares PC:CH 9.5:0.5 (●) 9.0:1.0 (▲), y 8.0:2.0 (■)] y total concentración lipídica de 2 mM, durante el proceso de tintura.

3.2. Estabilidad de las suspensiones de liposomas

Se determinó la posible agregación de los liposomas durante el proceso de tintura midiendo las variaciones en el tamaño de vesícula y sus correspondientes índices de polidispersidad utilizando la técnica de light-scattering²³. Los resultados obtenidos para las suspensiones de liposomas (concentración lipídica 2.0 mM) para diferentes composiciones en la bicapa (relaciones molares de PC:CH desde 9.5:0.5 hasta 8.0:2.0) utilizando las relaciones de K correspondientes a la máxima eficacia de encapsulación para cada sistema (Tabla 1) se indican en la Figura 4.

En las etapas iniciales de la tintura se observó una ligera disminución en el tamaño medio de partícula con un marcado aumento en los índices de polidispersidad. Transcurridos 45 minutos ambos parámetros aumentaron progresivamente hasta alcanzar después del tratamiento valores de aproximadamente 425-438 nm y 0.13-0.15 respectivamente. La presencia de cantidades crecientes de CH en las bicapas dio lugar a un aumento en la estabilidad de estas estructuras con respecto a la agregación, reduciendo las variaciones tanto del tamaño medio como de los índices de polidispersidad durante la tintura. Este efecto concuerda con los resultados publicados por Scherphof y colaboradores en estudios sobre la estabilidad de liposomas²⁴. Además, el tamaño medio de partícula se mantuvo alrededor de 400 nm y los índices de polidispersidad por debajo de 0.24 durante un período de tiempo superior a 24 horas después de la preparación de los liposomas.

3.3. Cinética de tintura

Se realizaron estudios cinéticos del agotamiento del colorante sobre muestras de lana no pretratada utilizando liposomas multilamelares (MLV) variando tanto la composición de las bicapas (relaciones molares de PC:CH comprendidas entre 9.5:0.5 y 8.0:2.0) y la concentración total de lípido (desde 1.25 hasta 3.0 mM), permaneciendo constante la concentración de colorante (1.0 mM, que corresponde a 1.88% sobre peso de fibra). Los resultados obtenidos para las relaciones molares de PC:CH 9.5:0.5 se indican en la Figura 5. El agotamiento de colorante aumentó a medida que la concentración de lípido en las bicapas aumentó alcanzando un máximo para una concentración lipídica de 1.75 mM. A partir de esta concentración, la presencia de concentraciones crecientes de lípido en las bicapas retardó la cinética de agotamiento del colorante (mínimo agotamiento del colorante para 3.0 mM (69.1%)). Similares cinéticas de tintura fueron obtenidas para todas las relaciones molares de PC:CH estudiadas, a pesar de que la concentración lipídica necesaria para alcanzar el máximo agotamiento del colorante aumentó al aumentar la

concentración de CH en las bicapas. Así, mientras que los liposomas formados por una relación molar de PC:CH de 9.0:1.0 alcanzaron el máximo agotamiento de colorante para una concentración lipídica de 2.25 mM (79.2%), aquellos formados por una relación molar de 8.0:2.0 necesitaron una concentración lipídica de 2.50 mM para alcanzar dicho máximo (73.5%) (resultados no indicados). Es interesante señalar que la relación en peso K correspondiente al máximo agotamiento de colorante fue en todos los caso similar a aquel correspondiente a la máxima eficacia de encapsulación.

