

# Decoloración enzimática del Índigo aplicado en la mezclilla de los Jeans:

## Estudio de las variables que intervienen en el proceso

Anaís Ramos Herrera y Kristine Tripp Andersen

Colegio Marymount, Estrella del Norte No.6, Col. Rancho Tetela, Cuernavaca Morelos.  
[colegio@marymount.edu.mx](mailto:colegio@marymount.edu.mx)

Palabras clave: *decoloración, enzimas y mezclilla*

### Resumen

La decoloración de la mezclilla es un proceso que se realiza utilizando agentes químicos tóxicos, los cuales al ser descargados junto con las aguas residuales del proceso provocan serios problemas de contaminación. En la búsqueda de condiciones menos dañinas al ecosistema natural, recientemente se ha propuesto la utilización de enzimas que permiten aplicar condiciones de trabajo más amigables con el medio ambiente. En el presente trabajo, buscamos encontrar las mejores condiciones de pH y temperatura, así como la fuente y la concentración de enzima para llevar a cabo la decoloración enzimática del índigo y de mezclilla de jeans. Para ello se utilizaron dos concentraciones de la lacasa de *Trametes versicolor* y se determinó su actividad a pH 5 y 7, así como a tres diferentes temperaturas (30, 45 y 60°C). Las mejores condiciones para la decoloración del índigo fueron pH 5, 30 °C y 1 mg/ml de lacasa.

### Introducción

En los procesos de estilización final de los jeans de mezclilla (Denim, tela teñida con índigo), se han utilizado sustancias químicas cloradas para el proceso de desteñido. Estas sustancias además de ser contaminantes y dañinas para la salud, tienden a maltratar las telas, por lo que su uso se ha limitado. Desde 1996, la empresa Novoenzyme utiliza como alternativa biotecnológica, enzimas lacasas en el desteñido de la mezclilla, (producto comercial DeniLite). La aplicación de enzimas en la industria textil permite obtener un proceso de desteñido eficiente, sustentable y no contaminante para el medio ambiente (Rodríguez y Toca-Herrera, 2006).

### Antecedentes

Hoy en día, muchas enzimas son utilizadas por una gran diversidad de tipos de industrias y esto no es ajeno a la industria textil. Tradicionalmente, se han utilizado enzimas en el proceso de limpieza de las fibras. Ahora, las enzimas como las proteasas, lipasas, celulasas y enzimas oxidativas, se utilizan en el bioprocesamiento de fibras naturales, mientras que

otras son fundamentales en el tratamiento de efluentes derivados de esos procesos (Rodríguez y Toca-Herrera, 2006).

Las enzimas aplicadas en la industria textil deben producirse a bajo costo, ser estables en las condiciones de pH y temperatura en que se realizan los tratamientos textiles, y de uso y manipulación segura. Se han publicado diversos reportes y patentes sobre esta tecnología (Campos y col., 2001; Pazarlioglu y col., 2004; Rodríguez y Toca-Herrera, 2006). Por ejemplo, en Estados Unidos en 1998 Novo Nordisk utilizó esta enzima junto con un derivado de peróxido de hidrógeno y fenotiazina (Hjelholt y Jesper, 1998). Más tarde, en 1999, en Estados Unidos se lanzó DeniLiteII, con una mayor actividad enzimática. En 2001, la compañía Zytex en India desarrolló un catalizador biológico capaz de degradar el índigo de una forma más específica y controlada con el nombre de Zylite (Rodríguez y Toca-Herrera, 2006).

Las lacasas son enzimas del tipo fenol-oxidasa dependientes de cobre que tienen la capacidad de catalizar reacciones de desmetilación y de formación de radicales libres altamente reactivos. Este es un paso importante en la biodegradación de polímeros que contengan grupos aromáticos fenólicos (Trejo-Hernández y col., 2001). Debido a esta propiedad, la lacasa es utilizada en la oxidación del índigo (colorante de tipo fenólico) en la preparación de telas para jeans. Esta enzima es extraída de hongos, como *Trametes hirsuta* y *Sclerotium rolfsii* (Campos y col., 2001). Además, en procesos de oxidación de muchos compuestos (principalmente de compuestos fenólicos) la lacasa presenta una gran especificidad para un gran número de compuestos no biodegradables, por lo cual se empezó a utilizar en tratamientos de efluentes industriales.

## **Justificación**

El proceso de decoloración con la intervención de las enzimas es más efectivo y menos dañino que el método anterior, el uso de sustancias cloradas para llevar a cabo el proceso de decoloración de la mezclilla de jeans.

