



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



**INVESTIGACIÓN DEL PROCESO DE TINTURA
SOBRE TEJIDOS DE ALGODÓN CON
COLORANTES NATURALES EXTRAIDOS DE
MICRO Y MACRO ALGAS:
*Arthrospira platensis, Synechococcus sp., Ulva sp.***

Alumna: Simona Moldovan

Directora: M^a Ángeles Bonet Aracil

Codirectora: Marcela Ferrandiz García

*Departamento de Ingeniería Textil y Papelera
Alcoy, Septiembre 2016*

Agradecimientos

Quería agradecer a la codirectora del proyecto, *Marcela Ferrandiz García*, del grupo de biotecnología de AITEX y los miembros del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera del Campus de Alcoy de la Universidad Politécnica de Valencia: *M^a Ángeles Bonet* e *Ignacio Montava*, por la oportunidad que me han ofrecido al trabajar con ellos, así como el apoyo, ayuda y comprensión recibidos durante este periodo.

Quería también hacer mención a la Subdirección de I+D del Campus de Alcoy de la Universidad Politécnica de Valencia, por el apoyo y comprensión ofrecidos durante estos meses. Este trabajo no podría haberse realizado sin los conocimientos adquiridos en el presente Máster; aportándome todas sus asignaturas las nociones necesarias para llevar a cabo este estudio.

Además agradezco al Instituto Textil, AITEX, por ofrecerme la oportunidad de realizar el proyecto final allí.

Quería agradecer a los miembros del grupo de Biotecnología de AITEX por ofrecerme la oportunidad de desarrollar mi proyecto conjunto con el proyecto SEACOLORS (LIFE13 ENV/ES/000445) y el apoyo, ayuda y comprensión recibidos.

Y a mi familia y amigos por su apoyo constante e incondicional en todos y cada uno de los momentos de mi vida y a todas las personas que no he citado expresamente pero que me han ayudado a terminar este trabajo.

Resumen

La industria textil es una de las más importantes y contaminantes debido a su emisión de compuestos químicos, representados por los colorantes sintéticos y auxiliares empleados, en las aguas residuales generadas. Los colorantes sintéticos utilizados actualmente suelen ser estables a la luz, la temperatura, acción de detergentes y a la degradación microbiana, por lo que son considerados compuestos altamente recalcitrantes y son complejos de eliminar por los métodos de depuración convencionales.

La sustitución de los colorantes sintéticos por colorantes naturales obtenidos a partir de algas, presentan la ventaja de que son colorantes procedentes de recursos renovables, menores problemas de degradación en las aguas y además, no presentan los inconvenientes detectados en otros colorantes procedentes de plantas que requieren grandes extensiones para su cultivo y con bajo rendimiento.

Por tanto, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal estudiar la aplicabilidad de los colorantes obtenidos de 3 micro y macro algas: *Arthrospira platensis* (microalga), *Synechococcus sp.* (microalga), *Ulva sp.* (macroalga) en el proceso de tintura textil, con la finalidad de obtener una gama de colorantes que ofrezcan la posibilidad de obtener una tricromía y puedan en el futuro sustituir a los colorantes sintéticos para una moda sostenible.

El objetivo principal de este trabajo fue alcanzado a través de 4 etapas de trabajo representadas por la identificación de cepas de algas con el contenido más alto de los colorantes deseados, representados por los metabolitos secundarios producidos por los organismos marinos y su cultivo en condiciones óptimas por institutos o empresas especializados en este campo. A partir de las 3 algas seleccionadas, se ha realizado la extracción de colorantes azules, rojos y amarillo/naranja, los cuales, fueron caracterizados por métodos instrumentales, empleando la espectrofotometría UV.

La aplicación de colorantes extraídos de algas sobre tejidos de algodón se ha realizado vía un proceso de tintura por agotamiento y los parámetros del proceso fueron optimizados durante la presente investigación, teniendo en cuenta que los nuevos colorantes son sensibles a altas temperaturas. Los resultados y la validación del proceso fueron realizados por la caracterización de los tejidos tintados empleando normas europeas para definir resistencias al lavado y al frote, mediciones de coordenadas cromáticas y el espectro de tejidos.

El empleo de colorantes a partir de algas revela resultados aceptables y comparables con los colorantes naturales empleados en la industria a día de hoy, provenientes de otras fuentes. Obteniéndose valores 3-4 para solidez al lavado, representando un comportamiento definido como regular bueno. Por otra parte, las solidez al frote se valoran mejor, 4-5, como un comportamiento bueno.

El presente trabajo demuestra la posibilidad de aplicar colorantes a partir de algas sobre tejidos de algodón de manera satisfactoria. Los resultados obtenidos pueden conducir a la sustitución del uso de colorantes sintéticos por una fuente renovable, que podría transformar el proceso de tintura, en uno seguro para el medio ambiente y más económico frente a la eliminación del agua residual, generación de CO₂ (en la producción de colorantes sintéticos) y consumo de agua y energía.

Abstract

The textile industry is one of the most important and one of the most polluting, due to the chemical compounds emission, represented by the synthetic colorants and auxiliary products used, contained in the effluents of residual water. The colorants employed nowadays, the commercial synthetic colorants are characterized by high stability when subjected to light, temperature, surfactants action and microbial degradation, being considered highly resistant compounds. This type of compounds are difficult to eliminate through conventional depuration methods.

The substitution of synthetic colorants with the natural ones obtained from algae show the advantage of renewable sources, show less resistivity in means of their degradation in water and, they do not possess the disadvantages encountered in other natural colorants originating from plants, the requirement of extensive land surfaces for their culture, with low efficiency.

Therefore, this investigation work has as main objective, the study of the applicability of colorants obtained from 3 micro- and macro algae: *Arthrospira platensis* (microalgae), *Synechococcus sp.* (microalgae), *Ulva sp.* (macroalgae), in the textile dyeing process, with the goal of obtaining a range of colorants able to offer the possibility of a trichromy obtention, and that they could, in a future, substitute the synthetic colorants for a sustainable fashion.

The main goal of this work was reached throughout 4 stages of work, represented by the identification of the algae strains with the highest yield of the searched colorants, represented by secondary metabolites, produced by the marine organisms, and, their culture in optimal conditions, realized by institutes and companies specialized in the domain. Starting from the 3 selected algae, the extraction of blue, red and yellow/orange colorants was realized, and then they were characterized by means of instrumental methods, using the UV spectrophotometry.

The application of colorants extracted from algae on cotton fabrics was realized via an exhaustion dyeing process, where the process parameters were optimized during this study, considering that the new colorants are temperature sensitive. The results and the process validation were demonstrated through dyed textiles characterization, using European regulations in order to define laundering and rubbing fastness, measurements of chromatic coordinates and textiles spectrum.

The utilization of colorants obtained from algae reveal acceptable results and comparable with the natural colorants used nowadays, which have different origins. The values obtained for laundering fastness, 3-4, show a regular-good characteristic of the dyed textiles. On the other hand, the higher rubbing fastness values, 4-5, show a good behavior in this aspect

The present work proves the possibility of the application of colorants obtained from algae on cotton textiles with success. The obtained results can lead to the substitution of the employment of synthetic colorants with ones from a renewable source, which could transform the dyeing process in an ecofriendly and more economical, when taking into account the waste water generation, CO₂ generation (in the synthetic colorants production) and energy and water consume.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Colorantes naturales.....	5
1.1.1 Colorantes a partir de algas:.....	12
1.2. Mordientes.....	15
1.3. Técnicas de extracción de colorantes naturales.....	17
1.4. Colorantes naturales empleados en la industria textil	20
1.5. Solideces de colorantes naturales	23
1.6. Bio-Colorantes.....	24
2. OBJETIVOS Y PLANIFICACIÓN	27
3. EXPERIMENTAL	30
3.1. Materiales empleados.....	30
3.2. Métodos empleados.....	30
3.3. Técnicas instrumentales empleadas	36
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Cálculo de la concentración del colorante.....	40
4.2. Resultados del proceso de tintura.....	46
5. CONCLUSIONES	57
6. LÍNEAS FUTURAS	60
7. LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS.....	70
7.1. Listado de tablas.....	70
7.2. Listado de figuras	70
7.4. Listado de ecuaciones	71
8. BIBLIOGRAFÍA.....	72

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Colorantes naturales

Definición

Los colorantes naturales son definidos en el Color Índice (1) como “Los tintes y pigmentos naturales comprenden todos aquellos que se obtienen a partir de la materia animal o vegetal sin (o con poco) tratamiento químico.”

Independientemente de la fuente de extracción, los colorantes y pigmentos naturales son obtenidos a partir de metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente. No todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los organismos. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género, a una familia, o incluso a algunas especies (2).

Historia

El uso de los colorantes se remonta a ciento de años en todas las sociedades por todo el mundo. Incluso antes de que la gente empezara a hilar y a llevar ropa se aplicaban tierras coloreadas, y sabias de plantas en su piel con distintas finalidades. El color de los tejidos ha marcado históricamente diferenciación social, de autoridad, de casta, de religión, de sexos. En todas las civilizaciones existió la necesidad de dar color a los tejidos, pero cada una desarrolló diferentes técnicas con diferentes colorantes aprovechando los recursos naturales de su entorno extrayendo nuevos colores y aumentando el conocimiento de las propiedades de tinción tanto de plantas, animales como de minerales.

Quizá el primer paso en la historia de la tintura fue la identificación de las potenciales plantas, animales o minerales que se podían utilizar para tinter ya que se aprendía a base de intento-error. Pero aún con este rústico método consiguieron obtener todos los colores del círculo cromático empleando las materias primas que ofrece la Madre naturaleza.

La lista de civilizaciones y materiales empleados es extensa, sirva como ejemplo que la civilización china utilizaba como especies tintóreas el azafrán para los rojos y el índigo para el azul, en la cultura mesopotámica el color favorito era el rojo que obtenían del insecto Kermes, los fenicios monopolizaron la obtención y los secretos de tintura del púrpura (Caracol Púrpura Pansa) que luego fueron aprendidos por bizantinos. Los egipcios utilizaron sales de cobre para tinter de verde, carbonatos para blanquear y no empleaban mordientes para tinter con Rubia, en Grecia utilizaron líquenes en especial Orsella tintoria, la rubia, kermes, azafrán, índigo.

Con el desarrollo de la industrialización la manufactura de los tejidos se abarataba progresivamente, únicamente los colorantes naturales eran todavía excesivamente caros. En el s. XIX los químicos empezaron a aislar y a purificar compuestos orgánicos y a identificar elementos y estructuras moleculares, fue el primer paso hacia la recreación sintética en el laboratorio. En 1856 William Perkin sintetizó el primer colorante al que llamó Mauveína y comenzó el declive de los colorantes naturales. (3)

Clasificación de los colorantes naturales

Existen multitud de clasificaciones según el criterio empleado para realizarla y ninguna de ellas se considera del todo satisfactoria.

a) Clasificación según su origen

Es la clasificación más común en los colorantes naturales y se divide según la procedencia del colorante en (4):

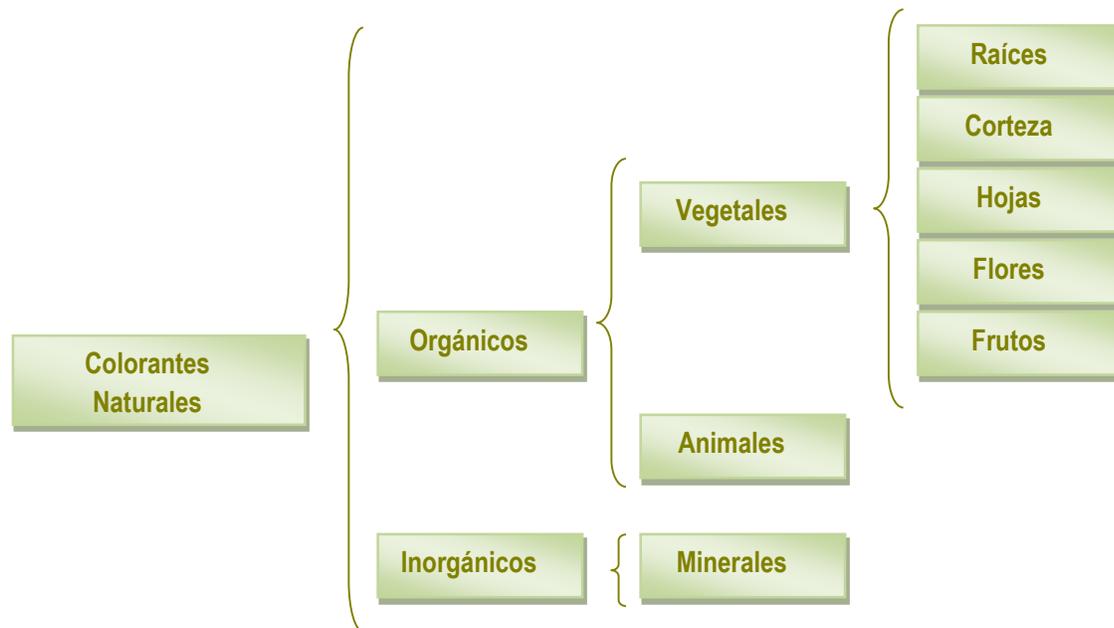


Figura 1. Clasificación de colorantes naturales según su origen

- Colorantes de origen vegetal: Dentro de los colorantes naturales son el grupo más voluminoso dado que se encuentran en todas partes del mundo. Estos colorantes son producidos directamente por la actividad fisiológica de las plantas o son producto de transformaciones artificiales de sustancias de procedencia vegetal. Se hallan en mayor concentración en las vacuolas de las células vegetales, donde se asocian con otros elementos como aceites, resinas, etc. No todas las plantas sirven como fuente de colorantes debido a que la concentración de colorantes que se encuentra en ellas es mínima y no permiten una rápida y económica extracción, por ello son pocas las que tienen importancia comercial. Abarcan prácticamente toda la gama cromática.

- Colorantes de origen animal: Son pocos los colorantes utilizados de origen animal, pero por contra los empleados han tenido gran repercusión. Los colorantes que más repercusión alcanzaron fueron el *rojo grana* (ácido carmínico) que proviene de la Cochinilla (*Dactylapius Coccus Costa*) y *Púrpura* (dibromoíndigo) obtenido del molusco Caracol Púrpura (*Patula panza*).
- Colorantes de origen mineral: algunos ejemplos son: Dióxido de titanio- es un polvo denso blanco, insaboro e inodoro, es el colorante mineral más empleado; Azul ultramarino- producido por la pulverización del mineral lapislázuli; Ocre de cinabrio mineral de color rojo. (5)

b) Clasificación según su afinidad por la fibra.

Codifica a los colorantes según tinen directamente a la fibra porque tienen afinidad con ella o necesitan de productos auxiliares para conseguir la fijación. (4)

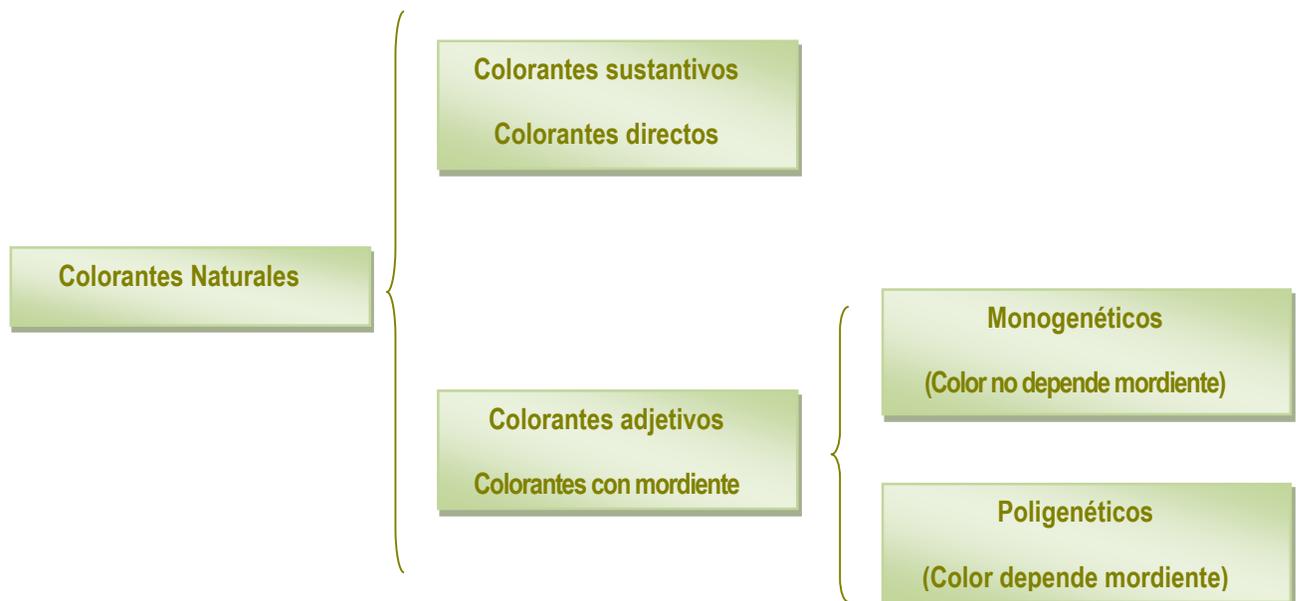


Figura 2. Clasificación de colorantes naturales según su afinidad por la fibra

- Colorantes sustantivos o directos: son aquellos que tintan directamente la fibra sin necesidad de ningún aditivo. Son más escasos en la naturaleza.
- Colorantes adjetivos o con mordiente: son aquellos en los que el colorante no tiene afinidad por la fibra por lo que necesita la aditivación de una sustancia llamada mordiente para conseguirlo. Se subdividen en dos categorías:
 - Monogénéticos: El color del colorante se mantiene independiente del mordiente empleado.
 - Poligénéticos: El color final varía dependiendo del mordiente empleado.

c) Clasificación según su estructura química.

Esta es una de las divisiones más controvertidas, dado que no existe unanimidad a la hora de ubicar los diferentes grupos. Dentro de los grupos principales pueden existir más subgrupos que no se han planteado en el siguiente esquema por su escasa repercusión como colorante textil. (6)

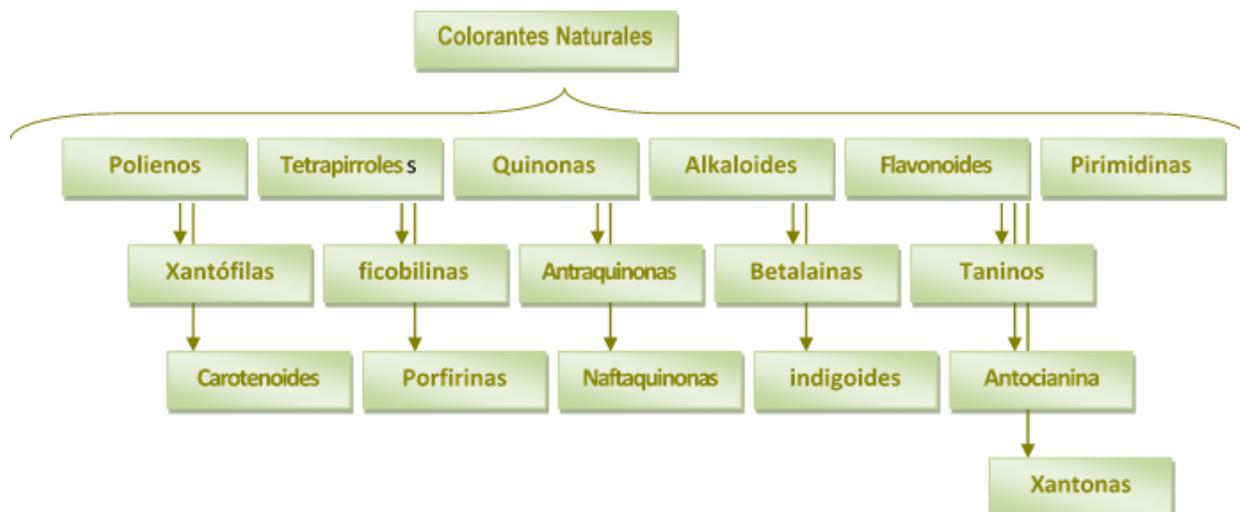


Figura 3. Clasificación de colorantes naturales según su estructura química

Polienos

Los polienos son compuestos orgánicos con más de dos enlaces. Dentro del mundo de los colorantes se subdividen en dos grandes grupos (7).