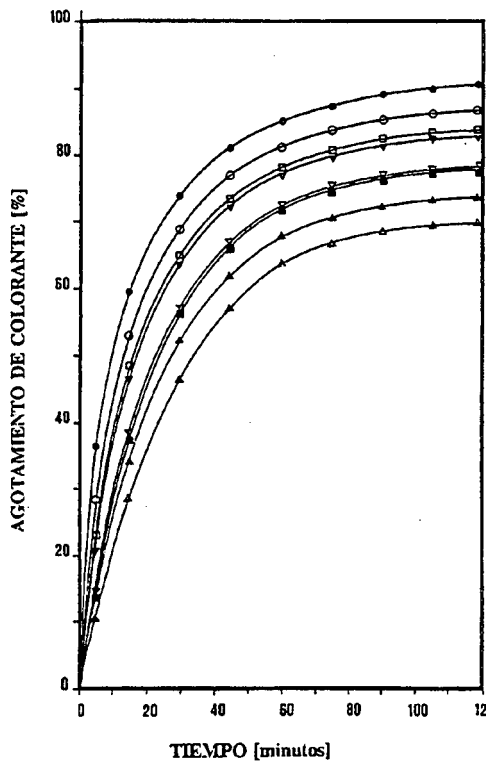


FIGURA 5: Cinéticas de agotamiento del colorante Oracetblau 2R sobre muestras de lana no pretratada en tinturas vía MLV liposomas variando la concentración lipídica de las bicapas (mM) 1.25 (■), 1.50 (□), 1.75 (●), 2.0 (○), 2.25 (▼), 2.50 (▽), 2.75 (▲), 3,0 (△), para una relación molar PC:CH 9.5:0.5, la concentración de colorante permaneciendo constante (1.0 mM).

La Figura 6 muestra las curvas de agotamiento del colorante sobre muestras de lana para varios sistemas colorante/liposoma y para diferentes composiciones lipídicas de la bicapa, usando en todos los casos la concentración lipídica correspondiente al máximo agotamiento de colorante. Es interesante resaltar que cantidades crecientes de CH dan lugar a una disminución en el agotamiento de colorante sobre las muestras de lana a lo largo de todo el proceso de tintura. Este efecto puede ser considerado como un factor importante

en el control de la cinética de tintura y en la mejora de la regularidad de distribución del colorante sobre las fibras de lana. Observaciones al microscopio electrónico de las muestras teñidas confirman la regularidad de distribución del colorante a lo largo de toda la fibra, siendo esta mejora particularmente marcada para las concentraciones lipídicas correspondientes al máximo agotamiento de colorante. Además, cantidades crecientes de CH dan asimismo lugar a una mejora en la distribución del colorante sobre la fibra de lana.

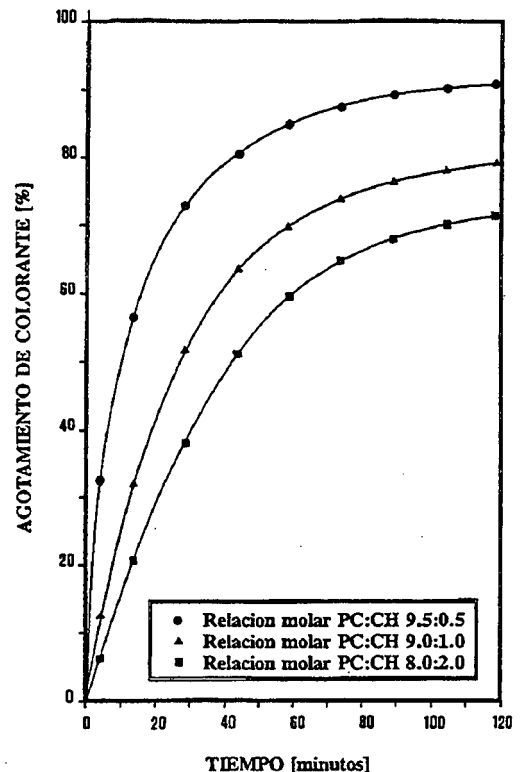


FIGURA 6: Cinéticas de agotamiento del colorante Oracetblau 2R sobre muestras de lana no pretratada en tinturas vía MLV liposomas a diferentes relaciones molares PC:CH [relaciones molares PC:CH 9.5:0.5 (●), 9.0:1.0 (▲) y 8.0:2.0 (■)] usando en todos los casos la concentración lipídica correspondiente al máximo agotamiento de colorante, la concentración de colorante permaneciendo constante (1.0 mM)

3.4. Influencia de la composición lipídica de los liposoma en la fijación del colorante sobre la fibra

A fin de determinar si la aplicación de liposomas (conteniendo cantidades crecientes de CH en las bicapas) como carriers del colorante en la tintura de lana promovían cambios en las fuerzas de unión colorante-fibra, se extrajo el colorante de las muestras teñidas utilizando etanol¹²⁾ y una solución de amoníaco¹⁵⁾. Los resultados obtenidos

para las diferentes concentraciones de CH en liposomas estudiadas se indican en las Tablas 2, 3 y 4. En general, el etanol extrajo en todos los casos mayores cantidades de colorante que las soluciones de amoníaco. Este hecho podría ser atribuido a la alta solubilidad del colorante en etanol así como a la presencia de colorante unido superficialmente a las fibras por fuerzas no-polares. Sin embargo, el hecho de que se extrajeran muy pequeñas cantidades de colorante con amoníaco podría ser atribuido a la importante contribución de las fuerzas no-polares en los enlaces colorante-fibra. Estas interacciones, especialmente las de tipo hidrofóbico, pueden jugar un importante papel en las uniones colorante-fibra en el interior de la fibra.