## **Hipótesis**

El incremento en la concentración de la enzima lacasa favorece la decoloración enzimática del índigo.

## **Objetivos**

1. Seleccionar la lacasa que será utilizada en el proceso de decoloración del índigo entre las disponibles en el laboratorio de Biotecnología Ambiental (CEIB-UAEM),
2. Determinar el efecto del pH, la temperatura y la concentración de la enzima en el proceso de decoloración del índigo.
3. Determinar la decoloración de la tela teñida con el índigo.

El presente proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología Ambiental en el Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM.

## Metodología

### La cuantificación de la actividad de la lacasa:

La actividad de la lacasa fue determinada usando 2,6 dimetoxifenol (DMP marca Fluka) como sustrato ( $\epsilon_{435} = 29\ 300\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). La mezcla de la reacción se preparó con 0.025M de amortiguador de acetato de sodio a pH 4.5, 0.35 ml de la solución DMP y volumen de enzima 0.015 ml con volumen final de reacción de 2 ml. El cambio de color fue determinado siguiendo el cambio de densidad óptica a 435 nm en un espectrofotómetro Beckman DU 640. Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima necesaria para oxidar un  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto.

### Evaluación de la decoloración enzimática del índigo

Las reacciones de decoloración del índigo se llevaron a cabo en un volumen total de 3 ml. La concentración de enzima y colorante fueron definidos en función de estudios preliminares. (Hicimos varias repeticiones con diferente pH, temperatura y concentración enzimática, para ver cuales eran las mejores condiciones). En la reacción de decoloración se utilizó un amortiguador de acetatos 0.1M a pH 5, con agitación constante con un agitador magnético. Las enzimas que se utilizaron fueron: 2 enzimas comerciales y 2 extractos de enzimas producidas en el laboratorio de Biotecnología Ambiental (CEIB-UAEM). Finalmente se seleccionó la que tenía mayor eficiencia de decoloración para utilizarse en los experimentos posteriores. (La que tenía mayor eficiencia en la decoloración era la que decoloraba más en los experimentos preliminares)

### Efecto de las variables involucradas en el proceso de decoloración del índigo

El estudio del efecto de tres variables: temperatura (30, 45°C y 60°C), pH (5 y 7), concentración de enzima (1, 2, 3 mg/ml) se llevaron a cabo en las condiciones antes mencionadas. El análisis estadístico se llevó a cabo con el Design- Expert 5 de la compañía Stat-Ease Inc. (es un software para diseño experimental).

### Decoloración de la tela de mezclilla de los jeans

De acuerdo con los resultados previos se seleccionaron las condiciones de trabajo para la decoloración de la tela en cuadros de  $5\ \text{cm}^2$  de área. El nivel de decoloración se determinó considerando los cambios observados en la tela. Se tomaron fotografías para ejemplificar los resultados obtenidos.

## Resultados y Discusión

Los resultados de la decoloración del índigo a pH 5 y 7 con las tres concentraciones de lacasa se presentan en la Tabla 1. Los porcentajes de decoloración fueron superiores 40 % a pH 5, mientras que a pH 7 el porcentaje fue inferior a 20 %. Asimismo, se demuestra a 1 mg/ml (de índigo con enzima *Trametes Versicolor*) el porcentaje de decoloración fue mayor a pH 5 que a pH 7.

Con respecto al efecto de la temperatura, casi no hubo decoloración a 45°C y 60°C. La mejor temperatura para la decoloración fue a temperatura ambiente (30°C).

Con estos resultados se obtuvieron las condiciones para su aplicación a la tela DENIM. La figura 1, muestra las diferencias visuales de la decoloración, con y sin adición de enzima. Al examinar los cuadros de jeans con y sin la enzima en un microscopio, se encontraron cambios notables de color. Aunque estos fueron menores a los que se esperaba cuando se aplicó al colorante directamente. Se observa que el nivel de decoloración fue menor en la tela. Por lo que es probable se requiera de mayor tiempo de exposición y debido a la fuerte adsorción del índigo a la tela, esto puede ser un problema para su aplicación. Para ello se requiere de realizar un tratamiento previo a la tela con amilasas y celulasas para permitir la entrada de la enzima al interior de las fibras de algodón.