- Carotenos: son un amplio grupo del que forman parte más de 400 sustancias diferentes. Son los responsables de la gran mayoría de los colores amarillos, anaranjados o rojos presentes en los vegetales y animales. Aunque los animales no los biosintetizan se encuentran presentes por ser ingeridos en la dieta ya que son necesarios porque son precursores de la vitamina A. En los vegetales verdes se encuentran en los cloroplastos, pero son mucho más abundantes y visibles coloreando algunas raíces, frutas y flores. Son más abundantes como colorantes alimentarios que en textil. Su cadena principal está formada por 40 átomos de carbono ordenados para formar cadenas. No son solubles en agua. Algunos de los colorantes de este grupo son el Azafrán flor de la familia del lirio que los griegos empleaban como tinte, otro ejemplo es la Zacatlaxcalli planta parásita que los mexicanos usaban como tinte.
- Xantofilas: Son carotenoides que contienen átomos de oxígeno en su cadena principal. Se encuentran tanto en los vegetales como en los animales (luteína en la yema de huevo o la cantaxantina en la concha de los crustáceos.). Cuando se encuentra en ciertos crustáceos aparece con tonos verdes o azulados al estar unidas a una proteína.

Estructura de β -Carotenoides

Estructura de las xantofilas (Luteína)

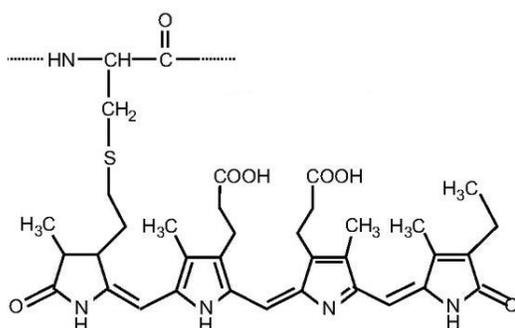
Figura 4. Estructura química genérica de los polienos

(U. Gamage Chandrika, *Handbook of colorants*, Capítulo 13: Carotenoids dyes-Properties, pp.223-224)

Tetrapirroles

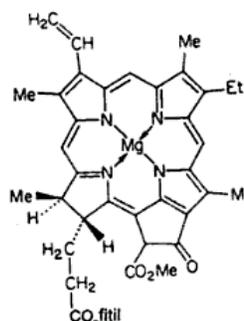
Los tetrapirroles (8) constan de cuatro anillos de pirrol y se subdividen según se encuentren dispuestos de forma lineal o de forma cíclica en:

- **Ficobilinas:** químicamente son una cadena abierta de cuatro anillos de pirrol. Transfieren la energía absorbida por ellas a la clorofila. Básicamente se consideran dos tipos de ficobilinas: Las ficoeritrinas (rojas) y las ficocianinas (azules).
- **Porfirinas:** Son cuatro anillos de pirrol unidos por medios de puente de metilo que constituyen un anillo mayor en el que se incluye un átomo metálico en el centro. El más conocido dentro de este grupo es la clorofila.



Estructura química de la ficocianina

(Jing Zheng et al., Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 304: 110-120, 2012)



Estructura química de la clorofila

(Ursula M. L. Marquez, *Handbook of colorants*, Capítulo 15: Chlorophylls, 2009, pp:245)

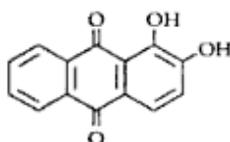
Figura 5. Ejemplos de estructuras químicas de tetrapirroles

Quinonas

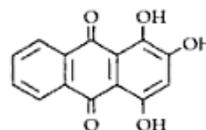
Son un grupo de compuestos (9) cuya coloración puede ser desde el amarillo pálido hasta casi negro, aunque el color verde y el azul son muy raros. Se encuentran abundantemente en los vegetales pero también en animales como insectos (cochinilla), moluscos (calamar) o

invertebrados echinodermis (estrellas de mar o erizos.) Su resistencia a la luz suele ser buena. (10)

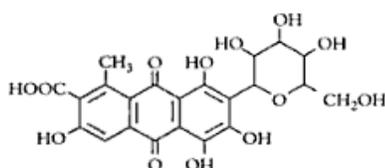
- **Antraquinonas:** Son quinonas tricíclicas y dentro de las quinonas son el grupo más amplio. Pertenecen a este grupo la Alizarina y Purpurina dos de los componentes de Rubia (*rubia tinctoria*) y algunos de los colorantes animales más conocidos como el Ácido Carmínico (*Cochinilla*) o el Ácido Kermésico (*Kermes*) también pertenecen a este grupo.



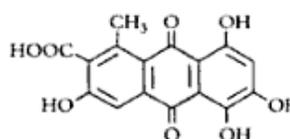
Alizarina



Purpurina



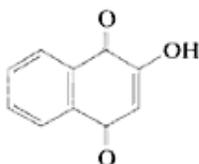
Ácido carmínico



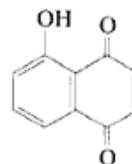
Ácido kermésico

Figura 6. Ejemplos de estructuras químicas de antraquinonas (Padma S. Vankar, Chemistry of natural dyes, Resonance, 2000)

- **Naftaquinonas:** Su color cambia desde el amarillo al rojo intenso. Se encuentran en mayor cantidad en las plantas superiores y en menor proporción en los hongos, erizos y estrellas de mar. El más conocido es la Henna que está formado por la Lawsonia.



Lawsonia



Juglona

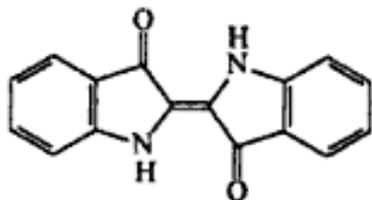
Figura 7. Ejemplos de estructuras químicas de naftaquinonas (PubChemCompound: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>)

Indigoides y derivados

Poseen la máxima solidez a la luz entre los colorantes naturales, además de la capacidad para fijarse sobre cualquier tipo de fibra (11).

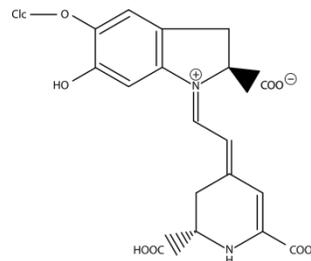
- **Índigo:** Se encuentra presente en numerosas especies vegetales aunque las que presentan mayor rendimiento son las que pertenecen al género Indigofera. Es de los más antiguos tintes usados en el textil.
- **Betalainas:** Se subdividen en betacianinas que dan un color rojo-violeta y las betaxantinas que son de color amarillo. Una característica importante es que las betalainas no

coexisten en la misma planta con las antocianinas, mientras que sí lo hacen con otros flavonoides.



Estructura química índigo

(WildColours-Indigo chemistry:
http://www.wildcolours.co.uk/html/indigo_chemistry.html)



Estructura química de Betalaina

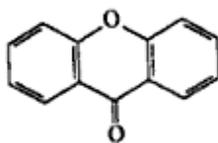
(Alexei Solovchenko, Photoprotection of plants via optical screening, Department of Biophysics, Rusia, 2010)

Figura 8. Ejemplos de estructuras químicas de indigoides y derivados.

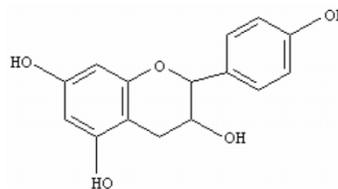
Flavonoides

Son el grupo más amplio dentro de los colorantes naturales ya que abarcan prácticamente el 50%. Son sustancias responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores, aunque tienen resistencia a la luz moderada (12).

- Xantonas: Están estructuradas en forma de anillo, formado por seis átomos de carbono con múltiples uniones dobles. Las xantonas tienen la misma estructura básica y múltiples variantes, que les permite una gran variedad de funciones. Principalmente proporcionan colorantes amarillos que se encuentran en la familia de las Bonnetiaceae, de las Clusiaceae y en algunas especies de la familia de las Podostemaceae, que incluyen hongos, líquenes y plantas superiores. Se han descubierto unos 200 colorantes.
- Antocianinas: Son solubles en agua. Son una clase especial de flavonoides. Se encuentran en cualquier parte de las plantas y son responsables de colores como el azul, púrpura, morado, castaño, rojo y rosa. Son más estables en forma de sales, citratos, maleato, etc. Este grupo se ve afectado por el pH cambiando de color. Algunos ejemplos son el Palo de Campeche (*Haematoxylon campechianum*) y el Palo de Brasil (*Haematoxylon brasiletto*).
- Taninos condensados: son sustancias de carácter ácido y fuerte poder astringente, son polímeros complejos solubles en agua. Se encuentran abundantemente en la corteza, las hojas y los frutos de muchas plantas. Son colorantes extraordinariamente firmes y especialmente adecuados para teñir algodón, al oxidarse la gama de colores abarca tonos anaranjados, rojos y marrón en combinación con compuestos de hierro precipitan dando colores verde-oliva azul-pizarra o negro. Un ejemplo es la corteza de la caoba (*Swietenia microphylla*).



Xantona



Antocianona

Figura 9. Ejemplos de estructuras químicas de flavonoides

(Maria J. Melo et al, Handbook of colorants, Chapter 9: Anthocyanins: Nature's Glamorous Palette, 2009).

Pirimidinas

Son compuestos aromáticos con dos nitrógenos en un anillo de seis miembros. Su núcleo ocurre ampliamente en los organismos vivos. Es un componente importante de productos naturales tales como la vitamina B1, las purinas y los productos de degradación de los ácidos nucleicos. Las Fenazinas dan colores amarillo púrpura y las Pterinas blanco- amarillo (13).

1.1.1 Colorantes a partir de algas:

Las algas son un grupo muy diverso. Estos organismos acuáticos van desde seres microscópicos unicelulares hasta organismos multicelulares que forman grandes colonias muy grandes y vistosas. Son organismos fotosintéticos, que representan los productores primarios que contienen pigmentos orgánicos empleados para la recogida de energía proveniente de la luz. Existen tres clases de colorantes a partir de algas: clorofilas, carotenoides y ficobilinas. Las clorofilas son verdes, los carotenoides tienen color amarillo o naranja y las ficobilinas son compuestos hidrófilos divididos en pigmentos rojos- las ficoeritrinas y en pigmentos azules- las ficocianinas (14).

La literatura científica contiene una gran cantidad de confirmaciones de la existencia de colorantes naturales presentes entre las divisiones específicas de algas, pero es necesario mencionar que la composición de estos pigmentos no es uniforme incluso entre grupos de algas (15).

Desde el punto de vista comercial, los grupos más importantes de colorantes naturales a partir de algas son los carotenoides y las ficobilinas (16; 17). El empleo de las algas rojas y cianobacterias para las ficobiliproteínas (ficoeritrina, diferentes ficocianinas y aloficocianinas) como colorantes naturales para la industria cosmética, alimentaria y como marcadores fluorescentes en la investigación biomédica representa una larga tradición. A día de hoy se han descubierto más aplicaciones de los compuestos activos, ficobiliproteínas, encontrados en las algas, tales como: actividad antioxidante (18) y eliminación de radicales (19), actividad antiinflamatoria (20; 21) y propiedades anti-cáncer (22). Algunas ficobiliproteínas en particular presentan especificidad en aplicaciones de fluorescencia y son empleadas en histoquímica, microscopia de fluorescencia, citometría de flujo, fluorescencia de células activadas e inmunoensayos de fluorescencia (23).

La presencia de compuestos bioactivos en diferentes especies de algas ha sido investigada en muchos estudios científicos con el propósito de optimizar el proceso de extracción para la obtención de los compuestos mencionados (24). Los estudios actuales tienen como estrategia la identificación de compuestos con potencial bioactivo, y utilizan el proceso de filtración de compuestos a partir de algas, empleando técnicas como, por ejemplo, la extracción por líquido a alta presión (PLE) (25-27).

Los estudios sobre los colorantes naturales a partir de algas representan una nueva tendencia en todas las industrias, pero no existen todavía resultados reproducibles en la industria textil.

Las algas son plantas vivas que no pueden ser clasificadas como las otras plantas terrestres porque se han desarrollado en muchas formas diferentes- células, plantas multicelulares, bacterias y muchas otras combinaciones. Mientras que las especies de algas comparten características específicas, otras, presentan forma, dimensión, estructura, composición y color diferente (25).

Las micro algas se puede afirmar que son plantas acuáticas de dimensión microscópica que necesitan la ayuda de un microscopio en poder ser vistas (26). Según Nick Dakin (27), el termino "Micro" se aplica a grupos de organismos unicelulares. Su existencia puede ser encontrada como fitoplancton en deriva, u organismos que ocupan un sustrato.

Por otra parte, las macro algas son definidas como plantas acuáticas fotosintéticas grandes, que pueden ser vistas al microscopio (26). El mismo Nick Dakin (27) afirma que el término 'Macro' se refiere siempre a especies más grandes que pueden ser identificadas como plantas, en el medio acuático.

Teniendo como punto de partida los estudios realizados sobre los colorantes obtenidos de algas, se han elegido tres cepas para la presente investigación. Las cepas se han elegido según el colorante primario contenido y, son las siguientes:

- *Arthrospira platensis* (28) es una cianobacteria verde-azul, poliautótrofa, que utiliza la luz solar como fuente de energía y el dióxido de carbono como fuente de carbono. Presenta interés en nuestra sociedad desde la antigüedad siendo cultivada para alimentación. En día de hoy, su uso presenta ventajas económicas y ecológicas: como fuente de proteína presenta mayores concentraciones que el resto de plantas, necesita condiciones no muy exigentes para su cultivo, y debido a su contenido elevado en vitaminas y proteínas representa un sujeto de interés en la investigación científica (29).

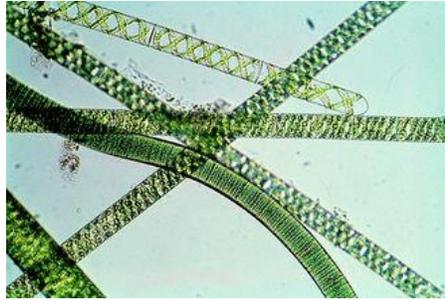


Figura 10. Imagen microscópica de *Arthrospira platensis*
(Base de datos Banco Español de Algas, Canarias)

- *Synechococcus sp.* es una cianobacteria unicelular, eurihalina, que crece de manera fotolito autótrofo, significando que la luz es la fuente de energía primaria, electrones están obtenidos de una fuente inorgánica (ejemplo H₂O para los fotótrofos oxigenicas) y el CO₂ es la única fuente de carbono. (30) Su contenido en ficoeritrinas fue valorizado en la esfera de investigación biomédica para el tratamiento de tumores o como colorantes naturales empleados en la industria alimentaria, cosmética, en particular, como sustitutos de tintes sintéticos, caracterizados por su toxicidad o non seguridad. (31)

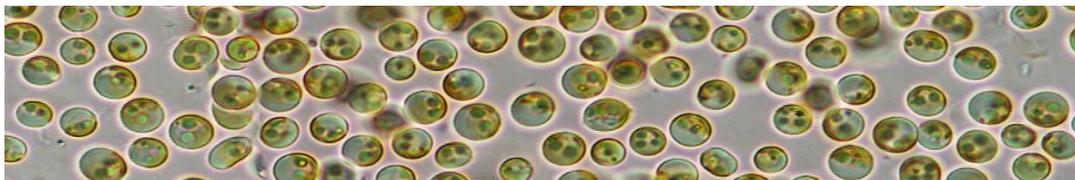


Figura 11. Imagen microscópica de *Synechococcus sp.*
(Base de datos Banco Español de Algas, Canarias)

- *Ulva sp.* es un macro alga verde que pertenece al filo clorofita, es plana y delgada, creciendo sólo 2 capas de células de espesor. (32) Sus aplicaciones iniciales fueron centradas en industria alimentaria y medical, pero las investigaciones se centran en su contenido de carotenoides con propiedades antioxidantes y antibacteriales. (33)



Figura 12. Imagen de *Ulva sp.*
(Base de datos AlgaPlus, Portugal)

1.2. Mordientes

Los mordientes son sales metálicas que se emplean en el proceso de tintura para que el colorante se fije a la fibra. La palabra mordiente viene del Latín *'morderé'* que literalmente significa morder, dada la creencia en los pueblos antiguos de que estas sustancias "mordían" a la fibra para mantener el color. Las principales características de los mordientes son:

- Incrementan la fijación del colorante en la fibra, proporcionando brillo y colores intensos.
- Aumentan la solidez del colorante a la luz y al lavado.
- Aumentar el rango de colores que se pueden obtener del colorante de una sola planta.

Los mordientes pueden ser usados en diferentes etapas del proceso, como confirma el extenso número de trabajos realizados para tintar textiles con colorantes naturales, en cual se han utilizado diferentes mordientes dependiendo de la fibra empleada (37- 45).

- Antes de la tintura: Colocar el mordiente junto con las fibras antes de la tintura produce colores claros y da el control sobre el proceso de mordentado.
- Durante la tintura: Es más rápido y elimina una etapa del proceso.
- Después de la tintura: Se emplea para incrementar la solidez al color y para aclarar u oscurecer el color obtenido en la tintura.

En la antigüedad se utilizaban sustancias que se obtenían del entorno, así dependiendo de la cultura y el entorno se han empleado numerosos mordientes. Las primeras colonias americanas hacían uso del tanino que se obtenía del abeto y roble americano, los Navajo empleaban las cenizas de la enebrina. En muchas culturas se empleaba una mezcla de excremento de oveja con agua.

Las sales minerales más comunes empleados son:

- **Aluminio:** Se usa sulfato de aluminio y potasio $KAL(SO_4)_2 - 2H_2O$ comúnmente llamado alumbre. Es un polvo blanco que es seguro de manejar y fácil de usar porque no es tóxico. Produce colores claros y vivos y proporciona relativa buena solidez a la luz. Por lo general se usa con el Crémor tártaro que ayuda a dar uniformidad e ilumina un poco. En exceso proporciona un tacto pegajoso en la lana. Es mejor usarlo antes de la tintura, pero también produce buenos resultados si se emplea en el baño de tintura.
- **Hierro:** Se usa sulfato ferroso ($FESO_4$), un polvo verdoso que al disolverse presenta un color herrumbroso. Como mordiente el hierro da tonos mates y oscuros que son resistentes. Por lo general en la lana se tiñe primero y se procede al mordentado después. Si se usa en exceso debilita las fibras de lana y causa un envejecimiento prematuro del tejido además de proporcionar un tacto endurecido. Se emplea para obtener negros y grises.
- **Cobre.** Se empleaba sulfato de cobre, ($CuSO_4$) tradicionalmente llamado azul vitrol o alcaparrosa y se presenta en forma de cristales azul turquesa, pero es tóxico. Como

mordiente oscurece los colores y a menudo da un tono verdoso. Da buenas solideces a la luz y proporciona un tacto menos duro en las fibras que el hierro.