Además, a medida que la concentración lipídica de las bicapas aumentó el colorante extraído de las muestras con etanol también disminuyó. Las cantidades de colorante extraído estuvieron, para cada concentración lipídica, inversamente relacionadas con la concentración de CH presente en las bicapas. Sin embargo, las extracciones con amoníaco dieron valores muy pequeños en todos los casos.

Las Tablas 2-4 indican asimismo los porcentajes totales de colorante unido a la lana, que se expresan por la siguiente ecuación

$$C_b = \frac{C_a - C_e}{C_a} \cdot 100$$

donde C_b es la cantidad relativa de colorante fijado (%), C_a es la cantidad de colorante absorbido (mg de colorante por g lana) y C_e es la cantidad total de colorante extraído (mg de colorante por g lana).

En general, a medida que la concentración lipídica y la concentración relativa de CH en las bicapas aumentó, aumentaron asimismo los porcentajes de colorante unido a la fibra excepto para la relación molar PC:CH 9.5:0.5, para la que el máximo porcentaje de colorante unido se obtuvo para la relación K correspondiente al máximo de agotamiento de colorante, y en consecuencia, a la máxima eficacia de encapsulación del sistema.

Representando la cantidad de colorante unido a las fibras de lana, dado como la diferencia entre la cantidad de colorante adsorbido y la cantidad total de colorante extraído, respecto a la concentración lipídica para tres niveles de CH en las bicapas se obtuvieron las gráficas indicadas en la Figura 7. Puede observarse que las curvas presentaron la máxima cantidad de colorante fijado (puntos a, b y c) para las relaciones de K correspondientes a los máximos niveles tanto de agotamiento del colorante como de eficacia de encapsulación para cada sistema (1.75, 2.25 and 2.50 mM para las relaciones molares de PC:CH 9.5:0.5, 9.0:1.0 and 8.0:2.0 respectivamente). Es interesante resaltar que las mayores cantidades de

colorante fijado se obtuvieron para la concentración máxima de CH en las bicapas. Estos resultados resaltan el papel desempeñado por el CH en la mejora en las fuerzas de fijación de los colorantes a las fibras de lana y justifica la incorporación de este componente en los liposomas a fin de obtener mejoras de aplicación en el tejido de la lana.

A fin de determinar la solidez al lavado de las muestras teñidas vía liposomas dichas muestras se sometieron al test "colour fastness TM193 IWS Test" (correspondiente al test ISO 105: CO6:1978 y al test UNE 40-120-81). Es interesante resaltar que las muestras que presentaron mayor fijación de colorante (Figura 7) presentaron asimismo el óptimo nivel en cuanto a su solidez al lavado (≥ 4). Así, en términos generales a mayor cantidad de CH en las bicapas, mayor fue la solidez al lavado de las muestras teñidas. Inversamente, las muestras teñidas con sistemas colorante/liposoma que dieron lugar a pequeñas cantidades de colorante fijado (por ejemplo los sistemas que contenían pequeñas concentraciones de lípidos y bajas concentraciones en CH, dieron lugar a bajos niveles de solidez al lavado. Además, las muestras que presentaron los niveles óptimos de solidez también obtuvieron buenos niveles de solidez en el test the solidez a la luz de xenon (≥ 6) (ISO/R, 105 (V), parte 2ª correspondiente al test UNE 40-187-73). Los resultados de solidez al lavado de las muestras teñidas se indican en las Tablas 2-4.

TABLA 2

Cantidades de colorante adsorbido (mg colorante/g lana), extraído (mg colorante/g lana) y fijado (%) en la lana después de la tintura vía MLV liposomas t diferentes concentraciones lipídicas y relación molar de PC:CH 9.5:0.5)

Lipid Conc (mM)	Relación Molar PC:CH 9.5:0.5				TM193 IWS
	Colorante Adsorbido (mg col/g lana)	Colorante Extraído		Colorante Fijado (%)	
		A	B	%	
1.25	14.561	5.181	0.018	64.49	1-2
1.50	15.817	5.180	0.016	67.15	2-3
1.75	16.600	4.740	0.014	71.36	3-4
2.00	16.277	4.954	0.010	69.41	4
2.25	15.491	4.802	0.011	68.94	3-4
2.50	14.631	4.535	0.009	68.57	3-4
2.75	13.807	4.331	0.009	68.57	3-4
3.0	13.020	4.148	0.009	68.08	3-4

A mg colorante/g lana extraído con etanol (12)