Tabla 1. Efecto del pH sobre la decoloración enzimática del índigo

<b>pH 5</b>		
1	51	3
2	49	4
3	41	4
<b>pH 7</b>		
1	19	2
2	13	2
3	9	2

Decoloración pH 5

Control 1 mg 2 mg 3 mg

Enzima

Decoloración pH 7

Control 1 mg 2 mg 3 mg

Enzima

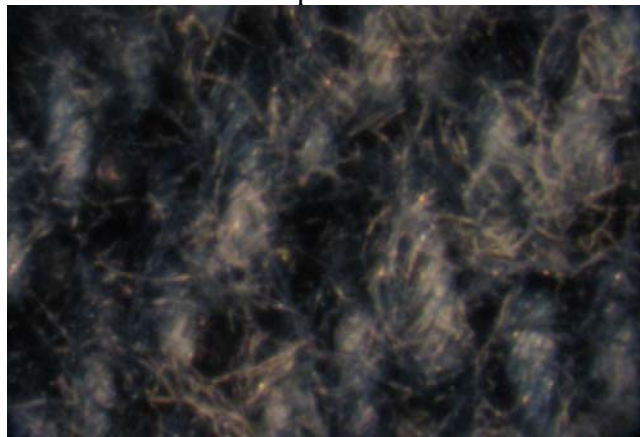
Tabla 2. Efecto de la temperatura sobre la decoloración enzimática del índigo

Enzima [mg/ml]	% Decoloración	SDV (desviación estandar)
<b>45°C</b>		
1	38	2
2	26	1
3	36	2
<b>60°C</b>		
1	28	1
2	40	2
3	41	2
<p>Control 1 2 3</p> <p>Temperatura 45</p>		<p>Control 1 2 3</p> <p>Temperatura 60</p>

Tela sin enzima



Tela pretratada



Tela con enzima

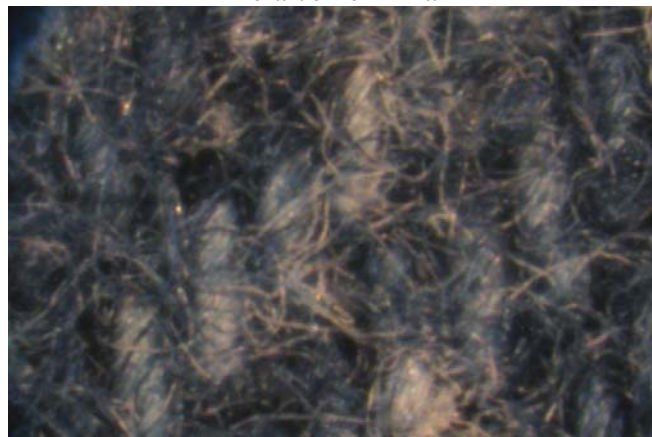


Figura 1. Decoloración enzimática de la tela de mezclilla a pH 5 y temperatura ambiente.

## Conclusiones

La decoloración enzimática del índigo y de la tela de mezclilla depende de la concentración de la enzima y del pH del proceso. Sin embargo, se observó que sobre la tela de mezclilla, los resultados fueron menos efectivos que con el colorante directamente. Esto puede deberse a que el colorante se encuentra fuertemente adsorbido a la tela y la enzima debe penetrar al interior de las fibras de algodón.

## Agradecimientos

Agradecemos a nuestra asesora, la Dra. María del Refugio Trejo Hernández, al técnico I.Q. Daniel Morales Guzmán del Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por habernos ayudado y apoyado en este proyecto. También agradecemos al Profesor Enrique Galindo por su ayuda en el proyecto.

## Bibliografía

Campos R., Kandelbauer A., Robra K.H., Cavaco-Paulo A., Gübitz G.M, 2001. Indigo Degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*. Journal of Biotechnology 89, 131-139.

Hjelholt , A., Jesper V.. (22 de Diciembre de 1998) Bleaching process comprising use of a phenol oxidizing enzyme a hydrogen peroxide source and an enhancing agent. Disponible en la página web: <http://www.patentstorm.us/patents/5851233.html>

Fecha de consulta: 31 de Enero de 2008

Pazarlioglu NK., Sariisik M., Telefoncu A., 2004. Laccase: production by *Trametes versicolor* and application to Denim washing. Process Biochemistry. DOI:10.1016/j.procbio.2004.06.052.

Rodríguez S., Toca-Herrera J.L., 2006. Lacasses in the textile industry. Biotechnology and Molecular Biology Review. 1(4), 117-122. Disponible en la página web: <http://www.academicjournals.org/bmbr/PDF/Pdf2006/DEC/Couto%20and%20Toca-Herrera.pdf>

Fecha de consulta: 31 de Enero de 2008

Trejo-Hernández M.R. López-Munguía A., Quintero Ramirez R. (2001) Residual compost of *Agaricus bisporus* as a source of crude laccase for enzymic oxidation of phenolic compounds. Proces Biochemitry 36, 635-639.