- **Estaño**: Se usa cloruro de estaño (SnCl_2) es un polvo blanco y es venenoso, volátil e higroscópico. Ilumina los colores de tinte especialmente los rojos, naranjas y amarillos a veces dando un sorprendentemente efecto antinatural. Casi siempre se emplea con Crémor tártaro. Da buenas solideces pero puede hacer que la lana se vuelva frágil y áspera. Es medianamente venenoso, es cáustico y reacciona con la piel humana dando un olor desagradable.
- **Cromo**: Se usa dicromato potásico ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Se presenta en cristales de color naranja. El cromo es un metal tóxico en cualquier forma. El exceso hace que los colores sean dispares. Da buenos colores brillantes que son muy resistentes a la luz y al agua. A la lana le proporciona una textura particularmente suave.
- **Tanino**: (Ácido tánico) Suele emplearse como asistente de otros mordantes. Es un buen mordiente para marrones o bronceados y para las fibras vegetales (algodón o lino). Se aplica en un segundo baño de mordiente después del alumbre. Produce colores profundos y resistentes a la luz. La lana mordentada con ácido tánico antes de teñir tiende a oscurecerse con el tiempo.
- **Crémor tártaro**: (ácido tártaro de potasio $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) Es un polvo blanco con apariencia de azúcar. Es generalmente usado antes del teñido. Se emplea principalmente para neutralizar el maltrato que reciben las fibras animales con los mordientes y ayuda a igualar las tinturas dándoles brillo y uniformidad. No se recomienda en las fibras vegetales.

El uso de cromo, cobre y sales de estaño, sin embargo, no se recomienda por razones ecológicas y toxicológicas, y por lo tanto debe utilizarse preferentemente un mordiente como el sulfato de aluminio o sulfato de hierro.

En la siguiente tabla se ofrece una comparativa de los colores resultantes al cambiar de mordiente en el proceso de tintura para un mismo colorante natural. Se han escogido colorantes empleados en diversas culturas (3).

Colorante	Sin mordiente	Alumbre	Cobre	Hierro	Estaño
Palomilla de tintes (Alkanet)	Gris azul	Púrpura	Marrón	Púrpura	Púrpura
Palo de Brasil (Brazil wood)	Rosa amarillo	Salmón	Marrón	Marrón	Rosa
Catechu (Cutch)	Bronce	Marrón	Marrón	Gris marrón	Oro sucio
Henna	Marrón	Marrón	Kaki Marrón	Marrón	Marrón rojizo
Palo Campeche o palo de tinte (Logwood)	Azul marrón	Gris marrón	Gris azul	Púrpura gris	Púrpura
Rubia (Madder)	Rosa	Naranja	Bronce	Marrón	Naranja
Cochinilla (Cochineal)	Rosa	Carmín	Púrpura	Púrpura negro	Rojo

Tabla 1. Comparativa color obtenido con diferentes mordientes

1.3 Técnicas de extracción de colorantes naturales

El proceso de extracción de colorantes provenientes de fuentes naturales representa uno de los procesos más importantes que influye posteriormente en el proceso de tintura en términos de intensidad y rendimiento. Además, la normalización y la optimización de las variables del proceso de extracción de los colorantes naturales tienen importancia técnica y comercial en el rendimiento del colorante y en el coste de los procesos de extracción y tintura. Los colorantes naturales pueden ser extraídos utilizando diferentes métodos, por ejemplo empleando agua como solvente de extracción, añadiendo o no sal/ácido/álcali/alcohol en el baño de extracción, extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida por enzimas, extracción con solvente alcohólico/orgánico, empleando equipos relevantes o el método Soxhlet con empleo de alcoholes y mezclas de benceno para que al final se filtra, evapora y seca utilizando equipos de filtración o bombas rotatorias de vacío, centrifugas/ o extracción a bajo presión. (4)

A continuación se describen los más importantes:

a) Sistemas de extracción acuosa

Para extraer el colorante en un medio acuoso, el material vegetal es secado y cortado en trozos pequeños y molturado antes de la extracción acuosa. Se realiza la separación del componente de color deseado empleando un solvente. Los parámetros como: tiempo de extracción, temperatura, el pH del baño de extracción, la concentración del material fuente y la relación entre la biomasa empleada y el volumen de solvente acuoso son variables y dependen de cada fuente natural empleada.

Existen numerosos procesos de extracción en medio acuoso de colorantes naturales optimizados, teniendo como fuente natural, biomasa y publicados en la literatura científica. Extractos en medio acuoso de colorantes naturales (34), se han realizado, por ejemplo,

extracciones de planta Rubia Roja (*Rubia tinctorum*) (35), corteza de azofaifas (36). Extracciones de ficocianina, de *Spirulina platensis* (homóloga a *Arthrospira platensis*) han sido realizados por métodos de liofilización (37).

b) Extracción por sistemas asistidos de otros solventes o solventes non acuosos

- La extracción por fluidos supercríticos (SFE) es empleada con éxito para la obtención de una gran variedad de compuestos orgánicos provenientes de plantas. Este método emplea dióxido de carbono como solvente, que representa una alternativa excelente a los solventes de origen químico, y es empleado para extraer y purificar colorantes naturales, como por ejemplo los provenientes de corteza de eucalipto (38).
- El metanol acuoso ha sido utilizado para extraer colorante natural rojo (ladrillo) desde hojas de teca. Se han puesto en el extractor Soxhlet las hojas secas de teca con 20% de metanol acuoso, obteniéndose colorante en polvo después de la eliminación del solvente orgánico. (39)
- La extracción Soxhlet esta empleada para obtener colorantes naturales, por ejemplo, se ha estudiado la extracción de colorantes de la piel de las uvas. En este proceso, después del destilado se condensa mediante vacío, para obtener una solución de colorante concentrada. (40)
- El condensador de reflujo actúa 1 hora sobre un material natural para extraer colorantes naturales. (41)

c) Extracción con ácidos o álcalis

Numerosos colorantes naturales han sido extraídos en pH ácido o alcalino y, los resultados obtenidos están publicados en la literatura científica, tal y como se resume a continuación:

El pH ácido fue empleado para extraer colorantes desde las hojas de euforbio (42), mientras que en medio alcalino se ha obtenido colorantes desde nueces de acacia catecú (43) para tinteros tejidos de fibras proteicas. Dependiendo del color deseado se realizan extracciones en rangos amplios de pH: color obtenido desde madera de jaca (44), colorante rojo obtenido desde madera de sándalo rojo (45).

d) Extracción de colorantes naturales por otros métodos

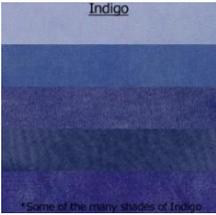
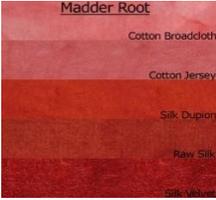
Numerosos métodos, diferentes de los mencionados, entran en la categoría de métodos de bajo impacto ambiental y, presentan una gran eficacia en la extracción de colorantes:

- Extracción asistida por procesos de ultrasonidos de colorantes naturales (46; 47) ha sido optimizada y normalizada. Un protocolo estándar de extracción ha sido desarrollado empleando 250 ml de solvente y 25 g de biomasa-fuente seca. La disolución es sumergida en un baño de ultrasonidos a una frecuencia de 27-30 MHz a 160 V, en un nivel de agua controlado a 2-3 cm del fondo del baño.

- Extracción asistida por procesos empleando enzimas utiliza una mezcla de enzimas (ej. pectinasa: celulasa, 2:1) (47). Las enzimas son pulverizadas sobre el material y dejadas en reposo durante 12 h. El material se agita en una disolución con 250 ml de agua, a pH 10, durante 40-80 minutos a una temperatura óptima. El extracto obtenido se puede emplear en un proceso de tintura.

1.4 Colorantes naturales empleados sobre fibras

A continuación se hace hincapié en colorantes naturales que por sus propiedades y versatilidades han conseguido ser empleados sobre fibras (48).

Nombre	Descripción botánica	Color	Fotografía	Extracto obtenido	Tinturas realizadas
<p>Índigo (Índigo): Indigofera tinctoria.</p> <p><i>Se procesan las hojas y los tallos tiernos</i></p>	<p>Pertenece a la familia de las <i>Fabaceae</i> del orden de las fabales. Es una planta anual, bienal o perenne, dependiendo del clima donde crezca. Es un arbusto que crece entre uno y dos metros de altura. Esta naturalizada en Asia.</p>	<p>Químicamente es una mezcla de indigotina (azul) y un poco de indirubina (rosa). Para conseguirlos fermentan las hojas y se consigue el indican que se transforma en indigotina (sustancias incoloras) Al oxidarse con el aire la indigotina se convierte en índigo que da un azul intenso.</p>			
<p>(Color on fabric, Dharma Trading Co., <i>Indigo</i>: http://www.dharmatrading.com/home/indigo.html)</p>					
<p>Rubia (Madder): Rubia tinctorum.</p> <p><i>Principalmente se emplea su raíz</i></p>	<p>Pertenece a la familia de las <i>Rubiaceae</i> plantas fanerógamas del orden de las gentianales. Es una planta perenne que puede crecer hasta el metro de altura. Es originaria de las regiones mediterráneas y se desarrolla mejor en zonas montañosas y húmedas.</p>	<p>El color lo proporcionan las antraquinonas conocidas como alizarina (1,2-dihydroxiantraquinona) y la purpurina (1,2,4-trihydroxiantraquinona). Estos colorantes dan un rango de colores desde el rojo (cuando el mordiente es aluminio puro) hasta el</p>			
<p>(Color on fabric, Dharma Trading Co., <i>Natural dyes (from plants and insects)</i>: http://www.dharmatrading.com/dyes/natural-dyes-from-plants-</p>					

		<p>violeta (cuando se emplea hierro puro). El color cambia por la variedad y edad de la planta y por la técnica y habilidad de los tintoreros.</p>	<p>and-insects.html)</p>
<p>Cochinilla (Cochineal): Dactylopius coccus.</p> <p><i>Se emplea el ácido carmínico de mayor calidad (21% en peso) lo producen las hembras.</i></p>	<p>Pertenece a la clase Insecta del orden de las hemiptera. Es originario de Sudamérica y vive en los tallos de las tuneras (Cactus) o nopales de las cuales se alimenta extrayendo su savia a través de un estilete bucal.</p>	<p>El color lo proporciona el ácido carmínico que pertenece a las antraquinonas y que produce un rojo intenso color sangre fue tan apreciado en la antigüedad que consiguió importancia mundial.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">    </div> <p>(Color on fabric, Dharma Trading Co., <i>Natural dyes (from plants and insects:</i> http://www.dharmatrading.com/dyes/natural-dyes-from-plants-and-insects.html)</p>
<p>Catecú (Cutch): Acacia catechu.</p> <p><i>Principalmente se emplea su corteza.</i></p>	<p>Pertenece a la familia de las Fabaceae plantas del orden de las fabales. Es un pequeño árbol que puede medir hasta seis metros de altura. Es originaria de Indonesia, Malasia, Birmania y la costa Malabar aunque también se ha naturalizado en Jamaica.</p>	<p>El color lo proporciona el tanino catecol. Estos colorantes dan un rango de colores desde el marrón hasta el verde oliva (cuando se emplea cobre). Se usa también por sus ácidos tánicos</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">    </div> <p>(Color on fabric, Dharma Trading Co., <i>Natural dyes (from plants and insects:</i> http://www.dharmatrading.com/dyes/natural-dyes-from-plants-and-insects.html)</p>

<p>Palo Campeche (logwood): Haemotoxylum campechianum</p> <p><i>Principalmente se emplea su corteza.</i></p>	<p>Pertenece a la familia de las <i>Fabaceae</i> plantas del orden de las fabales. Es un árbol de hoja perenne que puede medir hasta seis metros de altura. Es originario de México, Guatemala y Belice.</p>	<p>El color varia del rojo violeta al púrpura aunque con hierro puede ir del gris al negro.</p>	 <p>(Logwood Natural Dye: http://www.keyword-suggestions.com/bG9nd29vZA/)</p>
--	--	---	---

Tabla 2. Colorantes naturales empleados sobre fibras

1.5 Solideces de colorantes naturales

La solidez del color es definida como la propiedad de un pigmento o un colorante, a permanecer sobre un sustrato que puede ser muy diverso: cuero, tejido, papel, etc. tras su uso. Es decir, el sustrato, debe retener su matiz original y debe poder lavarse o usarse sin desteñirse (49).

a) Solidez a la luz

La mayoría de los colorantes naturales presentan baja estabilidad a la acción de la luz (en cuanto los comparamos con los tintes sintéticos). La estabilidad relativa a la luz ha sido revisada durante mucho tiempo (50) junto con estudios que tienen en cuenta cambios en la moda cualitativa, en obtener productos sostenibles desde el punto de vista medio ambiental. Los cambios de color han sido estudiados desde el punto de vista cualitativo (51). Los resultados obtenidos revelan baja solidez a la luz entre 1-2 para colorantes amarillos (fusto viejo, bayas persas), los colores rojos (coquina, alizarina, laca) presentan mejores solideces entre 3-4, índigo presenta solidez a luz entre 3-4 o 5-6 (dependiendo de mordiente); y el negro del palo de Campeche presenta una solidez entre 4-5 o 6-7 (dependiendo de mordiente). (52; 53).

Una gran proporción de los colorantes naturales requieren el empleo de mordientes. Existe una influencia muy fuerte de la naturaleza, tipo y concentración del mordiente en los rangos de solideces al lavado y a la luz. Por estos motivos se intenta optimizar y mejorar esta propiedad de los colorantes naturales.

b) Solidez al lavado

Algunos colorantes sufren cambios en el matiz generados por el lavado, causados por una ligera alcalinidad en los baños de lavado, evidenciando la necesidad de saber el valor del pH de las soluciones empleadas para la limpieza de los textiles tintados con colorantes naturales. Como una regla general, los tintes naturales poseen solideces moderadas al lavado, como resulta en la evaluación con el ensayo ISO 2. También la naturaleza del detergente empleado en estos ensayos es importante (54).

En el ensayo ISO 2, los valores de solidez al lavado de por ejemplo los colorantes índigo y campeche son superiores a los colorantes naturales como las bayas de aligustre y raíz de lirio de agua, pero comparando con los colorantes naturales amarillos, rojos, rojos/morados, verdes y marrón existe una diferencia muy pequeña entre los dos grupos mencionados (55).

c) Solidez al frote

La mayoría de los colorantes naturales estudiados dan solideces al frote buenos sin necesidad de ningún tratamiento adicional. Por ejemplo, el árbol de jaca, manjistha, sándalo rojo, acacia, caléndula, etc. presentan buenas solideces al frote (45; 44; 56; 57). También buenas solideces al frote (en seco y en húmedo) son obtenidas para la seda tintada con acalypha y otros colorantes naturales (58; 59; 60).

1.6 Bio-Colorantes.

La industria química se ha visto obligada a encontrar vías para mantener su competitividad en el mercado. Los principales problemas a los que se tienen que enfrentar en la industria tintorera son (61):

- Prevención de la escasez de agua, que va acompañada de importantes conflictos de suministro y de un aumento en el coste de la misma.
- Límites de contaminación del vertido cada vez más estrictos.
- Enormes presiones medioambientales en el ámbito jurídico y legislativo.
- Prohibición, y por lo tanto búsqueda de sustitutos, de sustancias potencialmente peligrosas para el entorno o para el ser humano.

Las industrias químicas se han implicado con la causa del desarrollo sostenible y centran en ella la investigación de sus nuevos productos. Los bio-colorantes son colorantes sintéticos que proporcionan un menor impacto ambiental manteniendo o superando las características técnicas. Los bio-colorantes canalizan sus mejoras en (62):

- Aumentar las afinidades de los productos por la fibra que se traduce en:

Acción	Beneficio
Mayor agotamiento	Reducción de la coloración de los efluentes
Reducción cantidad de colorante empleado	Reducción de la coloración de los efluentes
Reducción del tiempo de tintura	Reducción emisiones CO ₂
	Ahorro energético
Reducción de productos auxiliares	Reducción en la contaminación de los efluentes
Reducción de lavados	Reducción en el consumo de agua.

Tabla 3. Tabla comparativa entre acciones realizadas y beneficios obtenidos

A todos estos beneficios medioambientales habría que sumar el ahorro económico que supone la reducción energética y de productos empleados que potencia la competitividad de la empresa.

- Aumentar la biodegradabilidad de los colorantes se traduce en efluentes menos contaminantes.
- Aplicación de colorantes a procesos optimizados: Si bien no solucionan por completo los problemas se presentan como soluciones parciales que minimizan el impacto ecológico de los mismos.

Acción	Beneficio
Recuperación del baño	Reducción en el consumo de agua.
	Reducción coloración de los efluentes
	Reducción cantidad productos empleados
Tintura con fluidos supercríticos	Reducción emisiones CO ₂
	Reducción en el consumo de agua.
	Reducción productos químicos
Recuperación del calor	Ahorro energético
Reducción de baño de tintura	Reducción en el consumo de agua.

Tabla 4. Tabla comparativa entre acciones realizadas y beneficios obtenidos

Considerando los efectos tóxicos de los colorantes sintéticos se han renovado esfuerzos para estudiar e implementar varios colorantes naturales en la industria. Los tintes naturales pueden proporcionar la tan necesaria alternativa al complejo mundo de los tintes químicos.

Ventajas

Las principales ventajas (13) que proporciona el empleo de colorantes naturales a escala industrial son:

- **Ecológicas:**
 - Alternativa a los colorantes basados en el petróleo.
 - Reducción del uso de sustancias tóxicas en la producción de los colorantes, y la disminución de residuos peligrosos.
 - En el proceso de tintura se emplean temperaturas bajas con el consecuente ahorro de energía.
 - Son biodegradables.
 - El cultivo de plantas para la extracción de tinte alienta a realizar forestaciones conduciendo al equilibrio ecológico.
 - Tras la extracción del colorante, la biomasa puede ser utilizada para la generación de energía. (Ej. tratamiento anaerobio para generar metano, que a su vez es demandado como combustible).
- **Tintóreas:**
 - Alta diversidad de colores que se pueden combinar sin que existan incompatibilidades.
 - Los colorantes naturales pueden dar lugar a casi cualquier color, excepto unos pocos como los fluorescentes o los azules eléctricos.
 - Los colorantes clásicos: Cochinilla, Índigo, Rubia tienen rendimiento muy alto y resistencia a la luz.
 - Permite la recuperación y preservación de procesos tradicionales.
 - El pH necesario para la tintura es neutro frente a las condiciones ácidas o alcalinas empleadas en la tintura con colorantes sintéticos.

- **Sociales:**
 - El cultivo de las plantas ayuda a la creación de empleo en zonas rurales repercutiendo en beneficios sociales como impulsar la economía de naciones en desarrollo proporcionando medios de vida sostenibles para los agricultores.
- **Otras:**
 - Empleo de las propiedades de las plantas con fines terapéuticos (Ej. Absorción de radiación UV algunos colorantes en la planta tienen la función de absorber el UV y esta función se mantiene en el textil).
 - No provocan Irritaciones ni alergias.