B mg colorante/g lana extraído con amoníaco (15)

TABLA 3

Cantidades de colorante adsorbido (mg colorante/g lana), extraído (mg colorante/g lana) y fijado (%) en la lana después de la tintura vía MLV liposomas a diferentes concentraciones lipídicas y relación molar de PC:CH 9.0:1.0)

Lipid Conc (mM)	Relación Molar PC:CH 9.0:1.0				
	Colorante Adsorbido (mg col/g lana)	Colorante Extraído		Colorante Fijado (%)	TM193 IWS
		A	B		
1.25	12.545	4.227	0.014	66.20	2-3
1.50	13.088	3.666	0.013	71.89	3-4
1.75	13.786	3.272	0.013	76.17	3-4
2.00	14.429	2.754	0.012	80.83	4
2.25	14.949	2.531	0.011	82.98	>=4
2.50	13.541	1.826	0.009	86.44	>=4
2.75	12.266	1.158	0.008	90.49	>=4
3.0	11.225	0.752	0.006	93.24	>=4

A mg colorante/g lana extraído con etanol (12)
B mg colorante/g lana extraído con amoníaco (15)

TABLA 4

Cantidades de colorante adsorbido (mg colorante/g lana), extraído (mg colorante/g lana) y fijado (%) en la lana después de la tintura vía MLV liposomas a diferentes concentraciones lipídicas y relación molar de PC:CH 8.0:2.0)

Lipid Conc (mM)	Relación Molar PC:CH 8.0:2.0				
	Colorante Adsorbido (mg col/g lana)	Colorante Extraído		Colorante Fijado (%)	TM193 IWS
		A	B		
1.25	10.412	2.825	0.010	72.77	3-4
1.50	11.018	2.255	0.009	79.45	3-4
1.75	11.687	1.756	0.008	84.90	4
2.00	12.266	1.146	0.008	90.59	>=4
2.25	12.905	0.581	0.007	95.44	>=4
2.50	13.867	0.396	0.005	97.10	>=4
2.75	13.190	0.364	0.003	97.21	>=4
3.0	12.340	0.337	0.003	97.24	>=4

A mg colorante/g lana extraído con etanol (12)
B mg colorante/g lana extraído con amoníaco (15)

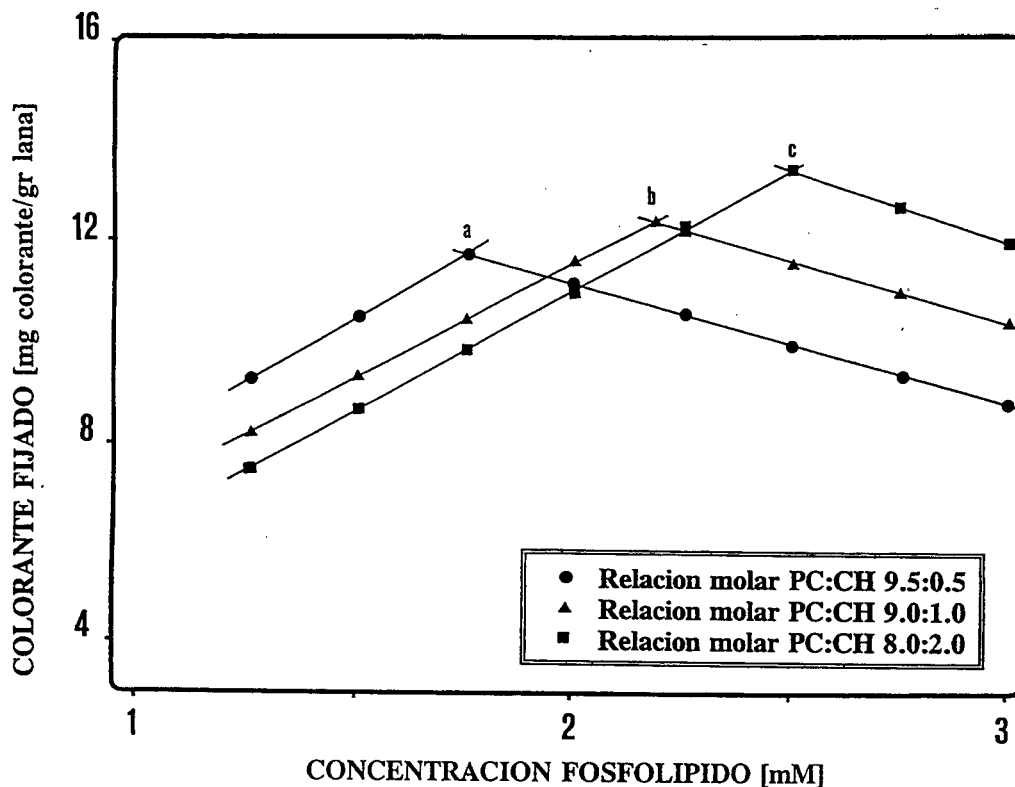


FIGURA 7: Cantidades de colorante fijado sobre fibras de lana con respecto a la concentración lipídica de los liposomas para diferentes niveles de CH en las bicapas [relaciones molares PC:CH 9.5:0.5 (●), 9.0:1.0 (▲) y 8.0:2.0 (■)]