Inconvenientes

Los principales inconvenientes (61) que implica el empleo de colorantes naturales a escala industrial son:

- **Ecológicas:**
 - Las concentraciones de color en la naturaleza son extremadamente bajas, por lo que se requiere gran cantidad de material para una pequeña cantidad de colorante.
 - Algunos de los efluentes de los procesos empleando colorantes naturales pueden ser tan nocivos como los de los tintes sintéticos (metales pesados).
 - Al igual que los colorantes sintéticos requieren de elevadas cantidades de agua.
- **Tintóreas:**
 - Los colorantes naturales tienen grandes variaciones de tono debido a multitud de variables como: la diferencia de calidad de las distintas procedencias de las plantas, la época de recolección, la edad de la planta.
 - Dificultad en la reproducibilidad.
 - La solidez de los colores es menor que con los colorantes sintéticos, tanto de fijación, como a la luz, como al lavado.
 - Existe una dependencia de productos químicos para la unión del color a la fibra.
 - Principalmente sólo tintan las fibras de origen natural.
 - Mayor especialización del personal tintorero.
- **Otras:**
 - Alto coste porque no se pueden producir en masa.

2. OBJETIVOS Y PLANIFICACIÓN

2.1. Objetivo

La industria textil y, más concretamente el subsector de los acabados, es una de las industrias más contaminantes dada la generación de una importante cantidad de aguas residuales, aunque en los últimos años las empresas de acabados han realizado una importante inversión en todo lo referente a la componente medioambiental asociada a sus procesos, y más concretamente a lo que al tratamiento de aguas se refiere, es necesario proponer soluciones en paralelo para disminuir el impacto ambiental tanto de los procesos como el asociado a los productos.

Los colorantes utilizados actualmente, colorantes comerciales sintéticos suelen ser estables a la luz, la temperatura, acción de detergentes y a la degradación microbiana, por lo que son considerados compuestos altamente recalcitrantes. Este tipo de compuestos son complejos de eliminar por los métodos de depuración convencionales.

La sustitución de los colorantes sintéticos por colorantes naturales obtenidos a partir de algas, presentan la ventaja de que son colorantes procedentes de un recursos renovable, presentan menores problemas de degradación en las aguas y, además no presenta los inconvenientes detectados en otros colorantes procedentes de plantas que requieren de grandes extensiones para su cultivo, pero con muy bajo rendimiento.

Por tanto, con el presente trabajo se pretende valorar la aplicabilidad de colorantes naturales extraídos de algas en los procesos de tintura textil, para el desarrollo de procesos más sostenibles y, con ello abrir un amplio abanico de posibilidades en el mercado de la moda sostenible.

Por tanto, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal **estudiar la aplicabilidad de los colorantes obtenidos de las algas en el proceso de tintura textil**, con la finalidad de obtener una gama de colorantes que ofrezcan la posibilidad de obtener una tricromía, y puedan en el futuro sustituir a los colorantes sintéticos de la moda sostenible.



Figura 13. Ciclo de vida de los colorantes naturales a partir de algas

Para lograr el éxito de esta investigación, es necesario abordar una serie de objetivos parciales:

- **Identificar** las algas a partir de las cuales extraer el colorante

Este objetivo permitirá identificar las algas con enorme potencial por su elevada cantidad de colorante.

- **Definir y optimizar** los procesos de extracción y **caracterizar** el colorante extraído

Será necesario desarrollar y establecer las técnicas de extracción apropiadas para obtener la máxima cantidad de colorante.

Uno de los parámetros de mayor importancia en las formulaciones de los procesos de extracción serán el disolvente empleado y la temperatura de trabajo.

La cantidad de producto extraído se determinará mediante el empleo la técnica experimental, espectroscopia UV.

- **Definir y optimizar** los procesos de tintura

Una vez obtenido el colorante, el siguiente paso será estudiar su aplicabilidad en los procesos de tintura, para ello, será necesario definir tanto las condiciones de proceso como las concentraciones de colorante y auxiliares a emplear. Hay que tener en cuenta que estos colorantes son sensibles a la temperatura.

Se cuantificarán las cantidades óptimas de productos a fin de conseguir un textil tintado comparable, en términos de solidez e intensidad con uno tintado con los colorantes sintéticos o naturales empleados en la industria textil.

La reproducibilidad, intensidad y solidez de los tejidos tintados obtenidos serán también objeto de estudio en la presente investigación.

- **Caracterizar** los tejidos obtenidos

Las características de los tejidos se determinarán empleando normas europeas para resistencia al lavado siguiendo la norma UNE-EN ISO 105-C06 (2010), resistencia al frote UNE-EN ISO 105-X12:2003, y también empleando técnicas espectrofotométricas, como colorímetro para las coordenadas CIELab y para determinar el espectro del tejido se ha empleado UV-VIS espectrofotómetro según la norma UNE-EN ISO 105-J01:2000.

2.2. Planificación

En el siguiente esquema se muestra la planificación del Proyecto:

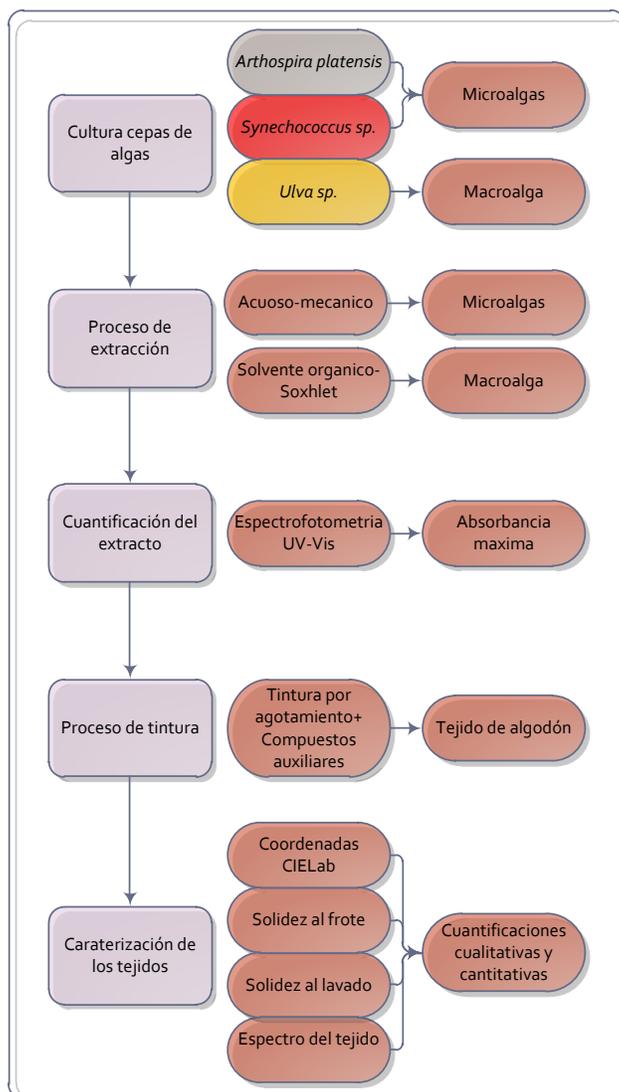


Figura 14. Diagrama de secuencia de actividades

3. EXPERIMENTAL

3.1. Materiales empleados

Las algas empleadas para la obtención de los colorantes han sido: la cianobacteria *Arthrospira Platensis* (microalga), empleada para la obtención de ficocianinas (colorante azul), la microalga *Synechococcus sp.* a partir de la cual se han obtenido las ficoeritrinas (colorante rojo), y la macroalga *Ulva sp.* empleada para la obtención de carotenoides (colorante amarillo). Los micros algas han sido suministrados por el Banco Español de Algas (BEA), España y las macro algas por la empresa AlgaPlus, Portugal.

El proceso de extracción de colorante han empleado los siguientes reactivos: tampón fosfato, como solvente de extracción ([pH=7, 0.1 M], Sigma-Aldrich, España), sulfato de amonio, como estabilizador de los colorantes (Sigma-Aldrich, España).

Para la realización de la tintura por agotamiento se han necesitado: humectante (Erkantol, Tanatex, Chemicals, Barcelona, España), detergente (Clarite, Sigma- Aldrich, España) crémor tártaro, como mordiente (Sigma-Aldrich, España).

Se han empleado como sustratos textiles, tejidos de Algodón Jacquard 100% con un peso de 210g/m², el ligado es un raso (EMPA 222, Intexter). Los tejidos han sido previamente blanqueados en fábrica.

Para los ensayos de la resistencia de los nuevos colorantes naturales frente al lavado según la norma indicada, se ha empleado detergente que cumple los requisitos exigidos por dicha norma, y se ha aplicado una temperatura de lavado de 25°C.

3.2. Métodos empleados

3.2.1. Cepas de algas y condiciones de cultivo

Las cepas de microalgas, *Arthrospira platensis* y *Synechococcus sp.*, fueron obtenidas por BEA (Banco Español de Algas), Universidad de Las Palmas, Gran Canaria; las cepas fueron cultivadas a nivel de laboratorio, en recipientes de 5 L, y la biomasa fue desarrollada en un medio enriquecido en nutrientes.

La cepa de macroalga, *Ulva sp.*, fue obtenida por AlgaPlus, Portugal, una empresa productora de algas y sus derivados; y fue cultivada en un sistema de cultivo abierto, a nivel industrial.

3.2.2. Extracción de colorantes naturales a partir de algas

El método empleado para la extracción de colorantes naturales a partir de algas se elige en función del metabolito secundario enfocado y del tipo de alga que lo contiene, micro o macro alga.

En los dos casos de las pruebas de extracción se han realizado dos tipos de ensayos para validar si la adicción del estabilizador (sulfato de amonio) influye en el proceso de tintura:

- a) *Sin emplear sulfato de amonio* (estabilizador) en la disolución de extracción.
- b) *Empleando 20% sulfato de amonio*(estabilizador) (con respeto al peso de biomasa seca empleada en el proceso)

En el caso de micro algas, los metabolitos secundarios son representados por las ficobiliproteínas (ficocianina y ficoeritrina) y, necesitan para la rotura de la pared celular el empleo de métodos mecánicos. Para ello, se ha empleado un agitador magnético (Fisher Scientific, IKA, Alemania).

Las algas se colocan junto tampón fosfato (relación con biomasa 1:10), esferas de vidrio (relación con tampón fosfato 1:0,5), 20% sulfato de amonio (en reporte con la biomasa) y, se mantiene en agitación durante 5 horas. La separación de sobrenadante de biomasa residual se realiza por centrifugación (ScanSpeed 1248, ScanLaf, Dinamarca) durante 5 minutos a 4000 rpm.

Las macro algas tienen una pared celular mucho más resistente que las micro algas, y necesitan el empleo de solventes orgánicos, como metanol (Scharlab, España), y el empleo de temperaturas elevadas. La técnica empleada es el Soxhlet (SER148 Solvent Extraction Unit, Velp, Italia), a una temperatura de $T=210^{\circ}\text{C}$, tiempo de inmersión de ($I=15$ min), tiempo de lavado ($W=30$ min), y un tiempo de recuperación de ($R=5$ min).



Figura 15. Aparato Soxhlet

3.2.3. Caracterización del extracto

3.2.3.1. Cuantificación de ficobiliproteínas

Para la caracterización de la eficiencia de la extracción se calcula la concentración del colorante obtenido. El análisis cuantitativo de ficobiliproteínas supone el empleo de medidas espectrofotométricas (UV spectrophotometer, Thermoscientific Evolution 60S) del sobrenadante obtenido, las medidas se han realizado sobre los valores máximos de absorbancia para cada colorante, para las longitudes de onda: 562 nm para la ficoeritrina (FE), 615 nm para la ficocianina (FC) y 652 nm para la aloficocianina (AFC). Las absorbancias mencionadas fueron empleadas para el cálculo de las concentraciones de las ficobilinas utilizando las ecuaciones establecidas por Bennett y Bogorad (1973) (63) con los coeficientes de extinción de Bryant et al (1979) (64).

$$APC = \frac{A_{562} - 0.208 (A_{615})}{5.09} mg mL^{-1}$$

$$PC = \frac{A_{615} - 0.474 (A_{652})}{5.34} mg mL^{-1}$$

$$PE = \frac{A_{562} - 2.41PC - 0.849 APC}{9.62} mg mL^{-1}$$

Ecuación 1. Cuantificación de ficobiliproteínas. Bennett y Bogorad (1973) con coeficientes de extinción de Bryant et al (1979)

3.2.3.2. Cuantificación de carotenoides

Para calcular la cantidad de colorante obtenido (carotenoides-color amarillo), se mide la absorbancia máxima específica para carotenoides en 470 nm, con un espectrofotómetro UV (UV spectrophotometer, Thermoscientific Evolution 60S) y se emplean las ecuaciones establecidas de Wellburn (1994) (65):

$$Cl a = 16.72 \times A_{665.2} - 9.16 \times A_{652.4}$$

$$Cl b = 34.09 \times A_{652.4} - 15.28 \times A_{665.2}$$

$$Total carotenoids = \frac{1000 \times A_{470} - 1.63 Cl a - 104.96 Cl b}{221}$$

Ecuación 2. Cuantificación de clorofilas y carotenoides. Wellburn (1994)

3.2.4. Tintura de algodón con los colorantes obtenidos a partir de algas

Para obtener una tintura más uniforme y resistente, el tejido de algodón fue sometido a un proceso de mordentado previo. El mordiente es uno natural, específico para algodón y medioambientalmente aceptado. El proceso supone la inmersión del tejido en una solución de 6% crémor tártaro durante 45 minutos a 85°C.

La tintura por agotamiento se realiza según una curva de tintura (Figura 16) en una planta piloto a nivel laboratorio (Ugolini Redkrome, Italia). El baño de tintura tiene las siguientes

características: 2% s.p.f pigmento, humectante (1g/L), dispersante (1g/L), una relación de baño de 1/40, temperatura de 65°C, tiempo 60 minutos, pH=5 y un gradiente de subida de temperatura de 2°C/minuto. Después del proceso de tintura, los tejidos se enjuagan con agua destilada a una temperatura de 25° C, durante 30 minutos. Los tejidos tintados fueron secados a temperatura ambiente.

El proceso de tintura por agotamiento optimizado para los colorantes a partir de algas se define por los parámetros definidos en la Tabla 5, siendo añadidos los productos auxiliares que a continuación se comenta, desde el primer instante.

Tiempo del proceso	Temperatura del proceso	Relación de baño	Concentración de colorante	pH	Productos auxiliares
60 min	65°C	1/40	2%	5	Humectante
					Detergente no iónico
					Sulfato de sodio

Tabla 5. Parámetros del proceso de tintura

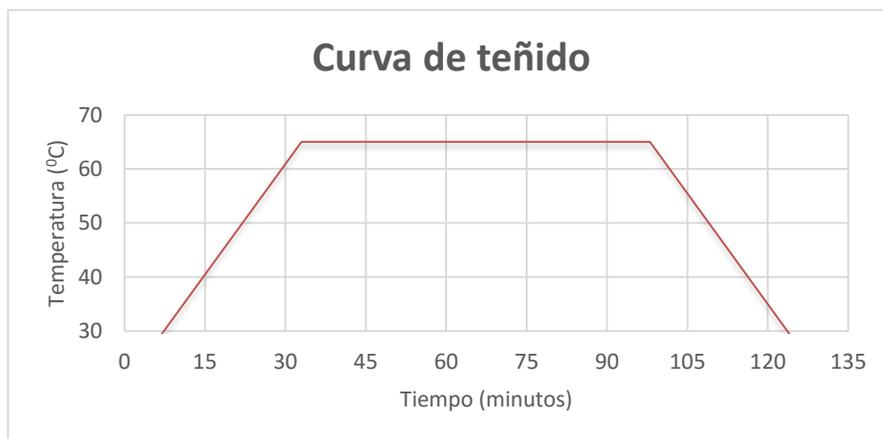


Figura 16. Curva de teñido para los colorantes a partir de algas

3.2.5. Caracterización de los tejidos

3.2.5.1. Coordenadas CIElab (norma: UNE-EN ISO 105-J01:2000)

Las coordenadas cromáticas de los tejidos de algodón tintados con colorantes a partir de micro y macro algas (azul, rojo y amarillo) fueron determinadas con el DATACOLOR DC 650, aparato con iluminante D₆₅ y el observador en un ángulo de 10° con geometría difusa. Las medidas se han realizado para determinar diferencias de color entre tejidos tratados con estabilizador y los tejidos sin tratamiento.



Figura 17. Equipo Datacolor DC650-empelado para las coordenadas CIELab

3.2.5.2. Solidez al lavado (norma UNE-EN ISO 105-C06:2010)

Para el análisis de la resistencia al lavado comercial, los tejidos de algodón son cortados a 10x4 cm y puestos en contacto con testigos de algodón y lavados con un aparato Gyrowash (James Heal, UK) a una temperatura de 25°C, durante 45 minutos, en un envase con 10 bolas de acero y detergente. En cada envase se añaden 150 ml de agua y 0.6 g de detergente. Al final del ensayo, las muestras son secadas en un secador con la circulación de aire forzado. La degradación del color de la probeta y la descarga de sobre el tejido testigo se valoran con las escalas de grises.



Figura 18. Equipo Gyrowash- empleado para ensayar la solidez al lavado

3.2.5.3. Solidez al frote (en seco y en húmedo) (norma: UNE EN ISO 105-X12:2003)

Muestras de 14x5 cm de algodón fueron ensayadas con el aparato Crockmeter (Atlas, España), a una temperatura de 20°C, con una fuerza de 9N.

Dos tipos de solidez al frote se han analizado: en condiciones secas, el ensayo teniendo las siguientes características: el frote a 1 ciclo/segundo para el frote, aplicando la fuerza mencionada. La solidez en húmedo se ha realizado en la misma manera como el método en seco, pero la diferencia es representada por el acondicionamiento del tejido, en agua destilada hasta una impregnación 95%-100%.



Figura 19. Aparato Crockmeter- empleado para ensayar la solidez al frote de los tejidos

3.2.5.4. Espectro del tejido. Medida de reflectancia

El espectro del tejido según las medidas de reflectancia en el rango visible se ha realizado con la ayuda del espectrofotómetro de transmisión visible (Spectrophotometer Lambda 950, Perkin Elmer, España).



Figura 20. Espectrofotómetro Lambda 950- empleado para la determinación de los espectros de los tejidos

3.2.5.4.1. Cálculo de la intensidad del color, el valor K/S

La intensidad del color de los tejidos de algodón tintados con colorantes extraídos de micro y macro algas se determina por medidas de reflectancia, y calculando el valor K/S. El valor es proporcional con la cantidad de colorante presente en el tejido. Para evaluar el colorante retenido en el tejido, K/S, se emplea la fórmula desarrollada por Kubelka y Munk (66):

$$K/S = \frac{(1 - R)^2}{2R}$$

Ecuación 3. Cuantificación de la intensidad del color de los tejidos

Donde,

K representa el coeficiente de adsorción,

S representa el coeficiente de dispersión,

R representa el valor de reflectancia del tejido a λ_{\max}

3.3 Técnicas instrumentales empleadas

Espectrofotometría UV/Vis

Fundamento

La espectroscopia UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) por una molécula. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopia UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula. Las bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas (67).

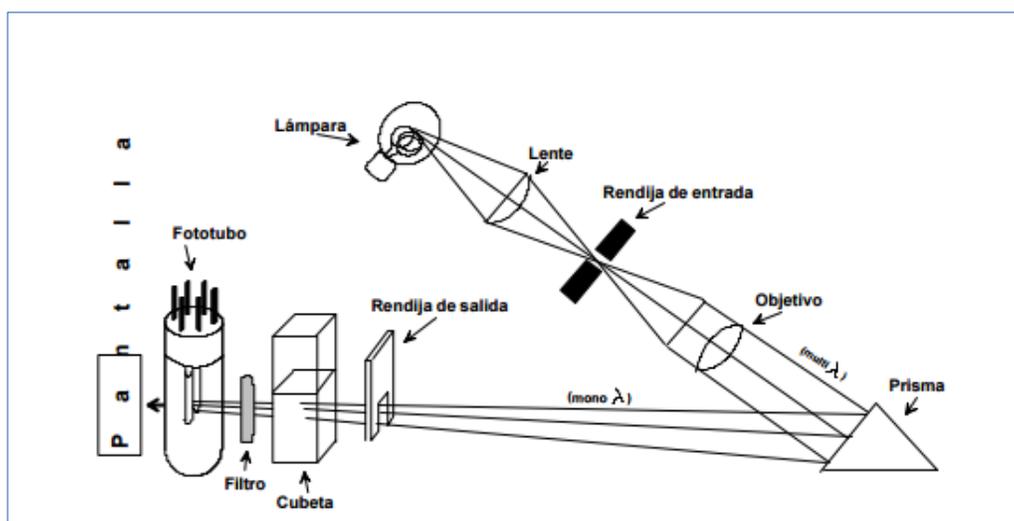


Figura 21. Características de un espectrofotómetro UV-Visible
(Campus USAL: <http://campus.usal.es/~quimfis/apoyo/Carmen/Practicas/Espectrofotometria.PDF>)

La medida de la absorbancia se lleva a cabo con la ayuda de un espectrofotómetro, que en esencia consta de un monocromador (prisma o red de difracción) que controla la longitud de onda de la radiación que se hace incidir sobre la muestra. La radiación no absorbida se detecta y mide convenientemente. La absorbancia de la muestra se compara con la de una "referencia" que consta estrictamente de disolvente.

Las cubetas empleadas en el espectrofotómetro (1.00 cm de espesor) deben estar escrupulosamente limpias y deben cogerse siempre por sus caras esmeriladas u opacas. No es conveniente secarlas o limpiarlas con papel ordinario por el carácter abrasivo de éste sino con un papel suave (68).

Metodología

Los ensayos de espectroscopia UV/Vis se han realizado empleando un espectrofotómetro UV-VIS Thermoscientific Evolution 60S (Waltham, MA USA). Los ensayos se han realizado para la cuantificación cuantitativa de pigmento extraído.

Las muestras líquidas, sin impurezas sólidas fueron transferidos en cubetas y analizados teniendo como resultado el espectro de la disolución empleada.

La fotografía del espectrofotómetro UV-VIS empleado se encuentra en el Anexo I.

Espectrofotometría IR

Fundamento

La espectroscopia IR (69) está basada en el proceso de absorción de la radiación infrarroja, que se refiere a la región del espectro electromagnético que se encuentra entre la región visible y microondas. Esta región puede ser dividida en 4 secciones:

- a) La región fotográfica. Correspondiente a rangos desde visible hasta 1.2 μ .
- b) La región infrarrojo muy cercano. Esta región es conocida también como la región de armónicos, y se encuentra desde 1.2 hasta 2.5 μ .
- c) La región infrarrojo cercano. Conocida también como la región de vibración y se encuentra entre 2.5 y 25 μ .
- d) La región de infrarrojo lejano. También conocida como la región de rotación con rangos entre 25 y 300-400 μ .

La espectroscopia es una de las más eficaces técnicas analíticas que ofrece la posibilidad de identificación de compuestos químicos. Está empleada para resolver numerosos problemas de química orgánica.

La técnica está basada en el principio que una sustancia química presenta capacidad de absorción selectiva en el espectro infrarrojo. Tras la absorción de radiación IR, las moléculas de una sustancia química vibran a varias velocidades, generando un empaquetamiento compacto de bandas de adsorción, llamadas *espectro de adsorción IR*. Varias bandas están presentes en el espectro IR que corresponde a grupos funcionales característicos y enlaces presentes en la sustancia química. En conclusión, el espectro IR de una sustancia representa la huella dactilar para su identificación.

La instrumentación es normalmente formada por materiales ópticos, representados por vidrio o cuarzo, por su capacidad de absorber en la región infrarroja, y como consecuencia el aparato empleado para las medidas en el espectro infrarrojo es considerablemente diferente del aparato empleado para la medición de las regiones visible o ultravioleta. Las partes componentes de un espectrofotómetro son:

1. Fuentes de radiación IR.
2. Monocromadores.
3. Celdas para muestras y el muestreo de las sustancias.
4. Detectores.

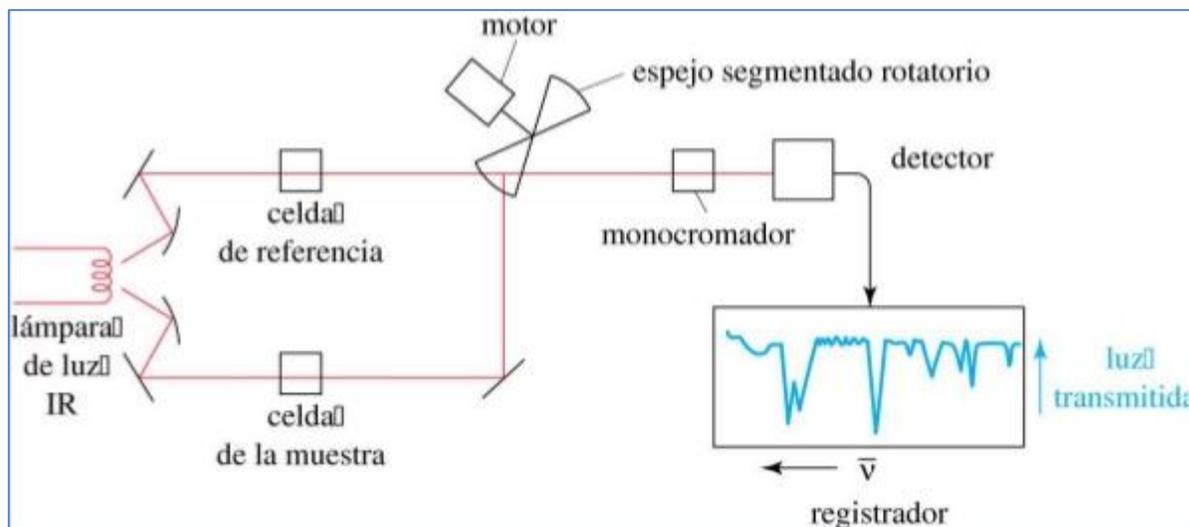


Figura 22. Características de un espectrofotómetro IR
(Química orgánica: <http://www.liceoagb.es/quimiorg/docencia/textos/TEMA5.pdf>)

Características generales:

- Los espectrofotómetros IR tienen los mismos componentes básicos que el resto de equipos utilizados en procesos de absorción, es decir, básicamente, se necesita un instrumento para medir la transmisión de radiación electromagnética de una muestra en función de la longitud de onda o del número de ondas
- Existen tres tipos distintos de espectrofotómetros: dispersivos, no dispersivos y de transformada de Fourier (FT).
- La fuente de radiación que debe aportar la mayor intensidad posible en la región de longitud de onda que se está investigando. Existen fuentes de radiación térmicas (sólido inerte calentado eléctricamente) que proporcionan una radiación continua, y fuentes láser que suministra longitudes de onda muy concretas.
- El propósito del sistema óptico es transmitir la radiación desde la fuente al detector con la mínima pérdida. Se utilizan espejos de vidrio con un recubrimiento de oro o aluminio.
- El sistema óptico va equipado con un compartimento para la muestra, en el que ésta se sitúa en el camino de la radiación, bien mediante celdas u otros accesorios que permitan realizar medidas diferentes a la transmisión (ej. Attenuated Total reflectance ATR).
- El detector se emplea para convertir la señal óptica en una señal eléctrica fácilmente medible, como el voltaje. Esto se consigue con la ayuda de equipos electrónicos para amplificar y digitalizar las señales.

Metodología

Los ensayos de espectroscopia UV/Vis/Nir se han realizado empleando un espectrofotómetro Lambda 950, (Perkin Elmer, España). Los ensayos se han realizado para la cuantificación cuantitativa del pigmento contenido en los tejidos tintados.

Las muestras de tejidos tintados, fueron analizadas teniendo como resultado el espectro de la reflectancia del algodón analizado.

La fotografía del espectrofotómetro UV-Vis-NIR empleado se encuentra en el Anexo I.

Colorimetría

Fundamento

La espectrofotometría de absorción en las regiones ultravioleta y visible es considerada uno de los métodos más antiguos para el análisis cuantitativo y elucidación estructural.

Espectrofotometría está enfocada principalmente en las siguientes regiones del espectro: ultravioleta (4000-2000 Å); visible (8000-4000 Å) y la colorimetría. La colorimetría esta concernido con la región visible del espectro.

Uno de los instrumentos principales en la medida de energía radiante emitida o absorbida de sustancias esta denominado como fotómetros, colorímetros y espectrofotómetros.

En continuación se describe el colorímetro, definido como cualquier instrumento empleado para medir la absorción en la región visible.

Teoría de colorimetría, como de la espectrofotometría afirma que, cuando un haz de luz es incidente en un medio homogéneo, una parte del haz incidente es reflectada, una parte es absorbida por el medio y la parte que resta esta dejada en transmitirse (69).

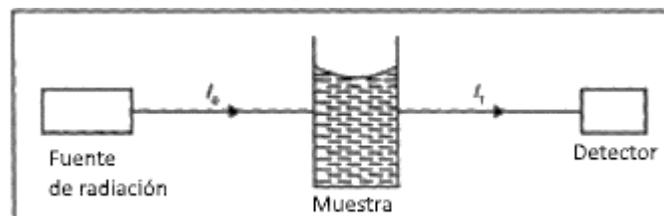


Figura 23. Esquema general de un colorímetro (espectrofotómetro) óptico
(Spectroscopy: (atomic and molecular), Gurdeep R Chatwal et al., Capítulo 5: Visible spectrophotometry and colorimetry, 2009, Mumbai)

En el sector textil se emplea mediante mediciones de reflectancia con espectrofotómetro de doble haz, con una fuente de iluminación de xenón pulsado.

Metodología

Los ensayos de colorimetría se han realizado empleando un instrumento Datacolor DC650, (Datacolor, España). Los ensayos se han realizado para la cuantificación cualitativa del pigmento contenido en los tejidos tintados.

Las muestras de tejidos tintados, fueron analizadas teniendo como resultado las coordenadas CIELab del algodón analizado.

La fotografía del Datacolor empleado se encuentra en el Anexo I.

4. RESULTADOS

Los resultados que se presentan en la investigación corresponden al estudio de las concentraciones de pigmentos obtenidos por extracción proporcionadas por espectrofotometría UV/Vis y las características de los tejidos tintados con los extractos obtenidos, definidas por las coordenadas cromáticas, los espectros de los tejidos y las solideces obtenidas según las normas indicadas.

4.1. Cálculo de la concentración del colorante

En la siguiente tabla (Tabla 6) se presentan las cepas de algas empleadas en la investigación y el método de extracción empleado.

CODIGO DE CEPA	ESPECIE	DIMENSION	CLASE	PIGMENTO DE INTERES	COLOR	DISOLVENTE	TRATAMIENTO DE LA BIOMASA	METODO DE EXTRACCION
REC0057	Synechococcus sp.	micro	roja	C-ficoeritrina	ROJO	H ₂ O	FRESCA	agitador + perlas de cristal
BEA0007	Arthrospira platensis	micro	cianobacteria	C-ficocianina	AZUL	H ₂ O	FRESCA	agitador + perlas de cristal
AP0001	Ulva sp.	macro	verde	carotenoides	AMARILLO/NARANJA	Metanol	FRESCA	Soxhlet

Tabla 6. Cepas de algas empleadas y el método de extracción

Después de cada extracción, se ha realizado el proceso de filtración de la disolución obtenida para separar la biomasa residual del sobrenadante que contiene el pigmento deseado. El sobrenadante no contiene 100% del pigmento por lo cual es necesario calcular la concentración de colorante contenido. Para este cálculo se emplea la absorbancia máxima correspondiente para cada color.

La absorbancia máxima se ha obtenido midiendo el espectro UV-vis de la disolución obtenida. En las siguientes graficas se puede observar el pico máximo correspondiente a cada colorante empleado en este estudio.

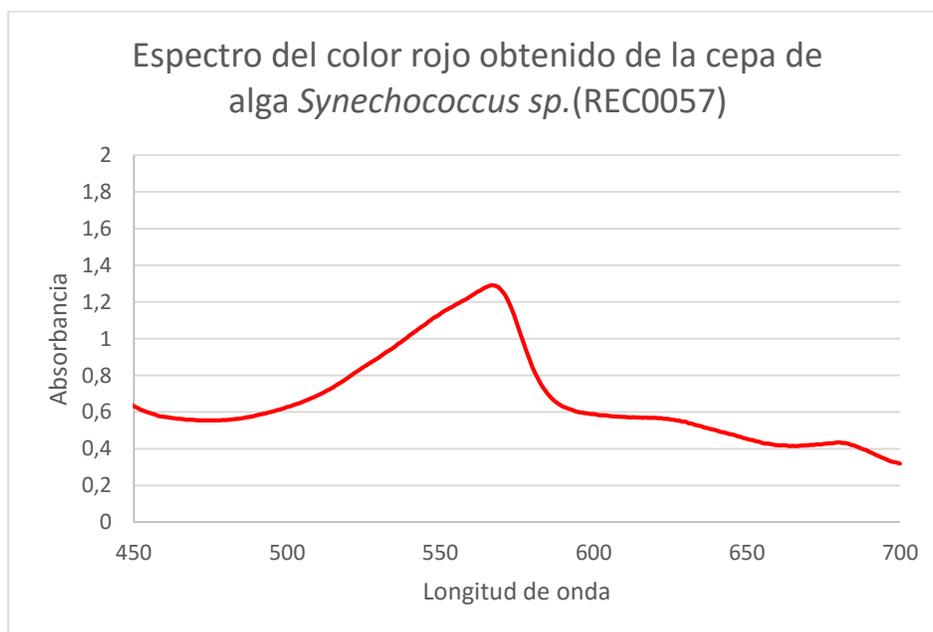


Figura 24. Espectro del colorante rojo (REC0057)

El color rojo se ha obtenido, por medidas espectrofotométricas, una absorbancia máxima tiene a valor de 568 nm, representativo para las ficoeritrinas. Valor validado por la literatura científica (70).

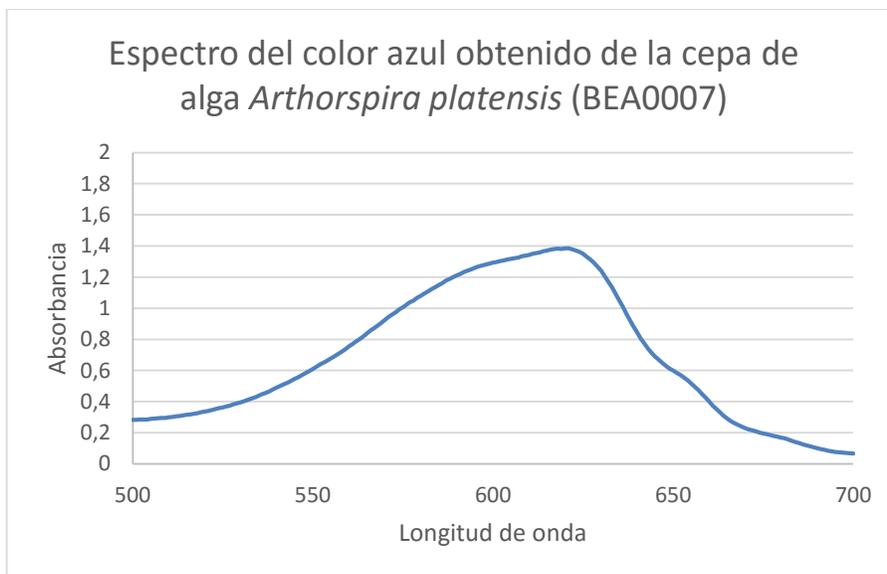


Figura 25. Espectro del colorante azul (BEA0007)

Para el color azul se puede observar que la absorbancia máxima obtenida por espectrofotometría tiene un valor de 620 nm, representativo para las ficocianinas. Valor validado por la literatura científica (70).

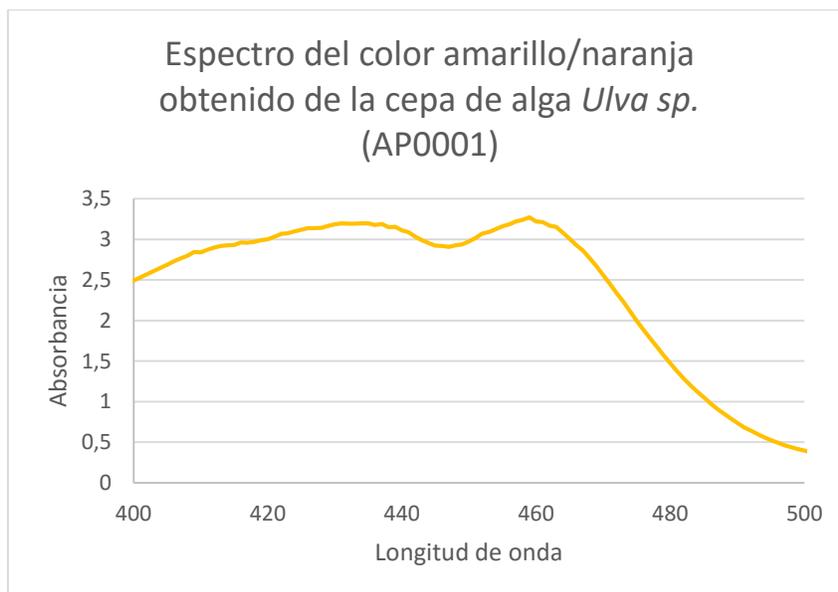


Figura 26. Espectro del colorante amarillo/naranja (AP0001)

Para el color amarillo/naranja representado por los carotenoides, se puede observar que la absorbancia máxima obtenida por espectrofotometría tiene un valor de 470 nm. Valor validado por la literatura científica (71).