4. CONCLUSIONES

En nuestra opinión dos factores pueden considerarse esenciales para explicar el importante papel desempeñado por el CH en el agotamiento de colorantes sobre la fibra de lana y su posterior fijación en la misma. Por una parte el efecto causado por este componente reduciendo la permeabilidad de los liposomas y aumentando su estabilidad a la agregación²⁴. Por otro lado la presencia del CH en la barrera hidrofóbica del Cell Membrane Complex, (estructurado en dos bicapas lipídicas similares a aquellas existentes en los liposomas) que gobierna la difusión de los colorantes en el interior de la fibra. El primer factor puede estar relacionado con la disminución en el agotamiento del colorante causado por este componente en las bicapas, y el segundo factor con la mejora en las fuerzas de anclaje del colorante a la fibra durante el proceso de tintura.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica, Proyecto N° PB91-0065, D.G.I.C.Y.T., España.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Nelson, G., *Rev. Prog. Coloration*, **21**, 72 (1991).
2. Wang, J. and Åsnes, H., *J.S.D.C.*, **107**, 274 (1991).
3. Wang, J. and Åsnes, H., *J.S.D.C.*, **107**, 314 (1991).
4. Brady, P.R., *Rev. Prog. Coloration*, **22**, 58 (1992).
5. Coderch, L. and Soriano, C., *Textile Res. J.*, **63**, 369 (1993).
6. Herrling J. and H. Zahn, *Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, volume I*, 181 (1985).
7. Rivett, D.E., *Wool Science Rev.* **67**, 1, (1991).
8. Downing, D.T., *J. of Lipid Research*, **33**, 301 (1992).
9. Leeder, J.D., *Wool Science Rev.* **63**, 3 (1986).
10. Leeder, J.A. Rippon, F.E. Rothery and Stapleton, I.W., *Proc. 7th Int. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, volume V*, 99 (1985).
11. De la Maza, A. and Parra, J.L., *Textile Res. J.*, **63**, 44 (1993).
12. De la Maza, A., Parra, J.L., Manich, A.M. and Coderch, L., *J.S.D.C.* **108**, 540, (1992).
13. De la Maza, A. and Parra, J.L., *J.S.D.C.* **110**, 64 (1994).
14. Singleton, W.S., Gray, M.S., Brown, M.L., and White, J.L., *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **42**, 53, (1965).
15. Trotman, E.R. in "Dyeing and Chemical Technology of textile Fibres", Edited by Charles Griffin and Company Ltd., England, Chapter 12. (1984).
16. Bangham, A.D., Standish, M.M. and Watking, J.C. *J. Mol. Biol.* **13**, 238 (1965).
17. Szoka, F., Olson, F., Heath, T., Vail, W. Mayhew, E. and Papahadjopoulos, D., *Biochim. Biophys. Acta* **601**, 559 (1980).
18. Helenius, A. and Simons, K., *Biochim. Biophys. Acta*, **415**, 29 (1975).
19. Lichtenberg, D., Robson, J. and Dennis, E.A. *Biochim. Biophys. Acta* **737**, 285 (1983)
20. Ackman, R.G., McLead, C.A. and Banejee, A.K., *J. of Planar Chromatography*, **3**, 450 (1990).
21. Coderch, L., Soriano, C., *Textile Res. J.*, **63**, 369 (1993).
22. Coderch, L., Soriano, C., Pinazo, A., Parra, J.L. and Erra, P., *Textile Res. J.* **62**, 704 (1992).
23. Chong, C.S. and Colbow, K. *Biochim. Biophys. Acta* **426**, 260 (1976).
24. Scherphof, G.L., Dame, J. and Wilschut, J., *Interaction of Liposomes with Plasma Proteins, in "Liposome Technology" Vol III*, edited by G. Gregoriadis, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, Chapter 14 (1996).

Trabajo recibido en: 1996.02.12.

Aceptado en: 1996.05.10.