CODIGO DE CEPA	ESPECIE	DIMENSION	CLASE	PIGMENTO DE INTERES	COLOR	ABSORBANCIA MÁXIMA CARACTERÍSTICA (A→nm)
REC0057	Synechococcus sp.	micro	roja	C-ficoeritrina	ROJO	560 nm
BEA0007	Arthrospira platensis	micro	cianobacteria	C-ficocianina	AZUL	620 nm
AP0001	Ulva sp.	macro	verde	carotenoides	AMARILLO/NARANJA	470 nm

Tabla 7. Longitud de onda máxima correspondiente a los nuevos colorantes obtenidos

En la siguiente tabla se presenta el método para el cálculo de la concentración de colorante obtenido después del proceso de extracción y las concentraciones máximas obtenidas.

$$Fd = V_{\text{muestra}} / (V_{\text{muestra}} + V_{\text{disolvente}})$$

Muestra	Factor de dilución (FD)	A ₅₆₂	A ₆₂₀	A ₆₅₂	media	A ₅₆₂	A ₆₂₀	A ₆₅₂	FC (mg mL ⁻¹)	FC / Fd (mg mL ⁻¹)	AFC (mg mL ⁻¹)	AFC / Fd (mg mL ⁻¹)	FE (mg mL ⁻¹)	FE / Fd (mg mL ⁻¹)
REC0057	0,166	1,100	0,954	0,664	media	0,886	0,993	0,810	0,136	0,819	0,177	1,066	0,065	0,390
BEA0007	0,160	0,673	1,032	0,956		0,303	0,055	0,206	0,039	0,242	0,115	0,721	0,050	0,313

Muestra	Factor de dilución (FD)	A _{665,2}	A _{652,4}	A ₄₇₀	Cla (g mL ⁻¹)	Cla (mg mL ⁻¹)	Cla/Fd (mg mL ⁻¹)	Clb (g mL ⁻¹)	Clb (mg mL ⁻¹)	Clb/Fd (mg mL ⁻¹)	Total carotenoides (g mL ⁻¹)	T carot (mg mL ⁻¹)	T carot/Df (mg mL ⁻¹)
AP0001	0,220	0,7572	0,588 2	0,852	7,272	0,007	0,033	8,482	0,008	0,039	3,802	0,004	0,017

Tabla 8. Concentración máxima obtenida

Se puede observar que a nivel de laboratorio las concentraciones no pasan de algunos miligramos por mililitro de disolución pero la cantidad es suficiente para realizar las pruebas precedentes de nivel industrial. En la tabla 8 se pueden observar los pigmentos extraídos de las tres cepas de algas empleadas en este estudio.



Tabla 9. Pigmentos provenientes de algas

4.2. Resultados del proceso de tintura

4.2.1. Tejidos tintados con nuevos colorantes naturales a partir de algas

En la siguiente tabla (Tabla 10) se presentan tejidos de algodón sin el pretratamiento con el crémor tártaro y tejidos premordentados, conteniendo un 6% s.p.f. de mordiente.

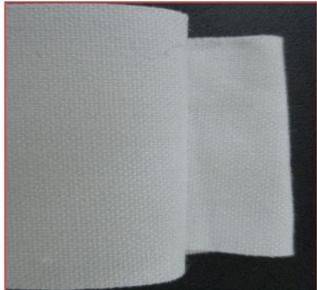
Tiempo del proceso	Temperatura del proceso	Relación de baño	Concentración de crémor tártaro	Imagen algodón sin tratamiento (izquierda)	Imagen algodón premordentado (derecha)
45 min	85°	1/40	6%		

Tabla 10. Pretratamiento de algodón

Para una buena cuantificación del proceso de tintura, en la parte de resultados, las muestras de tejido tintado con los nuevos colorantes naturales están comparadas con unas muestras previas que fueron tratadas en las mismas condiciones, con una única diferencia, no contienen el estabilizador en su composición.

En la siguiente tabla se pueden observar los tejidos de algodón tintados con colorantes naturales a partir de algas.

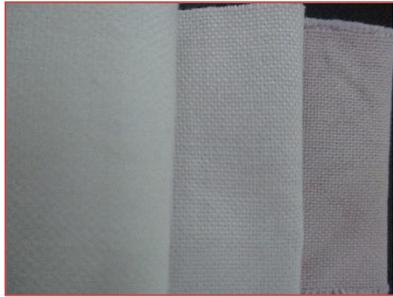
Cepa de alga	Colorante	Algodón tintado sin estabilizador	Algodón tintado con estabilizador	Imagen comparativa
REC0057				
BEA0007				
AP0001				

Tabla 11. Tejidos tintados con los nuevos colorantes naturales

4.2.2. Coordenadas cromáticas y la diferencia de color

Las coordenadas cromáticas características para cada tejido tintado obtenidas son representadas por las coordenadas CIELab, y son presentadas en las siguientes tablas (Tabla 12 y Tabla 13). Empezando con esta información fue posible identificar y validar la repetibilidad del proceso, en términos de intensidad del color.

Cepa de alga	L	a	b	C	H
REC 0057- <i>Synechococcus sp.</i>	77,87	5,98	2,19	6,37	20,13
BEA0007- <i>Arthrospira platensis</i>	85,27	-1,87	-0,12	1,88	183,72
AP0001- <i>Ulva sp.</i>	93.14	0.45	4.68	4.7	84.56

Tabla 12.Coordenadas cromáticas de los tejidos tintados con colorantes naturales conteniendo en su composición el estabilizador

Cepa de alga	L	a	b	C	H
REC 0057- <i>Synechococcus sp.</i>	77,50	2,90	4,24	5,13	55,65
BEA0007- <i>Arthrospira platensis</i>	88,47	-1,00	3,58	3,71	105,66
AP0001- <i>Ulva sp.</i>	92.22	1.86	3.89	4.31	64.49

Tabla 13.Coordenadas cromáticas de los tejidos tintados con colorantes naturales sin estabilizador

Utilizando las coordenadas cromáticas obtenidas en los dos casos, tintura conteniendo el estabilizador de las proteínas-colorantes y sin estabilizador, se puede identificar la necesidad de este compuesto. Para la justificar esta necesidad se calcula la diferencia de color entre las muestras.

	REC0057	BEA0007	AP0001
ΔL^*	0,37	3,2	0,92
ΔE^*	3,72	4,97	1,86

Tabla 14. Diferencia de color entre las muestras tintadas con extracto con estabilizador y sin estabilizador

En este caso se ha tomado como muestra de referencia la muestra tintada con extracto sin estabilizador y la interpretación de los resultados se ha realizado teniéndose en cuenta este valor.

El valor ΔE^* (**diferencia de color**) confirma que existe una diferencia de color en todos los casos, cuando comparamos el tejido tintado añadiendo el estabilizador (sulfato de amonio) y en el tejido sin estabilizador en el proceso de extracción. En el caso del valor ΔL^* (**claridad/oscuridad del color**), resulta que los tejido tintados con extracto sin sulfato de amonio presentan un color más claro, comparando con los tejidos con un 20% de estabilizador añadido en el proceso de extracción.

4.2.3. Espectro de los tejidos

La cuantificación de la intensidad del color obtenido en los tejidos tintados se ha realizado pruebas en las cuales se ha añadido el estabilizador y pruebas sin estabilizador, para validar su necesidad de empleo y para tener una muestra de referencia en la comparación de colores. En las siguientes graficas están representados los espectros de tejidos para los tres colorantes empleados.

Con la ayuda de las medidas de reflectancia de los tejidos tintados con pigmentos extraídos de las cepas de algas *Arthrospira platensis* (BEA0007), *Synechococcus sp.* (REC0057) y *Ulva sp.* (AP0001) se han obtenido los espectros de los tejidos tintados

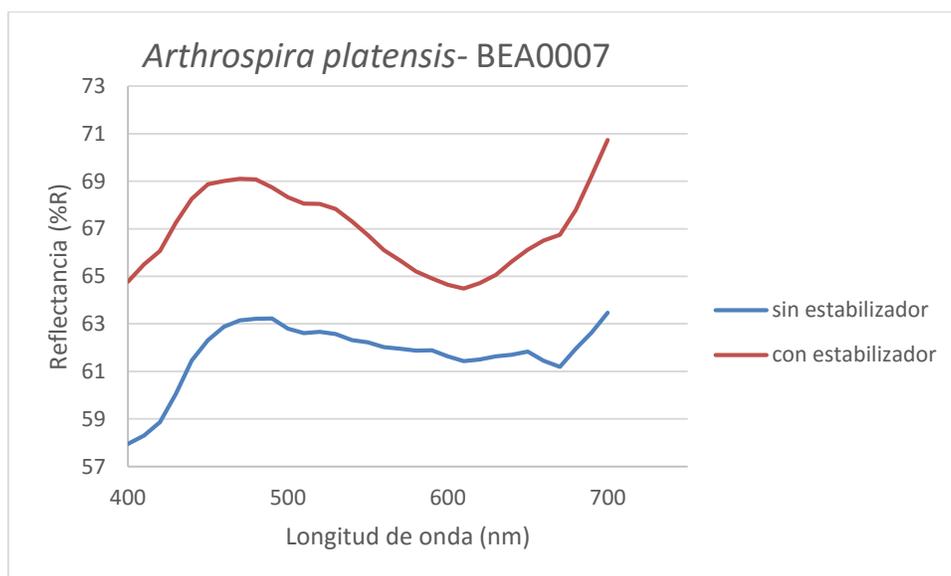


Figura 27. Espectro de color tejidos tintados con *Arthrospira platensis* (BEA0007)

Se puede observar que en el tejido tintado con estabilizador, en el rango de color específico al colorante azul, 620 nm, ficocianina, el valor de reflectancia es mayor, significando mayor concentración del colorante en el tejido.

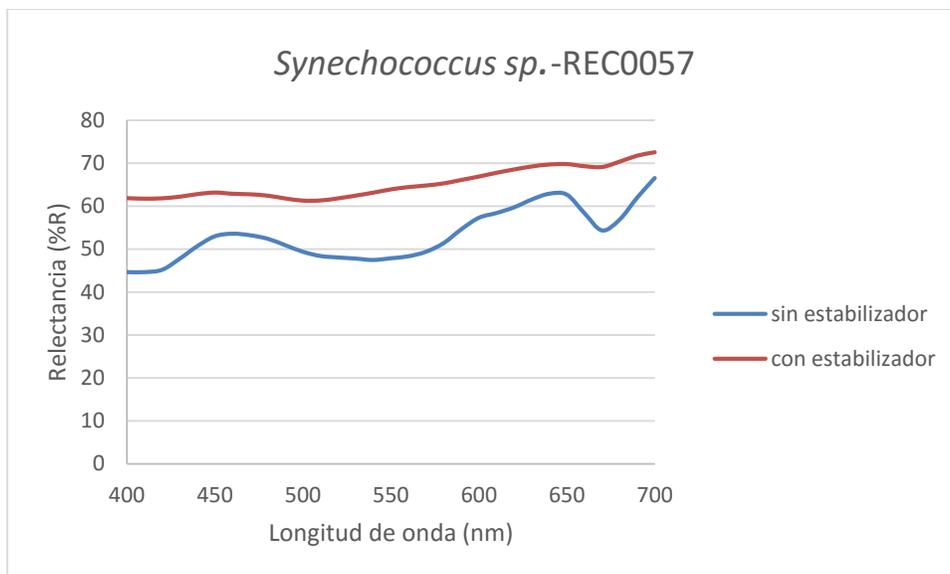


Figura 28. Espectro de color tejidos tintados con *Synechococcus sp.* (REC0057)

En el caso de colorante rojo, ficoeritrina, se puede observar claramente el incremento de intensidad del color correspondiente al tejido tintado con la formulación empleando el estabilizador.

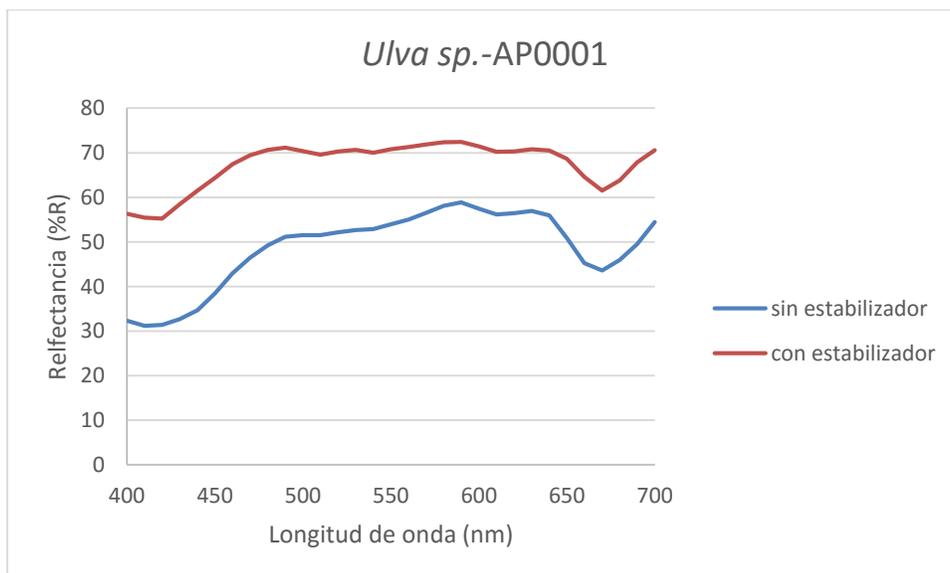


Figura 29. Espectro de color tejidos tintados con *Ulva sp.* (AP0001)

En la siguiente tabla se presentan los valores obtenidos para el valor de la intensidad del color, K/S, en los tejidos de algodón tintados con colorantes a partir de algas.

K/S-BEA0007	K/S- REC0057.	K/S-AP0001
33,04	31,40	22,25

Tabla 15. Cuantificación de la intensidad del color en los tejidos tintados con colorantes obtenidos de *Arthrospira platensis* (BEA0007), *Synechococcus sp.* (REC0057), *Ulva sp.* (AP0001)

Los resultados obtenidos en el cálculo de K/S revelan una intensidad del color elevada para los tres colores analizados.

Los valores K/S para colorantes naturales de otras algas verdes obtenidos bajo el mismo proceso contienen un alto grado de similitud, como se observa en el estudio realizado por Y.Shin et all (72).

En el caso del color rojo, obtenido de cepa REC0057, el resultado es comparable con tintura realizada con extracto rosa de *Roseomonas Fauriae* (73).

El color azul, obtenido de BEA0007, también presenta valores K/S comparables con colorantes naturales obtenidos de *Chamaecyparis Lawsoniana* empleados en tejidos de lana (74).

Para la cuantificación del colorante detenido en la superficie de la fibra y en su interior se ha calculado el porcentaje de eliminación del colorante del baño de tintura, obteniéndose resultados favorables y, diferentes dependiendo de cepa de alga empleada.

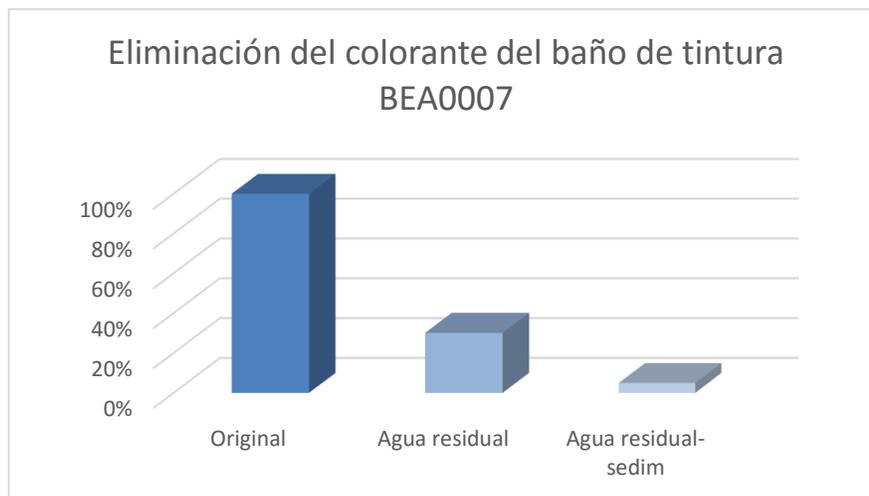


Figura 30. Eliminación del colorante del baño de tintura -*Arthrospira platensis* (BEA0007)



Figura 31. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura -*Arthrospira platensis* (BEA0007)

Se puede observar que el colorante detenido en el tejido de algodón, obtenido de BEA0007, tiene un rendimiento mínimo de aproximadamente 70%.

Los mismos cálculos se han realizado para las otras dos algas empleadas en este estudio. Los resultados representativos fueron de 94% de colorante rojo eliminado del baño de tintura

para la cepa REC0057 y un porcentaje más bajo para la alga verde (AP0001), alrededor de 20%, como se puede observar en las siguientes imágenes.

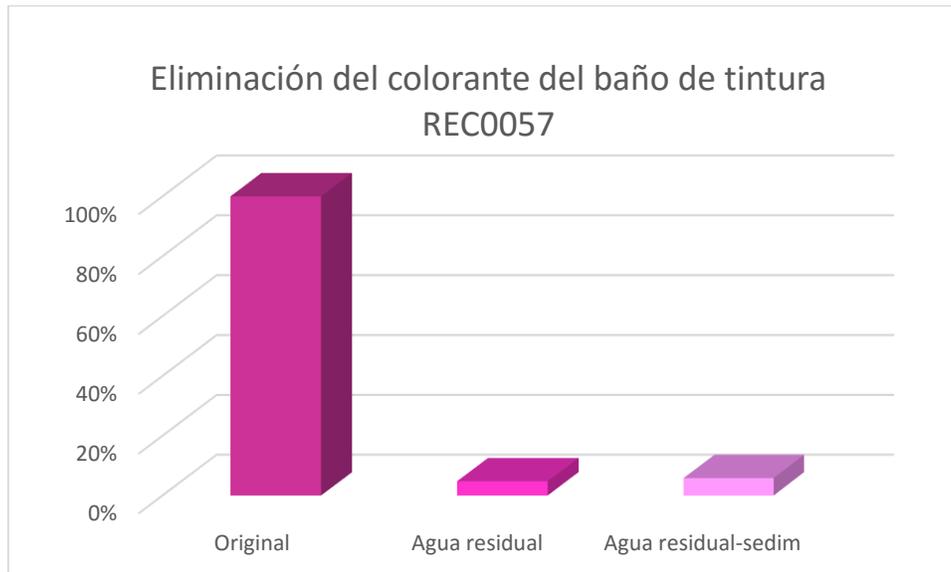


Figura 32. Eliminación del colorante del baño de tintura –*Synechococcus sp.* (REC0057)



Figura 33. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura -*Synechococcus sp.* (REC0057)

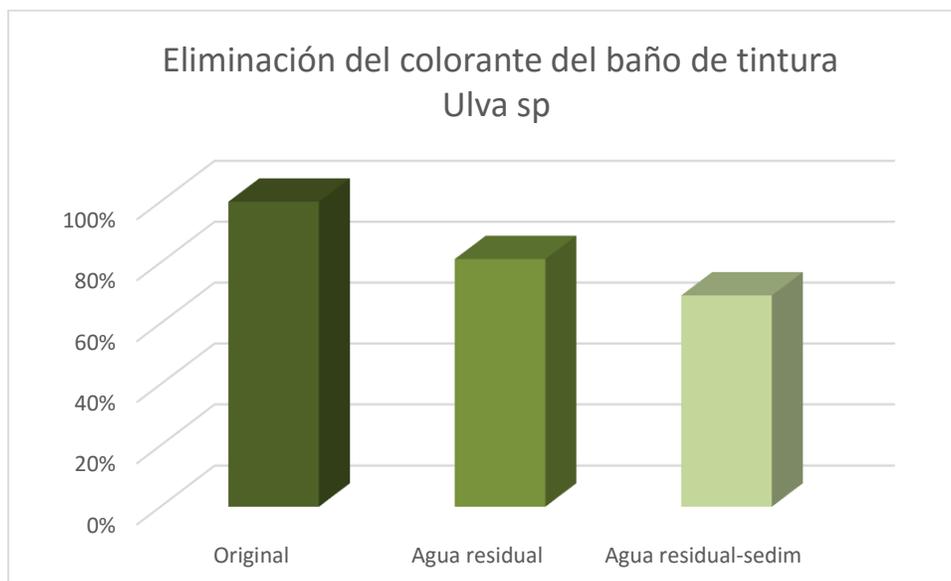


Figura 34. Eliminación del colorante del baño de tintura –*Ulva sp.* (AP0001)



Figura 35. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura -*Ulva* sp. (AP0001)

En las fotos de la cepa de alga verde se puede observar que aunque los porcentajes son más bajos, la intensidad de color es muy elevada. El motivo es representado por los colorantes buscados, los carotenoides- naranja/amarillo, que son presentes en cantidad, menor que la clorofila de esta cepa, teniendo un color más fuerte.

4.2.4. Resistencia del color frente al frote y al lavado. Solidez al lavado (comparación 40° y 25°)

En la siguiente tabla se pueden observar los resultados obtenidos en los ensayos de solidez, de los colorantes obtenidos a partir de algas, al lavado a 40°C y a 25°C, y solidez al frote, en húmedo y en seco.

Sin estabilizador		Solidez al lavado					
		BEA0007 40°C	BEA0007 25°C	REC0057 40°C	REC0057 25°C	AP0001 40°C	AP0001 25°C
Cambio de color		2-3	3	1-2	2	2	2-3
Degradación	Lana	4	5	4-5	4-5	4	4
	Acrílica	4	5	4-5	4-5	4	4
	Poliéster	4	5	4-5	4-5	4-5	4
	Poliamida	4	4-5	4-5	4-5	4	4
	Algodón	4	4-5	4-5	4-5	4-5	4
	Acetato	4	4-5	4-5	4-5	4	4

Tabla 16. Resultados obtenidos para la solidez al lavado para las muestras tintadas sin estabilizador

Degradaciones

5→BUENA
4-3→PERCEPTIBLE
2-1→DEFICIENTE

Descargas

5→MUY BUENA-EXCELENTE
4→BUENA
3→MEDIANA-REGULAR
2→MALA-DEFICIENTE
1→MUY DEFICIENTE

Los resultados de solidez frente al lavado revelan degradaciones de color que significan un comportamiento deficiente al lavado a 40°C, pero a bajas temperaturas de lavado los resultados mejoran y, se observan solo degradaciones perceptibles.

Con respecto a la descarga de color en diferentes tipos de tejidos, naturales y sintéticos, los resultados obtenidos los procesos donde no se ha empleado el estabilizador demuestran comportamiento regular-bueno.

Con estabilizador		Solidez al lavado					
		<i>BEA0007</i> 40°C	<i>BEA0007</i> 25°C	REC0057 40°C	REC0057 25°C	AP0001 40°C	AP0001 25°C
Cambio de color		3	3-4	1-2	2-3	2-3	2-3
Degradación	Lana	4-5	4-5	5	5	4	4
	Acrílica	4-5	4-5	5	5	4-5	4-5
	Poliéster	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	Poliamida	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	Algodón	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	Acetato	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5

Tabla 17. Resultados obtenidos para la solidez al lavado para las muestras tintadas con estabilizador

Degradaciones

5→BUENA
4-3→PERCEPTIBLE
2-1→DEFICIENTE

Descargas

5→MUY BUENA-EXCELENTE
4→BUENA
3→MEDIANA-REGULAR
2→MALA-DEFICIENTE
1→MUY DEFICIENTE

Añadiendo el estabilizador la resistencia frente al lavado mejora. Como se puede observar en la Tabla 17, los mejores resultados se obtienen en condiciones de lavado con agua a temperaturas bajas, a 25°C.

Con respecto a la resistencia del colorante al frote, en seco y en húmedo, las tablas siguientes presentan los resultados obtenidos.

Sin estabilizador	Solidez al frote	
	Descarga en seco	Descarga en mojado
BEA0007	4-5	4
REC0057	4-5	4
AP0001	4	3-4

Tabla 18. Resultados obtenidos para la solidez al frote para las muestras tintadas sin estabilizador
Descargas

5→MUY BUENA-EXCELENTE
4→BUENA
3→MEDIANA-REGULAR
2→MALA-DEFICIENTE
1→MUY DEFICIENTE

El comportamiento de los tejidos tintados sin estabilizador, frente a los ensayos al frote, presentan valoración buena en el caso de ensayos en seco. En el contacto con el agua el comportamiento se caracteriza como regular-bueno.

Con estabilizador	Solidez al frote	
	Descarga en seco	Descarga en mojado
BEA0007	4-5	4-5
REC0057	4-5	4-5
AP0001	4-5	4

Tabla 19. Resultados obtenidos para la solidez al frote para las muestras tintadas con estabilizador

Por otra parte, en el caso de empleo de estabilizador en el proceso de tintura, el comportamiento mejora, en ambos casos, ensayos en seco y en húmedo, obteniéndose tejidos caracterizados con rendimiento bueno.

5. CONCLUSIONES

La metodología empleada, así como las técnicas instrumentales utilizadas y los resultados que se extraen de las mismas, permiten llegar a las siguientes conclusiones que a continuación se detallan:

- Según los resultados obtenidos se puede afirmar que de las tres cepas de algas empleadas (*Arthrospira platensis*, *Synechococcus sp.* y *Ulva sp.*) se pueden obtener colorantes naturales que pueden ser aplicados a tejidos de algodón.
- Los colorantes obtenidos presentan desde el punto de vista de eficacia y repetibilidad, comportamiento comparable con los colorantes naturales empleados en las industrias textiles y provenientes de otras fuentes (plantas terrestres).
- La espectroscopia Ultravioleta-Visible permite la cuantificación cuantitativa y cualitativa de los colorantes extraídos de las algas, y su aplicación sobre tejidos de algodón en un proceso de tintura por agotamiento.
- Con respecto a los colorantes extraídos de las tres cepas de algas empleadas en esta investigación, diferentes por la familia de cual pertenecen, por el contenido de "proteínas-colorante" contenido o por su estructura, se puede afirmar que hay diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante en función de la especie y del solvente utilizado.
- Cada uno de los solventes tiene diferente poder extractivo en función de la especie y existe diferencia significativa entre la interacción entre especies y solventes. En cuanto al solvente, con el etanol se produce un mayor rendimiento en la extracción de carotenoides contenidos en la cepa de macroalga que con el agua. Los colorantes extraídos de las micro algas presentan mayor eficacia en la extracción basada en métodos mecánicos y empleando agua.
- En el extracto de colorantes de micro algas, están presentes las ficobiliproteínas, en cuanto el extracto de la cepa *Arthrospira platensis* están presentes los ficocianinas, proteínas de color azul y en el extracto de la cepa *Synechococcus sp.* están presentes las ficoeritrinas, proteínas de color rojo.
- En el extracto de colorantes de macro alga verde *Ulva sp.*, están presentes las clorofilas de color verde y los carotenoides de color amarillo/naranja. Para una extracción eficaz se emplean etanol y temperaturas altas.
- El análisis espectrofotométrico fue empleado para la identificación de absorbancia máxima correspondiente a cada colorante extraído y para la cuantificación de la concentración.

- Pruebas de extracción fueron realizadas con y sin estabilizador, sulfato de amonio. Se ha observado que el estabilizador presenta ventajas en mantener en mejor condición el colorante durante su transportación, almacenaje, y su empleo en el proceso de tintura.
- Al emplear el colorante en estado líquido en el proceso de tintura por agotamiento sobre un tejido de algodón implica un pretratamiento de mordentado con crémor tártaro, en una concentración de 6% s.p.f. La concentración de mordiente empleada esta validada por estudios científicos y en el laboratorio.
- Los tejidos obtenidos, de color azul, rojo y amarillo/verde han sido analizados según normas en vigor en España y Europa.
- Se han realizado medidas para identificar las coordenadas cromáticas de los tejidos tintados, conteniendo estabilizador y sin estabilizador en la formulación del proceso. Las medidas han generado posibilidades de cálculos de diferencia de color e intensidad del color (ΔL , ΔE). Resulta que existe una diferencia de color entre los tejidos tratados (con estabilizador) y sin tratamiento. Según los cálculos de la luminosidad de los tejidos, en general, los tejidos tratados con estabilizador, presentan colores más oscuros.
- Los valores para la intensidad del color se pueden comparar con los valores obtenidos en la literatura científica para colorantes naturales.
- En los ensayos de solidez, conforme la literatura científica, no se pueden esperar comportamientos excelentes de parte de colorantes naturales. En esta investigación se ha conseguido una mejora para las solidez al lavado y frote para los colorantes obtenidos a partir de algas.
- Los resultados finales para las solidez al lavado muestran un comportamiento con degradaciones perceptibles y descarga de color evaluada como buena, en las condiciones de lavado con agua a la temperatura de 25°C.
- En el caso de las solidez al frote, por una parte, en seco el comportamiento es bueno, comparable con algunos colorantes sintéticos; y por la otra parte, en húmedo se obtiene un comportamiento con perceptibles menores resultados.
- Las mediciones de la reflectancia, de los tejidos tintados, revelan valores de intensidad de color comparables con los valores obtenidos en otros estudios realizados con colorantes naturales. Los valores obtenidos son 33,04 para la microalga azul *Arthrospira platensis* (BEA0007), 31,40 para la microalga roja *Synechococcus* sp. (REC0057), y 22,25 para la macroalga verde *Ulva* sp. (AP0001).

- Las mismas medidas son empleadas para realizar una comparación más visible entre los tejidos tintados con formulaciones conteniendo el estabilizador y los tejidos para cual no se ha empleado el estabilizador. Se pueden observar diferencia en el espectro de color de los tejidos analizados y comparados.
- Como conclusión final se puede afirmar que se puede tintar con colorantes naturales provenientes de algas, ficobiliproteínas y carotenoides, obteniéndose valores de resistencia de color frente a diversos agentes, comparables con los colorantes naturales empleados en la industria textil en el día de hoy.

Como resultado del trabajo se demuestra que el empleo de colorantes naturales extraídos de diferentes cepas de algas se puede emplear en un proceso de tintura por agotamiento sobre algodón, obteniéndose resultados aceptables y comparables con los colorantes naturales empleados en la industria en el día de hoy, y provenientes de otras fuentes. Los resultados fueron obtenidos mediante técnicas que emplean principios de espectrofotometría visible y según normativas europeas de calidad.

Así el presente trabajo abre el camino para futuras investigaciones que permitan conocer en profundidad los métodos óptimos de extracción con máxima eficiencia del colorante deseado, y un proceso de tintura más optimizado con combinación de colorantes naturales, sobre un rango más amplio de tejidos provenientes de fuentes naturales.

6. LÍNEAS FUTURAS

La presente investigación que constituye la *Tesina Final del Master en Ingeniería Textil*, supone el inicio de un largo trabajo de investigación que concluirá con la realización de la Tesis Doctoral.

A continuación se enumeran una serie de trabajos futuros derivados de la presente investigación:

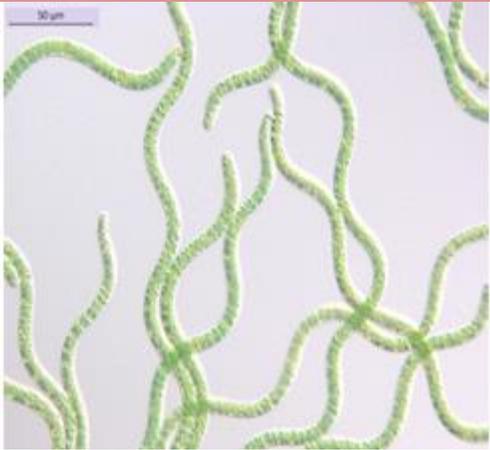
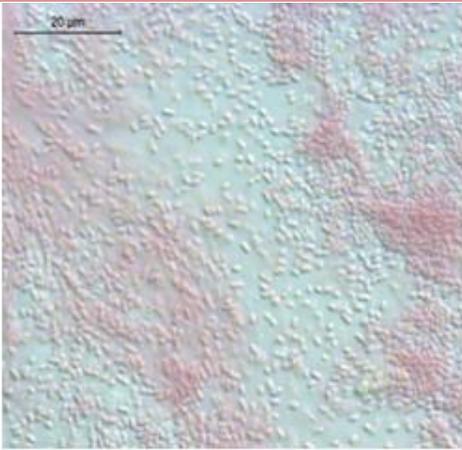
- Estudio del rendimiento del proceso de tintura con colorantes obtenidos de microalgas versus el mismo colorante proveniente de macro algas.
- Estudio de optimización de los sistemas de extracción para obtener un rendimiento máximo.
- Realizar una tintura empleando la tricromía de colorantes obtenidos de algas, verificar la posible mezcla de los colorantes en una disolución.
- Aplicación de los colorantes sobre otros tipos de tejidos formados por fibras naturales, como: lana, lino, jute.

ANEXOS

I.1. INSTRUMENTACIÓN UTILIZADA

A continuación se muestran las fotografías de la diversa instrumentación empleada para poder desarrollar los objetivos propuestos en la presente investigación.

- Fotografía 1: Cepas de algas empleadas en el proceso de extracción. A) *Arthrospira platensis*; B) *Synechococcus sp.*; C) *Ulva sp.*
- Fotografía 2: Agitador magnético (Fisher Scientific, IKA), empleado para la extracción de ficobiliproteínas.
- Fotografía 3: Soxhlet (SER148, Velp), empleado para realizar la extracción de carotenoides
- Fotografía 4: Centrifuga (ScanSpeed 1248, ScanLaf) empleada para realizar la separación del colorante extraído de la biomasa residual.
- Fotografía 5: Extractos líquidos obtenidos. A) Azul (BEA0007); B) Rojo (REC0057); C) Verde-amarillo (AP0001).
- Fotografía 6: Espectrofotómetro UV-vis (UV spectrophotometer, Thermoscientific Evolution 60S), empleado para la cuantificación de los colorantes extraídos.
- Fotografía 7: Máquina de tintar de laboratorio (Ugolini Redkrome).
- Fotografía 8: Datacolor DC 650, empleado para medir las coordenadas cromáticas de los tejidos tintados.
- Fotografía 9: Aparato Gyrowash (James Heal, UK) empleado para los ensayos de solidez al lavado de los tejidos tintados.
- Fotografía 10: Aparato Crockmeter (Atlas) empleado para los ensayos de solidez al frote de los tejidos tintados.
- Fotografía 11: Espectrómetro por transmisión visible (Spectrophotometer Lambda 950) empleado para las medidas de transmitancia, utilizadas para cuantificar la intensidad de color de los tejidos tintados.
- Fotografía 12: Aguas residuales obtenidas después del proceso de tintura, empleadas para calcular el entrapamiento del colorante en el tejido. A) BEA0007, B) REC0057; C) AP0001.

Cepa fresca			
Imagen microscopio			
	A) <i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007)	B) <i>Synechococcus</i> sp. (REC0057)	C) <i>Ulva</i> sp. (AP0001)

Fotografía 1



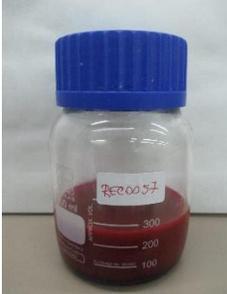
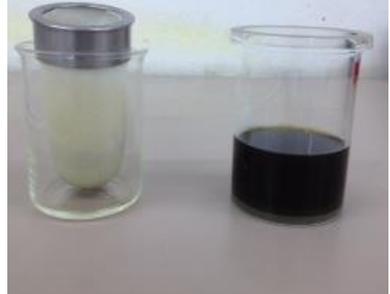
Fotografía 2



Fotografía 3



Fotografía 4

		
<i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007)-azul	<i>Synechococcus sp.</i> (REC0057)-rojo	<i>Ulva sp.</i> (AP0001)-verde/amarillo

Fotografía 5



Fotografía 6



Fotografía 7



Fotografía 8



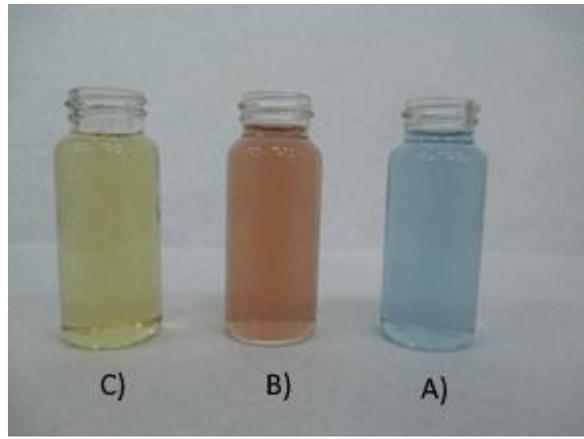
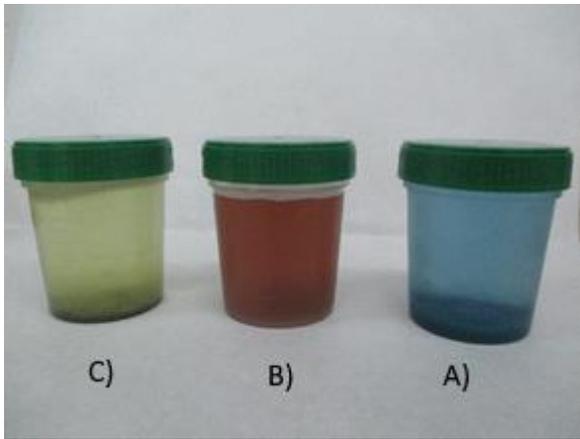
Fotografía 9



Fotografía 10



Fotografía 11



Fotografía 12

7. LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS

7.1. Listado de tablas

Tabla 1. Comparativa color obtenido con diferentes mordientes	17
Tabla 2. Colorantes naturales empleados sobre fibras.....	22
Tabla 3. Tabla comparativa entre acciones realizadas y beneficios obtenidos	24
Tabla 4. Tabla comparativa entre acciones realizadas y beneficios obtenidos	25
Tabla 5. Parámetros del proceso de tintura.....	33
Tabla 6. Cepas de algas empleadas y el método de extracción	41
Tabla 7. Longitud de onda máxima correspondiente a los nuevos colorantes obtenidos.....	44
Tabla 8. Concentración máxima obtenida	45
Tabla 9. Pigmentos provenientes de algas.....	45
Tabla 10. Pretratamiento de algodón	46
Tabla 11. Tejidos tintados con los nuevos colorantes naturales.....	47
Tabla 12. Coordenadas cromáticas de los tejidos tintados con colorantes naturales conteniendo en su composición el estabilizador.....	48
Tabla 13. Coordenadas cromáticas de los tejidos tintados con colorantes naturales sin estabilizador.....	48
Tabla 14. Diferencia de color entre las muestras tintadas con extracto con estabilizador y sin estabilizador.....	48
Tabla 15. Cuantificación de la intensidad del color en los tejidos tintados con colorantes obtenidos de <i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007), <i>Synechococcus sp.</i> (REC0057), <i>Ulva sp.</i> (AP0001).....	50
Tabla 16. Resultados obtenidos para la solidez al lavado para las muestras tintadas sin estabilizador.....	54
Tabla 17. Resultados obtenidos para la solidez al lavado para las muestras tintadas con estabilizador.....	55
Tabla 18. Resultados obtenidos para la solidez al frote para las muestras tintadas sin estabilizador.....	56
Tabla 19. Resultados obtenidos para la solidez al frote para las muestras tintadas con estabilizador.....	56

7.2. Listado de figuras

Figura 1. Clasificación de colorantes naturales según su origen	6
Figura 2. Clasificación de colorantes naturales según su afinidad por la fibra	7
Figura 3. Clasificación de colorantes naturales según su estructura química	8
Figura 4. Estructura química genérica de los polienos	9
Figura 5. Ejemplos de estructuras químicas de tetrapirroles	9
Figura 6. Ejemplos de estructuras químicas de antraquinonas	10
Figura 7. Ejemplos de estructuras químicas de naftaquinonas.....	10

Figura 8. Ejemplos de estructuras químicas de indigoides y derivados.....	11
Figura 9. Ejemplos de estructuras químicas de flavonoides	12
Figura 10. Imagen microscópica de <i>Arthrospira platensis</i>	14
Figura 11. Imagen microscópica de <i>Synechococcus</i> sp.	14
Figura 12. Imagen de <i>Ulva</i> sp.	14
Figura 13. Ciclo de vida de los colorantes naturales a partir de algas	28
Figura 14. Diagrama de secuencia de actividades	29
Figura 15. Aparato Soxhlet.....	31
Figura 16. Curva de teñido para los colorantes a partir de algas.....	33
Figura 17. Equipo Datacolor DC650- empleado para las coordenadas CIELab	34
Figura 18. Equipo Gyrowash- empleado para ensayar la solidez al lavado	34
Figura 19. Aparato Crockmeter- empleado para ensayar la solidez al frote de los tejidos	35
Figura 20. Espectrofotómetro Lambda 950- empleado para la determinación de los espectros de los tejidos	35
Figura 21. Características de un espectrofotómetro UV-Visible	36
Figura 22. Características de un espectrofotómetro IR	38
Figura 23. Esquema general de un colorímetro (espectrofotómetro) óptico	39
Figura 24. Espectro del colorante rojo (REC0057)	42
Figura 25. Espectro del colorante azul (BEA0007).....	43
Figura 26. Espectro del colorante amarillo/naranja (AP0001).....	43
Figura 27. Espectro de color tejidos tintados con <i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007).....	49
Figura 28. Espectro de color tejidos tintados con <i>Synechococcus</i> sp. (REC0057)	50
Figura 29. Espectro de color tejidos tintados con <i>Ulva</i> sp. (AP0001)	50
Figura 30. Eliminación del colorante del baño de tintura - <i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007).....	51
Figura 31. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura - <i>Arthrospira platensis</i> (BEA0007)	51
Figura 32. Eliminación del colorante del baño de tintura – <i>Synechococcus</i> sp. (REC0057)	52
Figura 33. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura - <i>Synechococcus</i> sp. (REC0057)	52
Figura 34. Eliminación del colorante del baño de tintura – <i>Ulva</i> sp. (AP0001).....	52
Figura 35. Imagen de las aguas tras la eliminación del colorante del baño de tintura - <i>Ulva</i> sp. (AP0001).....	53

7.4 Listado de ecuaciones

Ecuación 1. Cuantificación de ficobiliproteínas. Bennett y Bogorad (1973) con coeficientes de extinción de Bryant et al (1979).....	32
Ecuación 2. Cuantificación de clorofilas y carotenoides. Wellburn (1994)	32
Ecuación 3. Cuantificación de la intensidad del color de los tejidos	35

8. BIBLIOGRAFÍA

1. **Society of Dyers and Colourists, &AATCC.** Colour index. [En línea] [Citado el: 28 de May de 2016.] <http://www.colour-index.com/>.
2. **Orhan, Ilkay Erdogan.** *Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites.* Cyprus and Ankara : Bethan e Books, 2012.
3. **Buchanan, Rita.** *A Weaver's Garden: Growing Plants for Natural Dyes and Fibers.* Mineola New York : Dover Publications INC, 1987.
4. **Konar, Ashis Kumar Samanta and Adwaita.** Dyeing of Textiles with Natural Dyes. [aut. libro] Dr. Emriye Akcakoca Kumbasar. *Natural Dyes.* Calcutta : InTech, 2011, págs. ISBN: 978-953-307-783-3.
5. **D.P. Gupta, M.L. Gulrajani.** 1993, *Indian Journal Fibre Textile Research*, pág. 202.
6. **Dedhia, E. M.** *Colourage.* s.l. : 45(3), 1998.
7. **Chandrika, U. Gamage.** *Handbook of colorants: Chapter 13. Carotenoid Dyes – Properties.* s.l. : John Wiley & Sons, 2009. ISBN: 978-0-470-51199-2.
8. **Borrmann, Ursula Maria Lanfer Marquez and Daniela.** *Handbook of colorants: Chapter 15. Chlorophylls.* s.l. : John Wiley & Sons,, 2009. ISBN: 978-0-470-51199-2.
9. **Bechtold, Thomas.** *Handbook of natural colorants: Chapter 10. Natural Colorants – Quinoid, Naphthoquinoid and Anthraquinoid Dyes.* s.l. : John Wiley & Sons, 2009. 978-0-470-51199-2.
10. **Vankar, Padma S.** *Chemistry of natural dyes. Resonance.* October de 2000, págs. 73-80.
11. **Angelini, Philip John and Luciana Gabriella.** *Handbook of natural colorants: Chapter 7. Indigo – Agricultural Aspects.* s.l. : Sons, John Wiley &, 2009. 978-0-470-51199-2.
12. **Maria J. Melo, Fernando Pina and Claude Andary.** *Handbook of natural colorants: Chapter 9. Anthocyanins: Nature's Glamorous Palette.* s.l. : John Wiley & Sons, 2009. ISBN: 978-0-470-51199-2.
13. **Bechtold, Rita A. M. Mussak and Thomas.** *Handbook of natural colorants.* s.l. : John Wiley & Sons, 2009. ISBN: 978-0-470-51199-2.
14. **C Edward, K Loweson.** *Role of Microalgae Pigments in Aquaculture.* *Aqua international.* August de 2005, págs. 34-37.
15. **R A Prasanna, A Sood, S Jaiswal, S Nayak, V Gupta, et al.** *Rediscovering Cyanobacteria as valuable sources of bioactive compounds (review).* *Applied Biochemistry Microbiology* No.46. 2010, págs. 119-134.
16. **G Chaneva, S Urnadzhieva, K Minkova, J Lukavsky.** *Effect of light and temperature on the cyanobacterium Arthronema africanum- a prospective phycobiliprotein- producing strain.* *Journal of Applied Phycology* ,No.19. 2007, págs. 537-533.
17. **R A Prasanna, A Sood, S Suresh, S Nayak, B D Kaushik.** *Potentials and applications of algal pigments in biology and industry.* *Acta Biologica Hungarica*, No.49. 2007, págs. 131-156.
18. **B Soni, U Trivedi, D Madamwar.** *Extraction, purification and characterization of phycocyanin from Oscillatoria quadripunctulata- isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat India.* *Process Biochemistry.* 41, 2006, págs. 1017-1023.
19. **V. B . Bhat, K.M. Madyastha.** *C-phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro.* *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 275, 2000, págs. 20-25.

20. **R Gonzales, S Rodriguez, C Romay, O Ancheta, A Gonzales, J Armesto, D Ramirez, N Meerino.** Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid- induced colitis in rats. *Pharmacology research*. 39, págs. 55-59.
21. **C Romay, R Armesto, D Ramirez, R Gonzales, N Ledon, I Garcia.** Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-Phycocyanin from blue-green algae. *Inflammation Research*. 47, 1998, págs. 36-41.
22. **N, Eriksen.** Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Biochemistry Microbiology*, No 80. 2008, págs. 1-4.
23. **A N Glazer, L Stryer.** Phycobiliproteins- a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*. 6, 1994, págs. 105-112.
24. **B. S. Dagmar, C. Solene, Z.A. Popper.** Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, No. 29. Junio de 2011, págs. 483-501.
25. **Group, The Biofuel Media.** *Algae Industry Magazine*. [En línea] [Citado el: 2 de Agosto de 2016.] <http://www.algaeindustrymagazine.com/part-six-algal-classification/>.
26. **Saltaquarium.** [En línea] [Citado el: 2 de Agosto de 2016.] <http://saltaquarium.about.com/od/algaemarineplantcare/a/macromicroalgae.htm>.
27. **Dakin, Nick.** Algae Enhancement. *Micro vs Macro algae discussion*. [En línea] [Citado el: 2 de Agosto de 2016.]
28. **Guiry, M. D.** *AlgaeBase, World-wide electronic publication*. [En línea] National University of Ireland, Galway, 1996. [Citado el: 10 de Maio de 2016.] <http://www.algaebase.org>.
29. **Barnett, M.** *Arthrospira Platensis: Brief History and Description*. *Biology*, No.221, University of Missouri-Rolla. 2007.
30. **Marcus Ludwig, Donald A. Bryant.** *Synechococcus sp. Strain PCC 7002 Transcriptome. Acclimation to Temperature, Salinity, Oxidative Stress, and Mixotrophic Growth Conditions*. *Frontiers in Microbiology*. 2 de August de 2012, págs. 354.
31. **S. Sekar, M. Chandramohan.** Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *Journal of Applied Phycology*. 2007, págs. 113-136.
32. **Irish Seaweeds.** [En línea] 1990. [Citado el: 11 de Julio de 2016.] <http://www.irishseaweeds.com/sea-lettuce-ulva-lactuca/>.
33. **Hanaa H. Abd El-Baky, Farouk K. El Baz, Gamal S.E I Baroty.** Evaluation of Marine Alga *Ulva lactuca* . as A Source of Natural Preservative Ingredient. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. 2008, págs. 434-444.
34. **Verna N., Gupta N. P.** *Colourage*. 7 de 42 de 1955, págs. 27.
35. **Khan M. A., Khan M., Srivastav P.K., Mohammad F.** *Colourage*. 1 de 56 de 2006, págs. 61.
36. **Maulik S.R., Pal P.** *Man-made Textiles in India*. 1 de 48 de 2005, págs. 19.
37. **C.C. Moraes, Luisa Sala, GP Cerveira, S.J. Kalil.** C-Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. No. 01, 2011, Vol. 28, 01, págs. 45-49.
38. **Vankar P. S., Tiwari V, Ghorpade B.** *Proceeding of convention of Natural Dyes*. Delhi : Deepti Gupta and M.L. Gulrajani, Department of Textile Technology, 2001, 53.

39. **Nanda B, Nayak A, Das N B, Patra S K.** in *Proceeding of convention of natural dyes.* Delhi : Deepti Gupta, M.L. Gulrajani, Department of Textile Technology, 2001,85.
40. **Raja V. Vasugi, Kala J.** *Journal Textile Association.* 3 de 63 de 2005, pág. 117.
41. **Eom S., Shin D, Yoon K.** *Indian Jurnal Fibre Textile Research.* 12 de 26 de 2001, pág. 425.
42. **Dixit S, Jahan S.** *Man-made textiles in India.* 7 de 48 de 2005, pág. 252.
43. **Sudhakar D, Ninge K N, Padaki N.V.** *Colourage.* 7 de 53 de 2006, pág. 61.
44. **A K Samanta, P Agarwal ,S Datta.** *Indian Journal Fibre and Textile Research.* Vol 32, Issue 12 de 2007, pág. 466.
45. **A K Samanta, O Agarwak , S Datta.** *Journal of the Insitution of Engineers.* Vol 87, Issue 16 de 2006.
46. **Sumate Boonkird T J, Phisalaphong C, Phisalaphon M.** *Ultrasonics sonochem.* 15 de 2008, pág. 1075.
47. **Tiwari H C, Singh P, Mishra P K, Srivastava P.** *Indian Journal of Fibre and Textile Research.* 9 de 35 de 2010, pág. 272.
48. **Wurl, Andrea Biertermpfel and Guñter.** *Handbook of natural colorants.* s.l. : 9 John Wiley & Sons, 2009. Vol. Dye Plants in Europe. 978-0-470-51199-2.
49. **Matt T. Roberts, Don Etherington.** *Bookbinding and the Conservation of books. A Dictionary of Descriptive Terminology.* [En línea] 11 de March de 2011. <http://cool.conservation-us.org/don/dt/dt0781.html>.
50. **Padfield T, Landi S.** *The Light-fastness of the Natural Dyes,* Vol 11, Issue 4. *Studies in Conservation.* 1966, págs. 161-96.
51. **David G. Duff, Roy S. Sinclair, David Stirling.** *Light-induced colour changes of natural dyes.* *Studies in Conservation,* Vol 22, Issue 4. 1977, págs. 161-169.
52. **Gupta, D.** *Colourage.* Vol 46, Issue 7 de 1999a, pág. 35.
53. **Gupta, Deepti.** *Colourage.* Vol.46, Issue8 de 1999b, pág. 41.
54. **Graaff, Hofenk J H de.** *Conservation-Restoration of Church Textiles and Painted Flags.* Hungary : s.n., 1983. 4th Internatioonal Restorer Seminar, Vol 2. págs. 219-228.
55. **D. G. Duff, R.S. Sinclair, D. Stirling.** *The fastness to washing of some natural dyestuff on wool.* *Studies in Conservation.* 1977, págs. 161-169.
56. **A K Samanta, A Konar, S Chakrobotry, S Datta.** *Journal of the Institution of Engineers (I).* Vol. 91, Issue 7 de 2010.
57. **A K Samanta, A Konae, S Chaktaborti.** *Dyeing of jute with tesu extract: Part 1 - Effects of different mordants and dyeing process variables.* *Indian Journal of Fibre and Textile Research.* Vol 36 de 2011, págs. 63-73.
58. **Mahale G, R K Saski and R K Sunanda.** *International dyers.* Vol. 187, Issue 9 de 2002, pág. 39.
59. **G Mahale, K Bhavani, R K Sunanda, Sakshi.** *Man-made textiles in India.* Vol 42, Issue 11 de 1999, pág. 453.
60. **G Mahale, R K Sakshi, R K Sunanda.** *Indian Journal Fibre and Textile Research.* Vol 28, Issue 3 de 2003, pág. 86.
61. **Geissler, Susane.** *Economic Aspects of Natural Dyes.* [aut. libro] Rita Mussak Thomas Bechtold. *Handbook of colorants.* 2009, 21.

62. **Ganglberger, Erika.** *Environmental Aspects and Sustainability.* [aut. libro] Rita Mussak Thomas Bechtold. *Handbook of natural colorants.* 2009, págs. 354-366.
63. **A Bennett, Bogorad.** *Complementary chromatic aaptation in a filamentuous blue-green alga.* *The Journal of Cell Biology,* No. 58. 1973, págs. 419-435.
64. **D. A. Bryant, G. Guglielmi, N.T. de Matsac, A. Castets and G. Cohen-Bazire.** *The structure of cyanobacterial phycobilisomes: a model.* *Archives in Microbiology,* No 123. 1979, págs. 113-127.
65. **Welburn, Allan R.** *The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution.* *Journal of Plant Physiology,* vol 144. 1944, págs. 307-313.
66. **Munk, Kubelka y.** *The Kubelka-Munk Theory of Reflectance,* . *Zeit.Fur Tekn. Physik,* No (12). 1931, pág. 593.
67. **SSTO.UA.** [En línea] [Citado el: 3 de Julio de 2016.] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x-de-monocristal-y-espectroscopias-vibracional-y-optica/espectroscopia-ultravioleta-visible.html> .
68. **Campus USAL.** [En línea] [Citado el: 3 de Julio de 2016.] <http://campus.usal.es/~quimfis/apoyo/Carmen/Practicas/Espectrofotometria.PDF>.
69. **Anand, Gurdeep R. Chatwal and Sham K.** *Spectroscopy : Atomic and Molecular.* Mumbai : Himalaya Publishing House, 2009.
70. **Monika Sobiechowska- Sasim, Joanna Ston-Egiert, Alicja Kosakowska.** *Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria- an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods.* *journal of Applied Phycology.* 2014, págs. 2065-2074.
71. **Y. ZUr, A.A Gitelsin, O B Chivkunova, M N Merzlyak.** *The spectral contribution of carotenoids to light absorbtion and reflectance in green leaves.* *Natural Resources.* 272, 2000.
72. **Y. Shin, A. Cho, D.I. Yoo.** *Production of natural dye from green algae (Monostroma nitidum wittrock).* *18th European Biomass Conference and Exhibition.* 3-7 de Maio de 2010, págs. 530-533.
73. **R.Rajendran, B. Thamarai Selvi.** *Natural dyein of Cotton Fabrics with Pigments Extracted from Roseomonas Fauriae.* *Universal Journal of Environmental Research and Technology.* 1, 2014, Vol. 4, págs. 54-59.
74. **Mehmet Kilink, Seyda Canbolat, Nigar Merdan, Habip Dayioglu, Filiz Akin.** *Investigation of the color, fastness and antimicrobial properties of wool fabrics dyed with the natural dye extracted from te cone of chamaecyparis lawsoniana.* *Procedia- Social and Behavioral Sciences.* 2015, Vol. 195, págs. 2152-2159.
75. **Paliwal, J.** *Textile magazine.* 42 (11) de 2001, pág. 79.
76. **P. Jahan, S. Jahan.** *Indian silk.* 40 (9) de 2000, pág. 31.
77. **Sengupta, S.** *Journal Textile Association.* 62 (4) de 2001, pág. 161.
78. **Prabu G. H., L. Premraj.** *Man-made Textiles in India.* 44 (12) de 2001, pág. 488.
79. **Moses, J J.** *Asian Textile Journal.* Vol 11, Issue 7 de 2002, pág. 68.
80. **A Rani, O P Singh.** *Asian Textile Journal.* Vol 11, Issue 9 de 2002, pág. 47.
81. **S Bain, O P Singh, K Kang.** *Man-made textiles in India.* Vol 45, Issue 8 de 2002, pág. 315.
82. **S Paul, A Sharma, E Grover.** *Asian Textile Journal.* Vol 11, Issue 11 de 2002, pág. 65.

83. **B. Li, F. Lu, X. Wei, R. Zhao.** Fucoïdan: structure and bioactivity . *Molecules*, No. 13. 2008, págs. 1671-1695.
84. **L. Onofrejova, J. Vasickova , B. Klejdus , P. Stratil ,L. Misurcova,S. Kracmar et all.** Bioactive phenolics in algae: the application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, No.51.
85. **L. Onofrejova, J. Vasickova, B. Klejdus , P. Stratil , L. Misurcova ,S. Kracmar et all.** Bioactive phenolics in algae: the application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, No.51. 2010, págs. 464-470.
86. **M Plaza, S Santoyo, L Jaime, G Garcia-Blairsy Reina, M Herrero F J Señoráns, E Ibáñez.** Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2, 2010, Vol. 51, págs. 450-455.
87. **Jing Zheng, Toyoshi Inoguchi, Shuji Sasaki, Yasutaka Maeda, Mark F. McCarty, Masakazu Fuji, Noriko Ikeda, Kuniyoshi Kobayashi, Noriyuki Sonoda and Ryoichi Takayanagi.** Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against nephropathy by inhibiting oxidative stress. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2013, Vol. 304, págs. 110-120.
88. **Jing Zheng et. all,** Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. *American Journal of Physiology. Regulation, integration and comparative physiology*. 2012, Vol. 304, págs. 110-120.
89. **Government, US.** National Centre for Biotechnology Information. NCBI. [En línea] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
90. **Roberts, Mike.** Wild Colours. Indigo Chemistry. [En línea] 2006. [Citado el: 23 de Agosto de 2016.] http://www.wildcolours.co.uk/html/indigo_chemistry.html.
91. **Solovchenko, Alexei.** Photoprotection of plants via optical screening. 2010.
92. **Dharma Trading Co.,** Color on fabric. Indigo. [En línea] 2016. <http://www.dharmatrading.com/home/indigo.html>.
93. **Dharma Trading Co,** Color on fabric. Natural dyes (from plants and insects). [En línea] 2016. <http://www.dharmatrading.com/dyes/natural-dyes-from-plants-and-insects.html>.
94. **Logwood. Logwood.** [En línea] <http://www.keyword-suggestions.com/bG9nd29vZA/>.
95. **Barneto, Agustín García.** Química. Entornos educativos interactivos para el apoyo del proceso de enseñanza/aprendizaje. [En línea] <http://www.liceoagb.es/quimiorg/index.html>.